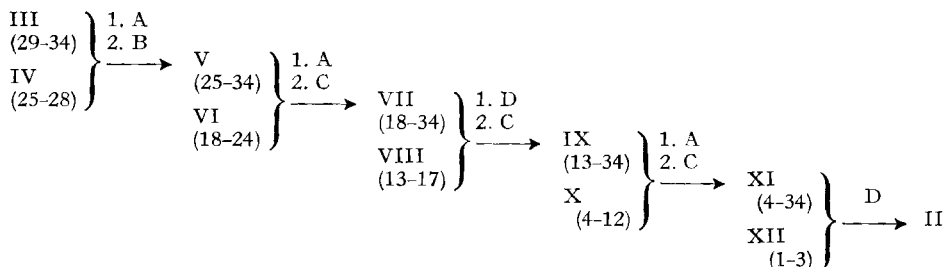


Tabelle. Formeln der geschützten Zwischenprodukte III-XII

Nr.	Sequenz	Formel
III	29-34	H-Gln-Leu-Val-His-Asn-Phe-OBu ^t
IV	25-28	H [⊕] Boc Boc Boc
		Z-Arg-Lys-Lys-Lys-O [⊕]
V	25-34	H [⊕] Boc Boc Boc
		H ₂ [⊕] -Arg-Lys-Lys-Lys-Gln-Leu-Val-His-Asn-Phe-OBu ^t · 3Cl [⊕]
VI	18-24	Bpoc-Met-Glu-Arg-Val-Gln-Trp-Leu-O [⊕]
VII	18-34	OBu ^t H [⊕] H [⊕] Boc Boc Boc
		H ₂ [⊕] -Met-Glu-Arg-Val-Gln-Trp-Leu-Arg-Lys-Lys-Lys-Gln-Leu-Val-His-Asn-Phe-OBu ^t · 4Cl [⊕]
VIII	13-17	Boc Bu ^t Bpoc-Lys-His-Leu-Asn-Ser-NHNH ₂
IX	13-34	Boc H [⊕] Bu ^t OBu ^t H [⊕] H [⊕] Boc Boc Boc
		H ₂ [⊕] -Lys-His-Leu-Asn-Ser-Met-Glu-Arg-Val-Gln-Trp-Leu-Arg-Lys-Lys-Lys-Gln-Leu-Val-His-Asn-Phe-OBu ^t · 5Cl [⊕]
X	4-12	OBu ^t Trt-Glu-Ile-Gln-Leu-Met-His-Asn-Leu-Gly-OH
XI	4-34	OBu ^t H [⊕] Boc H [⊕] Bu ^t OBu ^t H [⊕] H [⊕] Boc Boc
		H ₂ [⊕] -Glu-Ile-Gln-Leu-Met-His-Asn-Leu-Gly-Lys-His-Leu-Asn-Ser-Met-Glu-Arg-Val-Gln-Trp-Leu-Arg-Lys-Lys-Boc H [⊕]
XII	1-3	Boc H [⊕] Lys-Gln-Leu-Val-His-Asn-Phe-OBu ^t · 6Cl [⊕]
		Bu ^t Bu ^t Boc-Ser-Val-Ser-NHNH ₂

Schema 2. *Aufbau des geschützten Tetratriacontapeptids 1-34 (II)*
(Zu den Formeln der verwendeten Zwischenprodukte vgl. Tabelle)



Methoden: A: DCCI-HOBt [6]; B: H_2 -Pd/C; C: HCl in Trifluoräthanol [8]; D: Azidmethode [7].

Die Zwischenprodukte III, IV, VI, VIII, X und XII stellte man nach bekannten Methoden her; Herstellung und Eigenschaften sollen später im Detail beschrieben werden.

Sequenz 25-34 (V). Man verknüpfte die Fragmente III und IV mittels DCCI-HOBt [6], fällte das Rohprodukt aus Acetonitril-Wasser um (Rf^4) (S) = 0,32 (System 100) und entfernte die Z-Gruppe durch katalytische Hydrierung. Dabei wurden gleichzeitig 3 Äq. HCl zugegeben. Man erhielt V als Trihydrochlorid.

