

HBr dans l'acide acétique en présence de méthyl-éthyl-sulfure et d'eau, ou par HBr dans le diéthylphosphite). $[\alpha]_D^{23} = -23^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,0$; méthanol), $-10^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,4$; diméthylformamide). Spectre UV.: $\lambda_{\text{max}} = 280 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,35$), $286 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,29$) dans diméthylformamide-tributylamine (96:4). Soluble dans les alcools et le diméthylformamide, peu soluble dans l'acétate d'éthyle et l'eau, insoluble dans l'éther. L'hydrolyse acide donne de la sérine, de la tyrosine, de la méthionine et de l'acide glutamique dans le rapport 2:1:1:1⁴⁵).

$\text{C}_{40}\text{H}_{49}\text{O}_{13}\text{N}_5\text{S}$ (839,9)	Calculé C 57,2	H 5,9	O 24,8	N 8,3	S 3,8%
	Trouvé ,, 56,3	,, 5,9	,, 24,8	,, 8,4	,, 3,8%

Après scission des groupes protecteurs, le peptide obtenu est entièrement scindé par la leucine-aminopeptidase²¹⁾ 22).

SUMMARY

N-CBO-L-Seryl-L-tyrosyl-L-serine methyl ester and L-methionyl- γ -benzyl-L-glutamate are prepared by different methods. Condensation by the hydrazide-azide procedure affords N-CBO-L-seryl-L-tyrosyl-L-seryl-L-methionyl- γ -benzyl-L-glutamate, which is shown to be optically pure by leucine-aminopeptidase digestion. Transformation of the above N-CBO-tripeptide ester to the N-acetyl-tripeptide ester and condensation by the hydrazide-azide procedure with the above dipeptide gives N-acetyl-L-seryl-L-tyrosyl-L-seryl-L-methionyl- γ -benzyl-L-glutamate. The effects produced in the course of fission of CBO- and benzyl-groups from peptides containing serine and methionine residues, using HBr and acetic acid, are studied.

Laboratoires de Chimie Pharmaceutique SANDOZ
(Dir.: Dr J. RENZ), Bâle

⁴⁵) Une partie de la méthionine apparaît sous forme de benzylhomocystéine (cf. 18)).

200. Synthèse de la L-histidyl-L-phénylalaninyl-L-argininyl-L-tryptophanyl-glycyl- ϵ -CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valylamide

par R. A. Boissonnas, St. Guttmann, R. L. Huguenin,
P.-A. Jaquenoud et Ed. Sandrin

(27 VIII 58)

La séquence His-Phé-Arg-Try-Gly-Lys-Pro-Val se retrouve en position 6 à 13 dans l' α -MSH de porc¹⁾ et dans toutes les différentes ACTH dont la structure a été établie jusqu'ici²⁾.

1) J. I. HARRIS & A. B. LERNER, *Nature* **179**, 1346 (1957).

2) Voir référence 1) du travail précédent: *Helv.* **41**, 1852 (1958).

Dans le présent travail nous décrivons la synthèse de cette séquence sous la forme de la L-histidyl-L-phénylalanyl-L-arginyl-L-tryptophanyl-glycyl- ϵ -CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valylamide, octapeptide que nous avons ensuite utilisé pour la préparation d'un tridécapeptide présentant les caractères de l' α -MSH de porc³⁾.

Le schéma que nous avons suivi pour la synthèse de cet octapeptide est basé sur la condensation de deux tétrapeptides obtenus eux-mêmes par l'union des dipeptides correspondants (voir schéma). Les variantes utilisées pour la préparation des dipeptides XXVIII et XL sont indiquées au-dessus du schéma principal⁴⁾.

Une partie des peptides dont la préparation est donnée dans ce travail ont déjà été mentionnés brièvement dans notre communication antérieure sur la synthèse d'un eicosapeptide du type ACTH⁵⁾, synthèse qui avait été effectuée selon un schéma analogue.

a) Séquence His-Phé-Arg-Try

Le ditrityl-L-histidyl-L-phénylalaninate de méthyle (XXVIII) a été préparé par condensation directe de la ditrityl-L-histidine⁶⁾ avec le L-phénylalaninate de méthyle⁷⁾ en présence de dicyclohexyl-carbodiimide⁸⁾ avec un bon rendement malgré l'effet stérique important des deux groupes trityle. Cette synthèse a été confirmée en faisant le détour par le N-CBO-L-histidyl-L-phénylalaninate de méthyle (XXVI), que nous avons préparé par la méthode à l'azide, et en tritylant ce dernier après scission du groupe CBO-

Nous avons constaté que l'acide acétique chaud ne détrityle pas normalement le ditrityl-L-histidyl-L-phénylalaninate de méthyle (XXVIII) ou la ditrityl-L-histidyl-L-phénylalanine (XXIX), mais conduit à des produits ne réagissant pas à la ninhydrine quoique réagissant encore au PAULY⁴⁾. Par contre si la détritulation est effectuée dans l'acide acétique chaud en présence d'un équivalent d'acide chlorhydrique, on obtient normalement le L-histidyl-L-phénylalaninate de méthyle ou la L-histidyl-L-phénylalanine. Nous n'avons pas observé une telle réaction anormale lors de la détritulation par l'acide acétique chaud du ditrityl-L-histidyl-L-phénylalanyl-L-arginyl-L-tryptophanate de méthyle (XLI) ou du ditrityl-L-histidyl-L-phénylalanyl-L-arginyl-L-tryptophane (XLII).

La saponification du ditrityl-L-histidyl-L-phénylalaninate de méthyle (XXVIII) conduit à la ditrityl-L-histidyl-L-phénylalanine (XXIX).

³⁾ R. A. BOISSONNAS & ST. GUTTMANN, IVe Congrès de Biochimie, Vienne, 1-6 sept. 1958, Résumé des communications, section I.

⁴⁾ Le détail des abréviations et des méthodes analytiques utilisées est donné dans le travail précédent: *Helv.* **41**, 1852 (1958).

⁵⁾ R. A. BOISSONNAS, ST. GUTTMANN, J.-P. WALLER & P.-A. JAQUENOUD, *Experientia* **12**, 446 (1956).

⁶⁾ G. AMIARD, R. HEYMES & L. VELLUZ, *Bull. Soc. chim. France* **1955**, 191.

⁷⁾ R. A. BOISSONNAS, ST. GUTTMANN, P.-A. JAQUENOUD & J.-P. WALLER, *Helv.* **39**, 1421 (1956).

⁸⁾ J. C. SHEEHAN & G. P. HESS, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 1067 (1955).

La plupart des peptides de l'arginine décrits jusqu'ici ont été préparés à l'aide de la nitro-arginine, le groupe nitro servant à protéger la fonction guanido et n'étant scindé qu'en fin de synthèse par réduction catalytique⁹⁻¹⁷). Mais comme cette réduction catalytique risquait dans notre cas de provoquer la désulfuration de la méthionine, nous avons préféré travailler directement avec l'arginine elle-même. ANDERSON¹⁸) avait obtenu le bromhydrate de N-CBO-L-arginyl-L-leucinate de méthyle, par condensation au moyen du tétraéthylpyrophosphite, du bromhydrate de N-CBO-L-arginine avec le L-leucinate de méthyle, et du VIGNEAUD et coll.¹⁹) ont ensuite utilisé la même méthode pour la synthèse de l'arginine-vasopressine. Nous avons trouvé récemment⁵) que l'emploi de la dicyclohexyl-carbodiimide⁶) peut être étendu à la synthèse de peptides de l'arginine sans la formation d'acylurées accessoires si l'on prend soin de salifier le groupe guanido par un hydracide²⁰).

Par condensation à la dicyclohexyl-carbodiimide de la N-trityl-L-arginine (XXXV) avec le chlorhydrate de L-tryptophanate de méthyle (XXXVI) nous avons obtenu le chlorhydrate de N-trityl-L-arginyl-L-tryptophanate de méthyle (XXXIX), l'acide chlorhydrique qui salifiait le groupe α -amino du tryptophane passant sur le groupe guanido de l'arginine. Par condensation dans les mêmes conditions de la N-CBO-L-arginine (XXX) avec le chlorhydrate de L-tryptophanate de méthyle (XXXVI), nous avons préparé le chlorhydrate de N-CBO-L-arginyl-L-tryptophanate de méthyle (XXXVIII). L'étude de la scission du groupe CBO- de ce dipeptide en vue d'obtenir le L-arginyl-L-tryptophanate de méthyle (XL) a conduit à des observations intéressantes: tandis qu'une scission par hydrogénation catalytique a donné un produit identique à celui obtenu par détritylation du N-trityl-L-arginyl-L-tryptophanate de méthyle (XXXIX), au contraire une scission du groupe CBO- par une solution de HBr dans l'acide acétique a provoqué une décomposition du reste tryptophane manifestée par une coloration violacée, par la modification du spectre UV. et

⁹) M. BERGMANN, L. ZERVAS & H. RINKE, Z. physiol. Chem. **224**, 40 (1934).

¹⁰) K. HOFMANN, A. RHEINER & W. D. PECKHAM, J. Amer. chem. Soc. **75**, 6083 (1953).

¹¹) K. HOFMANN, W. D. PECKHAM & A. RHEINER, J. Amer. chem. Soc. **78**, 238 (1956).

¹²) K. HOFMANN, H. KAPPELER, A. E. FURLENMEIER, M. E. WOOLNER, E. T. SCHWARTZ & T. A. THOMPSON, J. Amer. chem. Soc. **79**, 1641 (1957).

