

Zur Synthese von Human-Big-Gastrin I und seinem 32-Leucin-Analogen¹

1. Mitteilung: Darstellung der Teilsequenzen 28—34,
23—27, 21—22 und 15—20

Gerhard Wendlberger*, Luis Moroder, Alan Hallett
und Erich Wunsch

Abteilung für Peptidchemie, Max-Planck-Institut für Biochemie,
D-8033 Martinsried bei München, Bundesrepublik Deutschland

(Eingegangen 4. April 1979. Angenommen 24. April 1979)

The Syntheses of Human-Big-Gastrin I and Its 32-Leucine-Analogue
I. Preparation of Fragments 28-34, 23-27, 21-22 and 15-20

Human-Big-Gastrin I, a peptide hormone of 34 amino acid residues, and the 32-leucine analogue were synthesized. For this purpose six suitable peptide fragments were prepared at first, which subsequently were condensed to the total sequence. In this paper we describe the syntheses of four suitably protected peptide fragments corresponding to the sequences 28-34, 23-27, 21-22 and 15-20 of human-big-gastrin I. For the protection of the side-chain functions *tert*-butanol derived groups removable in the final step by acidolytic cleavage were used. The α -amino-functions were selectively blocked as benzyloxycarbonyl- and 2-nitrophenylsulfonyl-derivatives, respectively.

(*Keywords: Gastro-intestinal hormones; Human-Big-Gastrin; Peptide synthesis*)

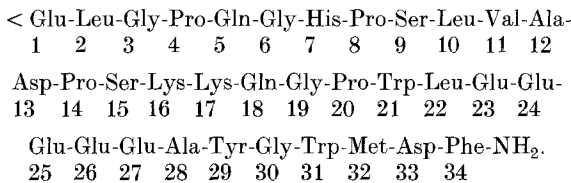
Einleitung

Seit einigen Jahren beschäftigen sich verschiedene Arbeitskreise³⁻¹² mit der Isolierung, Strukturaufklärung, Totalsynthese und der biologischen Untersuchung von Peptidwirkstoffen der „Gastrinfamilie“.

Abkürzungen: Es werden hier vorwiegend die von der IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature empfohlenen Abkürzungen für Aminosäuren und Schutzgruppen verwendet. Wegen der universellen Anwendbarkeit bedienen sich die Autoren auch der im *Houben-Weyl*² niedergelegten und eingehend erläuterten Abkürzungen. *DCCD* = *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid, *HONSu* = *N*-Hydroxysuccinimid.

Diese Wirkstoffe sind lineare Polypeptide unterschiedlicher Kettenlänge, wobei die niedermolekularen Gastrine in der Primärstruktur dem C-terminalen Sequenzbereich der höhermolekularen entsprechen. Damit läßt sich einmal mehr ein im biologischen Ablauf schon öfters beobachtetes Phänomen einer Hormonaufspaltung von Prä-pro-Hormon in Pro-Hormon, Hormon und kleinere Hormonbruchstücke bestätigen^{13, 14}.

Das am längsten bekannte Gastrin, das Human-Little-Gastrin, ist ein Heptadecapeptidamid und wurde von *Gregory* und *Tracy*³ aus dem Antrum des Magens isoliert. Es tritt in zwei Formen (Gastrin I und II) auf, die sich in Position 12 unterscheiden, wobei im Gastrin II die phenolische Hydroxygruppe des Tyrosins gegenüber I zusätzlich mit einem Sulfat-Rest verestert ist⁴⁻⁶. Der gleichen Arbeitsgruppe¹⁵ gelang zehn Jahre später die Isolierung des Human-Mini-Gastrins aus *Zollinger-Ellison*-Tumoren, das zuerst als lineares Tridecapeptidamid beschrieben, später jedoch als Tetradecapeptidamid¹⁶ identifiziert wurde. Seine Primärstruktur entspricht dem C-terminalen Sequenzbereich des Human-Little-Gastrins. Auf Grund biologischer und physikalischer Untersuchungen von Extrakten aus *Zollinger-Ellison*-Tumoren wurde seit langem auch die Existenz von Big-Gastrin und Big-Big-Gastrin postuliert. Letzteres Prä-Pro-Hormon der Gastrinreihe hat sich allerdings bislang einer Isolierung entzogen¹⁷. Das Big-Gastrin hingegen konnte 1972 von *Gregory* und *Tracy*¹⁸ aus gastrinproduzierenden Tumoren in höherer Reinheit isoliert werden; als Primärstruktur wurde gemeinsam mit *Kenner* und *Harris* vorgeschlagen^{19, 20}:



d. h. ein Tetratriacontapeptid mit linearer Anordnung der Aminosäurereste, wobei der C-terminale Teil der Sequenz die Aminosäurefolge des Human-Little-Gastrins I besitzt.

Eine erste Totalsynthese des Human-Big-Gastrins I haben wir bereits 1976 gemeinsam mit *Kenner* und Mitarb.²⁰⁻²² durchgeführt. In dieser und den folgenden Arbeiten wird eine verbesserte Synthese dieses Peptidwirkstoffes beschrieben. Gleichzeitig wurde auch die Synthese des 32-Leucin Analogons des Human-Big-Gastrins I durchgeführt. Wegen der früher beobachteten Austauschbarkeit der Methionin-durch Leucin-Reste unter Erhalt der jeweiligen vollen biologischen Aktivität⁹⁻¹¹ sollte diesem Analogon eine größere Stabilität gegenüber oxidativen Einflüssen zukommen. Dies würde auch einer Verwendung als „tracer“ für die radioimmunologische Bestimmung des Peptidwirkstoffes zugutekommen.

Letztlich wurde auch noch die N-terminale Sequenz 1—20 des Human-Big-Gastrins I bearbeitet, um die Frage der spezifischen Anti-

körperbildung sowohl gegen den C-terminalen Teil als auch den aminoendständigen Sequenzbereich klären zu können. Wegen der relativen Konzentrationsunterschiede von Big-, Little- und Mini-Gastrin im Blutplasma von gesunden oder kranken Menschen (mit Tumoren im Magen-, Darmtraktbereich) könnte deren Erfassung mittels spezifischer Radioimmunoassays für die diagnostische Früherkennung von gastrinproduzierenden Tumoren große Bedeutung haben.

Ergebnisse und Diskussion

Erster Syntheseabschnitt war die Erstellung von sechs Peptidfragmenten mit den Sequenz-Bereichen 28—34, 23—27, 21—22, 15—20, 9—14 und 1—8 der vorgeschlagenen Primärstruktur des Human-Big-Gastrins I, wobei Fragment-Auswahl und -Aufbau auf Grund unserer früheren Erfahrungen in der Synthese von Peptidnaturstoffen^{23–26} vorgenommen wurden.

Um eine Synthese des 32-Leucin-Analogons gleichzeitig mitzuziehen (siehe oben), wurden neben 2-Nitrophenylsulfenyl²⁷, 2-[Biphenyl-(4)]propyl-(2)-oxycarbonyl²⁸ und 1-Methyl-2-benzoyl-vinyl-Resten²⁹ auch die für Methionin-freien Peptide ausreichende Benzyloxycarbonyl-Maskierung als N-terminale Schutzgruppe der Fragmente benutzt.

