

140. Synthese hochwirksamer Oktapeptide mit der vermutlichen Aminosäuresequenz des noch unbekanntem Hypertensins II aus Rinderserum (Val⁵-Hypertensin II und Val⁵-Hypertensin II-Asp-β-amid)

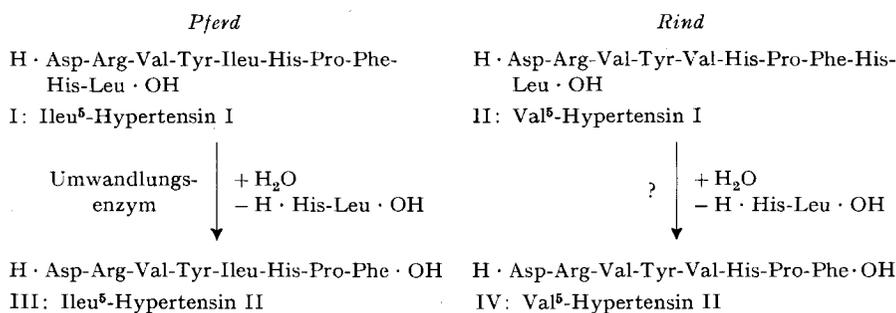
von R. Schwyzer, B. Iselin, H. Kappeler, B. Riniker,
W. Rittel und H. Zuber

(6. VI. 58)

Aus Pferde- bzw. Rinderserum konnten nach Einwirkung des Enzyms Renin (aus Niere) zwei Dekapeptide isoliert werden¹⁾, welche *in vivo* ausserordentlich stark blutdrucksteigernd wirken. Die beiden Verbindungen unterscheiden sich artspezifisch durch die Natur des 5. Aminosäurerestes (vom Aminoende her gezählt) und können als Ileu⁵-Hypertensin I (Pferd, Formel I) und Val⁵-Hypertensin I (Rind, Formel II) bezeichnet werden. SKEGGS und Mitarbeiter²⁾ konnten nachweisen, dass aus dem Dekapeptid Ileu⁵-Hypertensin I durch Einwirkung des im Plasma vorhandenen «Umwandlungszyms» das Oktapeptid Ileu⁵-Hypertensin II (Formel III) entsteht. Diese Verbindung soll der eigentliche Wirkstoff sein, da sie allein (und nicht das Dekapeptid) *in vitro* isolierte Gefässe zur Kontraktion anregt.

Es ist anzunehmen, dass beim Rind ähnliche Verhältnisse bestehen, obwohl das entsprechende Oktapeptid Val⁵-Hypertensin II (Formel IV) noch nicht isoliert wurde.