¹³) K. HOFMANN, M. E. WOOLNER, G. SPÜHLER & E. T. SCHWARTZ, J. Amer. chem. Soc. **80**, 1486 (1958).

¹⁴) H. O. VAN ORDEN & E. L. SMITH, J. biol. Chemistry **208**, 751 (1954).

¹⁵) C. BERSE & L. PICHE, J. org. Chemistry **21**, 808 (1956).

¹⁶) H. ZAHN & J. F. DIEHL, Zeit. f. Naturforschung **12b**, 85 (1957).

¹⁷) W. RITTEL, B. ISELIN, H. KAPPELER, B. BINIKER & R. SCHWYZER, Helv. **40**, 614 (1957); R. SCHWYZER, B. ISELIN, H. KAPPELER, B. RINIKER, W. RITTEL & H. ZUBER, Helv. **41**, 1273, 1287 (1958).

¹⁸) G. W. ANDERSON, J. Amer. chem. Soc. **75**, 6081 (1953).

¹⁹) V. DU VIGNEAUD, D. T. GISH & P. G. KATSOYANNIS, J. Amer. chem. Soc. **76**, 4751 (1954); P. G. KATSOYANNIS, D. T. GISH & V. DU VIGNEAUD, *ibid.* **79**, 4516 (1957); D. T. GISH & V. DU VIGNEAUD, *ibid.* **79**, 3579 (1957).

²⁰) D. T. GISH & F. C. CARPENTER (J. Amer. chem. Soc. **75**, 5872 (1953)) avaient déjà obtenu des peptides à partir du chlorure d'acide de l' α -N-p-nitro-CBO-L-arginine en prenant soin de laisser le groupe guanido salifié pendant la condensation.

par un autre Rf à la chromatographie sur papier. Par contre, si la scission du groupe CBO- par une solution de HBr dans l'acide acétique glacial est faite en présence de 20% de diéthylphosphite, il ne se produit ni coloration, ni modification du spectre UV. ou du Rf, et l'on obtient le même produit (XL) que celui qui résulte de l'hydrogénation catalytique de ce même XXXVIII ou de la détritrylation de XXXIX.

Par condensation au moyen de la dicyclohexyl-carbodiimide de la ditritryl-L-histidyl-L-phénylalanine (XXIX) avec le L-arginyl-L-tryptophanate de méthyle (XL), nous avons obtenu le ditritryl-L-histidyl-L-phénylalananyl-L-arginyl-L-tryptophanate de méthyle (XLI) qui a été saponifié en ditritryl-L-histidyl-L-phénylalananyl-L-arginyl-L-tryptophane (XLII). L'intégrité du tryptophane dans ce dernier produit a été prouvée par le spectre UV. Par hydrolyse acide nous avons obtenu l'histidine, la phénylalanine et l'arginine en rapport 1:1:1²¹⁾.

Après éloignement des groupes trityle par l'acide acétique chaud, le L-histidyl-L-phénylalananyl-L-arginyl-L-tryptophane obtenu a été examiné par électrophorèse sur papier et par chromatographie sur papier dans diverses conditions. Il a toujours donné une tache unique après révélation par la ninhydrine, par le réactif de PAULY⁴⁾ et par le réactif de FOLIN-CIUCALTEU⁴⁾. Il a été entièrement scindé en histidine, phénylalanine, arginine et tryptophane sous l'action de la leucine-aminopeptidase²²⁾¹³⁾, ce qui montre l'absence de racémisation lors de la formation des liaisons peptidiques²³⁾.

b) Séquence Gly-Lys-Pro-Val

Par condensation de la N-trityl-glycine avec le ϵ -N-CBO-L-lysinate de méthyle (XLIV) par la méthode à l'anhydride mixte²⁴⁾, nous avons obtenu le N-trityl-glycyl- ϵ -N-CBO-L-lysinate de méthyle (XLV) qui a été saponifié en N-trityl-glycyl- ϵ -N-CBO-L-lysine (XLVI). Celle-ci a été condensée par la dicyclohexyl-carbodiimide⁸⁾ avec le L-prolyl-L-valinate de méthyle (XLIX) en N-trityl-glycyl- ϵ -N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valinate de méthyle (L), qui a pu être amidifié en N-trityl-glycyl- ϵ -N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valylamide (LII) par un séjour d'une semaine dans une solution saturée de NH₃ dans le méthanol. La

²¹⁾ Le tryptophane étant détruit dans ces conditions d'hydrolyse.

²²⁾ D. H. SPACKMAN, E. L. SMITH & D. M. BROWN, J. biol. Chemistry, **212**, 255 (1955).

²³⁾ HOFMANN et coll.¹³⁾ ont rapporté récemment une racémisation probable du reste nitro-L-arginine lors de la condensation de la N-CBO-L-histidyl-L-phénylalananyl-nitro-L-arginine avec le L-tryptophanyl-glycinate de benzyle par la dicyclohexyl-carbodiimide. L'absence de racémisation dans notre cas est probablement due au fait que nous avons utilisé non pas la nitro-arginine mais l'arginine, et que la fonction α -amino de celle-ci était substituée chez nous par un groupe CBO- ou trityle au moment de la formation de la liaison peptidique entre l'arginine et le tryptophane, tandis que chez ces auteurs la fonction α -amino de la nitro-arginine était déjà acylée par un reste phénylalanyle (voir à ce sujet G. W. ANDERSON et coll. J. Amer. chem. Soc. **74**, 5307, 5309 (1952); **78**, 2126 (1956), ainsi que J. R. VAUGHAN, *ibid.* **74**, 6137 (1952); **76**, 2474 (1954), et M. B. NORTH & G. T. YOUNG, Chemistry & Industry, **1955**, 1597).

²⁴⁾ R. A. BOISSONNAS, Helv. **34**, 874 (1951); TH. WIELAND & H. BERNHARD, Liebigs Ann. Chem. **572**, 190 (1951); J. R. VAUGHAN & R. L. OSATO, J. Amer. chem. Soc. **73**, 3547, 5553 (1951); **74**, 676 (1952).

détritylation par l'acide acétique chaud, suivie du remplacement de l'ion acétique par l'ion chlorhydrique, a conduit sans difficultés au chlorhydrate de glycy-l- ϵ -N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valylamide (LIII), qui s'est montré homogène par électrophorèse sur papier et par chromatographie sur papier dans différentes conditions, et qui a livré par hydrolyse la glycine, la lysine, la proline et la valine dans le rapport 1:1:1:1.

Après scission des groupes protecteurs de LII par l'acide bromhydrique dans l'acide acétique, le glycy-l-lysyl-L-prolyl-L-valylamide obtenu a été soumis à l'action de la leucine-aminopeptidase²²⁾ 13). Une transformation intégrale dans les acides aminés correspondants a montré la pureté optique de ce tétrapeptide.

c) Séquence His-Phé-Arg-Try-Gly-Lys-Pro-Val

La condensation du ditrityl-L-histidyl-L-phénylalanyl-L-arginyl-L-tryptophane (XLII) avec le chlorhydrate de glycy-l- ϵ -N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valylamide (LIII) par la dicyclohexyl-carbodiimide a donné le chlorhydrate de ditrityl-L-histidyl-L-phénylalanyl-L-arginyl-L-tryptophanyl-glycy-l- ϵ -N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valylamide (LIV), l'acide chlorhydrique passant du groupe α -amino du reste glycyle sur le groupe guanido du reste arginyle.

Après détritylation par l'acide acétique chaud et éloignement de l'ion acétique, nous avons obtenu le monochlorhydrate de L-histidyl-L-phénylalanyl-L-arginyl-L-tryptophanyl-glycy-l- ϵ -N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valylamide (LV) dont seul le groupe guanido est salifié. Le spectre UV. donne avec une extinction moléculaire correcte la courbe caractéristique du tryptophane²⁵⁾, ce qui prouve que celui-ci n'a pas été détérioré lors des derniers stades de la synthèse.

Par hydrolyse acide on obtient en quantités équimoléculaires l'histidine, la phénylalanine, l'arginine, la glycine, la lysine, la proline et la valine²¹⁾.

L'octapeptide est homogène à la chromatographie sur papier et à l'électrophorèse sur papier après révélation à la ninhydrine, au réactif de PAULY⁴⁾ et au réactif de FOLIN-CIOCALTEU⁴⁾.

Soumis à l'action de la leucine-aminopeptidase²²⁾ 13), il est entièrement transformé en histidine, phénylalanine, arginine, tryptophane, glycine, ϵ -CBO-lysine, proline et valine. Nous pouvons donc admettre que le schéma et les conditions de synthèse que nous avons employés n'ont pas provoqué de racémisation détectable.

Partie expérimentale⁴⁾ 26)

a) Séquence His-Phé-Arg-Try

N-CBO-L-Histidyl-L-phénylalaninate de méthyle (XXVI). A une suspension froide de 2,7 g (12,5 mmoles) de chlorhydrate de L-phénylalaninate de méthyle⁷⁾ dans 50 ml d'éther on ajoute 20 ml d'une solution de K_2CO_3 50% refroidie à 0° et on agite jusqu'à dissolution

²⁵⁾ Afin d'éliminer la légère modification du spectre due à la présence du noyau imidazole de l'histidine, nous avons comparé le spectre obtenu avec celui d'un mélange équimoléculaire de tryptophane et d'histidine.