Sequenz 18-34 (VII). Kuppeln von V mit dem Fragment 18-24 (VI) mittels DCCI-HOBt gab das Bpoc-Derivat von VII. Dieses reinigte man durch Gegenstromverteilung im System Methanol/0,1M wässriges Ammoniumacetat (pH = 7,0)/Chloroform/Tetrachlorkohlenstoff 10:4:7:3 (K = 0,33), $\text{Rf}(\text{S}) = 0,16$ (System 100). Abspalten der Bpoc-Gruppe mittels HCl in Trifluoräthanol⁵ gab das Tetrahydrochlorid VII.

Sequenz 13-34 (IX). VII kondensierte man mit dem nach [7] hergestellten Azid von VIII und reinigte das dabei erhaltene Bpoc-Derivat von IX durch Gegenstromverteilung im System Methanol/0,1M wässriges Ammoniumacetat (pH = 7,0)/Chloroform/Tetrachlorkohlenstoff 10:3:7:4 (K = 0,65), $\text{Rf}(\text{S}) = 0,40$ (System 96); = 0,30 (System 100). Die Bpoc-Gruppe entfernte man wieder mit HCl in Trifluoräthanol und erhielt IX als Pentahydrochlorid, $\text{Rf}(\text{S}) = 0,22$ (System 96).

Sequenz 4-34 (XI). Hierauf kuppelte man IX mit der Sequenz 4-12 (X) mittels DCCI-HOBt und reinigte das erhaltene Tritylderivat von XI durch Gegenstromverteilung (System wie bei IX), K = 0,35; $\text{Rf}(\text{S}) = 0,28$ (System 100). Man entfernte die Tritylgruppe durch HCl in Trifluoräthanol⁵ zum Hexahydrochlorid XI, $\text{Rf}(\text{S}) = 0,36$ (System 96).

Geschützte Sequenz 1-34 (II). XI kuppelte man nach Honzl & Rudinger [7] mit dem aus XII hergestellten Azid und reinigte das Rohprodukt durch Gegenstromverteilung im System Methanol/0,2M wässriges Ammoniumacetat (pH = 4,75)/Chloroform/Tetrachlorkohlenstoff 10:3:8:4 (K = 0,21); $\text{Rf}(\text{S}) = 0,43$ (System 96); = 0,30 (System 100).

I, freies h-PTH-(1-34)-tetratriacontapeptid. Aus II entfernte man die Schutzgruppen durch konz. Salzsäure (10 Min., 0°) und führte das Hydrochlorid von I durch Ionenaustausch in das Acetat über. Das so erhaltene I enthielt nur geringe Mengen von Nebenprodukten, hauptsächlich das Gemisch der Methionin-S-oxid-derivate. Da ein der Formel I entsprechendes Fragment aus natürlichem h-PTH bisher nicht her-

⁴) Rf -Werte beziehen sich auf *Dünnschichtchromatographien* auf Kieselgel (S)- oder Celluloseplatten (C). System 54: 2-Butanol/2-Propanol/9proz. wässrige Chloressigsäure 58:8:34 (v/v); System 96: 2-Butanol/Essigsäure/Wasser 67:10:23; System 100: Essigester/Pyridin/Essigsäure/Wasser 62:21:6:11; System 101: 1-Butanol/Pyridin/Essigsäure/Wasser 38:24:8:30; System 151: 1-Butanol/Pyridin/Essigsäure/Wasser 38:20:5:24.

⁵) Über die von uns gefundene Möglichkeit zur bequemen, selektiven Abspaltung säurelabiler Schutzgruppen in diesem Lösungsmittel werden wir in Kürze berichten [8].

gestellt worden ist, konnte das synthetische I nicht mit authentischem Naturprodukt verglichen werden.

Charakterisierung: Rf(C) = 0,36 (System 151); = 0,54 (System 54). *Dünnschichtelektrophorese* (C), pH = 1,9, 90 Min., 16 V/cm, Laufstrecke 6 cm zur Kathode.