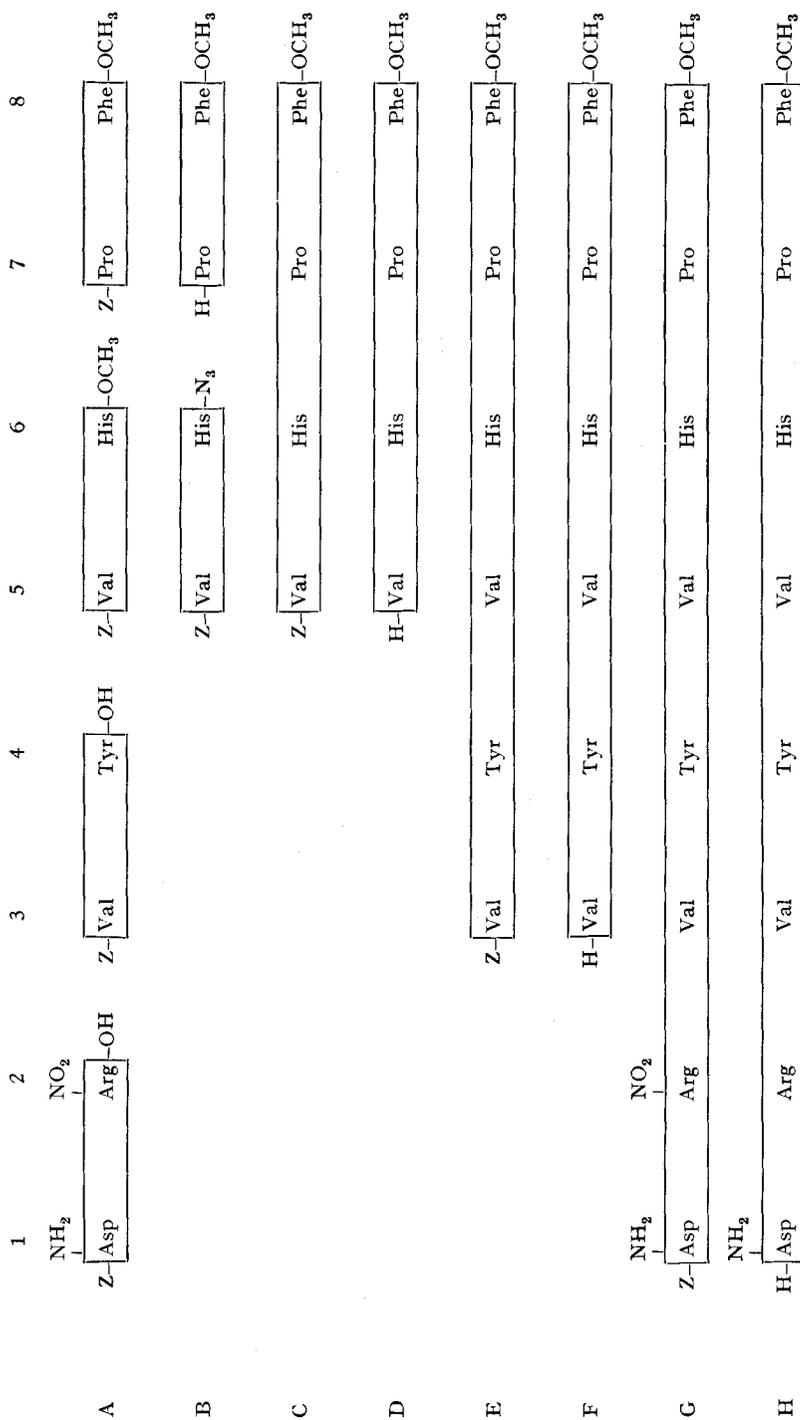
Das folgende Formelschema 1 orientiert über die nachgewiesenen und möglichen Beziehungen:



Formelschema 1

¹⁾ L. T. SKEGGS, K. E. LENTZ, J. R. KAHN, N. P. SHUMWAY & K. R. WOODS, J. exper. Med. **104**, 193 (1956); D. F. ELLIOTT & W. S. PEART, Nature **177**, 527 (1956).

²⁾ L. T. SKEGGS, J. R. KAHN & N. P. SHUMWAY, J. exper. Med. **103**, 295 (1956).



Formelschema 2

Z- = Carbobenzoxy (C₆H₅CH₂OCO-). Die Ausbeute an G 1-8 beträgt, auf B 7-8 berechnet, ca. 33%, d. h. 10 g B 7-8 liefern ca. 10 g G 1-8.

stätigt. Aus der hohen pharmakologischen Wirksamkeit glauben wir auch auf eine hohe optische Reinheit schliessen zu können.

Eine andere Variante der Synthese bezog sich auf die Herstellung des Hexapeptid-Derivates E 3-8 aus Carbobenzoxy-L-valyl-L-tyrosyl-L-valyl-L-histidin⁷⁾ und L-Prolyl-L-phenylalanin-methylester, B 7-8, durch Kondensation mittels 1-Cyclohexyl-3-morpholinyläthyl-carbodiimid¹⁰⁾. Das Produkt E 3-8 erwies sich als identisch mit dem auf dem anderen Wege erhaltenen: $Z \cdot \text{Val-Tyr-Val-His} \cdot \text{OH} + \text{H} \cdot \text{Pro-Phe} \cdot \text{OCH}_3 \rightarrow \text{E 3-8}$.

Experimenteller Teil

Die Analysenpräparate wurden, sofern nicht anders angegeben, 15 Std. bei 80° und 10⁻³ Torr getrocknet.