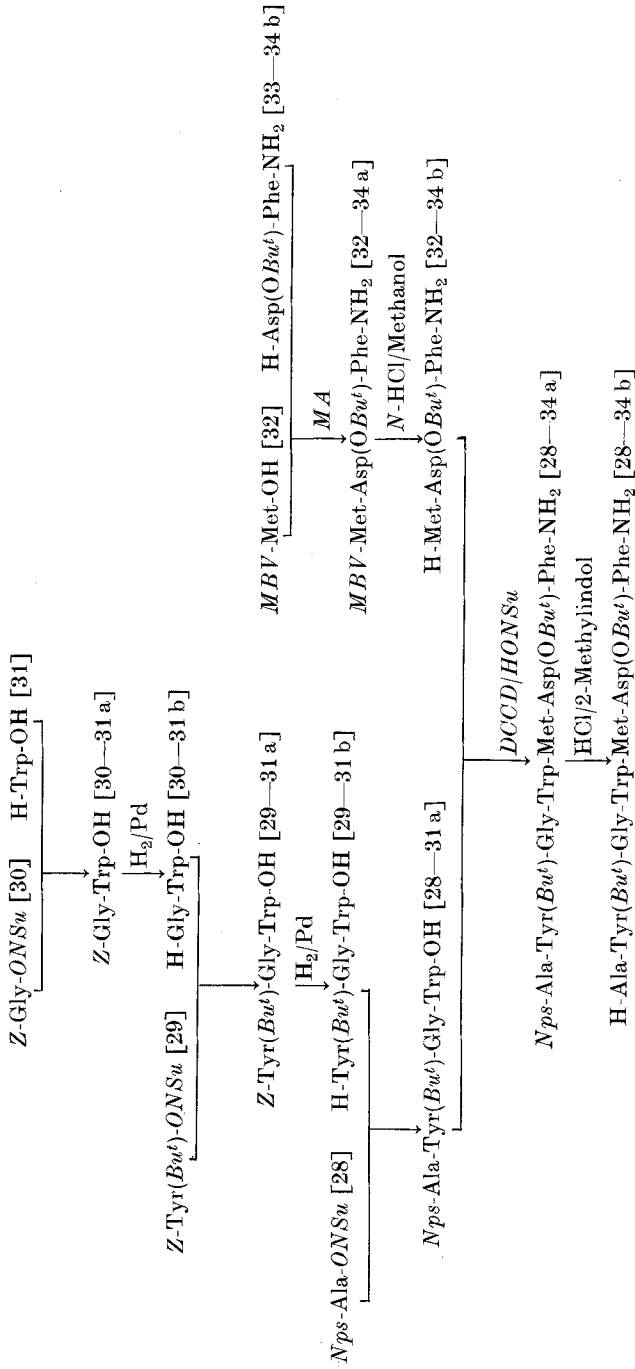
1. Teilsequenz 28—34; H-Ala-Tyr(*Bu*^t)-Gly-Trp-Met-Asp(*OBu*^t)-Phe-NH₂ (Fragment I)

Das vorliegende Teilstück [28—34 b] (Fragment I, Schema 1) wurde durch Verknüpfung zweier Unterfragmente, d. h. des Tripeptidamids [32—34 b] und des *Nps*-Tetrapeptids [28—31 a] mit Erfolg vorgenommen. Damit weicht der Aufbau des C-terminalen Endes von den bisherigen Gastrinsynthesen^{9,10} — durch die erstmals vorgenommene Verknüpfung zweier Fragmente zwischen Tryptophan und Methionin — stark ab. Eine Variation des α -Aminoschutzes durch den *Bpoc*-Rest führte dagegen nicht zum Erfolg (siehe unten).

a) H-Met-Asp(*OBu*^t)-Phe-NH₂ [32—34 b]

H-Asp(*OBu*^t)-Phe-NH₂ [33—34 b], erstmals bei unserer [15-Leucin]-Human-Gastrin-I-Synthese¹⁰ synthetisiert, wurde mit dem schon bei der Glucagonsynthese bewährten *MBV*-Met-OH [32]²⁹ nach dem Mischanhydrid-Verfahren in 86%iger Ausbeute zum [1-Methyl-2-benzoyl-vinyl]-tripeptidamid [32—34 a] umgesetzt. Der *MBV*-Rest ließ sich diesmal am günstigsten mittels 1*N*-Salzsäure in Methanol entfernen.

Schema 1. Teilsequenz 28—34 (Fragment I).



b) *Nps*-Ala-Tyr(*Bu*^t)-Gly-Trp-OH [28—31 a]

Die Umsetzung von *Z*-Gly-*ONSu* [30] mit H-Trp-OH [31] lieferte nach *Anderson et al.*³⁰ in 85%iger Ausbeute das Benzyloxycarbonyl-dipeptid [30—31 a]. Nach hydrogenolytischer Abspaltung der N-Schutzgruppe wurde das freie H-Gly-Trp-OH [30—31 b] mit *Z*-Tyr(*Bu*^t)-*ONSu* [29] zum *Z*-Tyr(*Bu*^t)-Gly-Trp-OH [29—31 a] kondensiert; die katalytische Hydrierung führte in quantitativer Ausbeute zum „aminofreien“ Tripeptid [29—31 b], das anschließend mit *Nps*-Ala-*ONSu* [28] in guter Ausbeute (78%) zum gewünschten *Nps*-Ala-Tyr(*Bu*^t)-Gly-Trp-OH [28—31 a] vereinigt werden konnte.

c) *Bpoc*-Ala-Tyr(*Bu*^t)-Gly-Trp-OH [28—31 b]

H-Tyr(*Bu*^t)-Gly-Trp-OH [29—31 b], hergestellt wie unter b) beschrieben, wurde mit *Bpoc*-Ala-*ONSu* [28] zum *Bpoc*-Ala-Tyr(*Bu*^t)-Gly-Trp-OH [28—31 b] umgesetzt (Ausb. 91%).

d) H-Ala-Tyr(*Bu*^t)-Gly-Trp-Met-Asp(*OBu*^t)-Phe-NH₂ [28—34 b]

