

SUMMARY

- 1) Coloured low-temperature deposits of sulphur are produced from molecular-S₂-beams under defined conditions.
- 2) IR, UV, ESR-spectra are measured, as well as electrical resistivity and several other properties of the deposit.
- 3) Through IR-measurements the temperature range of stability and the rate of transformation of the deposits can be quantitatively observed.
- 4) The interpretation of all experiments: induced vibrational transition in the infrared, green colour and absorption spectrum in the visible and near UV, confirms for the first time the existence of S₂ in solid deposits.
- 5) The colour of the deposits is naturally explained as selective scattering by clusters of roughly equal size, consisting of sulphur chains of variable length formed by S₂-condensation on the low temperature target.
- 6) ESR and electrical resistivity are interpreted.

Zürich, Anorganisch-chemisches Institut
der Universität

167. Synthèse de la L-arginyl-L-prolyl-L-prolyl-glycyl-L-phénylalanyl-L-séryl-L-prolyl-L-phénylalanyl-L-arginine, un nonapeptide présentant les propriétés de la bradykinine

par R. A. Boissonnas, St. Guttmann et P.-A. Jaquenoud

(4. VI. 60)

La bradykinine est un polypeptide à effet hypotenseur, qui est formé par l'action de différents enzymes sur les globulines du plasma sanguin et qui a été étudié principalement par ROCHA E SILVA et ses collaborateurs¹⁾²⁾. La bradykinine obtenue par action de la trypsine sur le sang de bœuf a été dernièrement isolée à l'état pur par ELLIOTT et ses collaborateurs, qui en ont examiné la composition en acides aminés³⁾⁴⁾ et en ont tout récemment étudié la structure⁵⁾.

Dans le présent travail, nous rapportons la synthèse de la L-arginyl-L-prolyl-L-prolyl-glycyl-L-phénylalanyl-L-séryl-L-prolyl-L-phénylalanyl-L-arginine (XVII). Les

¹⁾ M. ROCHA E SILVA et coll., *Amer. J. Physiol.* **156**, 261 (1949); *Arch. Biochem. Biophysics* **27**, 410 (1950); *Arch. intern. pharmacodynam. Thérap.* **88**, 271 (1951); **95**, 100 (1953); **170**, 222 (1957); *Biochem. J.* **64**, 701 (1956); *Experientia* **13**, 489 (1957); Symposium sur les peptides vasoactifs au 21^e Congrès intern. de physiologie (Buenos Aires, 15 août 1959).

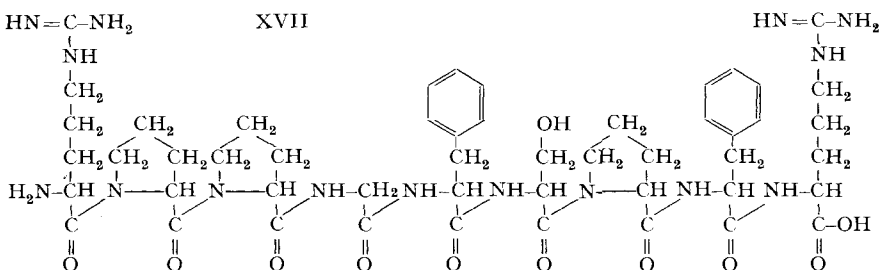
²⁾ ULLA HAMBERG et coll., *Arch. Biochem. Biophysics* **76**, 262 (1958); *Biochim. Biophysica Acta* **34**, 135 (1959).

³⁾ D. F. ELLIOTT, G. P. LEWIS & E. W. HORTON, *Biochem. J.* **74**, 15 P (1960).

⁴⁾ D. F. ELLIOTT, E. W. HORTON & G. P. LEWIS, *J. Physiology* **150**, 6 P (1960).

⁵⁾ D. F. ELLIOTT, communication lue devant la «Biochemical Society (London)» le 8 avril 1960. Nous remercions très vivement le Dr. ELLIOTT de nous avoir communiqué avant publication les résultats de ses travaux sur la détermination de la structure de la bradykinine.

examens pharmacologiques⁶⁾ ont montré que ce nonapeptide possède les propriétés biologiques⁸⁾ de la bradykinine naturelle⁴⁾⁷⁾, alors que les autres séquences apparentées que nous avons également synthétisées⁸⁾ n'ont montré qu'une activité biologique faible ou nulle.



Le schéma de synthèse que nous avons utilisé est résumé ci-après.

La N-CBO-nitro-L-arginine⁹⁾ a été condensée avec le chlorhydrate de L-prolinate de méthyle¹⁰⁾ au moyen du dicyclohexyl-carbodiimide¹¹⁾ en présence de triéthylamine. Le groupe amino secondaire de la proline ne permettant pas une formation rapide de la liaison peptidique, la quantité de N-CBO-nitro-L-arginyl-dicyclohexylurée¹²⁾ formée accessoirement est relativement importante et ne permet pas de purifier de manière satisfaisante l'ester dipeptidique obtenu. Par contre, la saponification en N-CBO-nitro-L-arginyl-L-proline (I) conduit à un produit analytiquement pur. La méthode à l'anhydride mixte¹³⁾ permet d'éviter la formation d'acylurée, mais le rendement total est inférieur.

Des essais préliminaires nous ayant montré que le N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolyl-L-prolyl-glycinate d'éthyle est facilement dégradé lorsqu'on tente de le transformer en hydrazide ou en acide correspondant, nous avons introduit la fonction hydrazide sous forme protégée au début de la synthèse déjà¹⁴⁾. La N-CBO-L-prolyl-

⁶⁾ Nous remercions le Prof. H. KONZETT et le Dr. E. STÜRMER de notre Département pharmacologique (Dir.: Dr. A. CERLETTI) qui ont effectué les déterminations d'activité biologique.

⁷⁾ Nous remercions le Dr. J.-F. PECHÈRE qui a préparé dans nos laboratoires un échantillon de bradykinine naturelle purifiée, à partir de globulines de plasma sanguin de bœuf soumises à l'action de la trypsine.

⁸⁾ R. A. BOISSONNAS, ST. GUTTMANN, P.-A. JAQUENOUD, H. KONZETT & E. STÜRMER, *Experientia*, sous presse; H. KONZETT & E. STÜRMER, *Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy* (sous presse).

⁹⁾ M. BERGMANN, L. ZERVAS & H. RINKE, *Z. physiol. Chem.* 224, 40 (1934); H. O. VAN ORDEN & E. L. SMITH, *J. biol. Chemistry* 208, 751 (1954); K. HOFMANN, A. R. RHEINER & W. D. PECKHAM, *J. Amer. chem. Soc.* 78, 238 (1956).