Carbobenzoxy-L-valyl-L-histidin-hydrazid (B 5-6): 2 g Carbobenzoxy-L-valyl-L-histidin-methylester⁷⁾ werden in 8 ml Methanol nach Zugabe von 0,48 ml Hydrazinhydrat 1 Std. unter Rückfluss erhitzt. Beim Abkühlen auf 20° fällt ein Teil (1,46 g) des Hydrazides kristallin aus und wird abfiltriert. Das Filtrat wird im Vakuum eingedampft und die restliche Substanz durch Zerreiben mit heissem Wasser ebenfalls kristallisiert (0,4 g). Die beiden vereinigten Fraktionen werden aus absolutem Äthanol umkristallisiert und ergeben 1,8 g (90% d. Th.) Carbobenzoxy-L-valyl-L-histidin-hydrazid, Smp. 194-195°.

$\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_4\text{N}_6$	Ber. C 56,70	H 6,51	O 15,90	N 20,88%
	Gef. „ 56,84	„ 6,71	„ 16,07	„ 21,04%

Z · Val-His-Pro-Phe · OCH₃ (C 5-8): 3,22 g $Z \cdot \text{Val-His} \cdot \text{NHNH}_2$ (0,008 Mol) werden in 24 ml 1-n. HCl (0,024 Mol) eiskalt gelöst, mit 560 mg (0,008 Mol) NaNO_2 versetzt, mit 50 ml Essigester übersichtet und das Ganze 3 Min. stehengelassen. Nach Versetzen mit gesättigter Sodalösung bis alkalisch gegen Phenolphthalein wird das gebildete Azid bei 0° durch dreimaliges Ausschütteln mit Essigester extrahiert, die Essigester-Lösung mit wenig Wasser nachgewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und filtriert. Zu der so erhaltenen Lösung fügt man bei 0° eine Lösung von 0,0092 Mol $\text{H} \cdot \text{Pro-Phe} \cdot \text{OCH}_3$ (frisch bereitet aus 2,88 g Hydrochlorid durch Umsetzung mit Triäthylamin) in 30 ml Essigester und lässt über Nacht im Eisschrank stehen. Nach weiteren 4 Std. bei 30° wird von wenigen ausgeschiedenen Flocken abfiltriert, das Filtrat mit eiskalter Sodalösung und Wasser gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Die 4,65 g rohes Tetrapeptid werden zur Reinigung einmal aus Essigester-Äther-Petroläther ausgefällt, wobei man nach Trocknen bei 35° im Hochvakuum 4,25 g (82%) als gelblichen Schaum von sehr unscharfem Smp. (ca. 95-150°) erhält. $[\alpha]_D = -56^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 1,006$ in CH_3OH). Eine Probe wurde zur Analyse in Aceton gelöst, mit Äther ausgefällt und 15 Std. im Hochvakuum bei 60° getrocknet.

$\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{O}_7\text{N}_6$	Gef. C 63,13	H 6,73	N 13,06%
	Ber. „ 63,14	„ 6,55	„ 13,00%

H · Val-His-Pro-Phe · OCH₃ (D 5-8): 3,24 g Carbobenzoxy-tetrapeptidester (0,005 Mol) werden in 40 ml Methanol und 0,5 ml HCl (12-n.) mit 300 mg Pd-Köhle (10-proz.) bei Raumtemperatur hydriert. Die H_2 -Aufnahme kommt nach 136 ml in 11 Std. zum Stillstand. Es wird vom Katalysator abfiltriert, im Vakuum eingedampft und das schaumig-feste Dihydrochlorid in ca. 10 ml Wasser aufgenommen. Durch Zugabe von fester Soda wird das pH auf ca. 8 gestellt und der Tetrapeptidester bei 0° mit Chloroform extrahiert. Man erhält 2,40 g freie Base (93% d. Th.) als festen Schaum (Smp. < 100°), der direkt zum Hexapeptid weiterverarbeitet wird.

Z · Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe · OCH₃ (E 3-8): a) 2,40 g (0,0047 Mol) $\text{H} \cdot \text{Val-His-Pro-Phe} \cdot \text{OCH}_3$ werden zusammen mit 1,08 g Dicyclohexyl-carbodiimid (0,00525 Mol) in 30 ml abs. Essigester und 40 ml Acetonitril gelöst und mit einer Lösung von 2,16 g (0,005 Mol) $Z \cdot \text{Val-Tyr} \cdot \text{OH}$ in 20 ml Essigester versetzt. Nach kurzer Zeit beginnt sich Dicyclohexyl-harnstoff auszuschcheiden. Nach 20stündigem Stehenlassen im Dunkeln wird