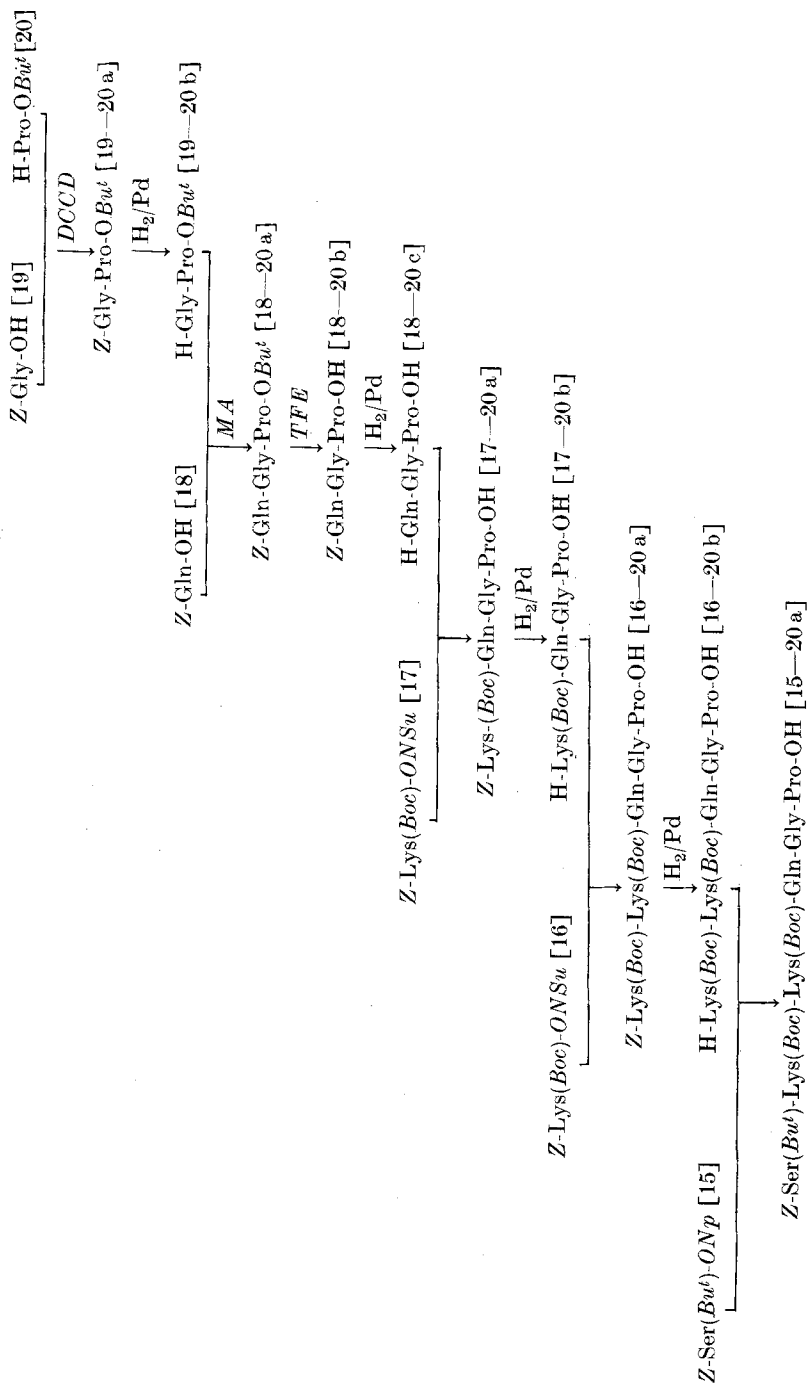
α) Die Vereinigung der beiden Teilstücke *Nps*-Ala-Tyr(*Bu*^t)-Gly-Trp-OH [28—31 a] mit H-Met-Asp(*OBu*^t)-Phe-NH₂ [32—34 b] zum *Nps*-Ala-Tyr(*Bu*^t)-Gly-Trp-Met-Asp(*OBu*^t)-Phe-NH₂ [28—34 a] gelang mittels des *DCCD*/*HONSu*-Verfahrens^{31, 32} in hoher Ausbeute (95%). Die anschließende Abspaltung des 2-Nitrophenylsulfenyl-Restes vom tryptophanhaltigen Heptapeptidamid-Derivat mit zwei Äquivalenten Chlorwasserstoff in Methanol/Dimethylformamid unter Zugabe von 20 Äquivalenten 2-Methylindol³³ verlief auch hier einwandfrei. Aus dem Reaktionsmedium konnte das gewünschte Heptapeptidamid [28—34 b] in Form seines Hydrochlorids durch einfaches Ausfällen mit Diethylether gewonnen werden.

β) Die analog vorgenommene Vereinigung des Acyltetrapeptids [28—31 b] mit H-Met-Asp(*OBu*^t)-Phe-NH₂ [32—34 b] nach dem *DCCD*/*HONSu*-Verfahren zum *Bpoc*-Ala-Tyr(*Bu*^t)-Gly-Trp-Met-Asp(*OBu*^t)-Phe-NH₂ [28—34 c] verlief mit etwas geringerer Ausbeute (78%) als die Erstellung des analogen *NPS*-Heptapeptidamid-Derivates [28—34 a]. Die Abspaltung des 2-[Biphenyl-(4)]-propyl-(2)-oxycarbonyl-Restes führte trotz umfangreicher Variation der Spaltungsbedingungen und Lösungsmittelsysteme^{23, 34} (100%ige Essigsäure; Essigsäure/Ameisensäure/Wasser [7:1:2]; 70%ige und 80%ige Monochloressigsäure/Dichlormethan [40:60] sowie mit 0,5*N*-Salzsäure in 96%igem wäßrigen Trifluorethanol bei „scheinbarem“ *pH* = 0,5 bis 1) zu einem Material, das dünnstschichtchromatographisch hauptsächlich aus zwei Komponenten bestand; dieser Weg führte deshalb nicht zum gewünschten Erfolg.

2. Teilsequenz 23—27: *Nps*-Glu(*OBu*^t)-Glu(*OBu*^t)-Glu(*OBu*^t)-
Glu(*OBu*^t)-Glu(*OBu*^t)-OH (Fragment II)

H-Glu(*OBu*^t)-Glu(*OBu*^t)-Glu(*OBu*^t)-Glu(*OBu*^t)-Glu(*OBu*^t)-OH (ein bekanntes Zwischenprodukt unserer [11-Leucin]-Human-Mini-Gastrin-I-Synthese³⁵) wurde mit 2-Nitrophenylsulfenylchlorid zum *Nps*-Pentapeptid-Derivat [23—27 a] in 77%iger Ausbeute acyliert.

Schema 2. Teilsequenz 15—20 (Fragment IV).



3. Teilsequenz 21—22: H-Trp-Leu-OH (Fragment III)

Teilsequenz H-Trp-Leu-OH [21—22 b]¹⁰ ist auf bekanntem Wege durch Aminoacylierung von Leucin mittels *Z*-Trp-*ONSu* [22] und anschließende katalytische Hydrierung des erhaltenen *Z*-Trp-Leu-OH [21—22 a] leicht zugänglich.