²⁶⁾ Les microanalyses ont été effectuées dans notre laboratoire microanalytique (Dr. W. SCHÖNIGER). Les spectres UV. ont été pris dans notre laboratoire spectroanalytique (Dr. H. G. LEEMANN).

totale. La phase aqueuse est encore lavée par deux fois 5 ml d'éther. Les phases étherées réunies sont séchées rapidement sur Na_2SO_4 et ajoutées à une solution de N-CBO-L-histidylazide²⁷) dans l'acétate d'éthyle préparée à partir de 3,03 g (10 mmoles) de N-CBO-L-histidylhydrazide²⁷). Après concentration au vide à environ 50 ml et séjour de 6 h à 0°, on filtre les cristaux qui se sont formés, lave par 5 ml d'acétate d'éthyle et deux fois 5 ml d'éther. Après concentration des liqueurs-mères et séjour de 12 h à 0° on obtient une nouvelle quantité de cristaux, ce qui donne un total de 3,13 g de N-CBO-L-histidyl-L-phénylalaninate de méthyle brut de F. 108°. Après recristallisation dans le mélange méthanol-éther on obtient 1,94 g (43%) de N-CBO-L-histidyl-L-phénylalaninate de méthyle pur de F. 161° (litt. 161–163°¹²), 157–158°²⁸). $\text{Rf}_M^a = 0,75$ (révélation par ninhydrine et PAULY⁴). $[\alpha]_D^{25} = -11,5^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 1,9; méthanol); $-15,8^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 1,9; diméthylformamide). Soluble dans les alcools, le chloroforme et le diméthylformamide. Peu soluble dans l'acétate d'éthyle. Insoluble dans l'éther et l'éther de pétrole.

$\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{O}_5\text{N}_4$	Calculé C 64,0	H 5,8	O 17,8	N 12,4%
(450,5)	Trouvé ,, 63,9	,, 5,4	,, 17,7	,, 12,3%

L-Histidyl-L-phénylalaninate de méthyle, 2HBr (XXVII). Une solution de 3,6 g (8,0 mmoles) de N-CBO-L-histidyl-L-phénylalaninate de méthyle (XXVI) dans 30 ml d'acide acétique 3-n. en HBr est gardée 1 h à 20° et évaporée au vide. Le résidu est trituré avec de l'éther sec jusqu'à formation d'un produit pulvérulent. Après filtration, lavage à l'éther et séchage au vide, on obtient 3,8 g de dibromhydrate de L-histidyl-L-phénylalaninate de méthyle brut de F. 138–140°. Après dissolution dans 15 ml d'eau et deux lavages par l'éther, on évapore la solution aqueuse à sec, reprend par 10 ml de méthanol sec et précipite par adjonction de 100 ml d'éther. On obtient 3,4 g (90%) de dibromhydrate de L-histidyl-L-phénylalaninate de méthyle pur de F. 165° (déc.). $\text{Rf}_M^c = 0,75$. $[\alpha]_D^{25} = +13,5^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,3; HCl 4-n.); $+13,1^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,1; HCl méthanolique 4-n.). Soluble dans l'eau, les alcools, le chloroforme et le diméthylformamide.

$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_3\text{N}_4\text{Br}_2$ (478,2)	Calculé C 40,2	H 4,6	O 10,0	N 11,7	Br 33,4%
$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_3\text{N}_4\text{Br}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (496,2)	Calculé ,, 38,8	,, 4,9	,, 12,9	,, 11,3	,, 32,2%
	Trouvé ,, 39,0	,, 5,0	,, 13,6	,, 11,7	,, 32,6%

N,N'-Ditrityl-L-histidyl-L-phénylalaninate de méthyle (XXVIII). – a) *A partir de N,N'-ditrityl-L-histidine*. On dissout par léger chauffage 4,16 g (6,5 mmoles) de N,N'-ditrityl-L-histidine⁶) dans 35 ml de pyridine pure et ajoute 1,4 g (7,8 mmoles) de L-phénylalaninate de méthyle (voir ci-dessus) dissous dans 15 ml d'acétonitrile. Cette solution homogène est encore additionnée de 1,6 g (7,8 mmoles) de dicyclohexyl-carbodiimide et agitée 1 j à 60°. On refroidit à -10° , filtre, lave la dicyclohexylurée (1,31 g) et évapore le filtrat à sec. Après des triturations répétées dans l'éther de pétrole, le résidu huileux est dissous dans 200 ml d'éther et lavé rapidement par 50 ml de HCl 1-n. à 0°. Le dipeptide qui s'est déposé est additionné d'éther et de NH_4OH 1-n. Il repasse en solution dans l'éther, qui est lavé trois fois à l'eau, séché et évaporé au vide. Par trituration dans l'éther de pétrole du résidu solide, on obtient 4,48 g (86%) de N,N'-ditrityl-L-histidyl-L-phénylalaninate de méthyle de F. 95° (déc.). $\text{Rf}_M^c = 0,70$ (révélation par ninhydrine ou PAULY). $[\alpha]_D^{25} = +18,0^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,8; méthanol); $+18,7^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 3,0; diméthylformamide). Soluble dans les solvants organiques, sauf l'éther de pétrole.

$\text{C}_{64}\text{H}_{48}\text{O}_3\text{N}_4$	Calculé C 81,0	H 6,0	O 6,0	N 7,0%
(800,9)	Trouvé ,, 81,0	,, 6,2	,, 6,1	,, 6,9%

b) *A partir de L-histidyl-L-phénylalaninate de méthyle, 2HBr (XXVII)*. A une solution de 910 mg (1,9 mmole) de dibromhydrate de L-histidyl-L-phénylalaninate de méthyle (XXVII) dans 5 ml de chloroforme contenant 1,15 ml (8,2 mmoles) de triéthylamine, on ajoute à 0° 1,05 g (3,8 mmoles) de chlorure de triphénylméthyle et garde 30 min à 0° et 2 h

²⁷) R. W. HOLLEY & E. SONDHEIMER, J. Amer. chem. Soc. **76**, 1326 (1954).

²⁸) N. C. DAVIS, J. biol. Chemistry **223**, 935 (1957).

à 20°. Après addition d'un volume de chloroforme, lavage par deux fois 5 ml d'eau, séchage et évaporation au vide, le résidu solide est dissous dans 3 ml d'éther et précipité par l'éther de pétrole. On obtient ainsi 1,38 g (90%) de N,N'-ditrityl-L-histidyl-L-phénylalaninate de méthyle de F. 80° (déc.). $Rf_M^c = 0,70$. Trouvé N 6,9%.

N,N'-Ditrityl-L-histidyl-L-phénylalanine (XXIX). A une solution de 4,25 g (5,3 mmoles) de N,N'-ditrityl-L-histidyl-L-phénylalaninate de méthyle (XXVIII) dans 30 ml d'éthanol 96%, on ajoute sous agitation 7 ml de NaOH 4-n. Un trouble éventuel disparaît par un bref chauffage à 40°. Après 1 h à 20°, la solution est concentrée au vide à 20 ml et versée sous forte agitation dans 300 ml d'acide acétique 1-n. refroidi à 0°. Après filtration et séchage, le produit est redissous dans 30 ml d'éthanol 96%, additionné de 5 ml d'acide acétique 1-n. et versé en une seule fois dans 200 ml d'eau. Après filtration, lavage à l'eau et séchage au vide, on obtient 2,91 g (70%) de N,N'-ditrityl-L-histidyl-L-phénylalanine de F. 154° (déc.). $Rf_M^c = 0,20$. $[\alpha]_D^{20} = -11,0^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 1,1; chloroforme). Peu soluble dans les alcools, soluble dans le chloroforme.

$C_{53}H_{46}O_3N_4$	Calculé C 80,9	H 5,9	O 6,1	N 7,1%	p. équiv. 787
(786,9)	Trouvé ,, 79,6	,, 5,9	,, 6,5	,, 7,1%	,, 810

N-CBO-L-arginine (XXX). A une solution de 63 g (300 mmoles) de monochlorhydrate de L-arginine dans 300 ml de NaOH 1-n., on ajoute simultanément à 0° en 1 h sous forte agitation 55 ml de chloroformiate de benzyle et 165 ml de NaOH 2-n. de façon que le pH se maintienne à 9-10. Après encore 2 h d'agitation supplémentaire, le pH est descendu à 7,0-7,5. Le précipité est filtré et lavé par 150 ml d'eau à 10°. Le produit est dissous dans 400 ml d'eau bouillante et cristallisé par refroidissement à 0°. Après séchage sommaire, les cristaux sont agités 1 h dans un mélange de 200 ml d'acétone et 150 ml d'éther et séchés au vide à 50°. On obtient ainsi 82,7 g (89,5%) de N-CBO-L-arginine incolore et inodore de F. 184° (déc.) (litt. ²⁹) 175°. $[\alpha]_D^{23} = -9,3 \pm 0,5^\circ$ (c = 2,0; HCl 1-n.). Soluble dans l'eau bouillante. Insoluble dans les alcalis et les solvants organiques.

$C_{14}H_{20}O_4N_4$	Calculé C 54,5	H 6,5	O 20,8	N 18,2%
(308,3)	Trouvé ,, 54,3	,, 6,6	,, 20,7	,, 18,2%

N-CBO-L-Arginine, HBr (XXXI). Une solution de 8,0 g (26,0 mmoles) de N-CBO-L-arginine (XXX) dans 20 ml de méthanol 1,4-n. en HBr est additionnée de 100 ml d'éther anhydre. Par filtration, lavage à l'éther et séchage, on obtient 10,0 g (99%) de bromhydrate de N-CBO-L-arginine de F. 177° (litt. ³⁰) 177-179,5°.