¹⁰⁾ J. C. SHEEHAN & J. J. HLAVKA, J. org. Chemistry **21**, 439 (1956).

filtriert. Das Filtrat wird auf ca. $\frac{1}{3}$ des Volumens eingedampft, 3 Std. bei 0° stehen gelassen und erneut filtriert. Aus den beiden Filtrerrückständen, die aus Gemischen von Dicyclohexyl-harnstoff und Hexapeptid bestehen, wird letzteres mit wenig kaltem Methanol herausgelöst und durch Umfällen aus Methanol-Essigester-Petroläther von mitgelöstem Harnstoff-Derivat gereinigt. Man erhält nach Trocknen bei 40° im Hochvakuum 3,18 g (74% d. Th.) Hexapeptid als fast weisses Pulver, Smp. ca. 155° . $[\alpha]_D = -57^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 2,02$ in C_2H_5OH). Eine Probe wurde zur Analyse aus Aceton-Äther-Petroläther zweimal ausgefällt.

$C_{48}H_{60}O_{10}N_8$ Gef. C 63,14 H 6,90 N 12,58%
Ber. „ 63,42 „ 6,65 „ 12,33%

b) 1,95 (0,003 Mol) Carbobenzoxy-L-valyl-L-tyrosyl-L-valyl-L-histidin werden in 10 ml Dimethylformamid suspendiert und mit 0,83 g (0,003 Mol) L-Prolyl-L-phenylalanin-methylester und 0,84 g (0,0035 Mol) 1-Cyclohexyl-3-morpholinyläthyl-carbodiimid¹⁰) versetzt. Nach 1 Std. ist das Ausgangsmaterial vollständig gelöst. Nach 15 Std. bei Zimmer-temperatur wird die Lösung bei 0,1 Torr eingedampft und der Rückstand mit Eiswasser versetzt. Das ausgeschiedene, feste Material wird mit 2-n. Salzsäure gewaschen (wobei ein Hydrochlorid entsteht, welches in Wasser, jedoch nicht in 2-n. HCl löslich ist). Waschen mit 0,5-n. Kaliumcarbonatlösung ergibt wieder die freie Base, welche mit Wasser gewaschen und im Vakuum bei 35° getrocknet wird. Dieses Rohprodukt (2,40 g) wird in 100 ml Aceton aufgenommen und von unlöslichem Material (0,30 g) abfiltriert. Der nach dem Verdampfen des Lösungsmittels verbleibende Rückstand ergibt nach Verreiben mit Essigester 1,57 g (58%) festes Produkt, Smp. $151-156^\circ$.

Bei der multiplikativen Verteilung im System Methanol-Wasser-Chloroform-Tetra-chlororkohlenstoff (8:2:5:5) über 48 Schritte verhielt sich die Verbindung einheitlich ($K = 0,78$); Smp. der amorphen Verbindung $158-162^\circ$, $[\alpha]_D^{24} = -56^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 1,38$ in Äthanol).

H · Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe · OCH₃ (F 3-8): 5,56 g Carbobenzoxy-hexapeptid-ester werden wie üblich in salzsaurer, methanolischer Lösung bis zur Sättigung hydriert. Das Dihydrochlorid (5,10 g) wird durch Aufnehmen in Wasser und Extraktion bei pH 7,5 mit Butanol-Chloroform 1:1 zur freien Base umgesetzt. Ausbeute 4,85 g (95%) fast weisses Pulver. $[\alpha]_D = -55^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,932$ in CH_3OH). Es wurde zur Analyse einmal aus Methanol-Essigester-Petroläther ausgefällt, Smp. $135-140^\circ$ (Zers.).

$C_{40}H_{54}O_8N_8$ Gef. C 62,12 H 7,08 N 14,33%
Ber. „ 62,00 „ 7,02 „ 14,46%



Z · Asp-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe · OCH₃ (G 1-8): 9,63 g *H · Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe · OCH₃* (0,0124 Mol) und 3,92 g Dicyclohexyl-carbodiimid (0,0190 Mol) werden in 60 ml frisch dest. Dimethylformamid gelöst und dazu auf einmal 8,72 g (0,0187 Mol) *Z · Asp(NH₂)-Arg(NO₂) · OH* gegeben. Nach kurzem Rühren ist alles klar gelöst; fast gleichzeitig beginnt sich ein krist. Niederschlag von Dicyclohexyl-harnstoff auszuscheiden. Es wird nun 22 Std. bei Raumtemperatur im Dunkeln stehengelassen und dann das hellbraune Reaktionsgemisch filtriert. Der Rückstand wird mit wenig kaltem Dimethylformamid nachgewaschen, getrocknet und gewogen: 2,73 g Dicyclohexyl-harnstoff, Smp. $224-227^\circ$.