4. Teilsequenz 15—20: *Z*-Ser(*But*)-Lys(*Boc*)-Lys(*Boc*)-Gln-Gly-Pro-OH (Fragment IV)

Die Aminoacylierung des H-Gly-Pro-*OBu*^t [19—20 b]³⁶ mit *Z*-Gln-OH [18] lieferte nach dem „Pivalinsäure-Mischanhydrid-Verfahren“ das *Z*-Gln-Gly-Pro-*OBu*^t [18—20 a]. Anschließende Acidolyse des *tert*-Butylrestes mittels Trifluoressigsäure und Hydrogenolyse der Benzyl-oxycarbonyl-Schutzgruppe ergab H-Gln-Gly-Pro-OH [18—20 c], das sich durch zweimaliges stufenweises Ankondensieren von *Z*-Lys(*Boc*)-OH mittels *Z*-Lys(*Boc*)-*ONSu* in Position 17 und 16 und jeweils nachfolgende katalytische Hydrogenolyse in das freie Pentapeptid-Derivat [16—20 b] überführen ließ. Dieses wurde letztlich mittels *Z*-Ser(*But*)-*ONp* [15] zum angestrebten *Z*-Ser(*But*)-Lys(*Boc*)-Lys(*Boc*)-Gln-Gly-Pro-OH [15—20 a] aufgestockt (Schema 2).

Dank

Der deutschen Forschungsgemeinschaft sind wir für die Gewährung einer Sachbeihilfe [Wu 20/11] zu großem Dank verpflichtet. Unseren technischen Assistenten Herrn *H. Stocker* und Herrn *J. Musiol* danken wir für die wertvolle Mitarbeit, Fräulein *R. Scharf* für die Ausführung der Aminosäureanalysen und den Assistenten des mikroanalytischen Laboratoriums unter Leitung von Dr. *P. Thamm* für die Durchführung der Elementaranalysen.

Experimenteller Teil

Die Schmelzpunkte wurden in offenen Kapillaren im Schmelzpunktapparat nach Dr. *Tottoli* bestimmt; sie sind nicht korrigiert. Die Drehwerte wurden im lichtelektrischen Polarimeter von Perkin-Elmer, Modell 241 MC, ermittelt. Der chromatographische Reinheitstest der Zwischen- und Endprodukte erfolgte in der Dünnschichtchromatographie auf DC-Fertigplatten Kieselgel 60 der Fa. E. Merck, Darmstadt. Die Aminosäureanalysen wurden nach saurer Hydrolyse mit 6*M*-HCl (20 h) am Amino Acid Analyzer der Firma Beckmann Instruments (Modell 120 B mit Digital-Integrator bzw. Multichrom B) ausgewertet, die CHN-Analysen mittels des „Elemental Analyzers“ Perkin Elmer 240 bestimmt. Die Aminosäuren wurden von der Fa. Fluka AG, Buchs/Schweiz bezogen.

Die in dieser Arbeit verwendeten Aminosäure-Derivate wurden nach bekannten Vorschriften² hergestellt.

[1-Methyl-2-benzoyl-vinyl]-L-methionyl-L-asparagyl
(β -tert-butylester)-L-phenylalaninamid [32—34 a]

Zu 13 g MBV-Met-OH [32], (hergestellt aus dem entsprechenden Kaliumsalz²⁹ mittels Essigsäure) und 6,16 ml Triethylamin in 200 ml THF werden bei -15°C unter Rühren 4,2 ml Chlorameisensäureethylester getropft. Nach 5 min fügt man bei -10°C eine Lösung von 13,4 g H-Asp(OBu^t)-Phe-NH₂ [33—34 b] in 200 ml THF zu. Das Reaktionsgemisch wird 2 h gerührt und 14 h bei Raumtemp. stengelassen. Der nach Eindampfen im Vak. erhaltene Rückstand wird zwischen Essigester und Wasser verteilt, die abgetrennte organische Phase nacheinander mit 5proz. Kaliumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wird das Lösungsmittel im Vak. abgedampft. Der Rückstand kristallisiert aus Methanol/Wasser. Schmp. $192\text{--}193^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: $+57,2^{\circ}$ bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: $+77,3^{\circ}$ ($c = 1$, in Methanol). Chromatographisch rein in *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser/Pyridin (60:6:24:20) und Amylalkohol/Pyridin/Wasser (35:35:30); Ausb. 19 g (78% d. Th.).

$\text{C}_{32}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$ (610,78). Ber. C 62,92, H 6,93, N 9,17, S 5,25.
Gef. C 63,07, H 7,06, N 9,04, S 5,13.

L-Methionyl-L-asparagyl(β -tert-butylester)-L-phenylalaninamid [32—34 b]

Zu einer Suspension von 18,3 g MBV-Met-Asp(OBu^t)-Phe-NH₂ [32—34 a] in 250 ml Methanol werden unter Rühren 32 ml 1N-Salzsäure gegeben. Nach 20 h tritt klare Lösung ein, nach weiteren 48 h wird das Lösungsmittel im Vak. abgedampft. Der verbleibende Rückstand wird zwischen Wasser und Ether verteilt, die abgetrennte Wasserphase noch zweimal mit Ether gewaschen. Zur wäßrigen Lösung wird unter Rühren 1N-Natronlauge bis pH 8 gegeben. Der gebildete Niederschlag wird abfiltriert, mehrmals mit Wasser, letztlich mit Ether gewaschen und im Vak. über P₄O₁₀ getrocknet. Schmp. $152\text{--}153^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: $-28,0^{\circ}$ bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: $-33,9^{\circ}$ ($c = 1$, Methanol). Chromatographisch rein in *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser/Pyridin (60:6:24:20). Ausb. 12,9 g (92% d. Th.).

$\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$ (466,60). Ber. C 56,63, H 7,34, N 12,00, S 6,87.
Gef. C 56,87, H 7,43, N 11,94, S 6,86.

Aminosäureanalyse:	Met	Asp	Phe
Ber.	1	1	1
Gef.	1,04	0,97	0,99

Benzylloxycarbonyl-glycyl-L-tryptophan [30—31 a]

124 g H-Trp-OH [31] werden in einem Gemisch von 300 ml Dioxan und 600 ml 1N-Natronlauge gelöst, mit 92 g Z-Gly-ONSu [30] versetzt und 48 h bei Raumtemp. gerührt. Danach wird das Dioxan im Vak. entfernt, der Rückstand mit Essigester überschichtet, die Reaktionsmischung mit 2N-Schwefelsäure angesäuert und vom unlöslichen Material abfiltriert. Die abgetrennte Essigesterphase wird mit Wasser neutral gewaschen, im Vak. konzentriert und mit Petrolether versetzt; Kristalle vom Schmp. $136\text{--}137^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: $+32,8^{\circ}$ bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: $+39,8^{\circ}$ ($c = 1$, in Ethanol). Chromatographisch rein in *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser (3:1:1) und Cyclohexan/Chloroform/Essigsäure (45:45:10). Ausb. 100 g (86% d. Th.), [Lit.³⁰: Schmp. $142\text{--}143^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: $+32,9^{\circ}$ ($c = 2,3$ in Ethanol), Ausb. 70% d. Th.].

$\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_5$ (395,4). Ber. C 63,79, H 5,35, N 10,63.
Gef. C 63,62, H 5,37, N 10,60.

Glycyl-L-tryptophan-hemihydrat [30—31 b]

98 g *Z*-Gly-Trp-OH [30—31 a] in 800 ml Methanol/Wasser (3:1) werden nach Zusatz von Palladium-Schwarz hydrogenolytisch entacyliert. Das vom Katalysator befreite Filtrat wird im Vak. eingedampft und der Rückstand aus Methanol/Wasser kristallisiert. $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: +34,4° bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: +42,2° ($c = 1$, in 80proz. Essigsäure). Chromatographisch rein in *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser (3:1:1). Ausb. 61 g (91% d. Th.). [Lit.³⁷: $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: +29,7° ($c = 1$, in 5*N*-HCl)].

