

## ZUSAMMENFASSUNG

Methylcarbeniumsalze (z. B.  $\alpha$ -Methylcycloimoniumsalze) kondensieren sich normalerweise mit Orthoameisensäureester im Verhältnis 2:1 zu symmetrischen Trimethinen. Es wird nun gefunden, dass bei einigen  $\alpha$ -Methylbenzopyryliumsalzen, in welchen durch eine aliphatische Kette ein Ringschluss von der  $\alpha$ -ständigen Methylgruppe nach dem  $\beta$ -C-Atom eingeführt ist, die Kondensation in der Stufe 1:1, also in der  $\omega$ -Aldehydstufe stehen bleibt. Gefasst werden die  $\omega$ -Aldehydsalze aus Tetrahydroxanthyliumsalz, 3-Methyl-tetrahydroxanthyliumsalz, Tetrahydronaphtho-xanthyliumsalz und 3-Methyl-tetrahydronapto-xanthyliumsalz. Aus beiden erstgenannten lassen sich unter energischen Bedingungen symmetrische Methinfarbstoffe darstellen, aus den beiden letzteren aber nicht mehr. Die neuen  $\omega$ -Aldehyde ermöglichen die Synthese zahlreicher unsymmetrischer Pyrylomethine.

Institut für Farbenchemie der Universität Basel

**204. Synthèse d'analogues structuraux de la bradykinine<sup>1)</sup>**

par **St. Guttmann** et **R. A. Boissonnas**

(22 VIII 61)

Immédiatement après que ELLIOTT, LEWIS & HORTON<sup>2)</sup> eurent fait connaître la structure octapeptidique (H-Arg-Pro-Pro-Gly-Phé-Sér-Phé-Arg-OH) qu'ils proposèrent initialement pour la bradykinine, nous réalisâmes la synthèse de cette structure par *trois* voies<sup>3)</sup> qui conduisirent toutes à un même produit final complètement inactif et différant en outre de la bradykinine par son comportement vis-à-vis de la chymotrypsine.

Nous supposâmes alors que la séquence proposée ne différait que légèrement de celle du produit naturel et que cette différence avait plus de chances de se trouver au milieu de la molécule qu'à une des extrémités de celle-ci. C'est pourquoi nous entreprîmes la synthèse d'autres peptides qui différaient de la structure proposée par la position d'un des acides aminés médians<sup>1)</sup>. L'un de ces octapeptides (H-Arg-Pro-Gly-Phé-Sér-Pro-Phé-Arg-OH) s'étant montré doué d'une certaine activité du type bradykinine<sup>1)</sup>, nous en déduisîmes que sa structure devait probablement être très voisine de celle de la bradykinine et fûmes ainsi amenés à synthétiser<sup>1) 4)</sup> un nonapeptide (H-Arg-Pro-Pro-Gly-Phé-Sér-Pro-Phé-Arg-OH) qui se révéla posséder toutes les propriétés chimiques<sup>4)</sup> et biologiques<sup>5) 6)</sup> de la bradykinine. Peu après,

<sup>1)</sup> Ce travail a déjà fait l'objet d'une communication préliminaire (R. A. BOISSONNAS, ST. GUTTMANN, P.-A. JAQUENOUD, H. KONZETT & E. STÜRMER, *Experientia* 16, 326 (1960)).

<sup>2)</sup> D. F. ELLIOTT, G. P. LEWIS & E. W. HORTON, communication lue devant la «Biochemical Society (London)» le 8 avril 1960 (*Biochem. J.* 76, 16P (1960)). Nous remercions très vivement le D<sup>r</sup> ELLIOTT de nous avoir communiqué peu avant publication le résultat de ses travaux sur la structure de la bradykinine.

<sup>3)</sup> R. A. BOISSONNAS, ST. GUTTMANN & P.-A. JAQUENOUD, *Helv.* 43, 1481 (1960).

<sup>4)</sup> R. A. BOISSONNAS, ST. GUTTMANN & P.-A. JAQUENOUD, *Helv.* 43, 1349 (1960).