Das Lösungsmittel des Filtrates wird bei 45° im Vakuum abgedampft, zuletzt unter Zusatz von 50 ml Methanol und erneutem Eindampfen. Der klebrige Rückstand ergibt beim Zerreiben mit 250 ml Essigester, Stehenlassen bei -5° und Filtrieren 18,4 g eines braunen Pulvers. Dieses wird nun zweimal mit je 250 ml warmem Aceton verrieben und abfiltriert und der so erhaltene Rückstand im Hochvakuum bei 60° getrocknet (12,5 g). Zur weiteren Reinigung wird mehrmals portionenweise mit insgesamt 100 ml abs. Methanol verrieben, zentrifugiert und dekantiert. Nach Trocknen (zuletzt 2 Std. im Hochvakuum bei 50°) erhält man 9,2 g (61%) eines bräunlichen Pulvers vom Smp. $205-210^\circ$ (Zers.). $[\alpha]_D = -27^\circ \pm 4^\circ$ (in Dimethylformamid).

$C_{38}H_{77}O_{15}N_{15}$ Ber. C 56,90 H 6,34 N 17,16%
Gef. „ 56,59 „ 6,56 „ 17,15%

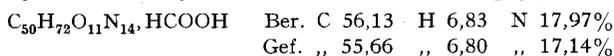
Nach Lösen in 50 ml warmem Dimethylformamid und Ausfällen mit 500 ml Aceton erhält man 7,1 g Carbobenzoxy-nitro-oktapeptidester vom Smp. 207–210° (Zers.), der für die weitere Verarbeitung genügend rein ist.



$H \cdot \text{Asp-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe} \cdot \text{OCH}_3$ (H 1–8): 4,08 g (0,0033 Mol) Carbobenzoxy-nitro-oktapeptidester werden in 90 ml Methanol und 11 ml 1,5-n. methanol. HCl gelöst und mit 1 g Pd-Kohle (10-proz.) bis zur Sättigung hydriert. Die Wasserstoffaufnahme beträgt 365 ml in 21 Std. (theoret. 374 ml). Die Lösung wird bei 40° i. V. eingedampft und getrocknet und ergibt 4,14 g Peptid-hydrochlorid (+ 1 Mol. NH_4Cl) als fast farbloses Pulver, das direkt verseift wird.

Eine Probe davon ergibt bei der Verteilung nach CRAIG über 30 Stufen im System 0,33-m. $\text{NH}_4\text{COOH-n-Butanol}$ (pH 7,82) ein einheitliches Gewichtsmaximum mit $K = 4,7$, Smp. ca. 200° (Zers.), $[\alpha]_D = -67,7^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,0$ in H_2O).

Die Verbindung liegt als Salz der Ameisensäure (Monoformiat) vor und ist hygroskopisch. Zur Analyse wurde 4 Tage bei 80° und 0,02 Torr über P_2O_5 getrocknet.



Basische Verseifung von $H \cdot \text{Asp-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe} \cdot \text{OCH}_3$: 3,2 g rohes Oktapeptidester-hydrochlorid (verunreinigt mit NH_4Cl) werden in 35 ml CH_3OH gelöst, mit 70 ml wässriger 1-n. Pottaschelösung versetzt und 75 Min. bei 30° stehengelassen (pH = 10,5–11). Es wird dann unter gutem Rühren im Hochvakuum bei 20° zuerst auf ungefähr die Hälfte eingedampft, dann mit 5-n. HCl auf pH 6 gestellt und auf dieselbe Weise noch ganz zur Trockne eingengt. Man erhält dabei 7,5 g eines Gemisches von anorganischen Salzen, Hydrolysat und Ausgangsmaterial, das in einer 80stufigen Verteilung nach CRAIG zerlegt wird (Oberphase: n-Butanol; Unterphase: 0,33-m. NH_4COOH , pH = 7,8; Phasenvolumen je 25 ml). Aufarbeitung: Die Lage der Maxima von Hydrolysat und Ester wird mit Tupfproben von je 0,005 ml Oberphase mit PAULY-Reagens auf Papier sichtbar gemacht: Hydrolysat: $K = \text{ca. } 0,3$ ($r_{\text{max}} = \text{ca. } 19$); Ausgangsmaterial (Ester): $K = \text{ca. } 6,7$ ($r_{\text{max}} = \text{ca. } 70$).