¹⁰⁾ B. F. ERLANGER, H. SACHS & E. BRAND, *J. Amer. chem. Soc.* 76, 1806 (1954); ING. SCHUMANN & R. A. BOISSONNAS, *Helv.* 35, 2237 (1952).

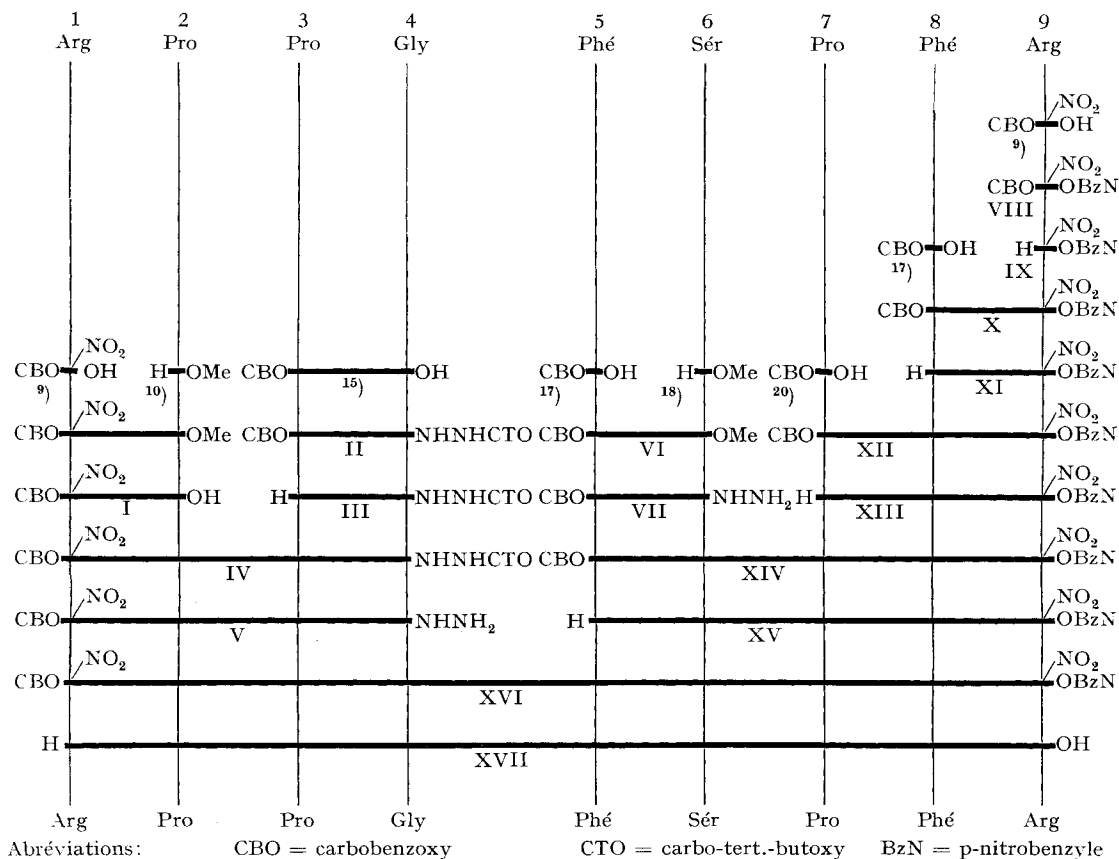
¹¹⁾ J. C. SHEEHAN & G. P. HESS, *J. Amer. chem. Soc.* 77, 1067 (1955).

¹²⁾ Cf. H. ZAHN & J. F. DIEHL, *Z. Naturforsch.* 12b, 85 (1957).

¹³⁾ 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).

¹⁴⁾ Des communications préliminaires sur l'emploi du groupe carbo-tert.-butoxy-(CTO-) pour la protection temporaire de la fonction hydrazide ont été données par l'un de nous (St. G.) et par R. SCHWYZER au 2^e Symposium européen sur les peptides à Munich (6-9 sept. 1959).

Schéma de synthèse



glycine¹⁵⁾ a été condensée par la méthode à l'anhydride mixte¹³⁾ avec le carbazate de tert.-butyle¹⁶⁾ en N-CBO-L-prolyl-glycyl-(2-carbo-tert.-butoxy-)hydrazide (II). Le groupe CBO- a été éloigné sélectivement par hydrogénation catalytique et le L-prolyl-glycyl-(2-carbo-tert.-butoxy-)hydrazide (III) obtenu a été condensé avec la N-CBO-nitro-L-arginyl-L-proline (I) par la méthode au dicyclohexyl-carbodiimide en N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolyl-L-prolyl-glycyl-(2-carbo-tert.-butoxy-)hydrazide (IV). Celui-ci, après scission sélective du groupe carbo-tert.-butoxy- par le gaz chlorhydrique dans l'éthanol, a fourni le chlorhydrate du N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolyl-L-prolyl-glycylhydrazide (V) avec un rendement quantitatif.

D'autre part, la condensation de la N-CBO-L-phénylalanine¹⁷⁾ avec le chlorhydrate de L-sérinate de méthyle¹⁸⁾ par le dicyclohexyl-carbodiimide en présence de

¹⁵⁾ H. N. RYDON & P. W. G. SMITH, J. chem. Soc. 1956, 3642; W. GRASSMANN & E. WÜNSCH, Chem. Ber. 91, 449 (1958).

¹⁶⁾ L. A. CARPINO, J. Amer. chem. Soc. 79, 98 (1957).

¹⁷⁾ W. GRASSMANN & E. WÜNSCH, Chem. Ber. 91, 462 (1958); cf. aussi E. P. GROMERS & J. F. ARENS, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 78, 558 (1959).

¹⁸⁾ ST. GUTTMANN & R. A. BOISSONNAS, Helv. 41, 1852 (1958).

triéthylamine nous a fourni le N-CBO-L-phénylalanyle-L-sérinate de méthyle (VI) qui a été transformé en hydrazide correspondant (VII).

La fonction carboxylique de l'arginine C-terminale a été protégée pendant la synthèse grâce à sa transformation en ester p-nitrobenzylique correspondant¹⁹), ce groupe protecteur présentant l'avantage d'être suffisamment stable à l'action de l'acide bromhydrique dans l'acide acétique ou l'acide trifluoracétique, tout en étant facilement scindable par hydrogénation catalytique en fin de synthèse.

