

nung der Z-Gruppe wurde das erhaltene H-Glu(OBu^t)-Thr-Pro-NH₂ (Smp. 112°; $[\alpha]_D^{20} = -29^\circ$, DMF) mit Z-Phe-Gly-Pro-OH [4] mittels DCCI zu Z-Phe-Gly-Pro-Glu(OBu^t)-Thr-Pro-NH₂ (Smp. 120°; $[\alpha]_D^{20} = -66^\circ$, DMF) kondensiert. Anschliessend wurde die Z-Gruppe hydrogenolytisch abgespalten, wobei H-Phe-Gly-Pro-Glu(OBu^t)-Thr-Pro-NH₂ (Smp. 153°; $[\alpha]_D^{20} = -79^\circ$, DMF) erhalten wurde.

Tetrapeptidderivat 23–26. BOC-Ser-Gly-OEt ($[\alpha]_D^{20} = -3^\circ$, DMF) wurde in BOC-Ser-Gly-NH-NH₂ (Smp. 157°; $[\alpha]_D^{20} = -5^\circ$, DMF) überführt und nach Umwandlung ins Azid mit H-Met-Gly-OEt ($[\alpha]_D^{20} = +22^\circ$, DMF) zu BOC-Ser-Gly-Met-Gly-OEt ($[\alpha]_D^{20} = -14^\circ$, DMF) gekuppelt. Die Verseifung lieferte anschliessend BOC-Ser-Gly-Met-Gly-OH (Smp. 87°; $[\alpha]_D^{20} = -17^\circ$, DMF).

Tripeptidhydrazid 20–22. Durch Behandlung des Z-Arg(NO₂)-Phe-OMe [5] mit HBr/AcOH wurde H-Arg(NO₂)-Phe-OMe, HBr (Smp. 165°; $[\alpha]_D^{20} = +14^\circ$, DMF) erhalten, das mit Z-His(Z)-OH mittels DCCI zu Z-His(Z)-Arg(NO₂)-Phe-OMe (Smp. 117°, Zers., $[\alpha]_D^{20} = -8^\circ$, DMF) kondensiert wurde. Nach Entfernen der Schutzgruppen durch katalytische Hydrierung wurde das erhaltene Tripeptid mit Tritylchlorid in Trt-His(Trt)-Arg-Phe-OMe, HCl (Smp. 193°; $[\alpha]_D^{20} = -24^\circ$, DMF) überführt. Behandeln des Esters mit Hydrazinhydrat lieferte Trt-His(Trt)-Arg-Phe-NHNH₂, HCl (Smp. 158°; $[\alpha]_D^{20} = -11^\circ$, MeOH).

Tridecapeptidamid 20–32. Das Tetrapeptidderivat 23–26 wurde mittels DCCI mit dem Hexapeptidamid 27–32 zum BOC-Ser-Gly-Met-Gly-Phe-Gly-Pro-Glu(OBu^t)-Thr-Pro-NH₂ (Smp. 121°; $[\alpha]_D^{20} = -47^\circ$, DMF) gekuppelt. Nach Abspalten der Schutzgruppen in HCl/Dioxan wurde das erhaltene H-Ser-Gly-Met-Gly-Phe-Gly-Pro-Glu-Thr-Pro-NH₂, HCl (Smp. 130°; $[\alpha]_D^{20} = -48^\circ$, DMF) mit Trt-His(Trt)-Arg-Phe-N₃, HCl zu Trt-His(Trt)-Arg-Phe-Ser-Gly-Met-Gly-Phe-Gly-Pro-Glu-Thr-Pro-NH₂, HCl (Smp. 168°; $[\alpha]_D^{20} = -43^\circ$, DMF) umgesetzt. Dieses wurde mit 80-proz. AcOH bei 40° behandelt. Das entstandene Tridecapeptidderivat lieferte nach Gegenstromverteilung (*n*-BuOH/Wasser/AcOH (5:5:1)) reines H-His-Arg-Phe-Ser-Gly-Met-Gly-Phe-Gly-Pro-Glu-Thr-Pro-NH₂, 3AcOH (Smp. 182°; $[\alpha]_D^{20} = -41^\circ$, AcOH 95%); Aminosäureanalyse nach Totalhydrolyse (HCl 6*N*; 16 Std. 115°): Gef. Arg_{1,1}; Glu_{1,0}; Gly_{3,0}; His_{1,1}; Met_{1,0}; Phe_{2,0}; Pro_{2,0}; Ser_{1,0}; Thr_{0,8}.