Die gruppenweise vereinigten Röhrencheninhalte werden nun bei 45°/11 Torr bis zur Trockne eingedampft und das noch vorhandene NH_4COOH im Hochvakuum bei 40° Badtemperatur wegsублиmiert (Dauer einige Std.).

Röhrenchen	Gewicht mg	
10–13	511	Gemisch von viel NH_4Cl , wenig Amid VI und Säure V
14–15	127	Spur NH_4Cl , viel Amid VI, Spur Säure V
16–21	976	reines Amid VI
22–29	430	reines Amid VI
30–39	133	Amid VI, Spur Ester H 1–8
60–65	80	reiner Ester H 1–8
66–73	420	
74–81	138	

Die so vereinigten und isolierten Fraktionen wurden zwecks Reinheitsprüfung papierchromatographisch untersucht (sek. Butanol – 3% $\text{NH}_3 = 120:44$, absteigend auf WHATMAN-Papier Nr. 3). Fraktionen 16–29 erwiesen sich als reines Amid VI, Fraktionen 60–81 als reiner Ester H 1–8:

	Rf	Ninhydrin-Reaktion
Säure V	0,21	violett
Amid VI	0,28	grüngelb, dann graugrün, zuletzt graublau
Ester H 1–8	0,38	schmutzig-gelb

Das aus Röhrcchen 16–29 isolierte VI liegt als Monoformiat vor: in Wasser leicht, in Methanol schwerer lösliches Pulver. Das in Nujol aufgenommene RÖNTGEN-Diagramm zeigt ein diffuses Bild, d. h. es liegen keine mikrokristalline Teilchen vor.



Saure Verseifung von H · Asp-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe · OCH₃: Zur Hydrolyse werden 390 mg Oktapeptidester-hydrochlorid (+ 1 Mol. NH₄Cl) in 1,6 ml konz. HCl gelöst und 100 Min. bei 39° gehalten. Nach Eindampfen zur Trockne (zuletzt bei 40° im Hochvakuum) erhält man 400 mg eines hellbraunen Pulvers, das in 3 ml Wasser gelöst und mit 2-n. Natronlauge auf pH 6 neutralisiert wird.

Zur Vorreinigung wird nun über 42 Stufen nach CRAIG verteilt im System n-Butanol-Methanol-Puffer = 29:11:40 (Puffer: 0,165-m. Ammoniumacetat-Lösung, pH = 6,5; Phasenvolumen je 10 ml). Das Gewichtsmaximum liegt bei Röhrcchen 18 (K=0,75), während eine geringe Menge Ausgangsmaterial (ca. 15%) aus Röhrcchen 26–32 gewonnen wird.

Durch Vereinigen von Röhrcchen 14–22, Eindampfen bei 50° im Vakuum und Trocknen während 4 Std. im Hochvakuum gewinnt man 205 mg eines weissen, in Wasser leicht-löslichen Pulvers. Dieses stellt ein Gemisch von V und dessen Asp-β-Amid VI dar, zusammen mit noch ein wenig Ausgangsmaterial (H 1–8). Die Verbindungen liegen hier als Monoacetate vor. Dieses Gemisch kann durch Verteilungschromatographie aufgetrennt werden: Säule: WHATMAN-Cellulosepulver, $\varnothing = 2,5$ cm, l = 105 cm. Stationäre Phase: 0,33-m. Ammoniumacetatlösung, pH = 6,5. Mobile Phase: n-Butanol. Fraktionen: 15 ml.