Par réaction de la N-CBO-nitro-L-arginine⁹) avec le chlorure de p-nitrobenzyle en présence de triéthylamine¹⁹), nous avons obtenu le N-CBO-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (VIII), qui a été transformé quantitativement en bromhydrate de nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (IX) par action de l'acide bromhydrique dans l'acide acétique. La N-CBO-L-phénylalanine¹⁷) a été condensée avec cet ester par la méthode à l'anhydride mixte¹⁸) en N-CBO-L-phénylalanyle-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (X), dont le traitement par l'acide bromhydrique dans l'acide acétique glacial a fourni quantitativement le bromhydrate de L-phénylalanyle-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XI). Ce dernier a été condensé avec la N-CBO-L-proline²⁰) par la méthode à l'anhydride mixte¹⁸) en N-CBO-L-prolyl-L-phénylalanyle-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XII) avec un très bon rendement. Après éloignement du groupe CBO- par l'acide bromhydrique dans l'acide acétique glacial, nous avons obtenu quantitativement le L-prolyl-L-phénylalanyle-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XIII).

Le N-CBO-L-phénylalanyle-L-sérylhydrazide (VII) a alors été transformé en azide correspondant qui a été condensé avec l'ester tripeptidique XIII ci-dessus. Le N-CBO-L-phénylalanyle-L-séryl-L-prolyl-L-phénylalanyle-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XIV) obtenu a donné quantitativement, par scission de son groupe CBO- par l'acide bromhydrique dans l'acide trifluoracétique, le L-phénylalanyle-L-séryl-L-prolyl-L-phénylalanyle-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XV), l'emploi d'acide trifluoracétique à la place d'acide acétique empêchant dans ces conditions une acylation de l'hydroxyle de la sérine²¹). Ce pentapeptide a été ensuite condensé avec l'azide obtenu à partir du N-CBO-nitro-L-arginyle-L-prolyl-L-prolyl-glycylhydrazide (V) ci-dessus en N-CBO-nitro-L-arginyle-L-prolyl-L-prolyl-glycyl-L-phénylalanyle-L-séryl-L-prolyl-L-phénylalanyle-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XVI).

Les groupes protecteurs de ce nonapeptide protégé ont été scindés en une seule opération par hydrogénation catalytique et le produit de scission a été purifié par contre-courant. La L-arginyle-L-prolyl-L-prolyl-glycyl-L-phénylalanyle-L-séryl-L-prolyl-L-phénylalanyle-L-arginine ainsi obtenue s'est montrée homogène à la chromatographie sur papier dans trois systèmes et à l'électrophorèse sur papier à six pH étagés de 1,9 à 12,0, par révélation à la ninhydrine, au réactif chlore-iodure-amidon, au bleu de bromophénol et au réactif de SAKAGUCHI. L'hydrolyse acide a donné les acides aminés composants dans les rapports attendus.

L'attaque à la chymotrypsine provoque une libération rapide d'une mole d'arginine, suivie d'une scission nettement plus lente de l'octapeptide formé. La carboxypeptidase libère rapidement une mole de phénylalanine à partir de cet octapeptide,

¹⁹) H. SCHWARZ & K. ARAKAWA, J. Amer. chem. Soc. *81*, 5691 (1959).

²⁰) A. BERGER, J. KURTZ & E. KATCHALSKI, J. Amer. chem. Soc. *76*, 5552 (1954); M. ZAORAL, Chem. Listy *48*, 1583 (1954).

²¹) ST. GUTTMANN & R. A. BOISSONNAS, Helv. *41*, 1852 (1958); *42*, 1257 (1959).

et aucun autre acide aminé n'apparaît si l'on prolonge l'action de cet enzyme. – La bradykinine naturelle a montré exactement le même comportement vis-à-vis de la chymotrypsine et de la carboxypeptidase⁵⁾.

Les activités biologiques de notre peptide synthétique ont été déterminées par le Prof. H. KONZETT, le Dr. E. STÜRMER et le Dr. W. DOEPFNER²²⁾ et comparées à celles de l'histamine, de l'acétylcholine et de la bradykinine naturelle⁷⁾. Des doses de 2 à $4 \cdot 10^{-7}$ g par kg provoquent déjà une baisse de pression sanguine chez le lapin, le rat, le cobaye, le chat et le chien anesthésiés. Une dose de $2 \cdot 10^{-7}$ g par kg déclenche un effet bronchoconstricteur chez le cobaye. L'injection intradermique de $1 \cdot 10^{-9}$ g chez le cobaye amène une modification de la perméabilité capillaire. Une concentration de $1 \cdot 10^{-9}$ g par ml suffit pour contracter l'iléum isolé de cobaye et le duodénum isolé de lapin. Une concentration de $1 \cdot 10^{-10}$ g par ml provoque la contraction de l'utérus isolé de rat. Ces activités correspondent qualitativement et quantitativement à celles qui ont été indiquées pour la bradykinine naturelle pure⁴⁾. *Note ajoutée à la correction:* Dans une lettre datée du 5 VII 1960, le Dr. D. F. ELLIOTT nous signale qu'il vient de confirmer expérimentalement que la bradykinine naturelle possède bien la structure du nonapeptide dont la synthèse est décrite dans le présent travail.

Partie expérimentale²³⁾

Les F. sont corrigés (précision $\pm 1^\circ$). Les séchages *au vide* ont été effectués sous 10^{-2} à 10^{-3} Torr (16 h à 60° pour les analyses). Les évaporations *sous vide* ont été conduites dans l'évaporateur rotatif de CRAIG²⁴⁾.

Les chromatographies sur papier ont été faites par la méthode ascendante (20–23 cm) sur papier «SCHLEICHER & SCHUELL 2040 b lavé». Rf_M dans le mélange méthyléthylcétone/pyridine/eau (65:15:20); Rf_P dans le mélange n-butanol/acide acétique/eau (70:10:20); Rf_A dans le mélange alcool isoamylique/pyridine/eau (35:35:30). Rf^a après scission préliminaire du groupe CBO- par séjour de 40 min à 20° dans une solution 20% de HBr dans l'acide acétique glacial, évaporation *au vide* et reprise dans le solvant de chromatographie ou d'électrophorèse; Rf^b après scission préliminaire du groupe CBO- par hydrogénation catalytique; Rf^c sans traitement préalable.