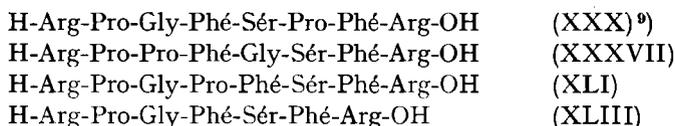
<sup>5)</sup> H. KONZETT & E. STÜRMER, *Brit. J. Pharmacology* 15, 544 (1960).

<sup>6)</sup> H. KONZETT & R. A. BOISSONNAS, *Experientia* 16, 456 (1960); H. KONZETT & E. STÜRMER, *Nature* 188, 998 (1960).

ELLIOTT et coll. parent confirmer<sup>7)</sup> que la bradykinine possédait effectivement la structure nonapeptidique que nous avons trouvée empiriquement.

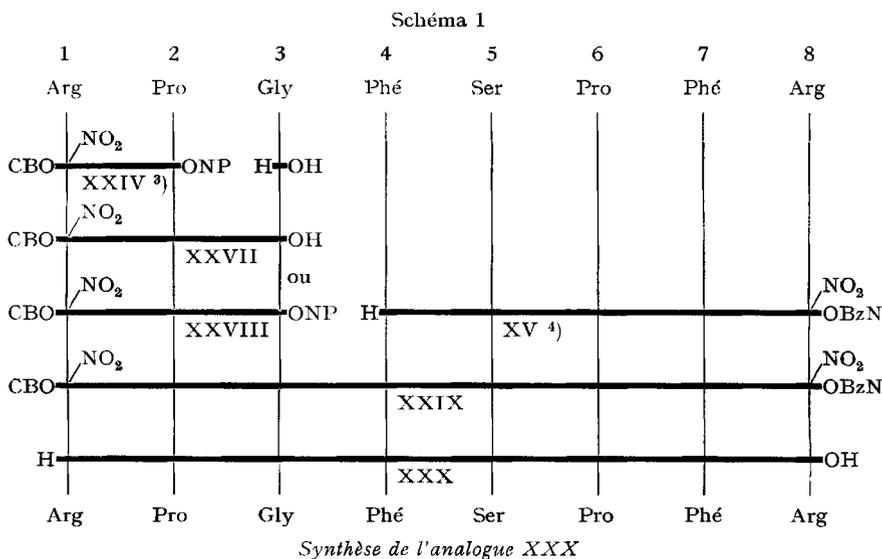
Depuis notre première communication préliminaire sur ce sujet<sup>1)</sup>, nous avons décrit d'une manière détaillée la synthèse de la bradykinine<sup>4)</sup> et celle de l'octapeptide<sup>3)</sup><sup>8)</sup> inactif représentant la structure proposée initialement<sup>2)</sup>.

Dans le présent travail, nous décrivons la synthèse des quatre analogues structuraux XXX, XXXVII, XLI et XLIII de la bradykinine, préparés au cours de ces travaux et décrits seulement très brièvement dans notre communication préliminaire<sup>1)</sup>.



Les schémas de synthèse (schémas 1 à 4) utilisés dans le présent travail sont similaires à ceux que nous avons décrits précédemment pour les synthèses de la bradykinine<sup>4)</sup> et de l'octapeptide inactif<sup>3)</sup>, mais font un plus large emploi des esters p-nitrophényliques<sup>10)</sup><sup>11)</sup>.

La pureté des produits intermédiaires et finals a été contrôlée dans chaque cas, comme d'habitude, par chromatographie et par électrophorèse sur papier dans une



<sup>7)</sup> D. F. ELLIOTT, G. P. LEWIS & E. W. HORTON, *Biochem. biophys. Res. Comm.* **3**, 87 (1960).

<sup>8)</sup> La synthèse de cet octapeptide a également fait l'objet de communications préliminaires de R. SCHWYZER, W. RITTEL, P. SIEBER, H. KAPPELER & H. ZUBER, *Helv.* **43**, 1130 (1960), et de E. D. NICOLAIDES, H. A. DEWALD, P. G. SHORLEY & H. O. J. COLLIER, *Nature* **187**, 773 (1960).