$\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_3 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$ (270,3). Ber. C 57,77, H 5,96, N 15,55.
Gef. C 57,80, H 5,97, N 15,59.

Benzyloxycarbonyl-O-tert-butyl-L-tyrosyl-glycyl-L-tryptophan [29—31 a]

60 g H-Gly-Trp-OH $\cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$ [30—31 b] in 220 ml 1*N*-Natronlauge werden mit einer Lösung von 108 g *Z*-Tyr(*But*)-*ONSu* [29] in 800 ml Dioxan versetzt und 36 h bei Raumtemp. gerührt. Der nach Entfernen des Dioxans im Vak. erhaltene Rückstand wird mit Essigester überschichtet, die erhaltene Lösung mit 1*N*-Schwefelsäure angesäuert, die Essigesterphase mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vak. eingedampft.

Das zurückgebliebene Material wird aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Schmp. 110°C; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: +12,9° bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: +15,8° ($c = 1$, in 80proz. Essigsäure). Chromatographisch rein in *n*-Heptan/*tert*-Butanol/Essigsäure (3:1:1) und Cyclohexan/Chloroform/Essigsäure (45:45:10). Ausb. 121 g (89% d. Th.).

$\text{C}_{34}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_7$ (614,7). Ber. C 66,43, H 6,23, N 9,11.
Gef. C 66,26, H 6,09, N 8,98.

O-tert-Butyl-L-tyrosyl-glycyl-L-tryptophan [29—31 b]

120 g *Z*-Tyr-(*But*)-Gly-Trp-OH [29—31 a] werden in 1 500 ml 80proz. Essigsäure in Gegenwart von Palladium-Schwarz katalytisch hydriert. Nach Entfernen des Katalysators wird das Filtrat im Vak. eingedampft, der Rückstand mit Ether digeriert und abfiltriert. $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: +58,0° bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: +69,3° ($c = 1$, in 80proz. Essigsäure). Chromatographisch rein in *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser (3:1:1) und *n*-Heptan/*tert*-Butanol/Essigsäure (3:1:1). Ausb. 89 g (95% d. Th.).

$\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_5$ (480,6). Ber. C 64,98, H 6,71, N 11,66.
Gef. C 64,68, H 6,66, N 11,49.

2-Nitrophenylsulfenyl-L-alanyl-O-tert-butyl-L-tyrosyl-glycyl-L-tryptophan [28—31 a]

Zu 9,6 g H-Tyr-(*But*)-Gly-Trp-OH [29—31 b] in 400 ml Dioxan/Wasser (1:1), 20 ml 1*N*-Natronlauge und 1,68 g Natriumhydrogencarbonat gibt man unter Eiswasserkühlung 7,65 g *Nps*-Ala-*ONSu* [28], rührt 4 h bei 10°C und weitere 15 h bei Raumtemp. Danach wird das Dioxan im Vak. entfernt, der Rückstand zweimal mit Essigester extrahiert und die zurückgebliebene wäßrige Phase zwischen Essigester und 0,5*N*-Schwefelsäure verteilt. Nach Waschen der Essigester-Lösung mit 0,5*N*-Schwefelsäure und Wasser entfernt man das Lösungsmittel im Vak. und läßt das erhaltene Material aus Essigester/Ether kristallisieren. Schmp. 132—134°C; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: -14,9° bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: -10° ($c = 1$, in *DMF*) oder $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: -23,8° bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: -21° ($c = 1$, in Methanol). Chro-

matographisch rein in *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser (3:1:1) und Amylalkohol/Pyridin/Wasser (35:35:30). Ausb. 10,9 g (78% d. Th.).

$C_{35}H_{40}N_6O_8S$ (704,8). Ber. C 59,65, H 5,72, N 11,92, S 4,55.
Gef. C 59,54, H 6,02, N 11,67, S 4,49.

2-Nitrophenylsulfenyl-L-alanyl-O-tert-butyl-L-tyrosyl-glycyl-L-tryptophyl-L-methionyl-L-asparagyl(β-tert-butylester)-L-phenylalaninamid [28—34 a]

Zu einer Lösung von 10 g *Nps*-Ala-Tyr(*But*^t)-Gly-Trp-OH [28—31 a], 5,6 g H-Met-Asp(*OBu*^t)-Phe-NH₂ [32—34 b] und 1,75 g *HONSu* in 200 ml *DMF* gibt man bei — 10°C 3,09 g *DCCD*, rührt 15 h bei 5°C und anschließend 24 h bei Raumtemp. Danach wird auf — 15°C abgekühlt, die Reaktionsmischung durch Filtration vom *N,N'*-Dicyclohexylharnstoff befreit und das Lösungsmittel im Hochvak. entfernt. Der erhaltene Rückstand wird mehrmals mit heißem Methanol behandelt, mit Ether gewaschen und im Hochvak. bei 60°C getrocknet. Schmp. 215—216°C; $[\alpha]_D^{20}$: — 18,8° bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: — 12,7° (*c* = 0,5, in Trifluorethanol). Chromatographisch rein in *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser (3:1:1) und Amylalkohol/Pyridin/Wasser (35:35:30). Ausb. 13,15 g (95% d. Th.).

$C_{57}H_{72}N_{10}O_{12}S_2$ (1153,4). Ber. C 59,36, H 6,29, N 12,14, S 5,56.
Gef. C 59,57, H 6,53, N 12,12, S 5,63.

L-Alanyl-O-tert-butyl-L-tyrosyl-glycyl-L-tryptophyl-L-methionyl-L-asparagyl-(β-tert-butylester)-L-phenylalaninamid-hydrochlorid [28—34 b]

5,8 g *Nps*-Ala-Tyr(*But*^t)-Gly-Trp-Met-Asp(*OBu*^t)-Phe-NH₂ [28—34 a] werden in 75 ml *DMF* gelöst, 7,9 g 2-Methylindol zugesetzt und anschließend unter Eiswasserkühlung und Rühren innerhalb 45 min 3,47 ml (3,16 *N*) methanolischer Chlorwasserstoff zugetropft. Nach weiteren 30 min Rühren bei Raumtemp. wird das Reaktionsgemisch in 1200 ml Ether eingerührt, der entstandene Niederschlag abfiltriert und mehrere Male mit Ether gewaschen. $[\alpha]_D^{20}$: — 77,5° bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: — 92,8° (*c* = 1, in *DMF*). Chromatographisch rein in *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser (3:1:1). Ausb. 4,9 g (95% d. Th.).

$C_{51}H_{69}N_9O_{10}S \cdot HCl$ (1036,7). Ber. C 59,09, H 6,81, N 12,16, S 3,09, Cl 3,42.
Gef. C 59,00, H 6,97, N 12,01, S 3,04, Cl 3,45.