Verteilungskoeffizient $K = 0,12$ (*n*-Butanol/0,2M wässriges Ammoniumacetat (pH = 4,75)/Methanol 4:4:1).

Aminosäureanalyse (Hydrolyse 15 Std., 118°, 6N HCl) Trp 0,51 (1)⁶); Lys 3,85 (4); His 2,75 (3); Arg 1,88 (2); Asp 3,05 (3); Ser 2,47 (3); Glu 5,06 (5); Gly 1,07 (1); Val 3,16 (3); Met 1,96 (2); Ile 1,03 (1); Leu 4,75 (5); Phe (Bezugswert) 1,00.

Methionin-S-oxid-derivate: a) Gemisch der Met⁸- und Met¹⁸-mono-S-oxide (I in 0,6proz. wässrigem H₂O₂, 3 Min. 25°) Rf(C) = 0,29 (System 151); = 0,45 (System 101); = 0,48 (System 54).

b) Met^{8,18}-di-S-oxid (I in 0,6proz. wässrigem H₂O₂, 45 Min., 25°); Rf(C) = 0,21 (System 151); = 0,39 (System 101); = 0,43 (System 54).

*Biologische Aktivität*⁷). I zeigte in der thyreo-parathyreoidektomierten Ratte, 2 Std. nach intravenöser Injektion, in Dosen von 100 und 500 µg, eine deutliche Steigerung der Calciumkonzentration im Serum.

Dieses Resultat zeigt, dass trotz der stark verschiedenen Aminosäuresequenz von menschlichem und bovinem PTH, ähnlich wie bei letzterem [9] auch beim menschlichen Hormon ein begrenzter Teil der aminoterminalen Peptidkette zur Ausübung der hormonalen Wirkung genügt.

Für sorgfältige technische Mitarbeit danken wir Frau Y. Rudin, Frau V. von Arx und den Herren W. Beck, U. S. Fritschi, H. R. Keller und A. Stauffer.

Aminosäureanalyse, Dünnschichtchromatographien und Elektrophoresen wurden in verdankenswerter Weise in unserem Chromatographielaboratorium (Leiter: Herr E. von Arx) durch Frl. A. Grosshans und Frl. J. Keller sowie die Herren D. Faupel, A. Linder und W. Morgenthaler, durchgeführt.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. B. Brewer, Jr., T. Fairwell, R. Ronan, G. W. Sizemore & C. D. Arnaud, Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 69, 3585 (1972).
- [2] H. B. Brewer, Jr. & R. Ronan, Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 67, 1862 (1970).
- [3] H. D. Niall, H. Keutmann, R. Sauer, M. Hogan, B. Dawson, G. Aurbach & J. T. Potts, Jr., Z. physiol. Chem. 357, 1586 (1970).
- [4] J. L. H. O'Riordan, J. S. Woodhead, C. J. Robinson, J. A. Parsons, H. Keutmann, H. Niall & J. T. Potts, Jr., Proc. Roy. Soc. Med. 64, 1263 (1971).
- [5] P. Sieber & B. Iselin, Helv. 51, 622 (1968).
- [6] W. König & R. Geiger, Chem. Ber. 103, 788 (1970).
- [7] J. Honzl & J. Rudinger, Coll. Czechoslov. Chem. Commun. 26, 2333 (1961).
- [8] B. Riniker, P. Sieber, B. Kamber & W. Rittel, in Vorbereitung.
- [9] J. T. Potts, Jr., H. T. Keutmann, H. D. Niall, L. J. Deftos, H. B. Brewer, Jr., & G. D. Aurbach, in «Parathyroid Hormone and Thyrocalcitonin», R. V. Talmage & L. F. Belanger, Ed., Excerpta Medica Found., New York 1968, p. 44.

⁶) Der Gehalt eines Trp-Restes im unhydrolysierten I ergab sich aus dem UV.-Spektrum ($\lambda_{\max} = 280, 288$ nm).

⁷) Wir danken Frl. R. Kienzle und Herrn W. Pignat für diese Testierung.