Les électrophorèses sur papier ont été effectuées dans l'appareil à électrophorèse sous haute tension de WIELAND & PFLEIDERER²⁵⁾: au pH 1,9 ($E_{1,9}$) dans le mélange acide formique/acide acétique/eau (15:10:75); au pH 5,8 ($E_{5,8}$) dans le mélange pyridine/acide acétique/eau (9:1:90). $E_{1,9} = 0,8$ His indique qu'à pH 1,9 la substance migre 0,8 fois la distance que migre l'histidine. La DNP-glucosamine est prise comme marqueur de l'origine. Les exposants a, h et 0 ont la même signification que pour les chromatogrammes.

Les réactifs utilisés pour la révélation des chromatogrammes et des phérogrammes ont été décrits précédemment²⁶⁾.

N-CBO-Nitro-L-arginyl-L-proline (I). On dissout 3,53 g (10 mmoles) de N-CBO-nitro-L-arginine⁹⁾ anhydre, 1,66 g (10 mmoles) de chlorhydrate de L-prolinate de méthyle¹⁰⁾ et 1,40 ml (10 mmoles) de triéthylamine dans 25 ml de diméthylformamide et 10 ml d'acétonitrile, refroidit à -10° et ajoute 2,48 g (12 mmoles) de dicyclohexyl-carbodiimide. On laisse 15 h à 20° , évapore les solvants *au vide*, triture le résidu avec de l'éther de pétrole jusqu'à obtention d'un produit

²²⁾ Département pharmacologique SANDOZ (Dir.: Dr. A. CERLETTI), Bâle.

²³⁾ Les microanalyses ont été effectuées dans notre Laboratoire microanalytique (Dr. W. SCHÖNIGER).

²⁴⁾ L. C. CRAIG, J. C. GREGORY & W. HAUSMANN, *Anal. Chemistry* 22, 1462 (1950).

²⁵⁾ TH. WIELAND & G. PFLEIDERER, *Angew. Chem.* 67, 257 (1955).

²⁶⁾ R. A. BOISSONNAS & R. L. HUGUENIN, *Helv.* 43, 186 (1960); ST. GUTTMANN & R. A. BOISSONNAS, *ibid.* 43, 205.

solide, reprend celui-ci par 100 ml d'acétate d'éthyle et 30 ml de HCl 1N, filtre la dicyclohexylurée et lave la couche organique par encore deux fois 30 ml de HCl 1N et trois fois 30 ml de NH_4OH 1N. Après séchage sur du sulfate de sodium et évaporation à sec jusqu'à obtention d'un résidu pulvérulent, on dissout celui-ci dans 30 ml de méthanol et 30 ml de NaOH 1N et laisse 1 h à 20°. On ajoute 50 ml d'eau, filtre, lave rapidement la solution alcaline par trois portions de 50 ml d'acétate d'éthyle, acidifie par 10 ml de HCl 4N, extrait par trois portions de 50 ml d'acétate d'éthyle, sèche celui-ci sur du sulfate de sodium et évapore au vide. Le résidu cristallin obtenu est trituré avec 15 ml de méthanol. Après filtration et séchage au vide on obtient 2,30 g (51%) de N-CBO-nitro-L-arginyl-L-proline cristalline de F. 119°. $[\alpha]_D^{22} = -26,5^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 2,0$; diméthylformamide), $-46,5^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 2,0$; acide acétique glacial). $\text{Rf}_M^a = 0,23$; $\text{Rf}_P^a = 0,20$; $\text{Rf}_A^a = 0,32$; $\text{E}_{1,9}^a = 1,1$ Try = 0,9 Glu; $\text{E}_{5,8}^a = 1,0$ Try (révélation par ninhydrine et chlore; homogène).

$\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_7\text{N}_6$	Calc. C 50,6	H 5,8	O 24,9	N 18,7%
(450,4)	Tr. ,, 50,6	,, 5,9	,, 24,7	,, 18,2%

N-CBO-L-Prolyl-glycyl-(2-carbo-tert.-butoxy-)hydrazide (II). On dissout 29,7 g (97 mmoles) de N-CBO-L-prolyl-glycine¹⁵) et 13,6 ml (97 mmoles) de triéthylamine dans 250 ml de tétrahydrofuranne, refroidit à -10° , ajoute 9,3 ml (97 mmoles) de chloroformiate d'éthyle et, après 10 min, 12,8 g (97 mmoles) de carbazate de tert.-butyle¹⁶) et laisse 5 h à température ordinaire. Après évaporation au vide, on reprend par 300 ml d'acétate d'éthyle, lave trois fois à l'eau puis trois fois par NH_4OH 1N. Après séchage sur du sulfate de sodium, on évapore au vide et sèche au vide poussé. Le résidu est dissous dans 75 ml d'éther anhydre et placé à la glacière. Après 16 h, les cristaux sont filtrés et lavés par un peu d'éther et par de l'éther de pétrole. Après séchage au vide, on obtient 18,9 g (46%) de N-CBO-L-prolyl-glycyl-(2-carbo-tert.-butoxy-)hydrazide cristallin de F. 119°. $[\alpha]_D^{21} = -30,0^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 2,0$; diméthylformamide), $-44,5^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 2,0$; méthanol). $\text{Rf}_M^h = 0,58$; $\text{Rf}_P^h = 0,60$; $\text{Rf}_A^h = 0,61$; $\text{E}_{1,9}^h = 1,1$ Glu; $\text{E}_{5,8}^h = 1,1$ His (révélation par isatine, FOLIN et chlore; homogène).

$\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_6\text{N}_4$	Calc. C 57,1	H 6,7	O 22,8	N 13,3%
(420,5)	Tr. ,, 57,1	,, 6,6	,, 22,8	,, 13,6%

L-Prolyl-glycyl-(2-carbo-tert.-butoxy-)hydrazide (III). A 4,0 g de catalyseur d'hydrogénation selon KUHN²⁷) préhydrogéné pendant 30 min, on ajoute une solution de 16,8 g (40 mmoles) de l'hydrazide II dans 500 ml de méthanol. L'hydrogénation est terminée en 30 min. Après filtration, on évapore à sec, redissout dans 100 ml d'acétonitrile et réévapore à sec. Par reprise du produit obtenu dans l'éther de pétrole et filtration, on obtient 11,2 g (98%) de L-prolyl-glycyl-(2-carbo-tert.-butoxy-)hydrazide cristallin de F. 69°. $[\alpha]_D^{21} = -29,6^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 2,0$; diméthylformamide), $-33,5^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 2,0$; méthanol). $\text{Rf}_M^0 = 0,58$; $\text{Rf}_P^0 = 0,60$; $\text{Rf}_A^0 = 0,61$; $\text{E}_{1,9}^0 = 1,1$ Glu; $\text{E}_{5,8}^0 = 1,1$ His (révélation par isatine, FOLIN et chlore; homogène).