Pentapeptidester 10–14. BOC-Trp-OCP wurde mit H-Arg(NO₂)-OMe zu BOC-Trp-Arg(NO₂)-OMe (Smp. 130° Zers.; $[\alpha]_D^{20} = -22^\circ$, DMF) umgesetzt, die BOC-Gruppe in HCl/MeOH abgespalten und das erhaltene H-Trp-Arg(NO₂)-OMe, HCl (Smp. 130° Zers.; $[\alpha]_D^{20} = -2^\circ$, DMF) mit BOC-Tyr-OCP in Anwesenheit von TAA zu BOC-Tyr-Trp-Arg(NO₂)-OMe (Smp. 130° Zers.; $[\alpha]_D^{20} = -11^\circ$, DMF) gekuppelt. Die Schutzgruppe wurde in HCl/MeOH abgespalten und H-Tyr-Trp-Arg(NO₂)-OMe, HCl (Smp. 125°; $[\alpha]_D^{20} = -24^\circ$, DMF) mit BOC-Ala-OCP in Gegenwart von TAA zu BOC-Ala-Tyr-Trp-Arg(NO₂)-OMe umgesetzt (Smp. 120° Zers.; $[\alpha]_D^{20} = -20^\circ$, DMF). Behandeln mit HCl/MeOH und anschliessende Kupplung mit BOC-Ser-N₃ lieferte BOC-Ser-Ala-Tyr-Trp-Arg(NO₂)-OMe (Smp. 135° Zers.; $[\alpha]_D^{20} = -20^\circ$, DMF).

Pentapeptidhydrazid 15–19. BOC-Phe-OH wurde mittels DCCI mit Z-NH-NH₂ [6] zu BOC-Phe-NH-NH-Z (Smp. 117°; $[\alpha]_D^{20} = -5^\circ$, DMF) kondensiert. Nach Abspalten der BOC-Gruppe mit TFES wurde das erhaltene H-Phe-NH-NH-Z, TFA (Smp. 191°; $[\alpha]_D^{20} = +26^\circ$, DMF) mit BOC-Asn-ONP in Anwesenheit von TAA zum BOC-Asn-Phe-NH-NH-Z (Smp. 210°; $[\alpha]_D^{20} = -18^\circ$, DMF) gekuppelt. Die BOC-Gruppe wurde wiederum mit TFES abgespalten und das Dipeptid-TFA (Smp. 121°; $[\alpha]_D^{20} = +3^\circ$, DMF) mit BOC-Asn-ONP in Anwesenheit von TAA zum BOC-Asn-Asn-Phe-NHNH-Z (Smp. 240°; $[\alpha]_D^{20} = -28^\circ$, DMF) umgesetzt. Mit TFES wurde die Schutzgruppe abgespalten und durch Kuppeln mit BOC-Leu-ONP in Anwesenheit von TAA erhielt man BOC-Leu-Asn-Asn-Phe-NHNH-Z (Smp. 210°; $[\alpha]_D^{20} = -34^\circ$, DMF). Nach Behandeln mit TFES wurde mit BOC-Asn-ONP in Anwesenheit von TAA BOC-Asn-Leu-Asn-Asn-Phe-NH-NH-Z (Smp. 250°; $[\alpha]_D^{20} = -34^\circ$, DMF) erhalten, das durch Abspalten der BOC-Schutzgruppe mit TFES in H-Asn-Leu-Asn-Asn-Phe-NH-NH-Z, TFA (Smp. 242° Zers.; $[\alpha]_D^{20} = -26^\circ$, AcOH) überführt wurde.