$C_{14}H_{21}O_4N_4Br$ (389,3)	Calculé N 14,2	Br 20,5%	Trouvé N 14,3	Br 20,4%
--------------------------------	----------------	----------	---------------	----------

Le chlorhydrate de N-CBO-L-arginine, préparé de manière analogue, s'est montré être un produit très hygroscopique.

L-Arginate de méthyle, 2HBr (XXXII). A une solution de 13,0 g de LiOH dans 400 ml de méthanol anhydre, on ajoute 63,2 g de monochlorhydrate de L-arginine, agite 45 min à 20°, filtre, lave par le méthanol anhydre les cristaux obtenus, suspend ceux-ci dans 500 ml de méthanol anhydre et sature à 0° par du HBr sec. Après 36 h à 20° on concentre au vide, reprend par quatre fois 70 ml de méthanol en évaporant chaque fois à sec au vide. L'huile résultante est additionnée de 400 ml d'éther sec et les cristaux obtenus sont filtrés, redissous dans 100 ml de méthanol anhydre, reprécipités par 500 ml d'éther sec, filtrés, lavés à l'éther sec et séchés au vide. On obtient 92,8 g (89%) de dibromhydrate de L-arginate de méthyle de F. 156°, ne montrant plus de tache d'arginine par chromatographie. $[\alpha]_D^{20} = +16,3^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,0; méthanol); $+8,7^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,0; diméthylformamide); $+16,2^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,6; HBr 5-n.). $Rf_M^c = 0,38$. Soluble dans l'eau, les alcools et le diméthylformamide. Insoluble dans l'éther.

$C_7H_{18}O_2N_4Br_2$ (350,1)	Calculé N 16,0	Br 45,7%	Trouvé N 15,9	Br 45,6%
-------------------------------	----------------	----------	---------------	----------

²⁹) M. BERGMANN & L. ZERVAS, Ber. deutsch. chem. Ges. **65**, 1199 (1932).

³⁰) G. W. ANDERSON, J. Amer. chem. Soc. **75**, 6081 (1953). La méthode de préparation n'est pas indiquée.

L-Arginate de méthyle, 2 HCl (XXXIII). A 27 ml de méthanol anhydre, refroidi à -10° , on ajoute en 10 min 5,4 ml de chlorure de thionyle, puis 10,5 g (50 mmoles) de monochlorhydrate de L-arginine, chauffe 90 min avec agitation à 45° et laisse 16 h à 20° . Après évaporation au vide et deux reprises par du méthanol suivies d'évaporation au vide, on dissout dans 25 ml de méthanol et ajoute 150 ml d'éther sec. Les cristaux formés sont filtrés, lavés à l'éther et séchés au vide à 50° . On obtient 12,5 g (96%) de dichlorhydrate de L-arginate de méthyle de F. 196° (litt.³¹⁾ 195° . $[\alpha]_D^{25} = +21,7^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$ ($c = 2,5$; méthanol); $+16,1^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$ ($c = 2,5$; eau); $+16,8^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$ ($c = 2,6$; HBr 5-n.). $Rf_M^o = 0,25$. Soluble dans l'eau, et les alcools. Insoluble dans les solvants organiques usuels.

$C_7H_{18}O_3N_4Cl_2$	Calculé N 21,5	Cl 27,2	$-OCH_3$ 10,2%
(261,2)	Trouvé „ 21,4	„ 26,9	„ 10,1%

N-Trityl-L-arginate de méthyle, HCl (XXXIV). A une solution de 84 ml (600 mmoles) de triéthylamine dans 1000 ml de chloroforme, on ajoute 78,0 g (300 mmoles) de dichlorhydrate de L-arginate de méthyle (XXXIII) et agite 30 min. La solution est refroidie à 0° , additionnée de 80,5 g (290 mmoles) de chlorure de triphénylméthyle et agitée 15 h à 20° . La solution est filtrée d'un faible précipité, lavée deux fois à l'eau, séchée et évaporée à sec. Par dissolution du résidu dans 500 ml de méthanol bouillant, concentration au vide à 200 ml et addition de 1000 ml d'éther sous forte agitation on obtient, après filtration et séchage, 111,3 g (82%) de chlorhydrate de N-trityl-L-arginate de méthyle de F. $120-125^{\circ}$. $[\alpha]_D^{25} = +56,0^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$ ($c = 5,0$; méthanol); $+53,0^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$ ($c = 6,0$; diméthylformamide). $Rf_M^b = 0,25$. Soluble dans les alcools, le chloroforme et le diméthylformamide.

$C_{26}H_{31}O_2N_4Cl$	Calculé C 66,9	H 6,7	O 6,8	N 12,0	Cl 7,6%
(467,0)	Trouvé „ 66,7	„ 6,9	„ 6,7	„ 11,9	„ 7,9%

N-Trityl-L-arginine (XXXV). Une solution de 46,7 g (100 mmoles) de chlorhydrate de N-trityl-L-arginate de méthyle (XXXIV) dans 300 ml de méthanol chaud est versée dans un mélange bouillant de 60 g de KOH, 300 ml de méthanol et 150 ml d'eau. La solution limpide ainsi obtenue est chauffée à reflux pendant exactement 15 min et versée immédiatement dans 3000 ml d'acide acétique 0,5-n. refroidi à 0° . Le précipité formé est filtré, lavé deux fois à l'eau et séché au vide. Les 36 g de produit brut obtenus sont agités avec de l'éther, filtrés, puis chauffés pendant 2 h à reflux avec agitation dans 200 ml de méthanol. Après refroidissement, filtration, lavage et séchage, on obtient 30,5 g (72%) de N-trityl-L-arginine infusible à 250° . (Du filtrat, on obtient par évaporation 11 g de produit incomplètement saponifié, F. vers 210° , qui peut être soumis à une nouvelle saponification.) La N-trityl-L-arginine est insoluble dans tous les solvants organiques et dans l'eau. Elle se solubilise dans les alcools et le diméthylformamide en présence d'un équivalent de HCl. Par scission du groupe trityle par chauffage avec de l'acide acétique, on obtient de la L-arginine ayant dans HCl 6-n. un pouvoir rotatoire correspondant à celui de la littérature.

$C_{26}H_{28}O_2N_4$ (416,5)	Calculé O 7,7	N 13,5%	Trouvé O 7,9	N 13,6%
------------------------------	---------------	---------	--------------	---------

L-Tryptophanate de méthyle, HCl (XXXVI). On fait tomber goutte à goutte 22 ml de chlorure de thionyle dans 300 ml de méthanol refroidi à -10° , puis on y introduit rapidement 30 g (14,7 mmoles) de L-tryptophane. Il y a dissolution rapide, puis formation d'un précipité qui se redissout de nouveau complètement après 2 h d'agitation. Après 48 h, on ajoute 1000 ml d'éther sec, filtre et sèche les cristaux formés et obtient 35,1 g (94%) de chlorhydrate de L-tryptophanate de méthyle de F. 216° avec sublimation (litt.³²⁾ 214° (déc.). $Rf_M^o = 0,95$. Spectre UV.: $\lambda_{max} = 275 m\mu$ ($\log \epsilon = 3,76$), $281 m\mu$ ($\log \epsilon = 3,79$), $290 m\mu$ ($\log \epsilon = 3,72$) dans méthanol-eau-triéthylamine (60:15:1).

$C_{12}H_{15}O_2N_2Cl$ (254,7)	Calculé Cl 13,9%	Trouvé 14,1%
--------------------------------	------------------	--------------

³¹⁾ E. FISCHER, Ber. deutsch. chem. Ges. **38**, 4186 (1905).

³²⁾ E. ABDERHALDEN & M. KEMPE, Z. physiol. Chem. **52**, 207 (1907).

N-Tosyl-L-phénylalanine-L-arginine (XXXVII). On dissout 1,91 g (6,0 mmoles) de *N*-tosyl-L-phénylalanine³³, 1,55 g (4,5 mmoles) de dibromhydrate de *L*-arginate de méthyle (XXXII) et 1,1 ml (4,5 mmoles) de tributylamine dans 10 ml de diméthylformamide. Après dissolution totale, on ajoute encore 1,65 g (8,0 mmoles) de dicyclohexyl-carbodiimide, agite 12 h à 40°, filtre, évapore le filtrat à sec et triture le résidu avec de l'éther de pétrole. L'huile obtenue est dissoute dans 15 ml de méthanol, additionnée de 2,5 ml de NaOH 4-n. et gardée 1 h à 20°. On ajoute ensuite 10 ml d'eau, extrait par de l'acétate d'éthyle, amène le pH de la couche aqueuse à 7,0 par de l'acide acétique glacial et laisse à 0° pendant 2 h. Les cristaux obtenus sont lavés par 3 ml d'eau glacée, séchés au vide, lavés par de l'acétate d'éthyle et séchés à nouveau au vide. On obtient 1,42 g (66%) de *N*-tosyl-L-phénylalanine-L-arginine de F. 256°. $Rf_M = 0,30$ après scission du groupe tosylo par le sodium dans l'ammoniac liquide. Insoluble dans les solvants organiques et dans l'eau.