$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_4\text{N}_4$	Calc. C 50,3	H 7,7	O 22,4	N 19,6%
(286,3)	Tr. ,, 50,1	,, 7,8	,, 22,9	,, 19,5%

N-CBO-Nitro-L-arginyl-L-prolyl-L-prolyl-glycyl-(2-carbo-tert.-butoxy-)hydrazide (IV). On dissout 8,56 g (19 mmoles) de N-CBO-nitro-L-arginyl-L-proline (I) et 5,73 g (20 mmoles) de L-prolyl-glycyl-(2-carbo-tert.-butoxy-)hydrazide (III) dans un mélange de 150 ml d'acétonitrile et de 20 ml de diméthylformamide, refroidit à -5° et ajoute 5,15 g (25 mmoles) de dicyclohexylcarbodiimide. Après 12 h à 20°, on filtre, évapore l'acétonitrile, précipite à l'éther, triture le précipité avec de l'éther de pétrole et redissout le produit pulvérulent obtenu dans 500 ml de chloroforme. Après lavage par 2 fois 20 ml de H_3PO_4 1M, 3 fois 20 ml de Na_2CO_3 1N et 1 fois 20 ml de NaCl 30%, on sèche sur Na_2SO_4 , évapore à sec, triture dans l'éther de pétrole et lave à l'éther. On obtient ainsi 11,3 g (83%) de N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolyl-L-prolyl-glycyl-(2-carbo-tert.-butoxy-)hydrazide de F. 115° (déc.). $[\alpha]_D^{22} = -66,6^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 1,2$; méthanol), $-39,9^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 1,6$; diméthylformamide). $\text{Rf}_M^a = 0,50$; $\text{Rf}_P^a = 0,20$; $\text{Rf}_A^a = 0,48$; $\text{E}_{1,9}^a = 1,1$ Glu; $\text{E}_{5,8}^a = 0,8$ His (révélation par ninhydrine, FOLIN et chlore).

$\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{O}_{10}\text{N}_{10}$	Calc. C 51,8	H 6,5	O 22,3	N 19,5%
(718,8)	Tr. ,, 51,7	,, 6,6	,, 22,3	,, 19,3%

²⁷) R. KUHN & J. HAAS, *Angew. Chem.* 67, 785 (1955).

N-CBO-Nitro-L-arginyl-L-prolyl-L-prolyl-glycylhydrazide, HCl (V). On dissout 7,19 g (10 mmoles) de l'hydrazide IV dans 45 ml d'éthanol absolu 4N en HCl, laisse 1 h à 20°, concentre au vide et précipite à l'éther. Après séchage au vide on obtient 6,42 g (98%) de chlorhydrate de N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolyl-L-prolyl-glycylhydrazide de F. 123° (déc.). $E_{1,9}^0 = 0,8$ Try; $E_{5,8}^0 = 0,8$ Try (révélation au FOLIN; homogène).

N-CBO-L-Phénylalanyl-L-sérinate de méthyle (VI). On dissout 9,00 g (30 mmoles) de N-CBO-L-phénylalanine¹⁷), 5,00 g (32 mmoles) de chlorhydrate de L-sérinate de méthyle¹⁸) et 4,34 ml (31 mmoles) de triéthylamine dans 150 ml d'acétonitrile, refroidit à -10° et ajoute 8,24 g (40 ml) de dicyclohexyl-carbodiimide. Après 16 h à 20° on filtre, évapore à sec au vide, triture le résidu avec de l'éther de pétrole jusqu'à obtention d'un produit solide, dissout celui-ci dans 200 ml d'acétate d'éthyle et lave par H₂O, HCl 1N, NH₄OH 1N, H₂O et NaCl 30%. On sèche sur du sulfate de sodium, concentre à 30 ml, filtre d'un peu de dicyclohexylurée qui se sépare, porte l'acétate d'éthyle à ébullition et sature par de l'éther de pétrole. Par refroidissement et repos de 5 h à 0°, il se forme des cristaux. Après filtration et séchage, on obtient 10,9 g (91%) de N-CBO-L-phénylalanyl-L-sérinate de méthyle cristallin de F. 125°. $[\alpha]_D^{21} = -5,7^\circ \pm 1,0^\circ$ ($c = 1,0$; diméthylformamide), $-4,4^\circ \pm 1,0^\circ$ ($c = 1,0$; méthanol). $Rf_M^h = 0,84$; $Rf_P^h = 0,58$; $Rf_A^h = 0,81$; $E_{1,9}^h = 1,2$ Try = 0,9 Glu; $E_{5,8}^h = 1,1$ His (révélation par ninhydrine et chlore; homogène).

$C_{21}H_{24}O_6N_2$	Calc.	C 63,0	H 6,0	O 24,0	N 7,0%
(400,4)	Tr.	„ 63,1	„ 6,1	„ 24,0	„ 7,1%

N-CBO-L-Phénylalanyl-L-sérylhydrazide (VII). On dissout 6,80 g (17 mmoles) de l'ester VI dans 40 ml de méthanol, ajoute 2,0 ml d'hydrate d'hydrazine, laisse 12 h à 20°, filtre et lave par 20 ml de méthanol, 50 ml de méthanol-éther 1:1 et 100 ml d'éther. Après séchage au vide, on obtient 6,51 g (96%) de N-CBO-L-phénylalanyl-L-sérylhydrazide cristallin de F. 193°, inchangé par recristallisation dans le méthanol. $[\alpha]_D^{21} = -2,6^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 1,0$; diméthylformamide), $-2,8^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 1,0$; pyridine), $-8,3^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 1,0$; acide acétique glacial). $Rf_M^h = 0,82$; $Rf_P^h = 0,51$; $Rf_A^h = 0,74$; $E_{1,9}^h = 1,2$ Glu; $E_{5,8}^h = 1,1$ His (révélation par FOLIN, ninhydrine, et chlore; homogène).