Decapeptidhydrazid 10–19. Der Pentapeptidester 10–14 wurde mit Hydrazinhydrat ins Hydrazid und dieses mit *t*-Butylnitrit in BOC-Ser-Ala-Tyr-Trp-Arg(NO₂)-N₃ überführt. An-

schliessend wurde mit dem Pentapeptid 15–19 zu BOC-Ser-Ala-Tyr-Trp-Arg(NO₂)-Asn-Leu-Asn-Asn-Phe-NH-NH-Z (Smp. 255° Zers.; $[\alpha]_D^{20} = -24^\circ$, DMF) gekuppelt. Die Nitrogruppe am Guanidino-Rest des Arginins wurde selektiv durch Zinkreduktion entfernt [7]. Das erhaltene BOC-Ser-Ala-Tyr-Trp-Arg-Asn-Leu-Asn-Asn-Phe-NH-NH-Z, AcOH (Smp. 240° Zers.; $[\alpha]_D^{20} = -19^\circ$, DMF) wurde durch Hydrogenolyse (Pd/C 10%) in BOC-Ser-Ala-Tyr-Trp-Arg-Asn-Leu-Asn-Asn-Phe-NH-NH₂, AcOH (Smp. 239° Zers.; $[\alpha]_D^{20} = -25^\circ$, DMF) umgewandelt; Aminosäureanalyse nach Totalhydrolyse (HCl 6N; 16 Std.; 110°): Gef. Ala_{1,0}; Arg_{1,0}; Asp_{3,2}; Leu_{1,1}; Phe_{0,9}; Ser_{1,0}; Tyr_{1,0}.

Tricosapeptidderivat 10–32. Das Decapeptidhydrazid 10–19 wurde mittels *t*-Butylnitrit in das Azid übergeführt, das in Anwesenheit von überschüssigem TAA mit einer äquivalenten Menge Tridecapeptidamid 20–32 umgesetzt wurde. Das erhaltene BOC-Ser-Ala-Tyr-Trp-Arg-Asn-Leu-Asn-Asn-Phe-His-Arg-Phe-Ser-Gly-Met-Gly-Phe-Gly-Pro-Glu-Thr-Pro-NH₂ wurde mittels Gegenstromverteilung (*n*-BuOH/AcOEt/AcOH 1N (2:2:1)) gereinigt (Smp. 224°; $[\alpha]_D^{20} = -31^\circ$, *n*-BuOH/DMF/AcOH 1N (2:1:1)).

Tetrapeptidester 6–9. Durch Umsetzen von Z-Cys(Bzl)-OCP mit H-Val-Leu-OMe, HCl [8] wurde Z-Cys(Bzl)-Val-Leu-OMe (Smp. 160°; $[\alpha]_D^{20} = -28^\circ$, DMF) erhalten, das nach Behandeln mit HBr/AcOH H-Cys(Bzl)-Val-Leu-OMe, HBr (Smp. 168°; $[\alpha]_D^{20} = +14^\circ$, DMF) ergab. Dieses wurde mit Z-Thr-N₃ zum Z-Thr-Cys(Bzl)-Val-Leu-OMe (Smp. 208°; $[\alpha]_D^{20} = -27^\circ$, DMF) gekuppelt; anschließende Behandlung mit HBr/TFES führte zum H-Thr-Cys(Bzl)-Val-Leu-OMe, HBr (Smp. 202°; $[\alpha]_D^{20} = -10^\circ$, DMF).