$C_{22}H_{26}O_5N_6S$ (475,6) Calculé N 14,7% Trouvé 14,6%

N-CBO-L-Arginyl-L-tryptophanate de méthyle, HCl (XXXVIII). On suspend 3,08 g (10 mmoles) de *N*-CBO-L-arginine (XXX) et 2,80 g (11 mmoles) de chlorhydrate de *L*-tryptophanate de méthyle (XXXVI) dans 10 ml de diméthylformamide contenant 2 ml de diéthylphosphite et on agite jusqu'à dissolution totale (environ 2 h). A cette solution, on ajoute 3,10 g (15 mmoles) de dicyclohexyl-carbodiimide, agite 2 j à 20°, refroidit à -10°, filtre et lave par un peu de diméthylformamide. Le filtrat est évaporé à sec et le résidu est trituré avec plusieurs portions d'éther, puis dissous dans 200 ml de chlorure de méthylène. Après lavage par NH_4OH 1-n. et HCl 1-n. et séchage, on évapore à sec, redissout le résidu solide dans un minimum d'acétone et précipite par adjonction de 10 volumes d'isopropyl-éther. Après une nouvelle recristallisation du même mélange, on obtient 4,41 g (80%) de chlorhydrate de *N*-CBO-L-arginyl-L-tryptophanate de méthyle de F. 140-150° (déc.). $[\alpha]_D^{25} = +5,8^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 2,0$; méthanol); $+4,5^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 2,0$; diméthylformamide). $Rf_M^a = 0,55$. Soluble dans les alcools et le chloroforme. Peu soluble dans l'acétone et le dioxanne. Insoluble dans l'éther et l'éther de pétrole.

$C_{26}H_{33}O_5N_6Cl$ Calculé C 57,3 H 6,1 O 14,6 N 15,4 Cl 6,5%
(545,0) Trouvé „ 56,9 „ 6,7 „ 14,6 „ 15,5 „ 6,4%

N-Trityl-L-arginyl-L-tryptophanate de méthyle, HCl (XXXIX). On suspend 32,8 g (79 mmoles) de *N*-trityl-L-arginine (XXXV) et 24,0 g (94 mmoles) de chlorhydrate de *L*-tryptophanate de méthyle (XXXVI) dans 375 ml de pyridine anhydre contenant 30 ml de diéthylphosphite. Après 10 min d'agitation, on ajoute 24,8 g (120 mmoles) de dicyclohexyl-carbodiimide, agite 24 h à 40° à l'obscurité, ajoute 2,4 ml (17 mmoles) de triéthylamine, et agite encore 24 h dans les mêmes conditions. Après 6 h à 0°, on filtre l'urée formée (20,1 g), évapore à sec et triture le résidu avec de l'éther sec pour enlever la pyridine adhérent au précipité ainsi que l'excès de dicyclohexyl-carbodiimide. Le résidu légèrement coloré est dissous dans 750 ml de chlorure de méthylène et lavé par 300 ml de HCl 0,1-n. La couche organique et le précipité qui s'est formé sont secoués avec 100 ml de NH_4OH 1-n., ce qui provoque la redissolution du précipité, et encore trois fois avec 100 ml d'eau. La couche organique est séchée et évaporée au vide. On dissout le résidu dans 450 ml de tétrahydro-furanne et précipite par addition rapide sous forte agitation de 1000 ml d'éther isopropylique exempt de peroxydes. Après trois reprécipitations consécutives dans les mêmes conditions, on obtient 47,9 g (92%) de chlorhydrate de *N*-trityl-L-arginyl-L-tryptophanate de méthyle de F. 170°. $[\alpha]_D^{25} = -6,2^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 5,0$; méthanol); $+14,6^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 5,3$; diméthylformamide). $Rf_M^b = 0,55$ (révélation par ninhydrine ou FOLIN). Spectre UV.: $\lambda_{max} = 275 m\mu$ ($\log \epsilon = 3,77$), $283 m\mu$ ($\log \epsilon = 3,79$), $290 m\mu$ ($\log \epsilon = 3,74$) dans diméthylformamide-tributylamine (97:3). Soluble dans les solvants organiques, sauf l'acétate d'éthyle, l'éther et l'éther de pétrole.

$C_{37}H_{41}O_3N_6Cl$ Calculé C 67,9 H 6,3 N 12,9 Cl 5,4%
(653,2) Trouvé „ 67,3 „ 6,3 „ 12,8 „ 4,9%

³³) E. A. POPENOE & V. DU VIGNEAUD, J. Amer. chem. Soc. **76**, 6202 (1954).

L-Arginyl-*L*-tryptophanate de méthyle, 2HCl (XL). – a) A partir du *N*-trityl-*L*-arginyl-*L*-tryptophanate de méthyle, HCl. On chauffe 15,0 g (23,0 mmoles) de chlorhydrate de *N*-trityl-*L*-arginyl-*L*-tryptophanate de méthyle (XXXIX) à 100° pendant 10 min dans 150 ml d'acide acétique glacial. Après refroidissement on ajoute 40 ml d'une solution 0,6-n. de HCl dans l'acide acétique glacial, évapore à sec au vide, triture avec de l'éther, et dissout dans 60 ml d'eau. Une partie insoluble est éloignée par filtration et le filtrat est évaporé à sec. On obtient 9,6 g (93%) de dichlorhydrate de *L*-arginyl-*L*-tryptophanate de méthyle de F. 150° (déc.). Pour l'analyse, des traces d'arginine sont éliminées par chromatographie sur poudre de cellulose (Solka Flok BW100) dans le mélange méthyl-éthyl-cétone/pyridine/eau (65:15:20). $[\alpha]_D^{20} = -6,7^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,1; eau); $-6,7^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,0; diméthylformamide). $Rf_M^0 = 0,55$. Spectre UV.: $\lambda_{max} = 275 m\mu$ (log $\epsilon = 3,71$), $283 m\mu$ (log $\epsilon = 3,73$), $290 m\mu$ (log $\epsilon = 3,66$) dans méthanol-eau-tributylamine (60:15:1). Insoluble dans les solvants organiques sauf les alcools et le diméthylformamide.

$C_{18}H_{28}O_3N_6Cl_2$	Calculé C 48,3	H 6,3	Cl 15,9%
(447,4)	Trouvé ,, 48,3	,, 6,4	,, 15,9%

b) A partir du *N*-CBO-*L*-arginyl-*L*-tryptophanate de méthyle, HCl. A une suspension de 1,6 g de catalyseur d'hydrogénation selon KUHN³⁴) préhydrogéné pendant 30 min, on ajoute 1,64 g (30 mmoles) de chlorhydrate de *N*-CBO-*L*-arginyl-*L*-tryptophanate de méthyle (XXXVIII) dissous dans 50 ml de méthanol additionné de 0,1 ml d'acide acétique glacial. Après 8 h l'absorption d'hydrogène se stabilise à 52 ml (80%). On filtre, ajoute 1,25 ml de HCl méthanolique 2,4-n. et évapore à sec. Le résidu est repris dans 15 ml d'eau. Après filtration, on évapore à sec. Après reprises et évaporations répétées dans du méthanol anhydre et trituration du résidu dans de l'éther, on obtient 985 mg (75%) de dichlorhydrate de *L*-arginyl-*L*-tryptophanate de méthyle présentant les mêmes caractéristiques que celui obtenu par la méthode a).

N, N'-Ditrityl-*L*-histidyl-*L*-phénylalanyl-*L*-arginyl-*L*-tryptophanate de méthyle, HCl (XLI). Une solution de 7,25 g (16,2 mmoles) de dichlorhydrate de *L*-arginyl-*L*-tryptophanate de méthyle (XL) dans 100 ml de diméthylformamide est additionnée de 2,04 ml (14,6 mmoles) de triéthylamine puis mélangée à une solution de 11,5 g (14,6 mmoles) de ditrityl-*L*-histidyl-*L*-phénylalanine (XXIX) dans 20 ml d'acétonitrile. On ajoute 3,8 g (18,4 mmoles) de dicyclohexyl-carbodiimide et on agite 36 h à 20°. Le mélange de réaction est ensuite refroidi à -10° et la dicyclohexylurée est éloignée par filtration et lavée avec 10 ml de diméthylformamide-acétonitrile 5:1. Les filtrats réunis sont évaporés au vide à 40° et le résidu est trituré dans l'eau puis dans l'éther de pétrole. Après dissolution dans 20 ml de chlorure de méthylène, filtration d'une petite quantité d'insoluble et précipitation par 150 ml d'éther de pétrole, on obtient 11,8 g (69%) de chlorhydrate de ditrityl-*L*-histidyl-*L*-phénylalanyl-*L*-arginyl-*L*-tryptophanate de méthyle de F. 170–178° (déc.). $[\alpha]_D^{21} = -27,6^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 1,3; diméthylformamide); $-15,7^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 1,6; méthanol). $Rf_M^b = 0,60$. Spectre UV.: $\lambda_{max} = 269 m\mu$ (log $\epsilon = 3,82$), $282 m\mu$ (log $\epsilon = 3,80$), $291 m\mu$ (log $\epsilon = 3,75$), dans diméthylformamide-tributylamine (97:3). Soluble dans le diméthylformamide, les alcools et le chlorure de méthylène. Insoluble dans l'éther et l'éther de pétrole.