$C_{20}H_{24}O_5N_4$	Calc.	C 60,0	H 6,0	O 20,0	N 14,0%
(400,4)	Tr.	„ 59,9	„ 6,0	„ 19,8	„ 13,9%

N-CBO-Nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (VIII). On dissout 35,3 g (100 mmoles) de N-CBO-nitro-L-arginine⁹) anhydre, 21,0 ml (150 mmoles) de triéthylamine et 25,8 g (150 mmoles) de chlorure de p-nitrobenzyle dans 150 ml de diméthylformamide et chauffe 12 h à 80°. On évapore à sec au vide, reprend dans 500 ml d'acétate d'éthyle, lave par HCl 1N, NH₄OH 1N et NaCl 30%, sèche sur du sulfate de sodium et évapore à sec. Par dissolution dans l'acétate d'éthyle chaud et séjour de quelques jours à la glacière, on obtient 29,3 g (60%) de N-CBO-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle cristallin de F. 122°. $[\alpha]_D^{21} = -9,0^\circ \pm 1,0^\circ$ ($c = 1,0$; diméthylformamide), $-7,2^\circ \pm 1,0^\circ$ ($c = 1,0$; méthanol). $Rf_M^a = 0,95$; $Rf_P^a = 0,42$; $Rf_A^a = 0,75$; $E_{5,8}^a = 0,9$ His; $E_{1,9}^a = 1,0$ Try (révélation par ninhydrine et chlore; homogène).

$C_{21}H_{24}O_8N_6$	Calc.	C 51,6	H 5,0	O 26,2	N 17,2%
(488,5)	Tr.	„ 51,8	„ 5,3	„ 26,2	„ 17,1%

Nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle, HBr (IX). On dissout 29,4 g (60 mmoles) de l'ester VIII dans 180 ml d'acide acétique glacial, ajoute 180 ml d'une solution 4,5N de HBr dans l'acide acétique glacial, laisse 20 min à 20°, concentre au vide jusqu'à obtention d'un résidu huileux, ajoute 800 ml d'éther et triture jusqu'à ce que tout soit transformé en cristaux. On lave à l'éther les cristaux et sèche au vide poussé. On obtient ainsi 25,0 g (96%) de bromhydrate de nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle cristallin de F. 175°. $Rf_M^0 = 0,95$; $Rf_P^0 = 0,42$; $Rf_A^0 = 0,75$; $E_{1,9}^0 = 1,0$ Try; $E_{5,8}^0 = 0,9$ His (révélation à la ninhydrine et au chlore; homogène). $[\alpha]_D^{22} = -1,4^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 1,0$; méthanol), $+5,0^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 1,0$; diméthylformamide).

$C_{13}H_{18}O_8N_6, HBr$	Calc.	C 35,9	H 4,4	O 22,1	N 19,3	Br 18,4%
(435,3)	Tr.	„ 35,6	„ 4,4	„ 22,3	„ 19,0	„ 18,3%

N-CBO-L-Phénylalanyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (X). On dissout 15,0 g (50 mmoles) de N-CBO-L-phénylalanine¹⁷) et 7,00 ml (50 mmoles) de triéthylamine dans 250 ml de tétrahydrofurane, refroidit à -10° et ajoute en 5 min 4,80 ml (50 mmoles) de chloroformiate d'éthyle. Après encore 10 min à -5°. on ajoute une solution de nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle, préparée

par dissolution de 21,8 g (50 mmoles) du bromhydrate IX dans 200 ml d'eau, addition à 0° de 100 ml d'une solution saturée de Na₂CO₃, centrifugation, éloignement de la phase aqueuse et dissolution de la base libre huileuse dans 100 ml de diméthylformamide. Après 12 h à 4° on évapore au vide poussé à 30°, reprend le résidu dans 500 ml d'acétate d'éthyle, lave par H₂O, HCl 1N, NH₄OH 1N et NaCl 30%. On évapore à sec l'acétate d'éthyle dans lequel des cristaux se sont déjà formés pendant le lavage, sèche au vide le résidu, redissout celui-ci dans 350 ml d'acétate d'éthyle bouillant et refroidit à -5°. Les cristaux qui se sont formés sont lavés par un mélange acétate d'éthyle-éther 1:1 puis par de l'éther. Après séchage au vide, on obtient 22,8 g (72%) de N-CBO-L-phénylalanil-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle cristallin de F. 174°. $[\alpha]_D^{25} = -9,9^\circ \pm 1,0^\circ$ ($c = 1,0$; méthanol), $-20,3^\circ \pm 1,0^\circ$ ($c = 1,0$; diméthylformamide). $Rf_M^0 = 0,95$; $Rf_P^0 = 0,68$; $Rf_A^0 = 0,83$; $E_{1,9}^0 = 0,8$ Try; $E_{5,8}^0 = 1,5$ Try (révélation par ninhydrine et chlore; homogène).

C ₃₀ H ₃₃ O ₉ N ₇	Calc. C 56,7	H 5,2	O 22,7	N 15,4%
(635,6)	Tr. ,, 56,5	,, 5,4	,, 23,1	,, 15,6%

L-Phénylalanil-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle, HBr (XI). On dissout 12,7 g (20 mmoles) de l'ester X dans 60 ml d'acide acétique glacial, ajoute 60 ml d'une solution 4,5N de HBr dans l'acide acétique glacial et laisse pendant 20 min à 20°. On évapore au vide, ajoute 800 ml d'éther anhydre et triture jusqu'à ce que tout soit transformé en cristaux. Après lavage à l'éther et séchage au vide, on obtient 11,5 g (98%) de bromhydrate de L-phénylalanil-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle cristallin et hygroscopique de 175° (déc.). $[\alpha]_D^{25} = +4,9^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 1,0$; méthanol), $-4,8^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 1,0$; diméthylformamide). $Rf_M^0 = 1,0$; $Rf_P^0 = 0,68$; $Rf_A^0 = 0,83$; $E_{1,9}^0 = 0,8$ Try; $E_{5,8}^0 = 0,6$ His (révélation par ninhydrine et chlore; homogène). L'analyse indique 1½ mole de HBr par mole de dipeptide, même après séchage prolongé sur KOH.