Aminosäureanalyse:

	Asp	Gly	Ala	Met	Tyr	Phe
Ber.	1	1	1	1	1	1
Gef.	0,98	0,99	1,01	0,98	1,01	1,00

2-[Biphenyl-(4)]-propyl-(2)-oxycarbonyl-L-alanyl-O-tert-butyl-L-tyrosyl-glycyl-L-tryptophan [28—31 b]

17 g H-Tyr(*But*^t)-Gly-Trp-OH [29—31 b] werden mit 36 ml 1*N*-Natronlauge in 400 ml Dioxan gelöst und mit *Bpoc*-Ala-*ONSu* [28 a] versetzt. Nach 24 h Rühren beim Raumtemp. wird das Lösungsmittel im Vak. abdestilliert, der Rückstand zwischen Essigester und Kaliumhydrogensulfat-Lösung verteilt und die abgetrennte Essigesterphase mehrmals mit Wasser gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wird das Lösungsmittel im Vak. entfernt und der Rückstand aus Essigester/Petrolether umgefällt. Schmp. 108°C (Zers.); $[\alpha]_D^{20}$:

— 14,8° bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: — 17,4° ($c = 1$, *DMF*). Chromatographisch rein in Dioxan/Wasser (9:1) und Chloroform/Methanol (3:1). Ausb. 26 g (91% d. Th.).

$C_{45}H_{51}N_5O_8$ (789,9). Ber. C 68,42, H 6,51, N 8,87.
Gef. C 68,60, H 6,80, N 8,57.

2-[Biphenyl-(4)]-propyl-(2)-oxycarbonyl-L-alanyl-O-tert-butyl-L-tyrosyl-glycyl-L-tryptophyl-L-methionyl-L-asparagyl(β -tert-butylester)-L-phenylalaninamid [28—34 c]

11,7 g H-Met-Asp(*OBu^t*)-Phe-NH₂ [32—34 b], 21,7 g *Bpoc*-Ala-Tyr(*But*)-Gly-Trp-OH [28—31 b] und 2,9 g *HONSu* werden in 400 ml *DMF* gelöst, auf 0°C abgekühlt und mit 5,15 g *DCCD* versetzt. Nach 10 h Rühren bei 4°C und 15 h Rühren bei Raumtemp. wird vom ausgefallenen Dicyclohexylharnstoff abfiltriert. Das Filtrat wird im Hochvak. eingedampft, der ölige Rückstand in Essigester gelöst und mit Petrolether versetzt. Der gebildete Niederschlag wird auf die Nutsche gebracht und anschließend aus Methanol umkristallisiert. Schmp. 196°C (Zers.); $[\alpha]_D^{20}$: — 25,4° bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: — 29,9° ($c = 1$, *DMF*). Chromatographisch rein in *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser (3:1:1) und Chloroform/Methanol (5:1). Ausb. 24 g (78% d. Th.).

$C_{67}H_{83}N_9O_{12}S$ (1238,5). Ber. C 64,98, H 6,75, N 10,17, S 2,59.
Gef. C 65,10, H 6,86, N 10,25, S 2,62.

2-Nitrophenylsulfenyl-L-glutamyl(γ -tert-butylester)-L-glutamyl(γ -tert-butylester)-L-glutamyl(γ -tert-butylester)-L-glutamyl(γ -tert-butylester)-L-glutaminsäure(γ -tert-butylester) [23—27 a]

7,6 g H-Glu(*OBu^t*)-Glu(*OBu^t*)-Glu(*OBu^t*)-Glu(*OBu^t*)-Glu(*OBu^t*)-OH [23—27]³⁵ in 200 ml *DMF* und 1,13 ml Triethylamin werden unter Rühren bei Raumtemp. während 30 min mit 2,26 g 2-Nitrophenylsulfenylchlorid und 1,68 ml Triethylamin versetzt. Man rührt weitere 12 h bei 20°C, entfernt das Lösungsmittel im Hochvak. und verteilt den Rückstand zwischen Essigester und verd. Zitronensäure-Lösung. Die organische Phase wird mit Wasser gewaschen über Natriumsulfat getrocknet, im Vak. zur Trockene gebracht und der Rückstand aus Essigester/Ether umgefällt. Schmp. 160—162°C; $[\alpha]_D^{20}$: — 16,8° bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: — 15,6° ($c = 1$, in *DMF*). Chromatographisch rein in *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser/Pyridin (60:6:24:20), Cyclohexan/Chloroform/Essigsäure (45:45:10) und *n*-Heptan/*tert*-Butanol/Pyridin (2:1:1). Ausb. 6,8 g (77% d. Th.).

$C_{51}H_{80}O_{18}N_6S$ (1097,3). Ber. C 55,82, H 7,35, N 7,66, S 2,92.
Gef. C 55,85, H 7,39, N 7,65, S 2,89.

Glycyl-L-prolin-*tert*-butylester-hydrochlorid [19—20 b]

72 g *Z*-Gly-Pro-*OBu^t* [19—20 a]³⁶ in 1000 ml Methanol/Wasser (9:1) werden in Gegenwart von Palladium-Schwarz unter Zutropfen von 195 ml 1*N*-Salzsäure bei *pH* 4,5—5,0 hydriert. Nach zwei Tagen wird die vom Katalysator befreite Lösung im Vak. eingedampft und der Rückstand aus Methanol/Ether umgefällt. Schmp. 162—162,5°C; $[\alpha]_D^{20}$: — 91,9° bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: — 109,4° ($c = 1$, in Methanol). Chromatographisch rein in *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser (3:1:1) und *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser/Pyridin (60:6:24:20). Ausb. 49,6 g (94% d. Th.).

$C_{11}H_{20}N_2O_3 \cdot HCl$ (264,75). Ber. C 49,90, H 7,99, N 10,58, Cl 13,39.
Gef. C 49,91, H 8,09, N 10,61, Cl 13,36.

Benzylloxycarbonyl-L-glutaminyl-glycyl-L-prolin-tert-butylester
[18—20 a]

30 g Z-Gln-OH [18] und 11,8 ml *N*-Methylmorpholin in 500 ml absol. *THF* werden bei -10°C unter Rühren mit 12,8 ml Pivaloylchlorid versetzt. Nach 5 min fügt man der Reaktionsmischung 25,8 g H-Gly-Pro-*OBu*^t·HCl [19—20 b] und 10,7 ml *N*-Methylmorpholin hinzu, rührt 2 h bei -10°C und läßt dann die Temp. auf 20°C ansteigen. Nach weiteren 15 h wird vom unlöslichen Material abfiltriert, das Filtrat im Vak. eingedampft und der Rückstand zwischen Essigester und Wasser verteilt. Die Essigesterphase wird mit 5proz. Kaliumhydrogensulfat-, 5proz. Natriumhydrogencarbonat-Lösung sowie mit ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Die Essigesterlösung wird im Vak. eingedampft und der erhaltene Rückstand aus Methanol/Ether kristallisiert. Schmp. $158,5\text{—}159^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: $-78,3^{\circ}$ bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: $-93,2^{\circ}$ ($c = 1$, in Methanol). Chromatographisch rein in *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser (3:1:1) und *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser/Pyridin (60:6:24:20). Ausb. 35,5 g (74% d. Th.).