Pentapeptidhydrazid 1–5. Nach Kuppeln von H-Leu-Ser-OMe [9] mit BOC-Asn-ONP wurde BOC-Asn-Leu-Ser-OMe (Smp. 190°; $[\alpha]_D^{20} = -24^\circ$, DMF) erhalten, das durch Abspalten der BOC-Gruppe in HCl/MeOH H-Asn-Leu-Ser-OMe, HCl (Smp. 180°; $[\alpha]_D^{20} = -23^\circ$, DMF) ergab. Dieses wurde mit BOC-Ser-N₃ zum BOC-Ser-Asn-Leu-Ser-OMe (Smp. 135°; $[\alpha]_D^{20} = -22^\circ$, DMF) umgesetzt. Durch Abspalten der BOC-Gruppe in HCl/MeOH erhielt man H-Ser-Asn-Leu-Ser-OMe, HCl (Smp. 155° Zers.; $[\alpha]_D^{20} = -15^\circ$, DMF), das mit BOC-Cys(Bzl)-ONP zu BOC-Cys(Bzl)-Ser-Asn-Leu-Ser-OMe (Smp. 182°; $[\alpha]_D^{20} = -17^\circ$, DMF) gekuppelt wurde. Letzteres wurde mit NH₂NH₂, H₂O in BOC-Cys(Bzl)-Ser-Asn-Leu-Ser-NH-NH₂ (Smp. 224°; $[\alpha]_D^{20} = -13^\circ$, DMF) übergeführt.

Nonapeptidhydrazid 1–9. Das Pentapeptidhydrazid 1–5 wurde mittels *t*-Butylnitrit in das Azid übergeführt; dieses wurde in Anwesenheit von TAA mit dem Tetrapeptidester 6–9 zu BOC-Cys(Bzl)-Ser-Asn-Leu-Ser-Thr-Cys(Bzl)-Val-Leu-OMe (Smp. 248°; $[\alpha]_D^{20} = -25^\circ$, DMF) umgesetzt, das durch Behandeln mit NH₂NH₂, H₂O BOC-Cys(Bzl)-Ser-Asn-Leu-Ser-Thr-Cys(Bzl)-Val-Leu-NH-NH₂ (Smp. 260° Zers.; $[\alpha]_D^{20} = -33^\circ$, DMF/H₂O (3:1)) lieferte. Nach Abspalten der Benzylgruppe mit Na in flüssigem Ammoniak wurde BOC-Cys-Ser-Asn-Leu-Ser-Thr-Cys-Val-Leu-NHNH₂ (Smp. 298° Zers.; $[\alpha]_D^{20} = -20^\circ$, DMF/H₂O (3:1)) erhalten. Dieses wurde in flüssigem Ammoniak und mit einem Luftstrom bis zur negativen Nitroprussiatreaktion

zu BOC-Cys-Ser-Asn-Leu-Ser-Thr-Cys-Val-Leu-NHNH₂ (Smp. 288°; $[\alpha]_D^{20} = -14^\circ$, DMF) oxidiert; Aminosäureanalyse nach Hydrolyse in HCl 6N in Anwesenheit von 0,2% Mercaptoäthanol bei 115°: a) Nach 48 Std. Hydrolyse gef.: Asn_{1,1}; Cys_{0,8}; Leu_{2,0}; Ser_{2,0}; Thr_{0,9}; Val_{1,0}; b) nach 24 Std. Hydrolyse gef.: Asn_{1,1}; Cys_{1,1}; Leu_{1,8}; Ser_{2,0}; Thr_{0,8}; Val_{0,8}.

Dotriacontapeptidamid 1–32: Thyreocalcitonin. Die Schutzgruppen des Tricosapeptidderivates 10–32 wurden durch Behandeln mit TFES abgespalten. Das erhaltene Produkt wurde mit dem Nonapeptidazid, das durch Umsetzen von Nonapeptidhydrazid 1–9 mit *t*-Butylnitrit erhalten wurde, in Anwesenheit von überschüssigem TAA gekuppelt. Das erhaltene rohe geschützte Dotriacontapeptid ergab nach Abspalten der BOC-Gruppe mit TFES ein chromatographisch fast einheitliches Produkt. Dieses wurde auf einer Säule von Bio-Gel P-6 mit 0,4N AcOH als Elutionsmittel gereinigt. Das erhaltene Dotriacontapeptidamid 1–32 erwies sich im Vergleich mit dem natürlichen Produkt [2b] chromatographisch und elektrophoretisch (*E*_{1,9} = 0,9 Trp; *E*_{5,8} = 1,0 Trp) nach Entwickeln mit Ninhydrin-, Chlor-, EHRLICH-, YAMADA- und PAULI-Reagenzien als einheitlich und identisch; $[\alpha]_D^{20} = -55^\circ$, AcOH 1N (natürliches Produkt: $[\alpha]_D^{20} = -54^\circ$, AcOH 1N).