C ₂₂ H ₂₇ O ₇ N ₇ + 1HBr	(582,4)	Calc. C 45,4	H 4,8	O 19,2	N 16,8	Br 13,7%
C ₂₂ H ₂₇ O ₇ N ₇ + 1½HBr	(622,9)	Calc. ,, 42,5	,, 4,6	,, 18,0	,, 15,7	,, 19,3%
		Tr. ,, 42,6	,, 4,8	,, 18,2	,, 16,0	,, 19,5%

N-CBO-L-Prolyl-L-phénylalanil-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XII). On dissout 3,0 g (12 mmoles) de N-CBO-L-proline²⁰ et 1,68 ml (12 mmoles) de triéthylamine dans 15 ml de chloroforme, refroidit à -15°, ajoute 1,15 ml de chloroformiate d'éthyle, laisse 10 min et ajoute une solution de 6,22 g (10 mmoles) du bromhydrate XI et de 2,10 ml (15 mmoles) de triéthylamine dans 20 ml de chloroforme. Après 3 h à 20° on évapore au vide, reprend par 100 ml d'acétate d'éthyle et lave par 3 fois 10 ml de HCl 1N, 5 fois 10 ml de NH₄OH 1N et 1 fois par 10 ml de NaCl 30%. Après séchage sur Na₂SO₄ et évaporation au vide, on triture le résidu dans l'éther jusqu'à obtention d'un produit cristallin. On obtient ainsi 6,60 g (90%) de N-CBO-L-prolyl-L-phénylalanil-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle de F. 115° (déc.). $[\alpha]_D^{25} = -46,0^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 1,6$; méthanol), $-34,5^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 2,2$; diméthylformamide). $Rf_M^0 = 0,95$; $Rf_P^0 = 0,70$; $Rf_A^0 = 0,80$; $E_{1,9}^0 = 0,8$ Try; $E_{5,8}^0 = 0,5$ His (révélation par isatine et chlore; homogène).

C ₃₅ H ₄₀ O ₁₀ N ₈	Calc. C 57,4	H 5,5	O 21,8	N 15,3%
(732,7)	Tr. ,, 58,1	,, 5,5	,, 21,7	,, 14,8%

L-Prolyl-L-phénylalanil-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XIII). On dissout 3,66 g (5,0 mmoles) de l'ester XII dans 17 ml d'acide acétique glacial, ajoute 17 ml d'une solution 4,5N de HBr dans l'acide acétique glacial, laisse 25 min à 20°, évapore au vide, ajoute 200 ml d'éther, triture jusqu'à obtention d'un produit pulvérulent, lave soigneusement par encore 200 ml d'éther et sèche au vide sur KOH. On dissout dans un mélange de 30 ml d'acétate d'éthyle, 15 ml d'acétonitrile et 10 ml de K₂CO₃ aqueux saturé, sépare la phase organique, extrait encore deux fois par un mélange de 20 ml d'acétate d'éthyle et de 10 ml d'acétonitrile, sèche les phases organiques réunies sur Na₂SO₄ et évapore à sec. Après reprise dans l'éther et séchage au vide, on obtient 2,85 g (95%) de L-prolyl-L-phénylalanil-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle. $Rf_M^0 = 0,95$; $Rf_P^0 = 0,70$; $Rf_A^0 = 0,80$; $E_{1,9}^0 = 0,8$ Try; $E_{5,8}^0 = 0,5$ His (révélation par isatine et chlore; homogène).

N-CBO-L-Phénylalanil-L-séryl-L-prolyl-L-phénylalanil-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XIV). On dissout 2,00 g (5,0 mmoles) de N-CBO-L-phénylalanil-L-sérylhydrazide (VII) dans 8 ml d'acide acétique glacial et 8 ml de HCl 2N aqueux, refroidit à -5°, ajoute 1,1 ml de nitrite de sodium 5N, agite 10 min, ajoute 30 ml d'eau glacée, extrait par 3 fois 20 ml d'acétate d'éthyle, lave les phases organiques réunies par K₂CO₃ aqueux saturé et sèche sur Na₂SO₄. Toutes ces

opérations se font à -5° . La solution séchée est filtrée dans une solution de 2,85 g (4,8 mmoles) de L-prolyl-L-phénylalanyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XIII) dans 20 ml de diméthylformamide. On évapore l'acétate d'éthyle au vide à 0° et laisse 2 jours à la glacière. On évapore le diméthylformamide au vide, ajoute 100 ml d'éther et recrystallise le produit pulvérulent obtenu dans 50 ml d'isopropanol, puis dans un mélange acétonitrile-éther. On obtient 3,3 g (71%) de N-CBO-L-phénylalanyl-L-séryl-L-prolyl-L-phénylalanyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle de F. 140° (déc.). $[\alpha]_D^{25} = -41,3^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$ ($c = 2,1$; méthanol). $Rf_M^A = 0,95$; $Rf_B^A = 0,80$; $Rf_A^A = 0,92$; $E_{1,9}^A = 0,7$ Try (révélation par ninhydrine et chlore; homogène).

$C_{47}H_{54}O_{13}N_{10}$	Calc.	C 58,3	H 5,6	O 21,5	N 14,5%
(967,0)	Tr.	,, 58,3	,, 5,8	,, 21,3	,, 14,6%

L-Phénylalanyl-L-séryl-L-prolyl-L-phénylalanyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XV). On dissout 1,00 g (1,03 mmole) de l'ester pentapeptidique XIV dans 10 ml d'acide trifluoroacétique et fait passer pendant 1 h à 0° un courant de HBr. On évapore à sec et reprend par l'éther jusqu'à obtention d'un produit pulvérulent. Après dissolution dans un mélange de 8 ml de dioxanne et de 2 ml d'eau, et passage sur 3 g de IRC-410 (base libre, lavée par dioxanne-eau 4:1), on évapore à sec et reprend par l'éther. On obtient ainsi 815 mg (95%) de L-phénylalanyl-L-séryl-L-prolyl-L-phénylalanyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle. $Rf_M^0 = 0,95$; $Rf_B^0 = 0,80$; $Rf_A^0 = 0,90$; $E_{1,9}^0 = 0,6$ Tyr (révélation par ninhydrine et chlore; homogène). – Un hydrolysate donne la même composition en acides aminés qu'un mélange de référence hydrolysé dans les mêmes conditions.