$C_{71}H_{71}O_6N_{10}Cl$ (1179,8)	Calculé C 72,3	H 6,1	O 6,8	N 11,9	Cl 3,0%
$C_{71}H_{71}O_6N_{10}Cl \cdot H_2O$ (1197,8)	Calculé ,, 71,2	,, 6,1	,, 8,0	,, 11,7	,, 3,0%
	Trouvé ,, 71,5	,, 6,3	,, 7,8	,, 11,6	,, 3,1%

N, N'-Ditrityl-*L*-histidyl-*L*-phénylalanyl-*L*-arginyl-*L*-tryptophane (XLII). A une suspension de 7,0 g (5,9 mmoles) de chlorhydrate de *N, N'*-ditrityl-*L*-histidyl-*L*-phénylalanyl-*L*-arginyl-*L*-tryptophanate de méthyle (XLI) dans 50 ml d'éthanol 96%, on ajoute, en mince filet et sous agitation, 7,0 ml de NaOH 4-n. de façon que le produit passe rapidement en solution. Après 1 h à 20°, on filtre d'un faible précipité, lave avec un peu d'éthanol et laisse couler la solution sous agitation dans 300 ml d'acide acétique 1-n. refroidi à 0°. Par filtration, lavage à l'eau glacée et séchage au vide, on obtient 6,4 g (95%) de *N, N'*-ditrityl-*L*-histidyl-

³⁴) R. KUHN & J. HAAS, Angew. Chem. **67**, 785 (1955).

L-phénylalaninyl-L-argininyl-L-tryptophane de F. 200–210° (déc.). $Rf_M^b = 0,32$. $E_{5,8}^b = 0,7$ His; $E_{3,2}^b = 0,8$ Lys; $E_{7,0}^b = 1,0$ His (révélation par ninhydrine, PAULY⁴) et FOLIN-CIOCALTEU⁴). $[\alpha]_D^{22} = -21^\circ \pm 1^\circ$ (c = 1,1; diméthylformamide). Spectre UV.: $\lambda_{max} = 269$ m μ (log $\epsilon = 3,77$), 283 m μ (log $\epsilon = 3,76$), 291 m μ (log $\epsilon = 3,73$). Soluble dans le diméthylformamide et les alcools. Insoluble dans l'éther.

$C_{70}H_{68}O_5N_{10}$ (1129,3)	Calculé C 74,4	H 6,1	O 7,1	N 12,4%
$C_{70}H_{68}O_5N_{10}, 1\frac{1}{2}H_2O$ (1147,3)	Calculé „ 72,7	„ 6,2	„ 9,0	„ 12,1%
	Trouvé „ 72,6	„ 6,3	„ 8,8	„ 12,2%

Par hydrolyse acide on obtient de l'histidine, de la phénylalanine et de l'arginine²¹) en quantités équimoléculaires⁴). Après scission des groupes trityle par l'acide acétique chaud le produit est entièrement scindé⁴) par la leucine-aminopeptidase¹³)²²) en histidine, phénylalanine, arginine et tryptophane.

b) Séquence Gly-Lys-Pro-Val

N,N'-di-CBO-L-Lysine (XLIII). A une solution de 125 g (684 mmoles) de monochlorhydrate de L-lysine dans 342 ml d'eau et 684 ml de NaOH 2-n. refroidie extérieurement par un bain glace-sel de -10° , on ajoute simultanément, sous très forte agitation, en 75 min, 852 ml de NaOH 4-n. et 360 ml de chloroformiate de benzyle, refroidis tous deux à 0° , de telle façon que la température du mélange de réaction ne dépasse pas 0° et que le pH ne descende pas au-dessous de 10^{35}). Après encore 15 min d'agitation supplémentaire, on abaisse le pH à 1,5 par adjonction de 1000 ml de HCl 2-n. glacé, extrait deux fois à l'éther, lave la solution étherée par HCl 1-n. et eau, extrait l'éther par une fois 2000 ml et deux fois 500 ml de NH_4OH 1-n., lave deux fois à l'éther la solution ammoniacale, acidifie celle-ci à 0° par 700 ml d'HCl 4-n. en présence de 500 g de glace et de 2000 ml d'éther, sépare la couche étherée et extrait encore la couche aqueuse par deux fois 400 ml d'éther. Les solutions étherées réunies, sont extraites par une fois 2000 ml et deux fois 400 ml de NH_4OH 1-n., la solution ammoniacale est lavée deux fois à l'éther, puis elle est acidifiée à 0° sous forte agitation par 750 ml de HCl 4-n. en présence de 2000 ml d'éther. On extrait encore la couche aqueuse par deux fois 200 ml d'éther. Les solutions étherées réunies sont séchées sur Na_2SO_4 et évaporées à sec au vide. On obtient 243 g d'un sirop qui est encore évaporé deux fois au vide après dissolution dans du toluène sec et séché au vide poussé. La cristallisation qui commence est complétée par adjonction de 350 ml d'éther sec et de 1000 ml d'éther de pétrole. Après filtration, lavage et séchage, on obtient 223 g (79%) de *N,N'*-di-CBO-L-lysine de F. 80^{36}). $[\alpha]_D^{22} = -1,5^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,0; acide acétique glacial); $-3,9^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,0; méthanol); $+1,5^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,0; NaOH méthanolique 1-n.); $-7,8^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,0; pyridine). Soluble dans les alcools et les solvants organiques sauf l'éther de pétrole.

$C_{22}H_{26}O_6N_2$ (414,4)	Calculé C 63,8	H 6,3	O 23,2	N 6,8% p. équiv. 414
	Trouvé „ 64,0	„ 6,6	„ 22,4	„ 6,7% p. équiv. 420

ϵ -N-CBO-L-Lysinate de méthyle, HCl (XLI V). A une solution de 207 g (500 mmoles) de *N,N'*-di-CBO-L-lysine (XLIII) dans 1250 ml d'éther anhydre, on ajoute en 30 min à -10° 92 ml de chlorure de thionyle. Après séjour de 30 min à 20° , on chauffe à reflux. Le produit passe rapidement en solution et des cristaux se forment après environ 1 h. Après un chauffage à reflux de 3 h au total, on refroidit à 10° et ajoute 1200 ml de méthanol anhydre. Les cristaux passent en solution. Après 16 h à 20° on évapore au vide, évapore encore trois fois après adjonction, chaque fois, de 200 ml de méthanol anhydre, dissout le sirop obtenu dans 200 ml de méthanol anhydre à 50° et provoque la cristallisation par adjonction de 2000 ml d'éther anhydre. Après filtration, on recristallise du mélange méthanol-éther, sèche et obtient 124 g (75%) de chlorhydrate de ϵ -N-CBO-L-lysinate de méthyle de F. 117° (litt. ³⁶)

³⁵) Si la réaction est conduite à un pH inférieur à 10, une quantité importante de produits secondaires apparaît.

³⁶) M. BERGMANN, L. ZERVAS & W. F. ROSS (J. biol. Chemistry **111**, 245 (1935)) indiquent un F. de 150° que nous ne pouvons confirmer.

117°). $[\alpha]_D^{21} = +15,0^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,0; eau); $+16,7^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,0; méthanol). $Rf_M^O = 0,95$. Soluble dans l'eau, les alcools, la pyridine, l'acide acétique et le diméthylformamide. Peu soluble dans les autres solvants organiques.

$C_{15}H_{23}O_4N_2Cl$	Calculé C 54,5	H 7,0	N 8,5	Cl 10,7%
(330,8)	Trouvé „ 53,9	„ 7,3	„ 8,4	„ 10,7%

Par hydrolyse de 16 h à 110° dans HCl 6-n. on obtient de la L-lysine de $[\alpha]_D^{20} = +26,5^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,0; HCl 6-n.) (litt. $[\alpha]_D^{23} = +25,9^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2; HCl 6-n.)).

N-Trityl-glycyl-ε-N-CBO-L-lysinate de méthyle (XLV). A une solution refroidie à -10° de 127 g (400 mmoles) de N-trityl-glycine⁶⁾ et de 95 ml (400 mmoles) de tri-n-butylamine dans 800 ml de tétrahydro-furane anhydre, on ajoute sous agitation en 20 min 38,4 ml (400 mmoles) de chloroformiate d'éthyle et, après encore 10 min, une solution sursaturée de 135 g (400 mmoles) de chlorhydrate de ε-N-CBO-L-lysinate de méthyle (XLIV) et de 95 ml de tri-n-butylamine dans 400 ml de tétrahydro-furane anhydre (préparée par chauffage à 40° jusqu'à dissolution et refroidissement rapide à 0°). On agite encore 2 h, laisse 16 h à 20°, évapore à sec au vide, dissout dans 1200 ml d'acétate d'éthyle, lave deux fois par l'eau, trois fois par HCl 1-n. (à 0° et rapidement), trois fois par NH_4OH 1-n., deux fois par l'eau, sèche sur Na_2SO_4 et évapore au vide. Après trituration dans l'éther de pétrole, on obtient 210 g (88%) de N-trityl-glycyl-ε-N-CBO-L-lysinate de méthyle de F. 75° (déc.). $[\alpha]_D^{21} = -2,4^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,0; méthanol); $-11,9^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,0; pyridine). $Rf_M^b = 0,70$. Soluble dans les solvants organiques sauf l'éther de pétrole.