Fraktion	Menge mg	
22–25	20	Ester H 1–8
26–28	6	Gemisch VI + H 1–8
29–42	85	Amid VI
43–57	30	Gemisch VI + V
58–75	43	Säure V

Eine einfachere Auftrennung des Roh-Hydrolysates gelingt auch mit Hilfe einer CRAIG-Verteilung über 120 Stufen in einer Apparatur mit 36 Verteilungselementen: 600 mg rohes Verseifungsgemisch werden in wenig Wasser gelöst, mit Natronlauge bis pH 7 neutralisiert und verteilt im System n-Butanol–0,4-m. Ammoniumacetatlösung, pH = 7,0 (Phasenvolumen je 10 ml). Die nach 36 Verteilungsschritten aus dem letzten Element austretenden Oberphasen enthalten neben Verunreinigungen hauptsächlich noch Ausgangsmaterial (H 1–8), K = ca. 2,7. Nach 120 Schritten werden die noch in der Verteilungsapparatur verbliebenen Komponenten mit Hilfe von PAULY-Tupfproben auf Papier lokalisiert:

Säure V : $r_{\text{max}} = 13,5$ K = 0,13

Amid VI: $r_{\text{max}} = 31$ K = 0,35

Die gruppenweise vereinigten Röhrccheninhalte werden schonend eingedampft und zuletzt noch im Hochvakuum bei 40° von Ammoniumacetat befreit (s. Tab. S. 1294).

Frakt. 11–18 besteht aus reinem V-Monoacetat. Die Substanz ist nach 4tägigem Trocknen bei 80° im Hochvakuum über P₂O₅ immer noch wasserhaltig und stark hygroskopisch. $[\alpha]_{\text{D}} = -53,8^{\circ} \pm 1^{\circ}$ (c = 1,0 in H₂O).

$\text{C}_{49}\text{H}_{69}\text{O}_{12}\text{N}_{13}$, CH₃COOH, 2H₂O Ber. C 54,29 H 6,88 N 16,14%
 Gef. „ 54,21 „ 6,83 „ 16,14%

Röhrchen	Gewicht mg	
0-7		NaCl + NH ₄ Cl + Spur Säure V
8-10	20	Säure V + Spur NH ₄ Cl
11-18	80	Säure V
19-25	70	Säure V + Amid VI ca. 1:2
26-36	195	Amid VI

Analyse nach Äquilibration mit Luftfeuchtigkeit:

C₄₉H₆₉O₁₂N₁₃, CH₃COOH, 5H₂O Ber. C 51,81 H 7,08 N 15,42%
 Gef. „ 51,43 „ 6,81 „ 15,24%

Frakt. 26-36 ist das Monoacetat von VI. [α]_D = -58,0° ± 1° (c = 1,0 in H₂O). Analyse nach 4tägigem Trocknen bei 80° im Hochvakuum über P₂O₅ (hygroskopisch):

C₄₉H₇₀O₁₁N₁₄, CH₃COOH Ber. C 56,13 H 6,84 N 17,97%
 Gef. „ 56,27 „ 6,90 „ 18,28%

Analyse nach Äquilibration mit Luftfeuchtigkeit:

C₄₉H₇₀O₁₁N₁₄, CH₃COOH, 5H₂O Ber. C 51,85 H 7,17 N 16,60 1 NH₃ (-CONH₂) 1,44%
 Gef. „ 52,06 „ 6,95 „ 16,45 „ 1,6; 1,3¹¹⁾%
 (Vgl. dazu V [Frakt. 11-18] „ 0,2; 0,1¹¹⁾%)

Die Verbindungen wurden in etwa 20 verschiedenen Systemen auf WHATMAN-Papier Nr. 3 absteigend chromatographiert. Entwickelt wurde mit Ninhydrin (300 γ) und PAULY-Reagens (100 γ). Die besten Resultate lieferten folgende Lösungsmittelgemische:

System I: sek. Butanol - 3% NH₃ (120:44).

System II: tert. Amylalkohol (100 ml), Triäthylamin (0,8 ml), Diäthylbarbitursäure (1,8 g), H₂O (50 ml), Isopropanol (40 ml).

System III: sek. Butanol (35 ml), Isopropanol (35 ml), H₂O (25 ml), Phosphatpuffer, pH = 8 (10 ml).