N-CBO-Nitro-L-arginyl-L-prolyl-L-prolyl-glycyl-L-phénylalanyl-L-séryl-L-prolyl-L-phénylalanyl-L-arginate de p-nitrobenzyle (XVI). On dissout 983 mg (1,5 mmole) de N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolyl-L-prolyl-glycylhydrazide, HCl (V) dans 10 ml de diméthylformamide et 1,3 ml de HCl 4N, refroidit à -5° , ajoute un mélange de 0,33 ml de nitrite de sodium 5N et 2 ml de diméthylformamide, agite 5 min à -5° et ajoute 2 ml de K_2CO_3 25%. On agite encore 2 min. Le pH sur papier indicateur humide est alors de $7,0 \pm 0,5$. On ajoute 5 ml d'acétate d'éthyle glacé et sèche rapidement sur Na_2SO_4 . On filtre, lave par 5 ml de diméthylformamide et ajoute 1,24 g (1,5 mmole) de l'ester pentapeptidique XV. On garde la solution 3 jours à 0° , évapore à sec et triture avec de l'éther. Le produit pulvérulent obtenu est dissous dans 40 ml de dioxanne et 10 ml d'eau, passé sur un échangeur d'ion acide (Dowex-50 W-X4) et un échangeur d'ion basique (Amberlite IRA-410), puis le filtrat est évaporé à sec, trituré avec de l'éther et séché. Les 2,02 g de produit pulvérulent ainsi obtenu sont soumis à un contre-courant dans le système chloroforme/tétrachlorure de carbone/méthanol/ NH_4OH , 0,33 N (8:7:3:3). Après 150 transferts les tubes 6 à 25 contenant le produit principal de $K = 0,14$ sont rassemblés et leur contenu est évaporé à sec. Après trituration avec de l'éther et séchage au vide poussé on obtient 1,31 g (65%) de N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolyl-L-prolyl-glycyl-L-phénylalanyl-L-séryl-L-prolyl-L-phénylalanyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle de F. 185° (déc.). $[\alpha]_D^{25} = -47,2^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$ ($c = 1,8$; méthanol), $-44,6^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$ ($c = 2,1$; diméthylformamide). $E_{1,9}^A = 0,75$ Try = 0,60 Glu; $Rf_M^A = 0,68$; $Rf_A^A = 0,64$ (révélation à la ninhydrine, au chlore et bleu de bromophénol; homogène). Sans scission préalable, le produit donne également une tache unique par chromatographie sur couche mince (Dünnschichtchromatographie) sur Silicagel-G selon STÄHL dans le mélange acétonitrile-isopropanol (1:1) après révélation au chlore.

$C_{65}H_{82}O_{19}N_{18} + 2H_2O$	Calc.	C 53,6	H 6,0	O 23,1	N 17,3%
(1455,5)	Tr.	,, 53,2	,, 6,1	,, 22,9	,, 17,3%

L-Arginyl-L-prolyl-L-prolyl-glycyl-L-phénylalanyl-L-séryl-L-prolyl-L-phénylalanyl-L-arginine, 2HCl (XVII). On dissout 296 mg (0,21 mmole) de nonapeptide protégé XVI dans 10 ml d'acide acétique glacial et 6 ml de HCl 0,2N et hydrogène pendant 30 h à 22° et à pression ordinaire en présence de 205 mg de catalyseur d'hydrogénation au palladium selon KUHN²⁷, préalablement hydrogéné pendant 30 min dans un mélange acide acétique glacial-eau 2:1. Après centrifugation, la solution est évaporée à sec au vide. Le produit obtenu est soumis à un contre-courant de 200 transferts dans le système sec.-butanol/eau/acide trifluoroacétique (120:160:1). Le contenu des tubes 80 à 110 correspondant au sommet pondéral ($K = 0,91$) et représentant 90% de l'activité biologique de départ est évaporé à sec au vide, trituré avec de l'éther et séché au vide poussé. On obtient ainsi 200 mg (86%) de trifluoroacétate de L-arginyl-L-prolyl-L-prolyl-glycyl-L-phénylalanyl-L-séryl-L-prolyl-L-phénylalanyl-L-arginine, qui est converti en chlorhydrate correspondant par passage sur échangeur d'ions. – Après hydrolyse de 16 h à 110° dans HCl 6N, on retrouve

de l'arginine, de la proline, de la glycine, de la phénylalanine et de la sérine dans le rapport molaire 2,1:2,9:0,9:2,1:0,9.

A l'électrophorèse sur papier le produit est homogène (révélation à la ninhydrine, au chlorure au bleu de bromophénol et au réactif de SAKAGUCHI) aux pH 1,9, 5,8, 8,5, 10,7, 11,7 et 12,0, $E_{1,9}^0 = 1,1$ Glu; $E_{5,8}^0 = 0,8$ His. Migre encore vers la cathode au pH 12, par rapport à la DNP-glucosamine.

A la chromatographie sur papier le produit est homogène aux mêmes réactifs. $Rf_M^0 = 0,16$; $Rf_A^0 = 0,30$; $Rf_P^0 = 0,26$.

L'attaque par la chymotrypsine a été effectuée par l'action de 0,30 mg de chymotrypsine cristallisée (Nutritional Biochemicals Co., Cleveland) sur 3,0 mg de peptide dans 0,120 ml de tampon de pH 8,5 à 23°. Des aliquotes ont été prélevés après 30 min, 1 h, 2 h, 6 h, 20 h et 48 h, et ont été examinés par électrophorèse sur papier au pH 1,9 (révélation par ninhydrine, bleu de bromophénol et SAKAGUCHI). Une mole d'arginine est déjà libérée en 1 h. L'attaque du peptide résiduel ($E_{1,9}^0 = 0,8$ Glu = 1,1 Try) est beaucoup plus lente.

L'attaque à la carboxypeptidase du produit soumis à une attaque chymotryptique de 1 h provoque la libération d'une mole de phénylalanine. La prolongation de l'attaque ne fait pas apparaître d'autre acide aminé.

Les activités biologiques^{6) 8)} sont les suivantes: $1 \cdot 10^{-9}$ g de peptide par ml provoque la contraction de l'iléum isolé de cobaye, ainsi que celle du duodénum isolé de lapin; $1 \cdot 10^{-10}$ g par ml provoque la contraction de l'utérus isolé de rat. Un effet dépresseur sur le lapin, le rat, le cobaye, le chat et le chien anesthésiés est déjà observé à des doses de 2 à $4 \cdot 10^{-7}$ g par kg. La broncho-contraction est observée chez le cobaye à une dose de $2 \cdot 10^{-7}$ g par kg. La perméabilité capillaire du cobaye est déjà affectée à une dose de $1 \cdot 10^{-9}$ g.

SUMMARY

The synthesis of a nonapeptide exhibiting bradykinin-like properties is described. Condensation of CBO-(nitro)Arg-Pro-OH with H-Pro-Gly-NHNH-CTO and selective splitting of the CTO-group yielded CBO-(nitro)Arg-Pro-Pro-Gly-NHNH₂. CBO-Phe-Ser-N₃ was condensed with H-Pro-Phe-(nitro)Arg-OBzN, the CBO-group was selectively split, and the resulting pentapeptide was made to react with the azide corresponding to the above-mentioned hydrazide. All the protective groups of the resulting nonapeptide were split off by catalytic hydrogenolysis, giving pure H-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH after counter-current distribution. On a molar basis, this nonapeptide was more active than histamine (ileum, bronchial muscle and capillary permeability of the guinea pig) and acetylcholine (duodenum of the rabbit, blood pressure of the rabbit and dog).

Laboratoires de chimie pharmaceutique SANDOZ, Bâle