$C_{36}H_{39}O_5N_3$ (593,7)	Calculé N 7,1%	Trouvé N 6,9%
------------------------------	----------------	---------------

N-Trityl-glycyl-ε-N-CBO-L-Lysine (XLVI). Une solution de 119 g (200 mmoles) de N-trityl-glycyl-ε-N-CBO-L-lysinate de méthyle (XLV) dans 560 ml de méthanol est additionnée lentement sous agitation de 150 ml de NaOH 4-n. aqueux. Après 70 min à 20°, on refroidit à 0° et ajoute 300 ml de HCl 2-n. de façon à amener le pH à 2,5. L'huile qui se dépose est séparée de la couche aqueuse et dissoute dans 600 ml d'acétate d'éthyle. La couche aqueuse est additionnée de 2 volumes d'eau et extraite par deux fois 100 ml d'acétate d'éthyle. Les solutions organiques réunies sont lavées par du HCl 1-n. additionné de NaCl pour faciliter la séparation, par NaCl 15% et NaCl 30%, séchées sur Na_2SO_4 et évaporées à sec. Par reprise dans l'éther de pétrole et trituration, on obtient 99 g (85%) de N-trityl-L-glycyl-ε-N-CBO-L-lysine de F. 110°. $[\alpha]_D^{21} = +4,1^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,0; méthanol); $-7,1^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,0; pyridine). $Rf_M^b = 0,40$. Soluble dans les alcalis et les solvants organiques sauf l'éther de pétrole.

$C_{35}H_{37}O_5N_3$	Calculé C 72,5	H 6,4	O 13,8	N 7,3%
(579,7)	Trouvé „ 72,2	„ 6,8	„ 14,4	„ 7,1%

L-Valinate de méthyle, HCl (XLVII). On suspend à -10° 130 g (1,1 mole) de L-valine sèche dans 650 ml de méthanol anhydre et ajoute en 3 h 125 ml de chlorure de thionyle pur. Après encore 1 h à 20°, on chauffe 2 h dans un bain à 75°, refroidit, évapore au vide et reprend trois fois par 150 ml d'acétone, en évaporant chaque fois au vide, et sèche 16 h à 60°. Le résidu est de nouveau dissous dans du méthanol, traité par du chlorure de thionyle, chauffé, évaporé et séché comme ci-dessus. Après une nouvelle dissolution dans 140 ml de méthanol anhydre, on précipite par 750 ml d'éther sec, met 2 h à 0°, filtre, lave par 300 ml d'éther et sèche au vide. On obtient 165 g (89%) de chlorhydrate de L-valinate de méthyle de F. 175° (litt. 167,5–168°³⁷⁾; 170°⁷⁾). $[\alpha]_D^{21} = +23,5^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,0; méthanol); $+16,0^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,0; eau) (litt. ³⁷⁾ $[\alpha]_D^{21} = +15,5^\circ$ (c = 2; eau)). $Rf_M^O = 0,90$. Soluble dans l'eau et les alcools. Insoluble dans l'éther.

$C_8H_{14}O_2NCl$ (167,7)	Calculé N 8,4	Cl 21,2%	Trouvé N 8,4	Cl 21,2%
---------------------------	---------------	----------	--------------	----------

³⁷⁾ E. L. SMITH, D. H. SPACKMANN & W. J. POLGLASE, J. biol. Chemistry **199**, 804 (1952).

N-CBO-L-Prolyl-L-valinate de méthyle (XLVIII). Une solution de 56,8 g (228 mmoles) de N-CBO-L-proline et de 54,2 ml (228 mmoles) de tri-n-butylamine dans 215 ml de tétrahydro-furanne est refroidie à -10° et additionnée en 20 min de 21,9 ml (228 mmoles) de chloroformiate d'éthyle. Après encore 10 min d'agitation, on ajoute une solution de 38,2 g (228 mmoles) de chlorhydrate de L-valinate de méthyle (XLVII) et de 54,2 ml (228 mmoles) de tri-n-butylamine dans 130 ml de tétrahydro-furanne. Après 3 h d'agitation à 20° , on évapore au vide, dissout dans 500 ml d'acétate d'éthyle et lave huit fois par H_2SO_4 2-n., une fois par NaCl 10%, quatre fois par NH_4OH 1-n., une fois par NaCl 10%, une fois par NaCl 30%, sèche sur Na_2SO_4 , évapore au vide et obtient 66,4 g (81%) de N-CBO-L-prolyl-L-valinate de méthyle huileux, ne donnant sans scission aucune tache à la ninhydrine, ni à l'isatine, et donnant après scission une tache unique à ces deux réactifs. $Rf_M^a = 0,60$. On obtient le même produit avec des rendements équivalents en effectuant la condensation dans le même solvant par le tétraéthyl-pyrophosphite ou par la dicyclohexyl-carbodiimide⁸⁸).

L-Prolyl-L-valinate de méthyle, HBr (XLIX). 41,2 g (113 mmoles) de N-CBO-L-prolyl-L-valinate de méthyle (XLVIII) sont évaporés trois fois de suite au vide après avoir été chaque fois dissous dans 100 ml de toluène sec. Après la dernière évaporation, on dissout dans 300 ml d'une solution à 20% de HBr dans l'acide acétique glacial et, après 75 min à 20° , évapore au vide et reprend encore deux fois par 50 ml de méthanol anhydre en évaporant, chaque fois au vide. Le sirop est dissous dans 50 ml d'eau et extrait trois fois à l'éther. La solution aqueuse est évaporée au vide à sec, le résidu séché au vide poussé et trituré avec de l'éther sec, puis à nouveau séché au vide poussé. On obtient 33,2 g (95%) de bromhydrate de L-prolyl-L-valinate de méthyle hygroscopique de F. 80° (déc.). $[\alpha]_D^{21} = -51,5^{\circ} \pm 1^{\circ}$ (c = 2,0; méthanol); $-60,0^{\circ} \pm 1^{\circ}$ (c = 2,0; eau). $Rf_M^a = 0,60$ (révélation par ninhydrine ou isatine). Soluble dans l'eau et les alcools. Insoluble dans l'éther.

$C_{11}H_{21}O_3N_2Br$	Calculé C 42,7	H 6,9	O 15,5	N 9,1	Br 25,9%
(309,2)	Trouvé ,, 43,6	,, 6,9	,, 15,9	,, 8,8	,, 25,6%

On peut obtenir directement la base libre en saturant par du K_2CO_3 la solution aqueuse après le lavage à l'éther et en recueillant dans l'acétate d'éthyle l'huile qui se sépare. Après séchage sur Na_2SO_4 et évaporation au vide, la base huileuse est obtenue avec un rendement global de 81%. Elle se transforme en quelques semaines à température ordinaire en dicétopipérazine correspondante de F. 200° .

$C_{10}H_{16}N_2O_2$ (196,2)	Calculé N 14,3%	Trouvé N 14,4%
------------------------------	-----------------	----------------

N-Trityl-glycyl-ε-N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valinate de méthyle (L). A une solution de 58,0 g (100 mmoles) de N-trityl-glycyl-ε-N-CBO-L-lysine (XLVI) et de 25,2 g (110 mmoles) de L-prolyl-L-valinate de méthyle (base libre) (XLIX) dans 300 ml de tétrahydro-furanne anhydre, on ajoute 25,8 g (125 mmoles) de dicyclohexyl-carbodiimide. La solution obtenue dépose rapidement des cristaux de dicyclohexylurée. Après 16 h à 20° , on filtre, évapore à sec, dissout dans 500 ml d'acétate d'éthyle, lave deux fois rapidement par HCl 2-n. à 0° , trois fois par NH_4OH 1-n., par NaCl 15% et par NaCl 30%, sèche sur Na_2SO_4 , évapore à sec au vide, reprend par du toluène sec, évapore au vide, triture avec de l'éther de pétrole, filtre et sèche. On obtient ainsi 73,5 g (93%) de N-trityl-glycyl-ε-N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valinate de méthyle de F. 65° (déc.). $[\alpha]_D^{21} = -33,5^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$ (c = 2,0; méthanol); $-23,0^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$ (c = 2,0; pyridine). $Rf_M^b = 0,75$; $Rf_A^b = 0,74$. Soluble dans les solvants organiques, sauf l'éther de pétrole.

$C_{46}H_{56}O_7N_5$	Calculé C 69,9	H 7,0	O 14,2	N 8,9%
(790,0)	Trouvé ,, 70,3	,, 7,0	,, 14,2	,, 9,2%

N-Trityl-glycyl-ε-N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valine (LI). A une solution de 39,5 g (50 mmoles) de N-trityl-glycyl-ε-N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valinate de méthyle (L) dans 90 ml de méthanol, on ajoute en agitant à 20° en 30 min 30 ml de NaOH 4-n. aqueux. Après

⁸⁸) R. L. M. SYNGE (Biochem. J. **42**, 99 (1948)) a obtenu le même produit sous forme d'huile, également par la méthode au chlorure d'acide.

90 min la solution est filtrée d'un léger trouble, diluée par adjonction de 500 ml d'eau glacée et acidifiée à 0° par HCl 1-n. jusqu'à pH 3. Le précipité est filtré et lavé soigneusement à l'eau. Après séchage au vide, il est dissous dans l'acétone et reprécipité par l'éther isopropylique, puis dissous dans du chlorure de méthylène et reprécipité par l'éther de pétrole. On obtient 31,8 g (82%) de N-trityl-glycyl- ϵ -N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valine de F. 100° (déc.). $[\alpha]_D^{22} = -35,5^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,2; méthanol); $-24,0^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,2; diméthylformamide). $Rf_M^b = 0,60$; $Rf_A^b = 0,65$. Insoluble dans l'éther de pétrole et les éthers supérieurs, peu soluble dans l'éther éthylique. Soluble dans les autres solvants organiques et les alcalis.