<sup>9)</sup> La numérotation utilisée dans ce travail fait suite à celle des travaux précédents dans ce domaine<sup>3)</sup><sup>4)</sup>.

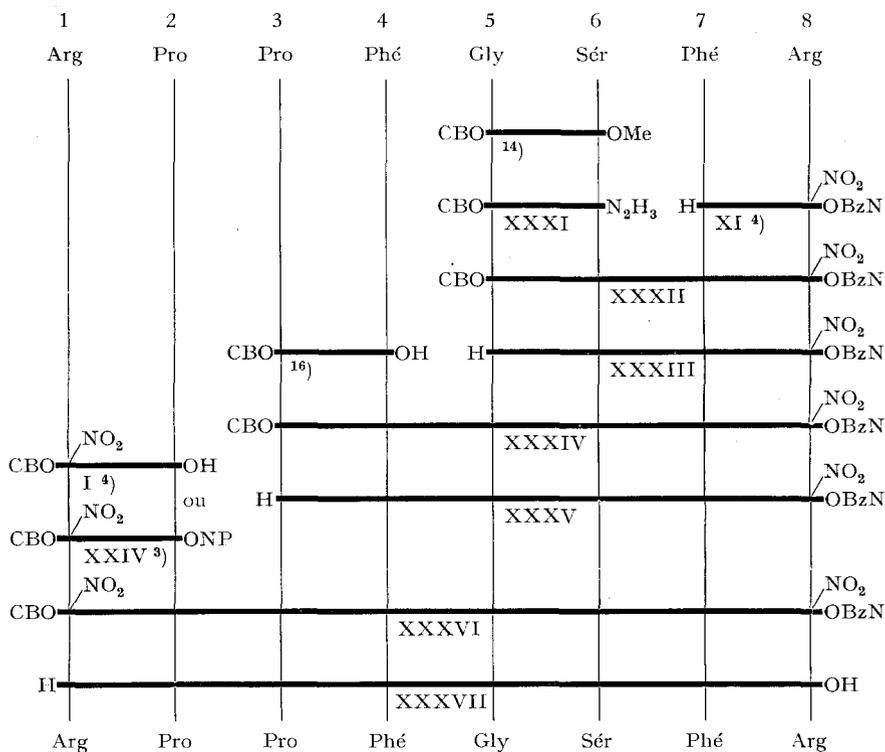
<sup>10)</sup> M. BODANSZKY, *Nature* **175**, 685 (1955).

<sup>11)</sup> B. ISELIN, W. RITTEL, P. SIEBER & R. SCHWYZER, *Helv.* **40**, 373 (1957).

série de systèmes. La chromatographie sur couche mince a en outre été employée pour l'examen de plusieurs peptides.

*L*-Arginyl-*L*-prolyl-glycyl-*L*-phénylalananyl-*L*-séryl-*L*-prolyl-*L*-phénylalananyl-*L*-arginine (XXX) (schémas 1). Le N-CBO-nitro-*L*-arginyl-*L*-prolinate de p-nitrophényle<sup>3)</sup> (CBO = carbobenzyloxy) a été condensé avec la glycine à pH 9,5<sup>12)</sup> en N-CBO-nitro-*L*-arginyl-*L*-prolyl-glycine (XXVII) (rdt 74%) dont une partie a été transformée à l'aide du tri-(p-nitrophényl)-phosphite<sup>11)</sup> en N-CBO-nitro-*L*-arginyl-*L*-prolyl-glycinate de p-nitrophényle (XXVIII) (rdt 34%). Le *L*-phénylalananyl-*L*-séryl-*L*-prolyl-*L*-phénylalananyl-nitro-*L*-arginate de p-nitrobenzyle<sup>4)</sup> a été condensé, soit avec l'acide tripeptidique XXVII à l'aide du dicyclohexyl-carbodiimide<sup>13)</sup>, soit avec l'ester tripeptidique XXVIII, en N-CBO-nitro-*L*-arginyl-*L*-prolyl-glycyl-*L*-phénylalananyl-*L*-séryl-*L*-prolyl-*L*-phénylalananyl-nitro-*L*-arginate de p-nitrobenzyle (XXIX) (rdts resp. 81% et 76%). Celui-ci, après scission des groupes protecteurs par hydrogénation catalytique et purification par contre-courant, a donné la *L*-arginyl-*L*-prolyl-glycyl-*L*-phénylalananyl-*L*-séryl-*L*-prolyl-*L*-phénylalananyl-*L*-arginine (XXX) (rdt 46%). Comme rapporté précédemment<sup>1) 5)</sup>, cet octapeptide a montré par rapport à la bradykinine une activité