$\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_7$ (490,6). Ber. C 58,76, H 6,99, N 11,42.
Gef. C 58,74, H 7,04, N 11,40.

Benzylloxycarbonyl-L-glutaminyl-glycyl-L-prolin [18—20 b]

60,73 g Z-Gln-Gly-Pro-*OBu*^t [18—20 a] werden mit 90 ml Trifluoressigsäure übergossen, die Reaktionsmischung 90 min bei Raumtemp. aufbewahrt und dann in viel Ether eingerührt. Der gebildete Niederschlag wird abfiltriert, mit Ether gut gewaschen und getrocknet. $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: $-68,1^{\circ}$ bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: $-81,2^{\circ}$ ($c = 1$, in Methanol). Chromatographisch rein in *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser (3:1:1) und *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser/Pyridin (60:6:24:20). Ausb. 52,7 g (98% d. Th.).

$\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_7$ (434,4). Ber. C 55,29, H 6,03, N 12,90.
Gef. C 55,60, H 6,07, N 12,75.

L-Glutaminyl-glycyl-L-prolin [18—20 c]

52,5 g Z-Gln-Gly-Pro-OH [18—20 b] in 1000 ml Methanol/Wasser (9:1) werden unter Zusatz von Palladium-Schwarz hydrogenolytisch entacetyliert. Anschließend wird die vom Katalysator befreite Lösung im Vak. eingedampft, das erhaltene Material mit Ether digeriert und getrocknet. $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: $-32,0^{\circ}$ bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: $-38,3^{\circ}$ ($c = 1$, in Wasser). Chromatographisch rein in *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser (3:1:1) und *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser/Pyridin (60:6:24:20). Ausb. 35,6 g (98% d. Th.).

$\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_5$ (300,3).

Aminosäureanalyse:	Glu	Pro	Gly
Ber.	1	1	1
Gef.	0,98	1,02	1,00

N^α-Benzylloxycarbonyl-N^ε-tert-butylloxycarbonyl-L-lysyl-L-glutaminyl-glycyl-L-prolin [17—20 a]

35,4 g H-Gln-Gly-Pro-OH [18—20 c], 16,5 ml Triethylamin und 61,92 g Z-Lys(Boc)-*ONSu* [17] werden in 350 ml *DMF* drei Tage bei Raumtemp. und nach Zusatz von 3.1 ml *N*-(2-Aminoethyl)-piperazin noch weitere 6 h gerührt.

Danach wird das Lösungsmittel im Vak. entfernt, der Rückstand zwischen Essigester und 5proz. Kaliumhydrogensulfat-Lösung verteilt, die Essigester-Lösung mit Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das nach Abdestillieren des Lösungsmittels erhaltene Produkt wird zweimal aus Methanol/Ether und letztlich aus Methanol/Essigester umgefällt. Schmp. 140—141 °C; $[\alpha]_D^{20}$: —57,8° bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: —68,9° ($c = 1$, in Methanol). Chromatographisch rein in *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser (3:1:1) und *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser/Pyridin (60:6:24:20). Ausb. 57,7 g (74% d. Th.).

$C_{31}H_{46}N_6O_{10}$ (662,7). Ber. C 56,18, H 7,00, N 12,67.
Gef. C 56,34, H 7,44, N 12,60.

N^ε-tert-Butyloxycarbonyl-L-lysyl-L-glutaminyl-glycyl-L-prolin [17—20 b]

57,3 g *Z*-Lys(*Boc*)-Gln-Gly-OH [17—20 a] werden in 1000 ml Methanol/Wasser (9:1) gelöst und in Gegenwart von Palladium-Schwarz hydriert. Nach Abfiltrieren des Katalysators wird das Lösungsmittel im Vak. entfernt, das hinterbliebene Öl mit Ethanol/Ether behandelt, der gebildete Niederschlag abfiltriert, mit Ether gewaschen und getrocknet. Schmp. 168—171 °C; $[\alpha]_D^{20}$: —53,6° bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: —64,0° ($c = 1$, in Wasser). Chromatographisch rein in *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser (3:1:1) und *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser/Pyridin (60:6:24:20). Ausb. 44,31 g (97% d. Th.).

$C_{23}H_{40}N_6O_8$ (528,6). Ber. C 52,26, H 7,63, N 15,90.
Gef. C 51,93, H 7,68, N 15,80.

N^ε-Benzoyloxycarbonyl-N^ε-tert-butyloxycarbonyl-L-lysyl-N^ε-tert-butyl-oxycarbonyl-L-lysyl-L-glutaminyl-glycyl-L-prolin [16—20 a]

40,5 g *H*-Lys(*Boc*)-Gln-Gly-Pro-OH [17—20 b] werden zusammen mit 10,73 ml Triethylamin in 300 ml *DMF* gelöst, dazu 38,42 g *Z*-Lys(*Boc*)-*ONSu* [16] gegeben und die Reaktionslösung 48 h bei Raumtemp. gerührt. Danach entfernt man das Lösungsmittel im Vak., verteilt den Rückstand zwischen Chloroform und 5proz. Kaliumhydrogensulfat-Lösung, wäscht die organische Phase mit Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung und bringt im Vak. zur Trockene. Das aus Methanol/Ether erhaltene Produkt wird nochmals aus Methanol/Essigester umgefällt. Schmp. 166—170 °C; $[\alpha]_D^{20}$: —50,9° bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: —60,7° ($c = 1$, in Methanol). Chromatographisch rein in *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser (3:1:1) und *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser/Pyridin (60:6:24:20). Ausb. 62,4 g (91% d. Th.).

$C_{42}H_{66}N_8O_{13}$ (891,0). Ber. C 56,62, H 7,47, N 12,58.
Gef. C 56,72, H 7,51, N 12,63.

N^ε-tert-Butyloxycarbonyl-L-lysyl-N^ε-tert-butyloxycarbonyl-L-lysyl-L-glutaminyl-glycyl-L-prolin [16—20 b]

60,65 g *Z*-Lys(*Boc*)-Lys(*Boc*)-Gln-Gly-Pro-OH [16—20 a] werden in 1000 ml Methanol/Wasser (9:1) der katalytischen Hydrogenolyse mittels Palladium-Schwarz unterworfen. Die vom Katalysator abfiltrierte Lösung wird im Vak. eingedampft und der Rückstand aus Isopropanol/Wasser kristallisiert. Schmp. 186—187 °C; $[\alpha]_D^{20}$: —47,3° bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: —56,6° ($c = 1$, in Wasser). Chro-

matographisch rein in *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser (3:1:1) und *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser/Pyridin (60:6:24:20). Ausb. 45,95 g (89% d. Th.).

$C_{34}H_{60}N_8O_{11}$ (756,9). Ber. C 53,95, H 7,99, N 14,80.
Gef. C 53,78, H 8,21, N 14,44.