$C_{45}H_{53}O_7N_5$	Calculé C 69,6	H 6,9	O 14,4	N 9,0%
(775,9)	Trouvé „ 69,2	„ 6,9	„ 13,9	„ 8,8%

N-Trityl-glycyl- ϵ -N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valylamide (LII). Une solution de 15,9 g (20 mmoles) de N-trityl-glycyl- ϵ -N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valinate de méthyle (L) dans 500 ml de méthanol anhydre est saturée à 0° de NH_3 sec. Après 10 j à 20° la solution est évaporée à sec, et le résidu, trituré avec de l'éther. Après recristallisation par dissolution dans du méthanol chaud, refroidissement et addition d'un volume d'éther, on obtient 9,5 g³⁹⁾ (61%) de N-trityl-glycyl- ϵ -N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valylamide de F. 110° (déc.). $[\alpha]_D^{21} = -39,0^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,6; méthanol); $-21,5^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,7; diméthylformamide). $Rf_M^b = 0,55$. Soluble dans les alcools et le diméthylformamide. Peu soluble dans l'éther.

$C_{45}H_{54}O_8N_6$	Calculé C 69,7	H 7,0	N 10,9	-CONH ₂ 5,7%
(774,9)	Trouvé „ 69,2	„ 7,1	„ 10,8	„ 5,5%

Après scission des groupes trityle et CBO- par une solution de HBr dans l'acide acétique anhydre, le glycyl-L-lysyl-L-prolyl-L-valylamide obtenu est entièrement scindé⁴⁾ par la leucine-aminopeptidase^{13) 22)} en glycine, lysine, proline et valine.

c) Séquence His-Phé-Arg-Try-Gly-Lys-Pro-Val

Glycyl- ϵ -N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valylamide, HCl (LIII). Une solution de 7,75 g (10 mmoles) de N-trityl-glycyl- ϵ -N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valylamide (LII) dans 25 ml d'acide acétique glacial est chauffée 15 min à 100°, refroidie à 35° et évaporée au vide. Par trituration dans l'éther, il se forme des cristaux qui sont libérés au vide de l'éther attendant et dissous dans 40 ml d'eau. Après 1 h à 0°, on filtre du précipité qui s'est formé, ajoute un volume de méthanol au filtrat et traite par 18 g d'Amberlite IRA-410 (base libre) pour enlever l'ion acétate. Le filtrat est neutralisé au pH 5 par du HCl 0,5-n. méthanolique. Après évaporation à sec et trituration à l'éther, on obtient 4,72 g (83%) de chlorhydrate de glycyl- ϵ -N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valylamide de F. 130° (déc.). $Rf_M^o = 0,55$. $E_{3,2}^o = 0,5$ His; $E_{5,3}^o = 0,5$ His; $E_{6,8}^o = 0,8$ His; $E_{7,0}^o = 1,0$ His. $[\alpha]_D^{21} = -62,0^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,2; méthanol); $-35,0^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,4; diméthylformamide). Soluble dans les alcools et le diméthylformamide. Insoluble dans l'éther. Par hydrolyse acide on obtient de la glycine, de la lysine, de la proline et de la valine dans un rapport équimoléculaire.

$C_{26}H_{41}O_6N_6Cl$	Calculé C 54,9	H 7,3	O 16,9	N 14,8	Cl 6,2%
(569,1)	Trouvé „ 55,0	„ 7,5	„ 17,2	„ 15,1	„ 6,0%

N,N'-Ditryl-L-histidyl-L-phénylalanyl-L-arginyl-L-tryptophanyl-glycyl- ϵ -N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valylamide, HCl (LIV). A une solution de 5,65 g (5,0 mmoles) de N,N'-ditryl-L-histidyl-L-phénylalanyl-L-arginyl-L-tryptophane (XLII) et de 3,14 g (5,5 mmoles) de chlorhydrate de glycyl- ϵ -N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valylamide (LIII) dans 25 ml de diméthylformamide, on ajoute 50 ml d'acétonitrile et 1,37 g (6,7 mmoles) de dicyclohexylcarbodiimide et agite 16 h à 20° la solution dans laquelle apparaissent rapidement des cristaux de dicyclohexylurée. Celle-ci est filtrée et lavée par 30 ml de diméthylformamide-

³⁹⁾ Les liqueurs-mères contiennent un mélange de tétrapeptide-ester et de tétrapeptide-amide qui peut être utilisé pour une nouvelle amidification.

acétonitrile (1:2). Le filtrat est évaporé à sec au vide et le résidu est trituré avec deux portions de 100 ml d'éther sec et dissous dans 80 ml de chlorure de méthylène saturé d'eau. On lave deux fois par 60 ml de HCl 0,5-n., 30 ml d'eau additionnés de 1 ml de pyridine, et 20 ml d'eau, sèche sur Na₂SO₄ et évapore à sec. Par trituration avec de l'éther sec on obtient 7,0 g (83%) de chlorhydrate de N,N'-ditrityl-L-histidyl-L-phénylalanyl-L-arginyl-L-tryptophanyl-glycyl-ε-N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valylamide de F. 180° instantané et F. 130° après préchauffage. $Rf_M^b = 0,72$. $[\alpha]_D^{21} = -25,6^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,0; méthanol); $-27,9^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,0; diméthylformamide). Spectre UV.: $\lambda_{max} = 270 \text{ m}\mu$ (log ε = 3,81), 282 mμ (log ε = 3,80), 290 mμ (log ε = 3,74) dans méthanol-eau-triéthylamine (60:15:1). Soluble dans le méthanol, le diméthylformamide et le chlorure de méthylène saturé d'eau. Insoluble dans l'éther.

$C_{96}H_{107}O_{10}N_{16}Cl$ (1680,4)	Calculé C 68,6	H 6,4	O 9,5	N 13,3	Cl 2,1%
	Trouvé ,, 68,5	,, 6,7	,, 9,7	,, 13,3	,, 2,2%

L-Histidyl-L-phénylalanyl-L-arginyl-L-tryptophanyl-glycyl-ε-N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valylamide, HCl (LV). Une solution de 1,25 g (0,75 mmoles) de chlorhydrate de N,N'-ditrityl-L-histidyl-L-phénylalanyl-L-arginyl-L-tryptophanyl-glycyl-ε-N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valylamide (LIV) dans 3 ml d'acide acétique glacial est chauffée 10 min à 105°. Après évaporation à sec au vide, trituration avec de l'éther sec et séchage au vide, on dissout dans 6 ml de méthanol, ajoute 2 ml d'eau et traite par 2,5 g d'Amberlite IRA-410 (base libre). Après neutralisation au pH 3 par un équivalent de HCl 0,2-n. méthanolique, on évapore à sec, sèche au vide poussé, triture avec de l'éther sec et remet au vide poussé. On obtient ainsi 850 mg (95%) de chlorhydrate de L-histidyl-L-phénylalanyl-L-arginyl-L-tryptophanyl-glycyl-ε-N-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valylamide de F. vers 100° avec déc. $Rf_M^o = 0,65$. $E_{3,2}^o = 0,8 \text{ His}$; $E_{5,3}^o = 0,5 \text{ His}$; $E_{5,8}^o = 0,7 \text{ His}$; $E_{7,0}^o = 1,0 \text{ His}$ (révélation par ninhydrine, PAULY⁴) et FOLIN-CIOCALTEU⁴). $[\alpha]_D^{22} = -37,3^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,0; méthanol); $-25,8^\circ \pm 0,5^\circ$ (c = 2,0; diméthylformamide). Spectre UV.: $\lambda_{max} = 282 \text{ m}\mu$ (log ε = 3,79), 290 mμ (log ε = 3,73) dans méthanol-eau-triéthylamine (60:15:1). Soluble dans le méthanol et le diméthylformamide. Insoluble dans l'éther. Par hydrolyse acide²¹) on obtient de l'histidine, de la phénylalanine, de l'arginine, de la glycine, de la lysine, de la proline et de la valine en rapport équimoléculaire⁴). Soumis à l'action de la leucine-aminopeptidase¹⁸)²²), le produit est entièrement⁴) scindé en histidine, phénylalanine, arginine, tryptophane, glycine, ε-N-CBO-lysine, proline et valine.

$C_{58}H_{79}O_{10}N_{16}Cl$ (1195,8)	Calculé C 58,2	H 6,7	N 18,8%
	Trouvé ,, 58,3	,, 6,9	,, 18,2%

SUMMARY

Trityl-glycyl-ε-CBO-L-lysine is condensed with L-prolyl-L-valine methyl ester and, after amidification and splitting of the trityl group, glycyl-ε-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valylamide is obtained. This is condensed with ditrityl-L-histidyl-L-phenylalanyl-L-arginyl-L-tryptophane prepared by condensation of ditrityl-L-histidyl-L-phenylalanine with L-arginyl-L-tryptophane methyl ester and saponification. Dicyclohexyl-carbodiimide is used as a condensing agent. After splitting off the trityl groups, the final octapeptide, L-histidyl-L-phenylalanyl-L-arginyl-L-tryptophanyl-glycyl-ε-CBO-L-lysyl-L-prolyl-L-valylamide is shown to be optically pure by leucine-aminopeptidase digestion.

Laboratoires de Chimie Pharmaceutique SANDOZ
(Dir. Dr J. RENZ), Bâle