Peptid	System		
	I	II	III
Val ⁵ -Hypertensin II (Frakt. 11-18)	0,21	0,18	0,39
Val ⁵ -Hyp. II-asp- β -amid (Frakt. 26-36)	0,26	0,26	0,53
Val ⁵ -Hypertensin I (Frakt. 79-116) ⁷⁾	0,26	0,28	0,54
Val ⁵ -Hyp. I-asp- β -amid (Frakt. 138-170) ⁷⁾	0,34	0,40	0,62

Isoelektrischer Punkt: Der elektrophoretisch ermittelte isoelektrische Punkt⁷⁾ liegt für V bei pH 7,0 und für VI bei pH 7,5.

Aminosäure-Analyse: Totalhydrolyse des Peptids, papierchromatographische Trennung und kolorimetrische Bestimmung der Aminosäuren erfolgten in gleicher Weise wie bei den synthetischen Dekapeptiden⁷⁾.

Verhältnis Arg + His: Asp: Phe: Pro: Tyr: Val

Ber. 1,0 + 1,0 : 1,0 : 1,0 : 1,0 : 1,0 : 2,0

V Gef. 1,82 : 1,10 : 1,19 : - : 1,00 : 1,72 (je ± 10%).

VI „ 2,20 : 1,19 : 1,00 : - : 1,00 : 2,00 „

Die Verbrennungsanalysen und die Mikro-CONWAY-Bestimmungen verdanken wir den Herren Dres. GYSEL und PADOWETZ von unseren analytischen Laboratorien.

¹¹⁾ Mikro-CONWAY-Bestimmung.

SUMMARY

The synthesis of two octapeptides, $H \cdot Asp(\beta-NH_2)-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe \cdot OH$ and $H \cdot Asp(\beta-OH)-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe \cdot OH$, is described in detail (preliminary communications see footnote 3). The products show a very strong hypertensive activity, and may be identical with the hitherto unknown Val⁶-hypertensin II of ox blood.

Forschungslaboratorien der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel
Pharmazeutische Abteilung

141. Alkoholatbestimmung in wasserfreien Alkalicellulosen

2. Mitteilung¹⁾

von **Ernst Geiger** und **Horst Nobs**

(24. V. 58)

In einer früheren Arbeit¹⁾ konnte gezeigt werden, dass durch Trocknen von alkalischer Verbandswatte pro Glucopyranoseresrest ca. 2 OH-Gruppen zu Natriumalkoholat umgesetzt werden können. Überträgt man den bei der Xanthogenatreaktion eingeführten Begriff des Gammawertes²⁾ (Anzahl pro 100 $C_6H_{10}O_5$ -Reste umgesetzte OH-Gruppen) auf die Alkoholatbildung, so entspricht diesen 2 OH-Gruppen ein Gammawert von 200. Gleich hohe Gammawerte erreichten S. ROGOWIN & W. DERIWITZKAJA³⁾ durch Umsatz von Cellulose mit Isoamylnatriumalkoholat in Xylol.

In der früheren Arbeit konnten wir zeigen, dass für Verbandswatte das Verhältnis von Gesamtalkali zu Alkoholatalkali bis zu 200 Gamma konstant bleibt. Auch Ramie und Hydratcellulose (Tab. 1) gehorchen dieser Gesetzmässigkeit. Unter gleichen Bedingungen nimmt Ramie wesentlich mehr Alkali auf als Hydratcellulose oder Verbandswatte. Entsprechend dieser Mehraufnahme erhöht sich auch die Anzahl der umgesetzten Alkoholatgruppen. Mehr Alkali nimmt auch die aus Viskose umgefällte Hydratcellulose auf. Die Vorbehandlung der Cellulose sowie eine Alkalisierung bei 60° sind ohne Einfluss auf den erzielten Gammawert.

Trägt man nun die früher gewonnenen sowie die Werte dieser Arbeit in dasselbe Kurvenblatt ein, so zeigt es sich, dass alle Werte in nächster Nähe der Geraden liegen (s. Fig. 1).

Durch Tauchen von Verbandswatte in Kalilauge von verschiedenen Konzentrationen wurden Kaliumcellulosealkoholate hergestellt. Bis zu einem Gammawert von 100 war dieser Wert proportional dem Gesamtalakli. Das

¹⁾ 1. Mitteilung: *Helv.* **40**, 550 (1957).

²⁾ H. FINK, R. STAHN & A. MATTHES, *Angew. Chem.* **47**, 603 (1934).

³⁾ *Faserforschung und Textiltechn.* **8**, 61 (1957).