Aminosäureanalyse nach Totalhydrolyse (36 Std.; HCl 6N): gef. Ala_{1,2}; Arg_{1,9}; Asp_{4,3}; Cys/2_{1,7}; Glu_{1,0}; Gly_{2,9}; His_{0,9}; Leu_{3,1}; Met_{1,0}; Phe_{2,8}; Pro_{3,2}; Ser_{4,0}; Thr_{1,8}; Tyr_{1,0}; Val_{1,0}. Die biologische Prüfung [2b] ergab eine Wirksamkeit von ca. 150–200 MRC-[10] Einheiten/mg Peptid, d. h. die Wirksamkeit des natürlichen Schweine-Thyreocalcitons.

Wir danken Herrn Dr. R. BOISSONNAS für seine wertvollen Anregungen bei der Ausführung dieser Arbeit. Wir danken den Herren Dres. K. ZEHNDER und W. DOEPFNER für die Durchführung der biologischen Untersuchungen, den Herren Dres. J. FRANZ und J. ROSENTHALER für die chromatographische Reinigung des Endproduktes und Herrn Dr. R. L. HUGUENIN für die Durchführung der Aminosäureanalysen.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] D. H. COPP, E. C. CAMERON, B. A. CHENEY, A. G. T. DAVIDSON & K. G. HENZE, *Endocrinology* **70**, 638 (1962); P. L. MUNSON & P. F. HIRSCH, *Amer. J. Med.* **43**, 678 (1967). «Symposium on Thyrocalcitonin and the C-cells», London 17.–20. Juli 1967, William Heinemann Medical Books Ltd., London 1968; D. H. COPP, *ibid.*, p. 648.
 - [2] a) I. PUTTER, E. A. KACZKA, R. E. HARMAN, E. L. RICKES, A. Z. KEMPF, L. CHAIET, Z. W. ROTHROCK, A. W. WASE & F. Z. WOLF, *J. Amer. chem. Soc.* **89**, 5301 (1967). – b) J. FRANZ, J. ROSENTHALER, K. ZEHNDER, W. DOEPFNER, R. HUGUENIN & ST. GUTTMANN, *Helv.* **51**, 218 (1968). – c) F. W. KAHNT, B. RINIKER, J. MACINTYRE & R. NEHER, *Helv.* **51**, 214 (1968).
 - [3] J. T. POTTS, H. D. NIALL, H. T. KEUTMANN, H. B. BREWER & L. J. DEFTOS, *Nat. Acad. Sci. USA* **59**, 865 (1968).
 - [4] M. BODANSKY, J. T. SHEEHAN, M. ONDETTI & S. LANDE, *J. Amer. chem. Soc.* **85**, 991 (1963).
 - [5] GIBIAN, *Liebigs Ann. Chem.* **642**, 145 (1961).
 - [6] H. BÖSHAGEN & J. ULLRICH, *Chem. Ber.* **92**, 1478 (1959).
 - [7] J. PLESS & ST. GUTTMANN in «Peptides», H. C. BEYERMAN (ed.), *Proc. 8th European Symp. Noordwijk*, 1966; North Holland Publ. Comp., Amsterdam 1967, S. 50.
 - [8] K. LÜBKE & E. SCHRÖDER, *Liebigs Ann. Chem.* **665**, 205 (1963).
 - [9] H. DETERMANN, *Liebigs Ann. Chem.* **670**, 141 (1963).
 - [10] M. A. KUMAR, E. SLACK, A. EDWARDS, H. A. SOLIMAN, A. BAGHDIAZT, G. V. FORSTER & I. MACINTYRE, *J. Endocrin.* **33**, 469 (1965).
-