N-Benzoyloxycarbonyl-*O*-*tert*-butyl-*L*-seryl-*N*^ε-*tert*-butyloxycarbonyl-*L*-lysyl-*N*^ε-*tert*-butyloxycarbonyl-*L*-lysyl-*L*-glutaminyl-glycyl-*L*-prolin [15—20 a]

38,1 g H-Lys(*Boc*)-Lys(*Boc*)-Gln-Gly-Pro-OH [16—20 b], 7,04 ml Triethylamin und 4,05 ml Pyridin werden in 300 ml *DMF* gelöst, 23,05 g *Z*-Ser(*But*)-*ONp* [15] zugesetzt und die Lösung drei Tage bei Raumtemp. gerührt. Danach wird die Reaktionslösung im Vak. konzentriert, mit 200 ml Chloroform verdünnt, mit 5proz. Kaliumhydrogensulfat-Lösung und Wasser gewaschen und nach Trocknen über Natriumsulfat das Lösungsmittel im Vak. entfernt. Das zurückgebliebene Material wird zweimal aus Methanol/Essigester und zuletzt aus Methanol/Wasser umgefällt. $[\alpha]_D^{20}$: $-29,2^\circ$ bzw. $[\alpha]_{546}^{20}$: $-35,3^\circ$ ($c = 1$, in *DMF*). Chromatographisch rein in *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser (3:1:1) und *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser/Pyridin (60:6:24:20). Ausb. 46,03 g (88% d. Th.).

$C_{49}H_{79}N_9O_{15}$ (1034,2). Ber. C 56,91, H 7,70, N 12,19.
Gef. C 56,63, H 8,03, N 12,12.

Aminosäureanalyse:	Lys	Ser	Glu	Pro	Gly
Ber.	2	1	1	1	1
Gef.	1,95	1,03	1,00	0,99	1,00

Literatur

- 1 Vorläufige Mitteilung: E. Wünsch, G. Wendlberger, A. Hallett, E. Jaeger, S. Knof, L. Moroder, R. Scharf, I. Schmidt, P. Thamm und L. Wilschowitz, *Z. Naturforsch.* **32 c**, 495 (1977).
- 2 Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Bd. XV (E. Wünsch, Hrsg.). Stuttgart: G. Thieme. 1974.
- 3 R. A. Gregory und H. J. Tracy, *Gut* **5**, 103 (1964).
- 4 H. J. Tracy und R. A. Gregory, *Nature* (London) **204**, 935 (1964).
- 5 R. A. Gregory, P. M. Hardy, D. S. Jones, G. W. Kenner und R. C. Sheppard, *Nature* (London) **204**, 931 (1964).
- 6 R. A. Gregory, H. J. Tracy und M. I. Grossman, *Nature* (London) **209**, 583 (1966).
- 7 J. S. Morley und J. M. Smith, *J. Chem. Soc.* **1968**, 726.
- 8 J. S. Morley, H. J. Tracy und R. A. Gregory, *Nature* (London) **207**, 1356 (1965).
- 9 G. W. Kenner, J. J. Mendive und R. C. Sheppard, *J. Chem. Soc.* **1968**, 761.
- 10 E. Wünsch und K. H. Deimer, Hoppe-Seyler's *Z. Physiol. Chem.* **353**, 1246 (1972).
- 11 B. Konz, F. Holle, E. Wünsch, K. Kissler und E. Leimer, *Z. Gastroent.* **9**, 413 (1971).
- 12 J. F. Rehfeld und F. Stadil, *Gut* **14**, 369 (1973).
- 13 S. J. Chan, P. Keim und D. F. Steiner, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **73**, 1964 (1976).
- 14 B. Kemper, J. F. Habener, M. D. Ernst, J. T. Potts, jr., und A. Rich, *Biochemistry* **15**, 15 (1976).

- ¹⁵ R. A. Gregory und H. J. Tracy, *Gut* **15**, 683 (1974).
- ¹⁶ R. A. Gregory, H. J. Tracy, I. Harris, M. J. Runswick, S. Moore, G. W. Kenner und R. Ramage, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **360**, 73 (1979).
- ¹⁷ R. S. Yalow und E. Straus, in: Symposium on Hormonal Receptors in Digestive Tract Physiology (*S. Bonfils, P. Fromageot und G. Rosselin*, Hrsg.), S. 79. Amsterdam: North Holland Publ. Co. 1977.
- ¹⁸ R. A. Gregory und H. J. Tracy, *Lancet* **2**, 797 (1972).
- ¹⁹ R. A. Gregory und H. J. Tracy, in: Gastrointestinal Hormones (*J. C. Thomson*, Hrsg.), S. 13. Austin: University of Texas Press. 1975.
- ²⁰ A. M. Choudhury, G. W. Kenner, S. Moore, R. Ramage, P. M. Richards, W. D. Thorpe, L. Moroder, G. Wendlberger und E. Wünsch, in: Peptides 1976 (*A. Loffet*, Hrsg.), S. 257. Editions de l'Universite de Bruxelles. 1976.
- ²¹ G. W. Kenner, *Biochem. Soc. Meeting*, Edinburgh, 1975.
- ²² E. Wünsch, *Z. Gastroent.* **14**, 116 (1976).
- ²³ E. Wünsch, G. Wendlberger und K. H. Deimer, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **357**, 447 (1976).
- ²⁴ E. Wünsch, G. Wendlberger und H. Stocker, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **357**, 459 (1976).
- ²⁵ E. Wünsch und G. Wendlberger, *Chem. Ber.* **101**, 3659 (1968).
- ²⁶ E. Wünsch und G. Wendlberger, *Chem. Ber.* **105**, 2508 (1972).
- ²⁷ L. Zervas, D. Borovas und E. Grazis, *J. Amer. Chem. Soc.* **85**, 3660 (1963).
- ²⁸ P. Sieber und B. Iselin, *Helv. Chim. Acta* **51**, 622 (1968).
- ²⁹ E. Wünsch, F. Drees und J. Jentsch, *Chem. Ber.* **98**, 803 (1965).
- ³⁰ G. W. Anderson, J. E. Zimmerman und F. M. Callahan, *J. Amer. Chem. Soc.* **86**, 1839 (1964).
- ³¹ E. Wünsch und F. Drees, *Chem. Ber.* **99**, 110 (1966).
- ³² F. Weygand, D. Hoffmann und E. Wünsch, *Z. Naturforsch.* **21 b**, 426 (1966).
- ³³ E. Wünsch und F. Drees, *Chem. Ber.* **100**, 816 (1967).
- ³⁴ B. Riniker, B. Kamber und P. Sieber, *Helv. Chim. Acta* **58**, 1086 (1975).
- ³⁵ L. Moroder, F. Drees, E. Jaeger und E. Wünsch, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **359**, 147 (1978).
- ³⁶ K. L. Agarwal, G. W. Kenner und R. C. Sheppard, *J. Chem. Soc.* **1969**, 2213.
- ³⁷ E. Wünsch und R. Spangenberg, *Chem. Ber.* **104**, 2427 (1971).