Schéma 2



Synthèse de l'analogue XXXVII

<sup>12)</sup> P.-A. JAQUENOUD, *Chimia* 14, 373 (1960).

<sup>13)</sup> J. C. SHEEHAN & G. P. HESS, *J. Amer. chem. Soc.* 77, 1067 (1955).

environ 50 fois plus faible sur l'iléum de Cobaye, 70 fois plus faible sur l'utérus de Rat, 50 fois plus faible au test de bronchoconstriction du Cobaye et 80 fois plus faible à celui de perméabilité capillaire.

*L-Arginyl-L-prolyl-L-prolyl-L-phénylalananyl-glycyl-L-séryl-L-phénylalananyl-L-arginine* (XXXVII) (schéma 2). Le N-CBO-glycyl-L-sérinate de méthyle<sup>14</sup>) a été converti en N-CBO-glycyl-L-sérylhydrazide (XXXI) (rdt 90%). Après transformation de XXXI en azide correspondant, ce dernier a été condensé avec le L-phénylalananyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle<sup>4</sup>) en N-CBO-glycyl-L-séryl-L-phénylalananyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XXXII) (rdt 55%). Après scission sélective du groupe carbo-benzyloxy de ce dernier par l'acide bromhydrique dans l'acide trifluoroacétique<sup>4</sup>)<sup>15</sup>), le glycyl-L-séryl-L-phénylalananyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle obtenu (XXXIII) (rdt 92%) a été condensé au moyen du dicyclohexyl-carbodiimide<sup>18</sup>) avec la N-CBO-L-prolyl-L-phénylalanine<sup>16</sup>) en N-CBO-L-prolyl-L-phénylalananyl-glycyl-L-séryl-L-phénylalananyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XXXIV) (rdt 88%). Après scission du groupe CBO- de celui-ci par l'acide bromhydrique dans l'acide trifluoroacétique<sup>4</sup>)<sup>15</sup>), le L-prolyl-L-phénylalananyl-glycyl-L-séryl-L-phénylalananyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XXXV) (rdt 97%) obtenu a été condensé, soit avec la N-CBO-nitro-L-arginyl-L-proline<sup>4</sup>) à l'aide du dicyclohexyl-carbodiimide, soit avec le N-CBO-nitro-L-arginyl-L-proline de p-nitrophényle<sup>3</sup>), en N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolyl-L-prolyl-glycyl-L-séryl-L-phénylalananyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XXXVI) (rdt 79% resp. 87%). Après scission des groupes protecteurs par hydrogénation catalytique et purification par contre-courant, nous avons obtenu la L-arginyl-L-prolyl-L-prolyl-L-phénylalananyl-glycyl-L-séryl-L-phénylalananyl-L-arginine (XXXVII) (rdt 37%). Cet octapeptide n'a montré aucune activité caractéristique de la bradykinine<sup>1</sup>)<sup>5</sup>).

*L-Arginyl-L-prolyl-glycyl-L-prolyl-L-phénylalananyl-L-séryl-L-phénylalananyl-L-arginine* (XLI) (schéma 3). La condensation du N-CBO-nitro-L-arginyl-L-proline de p-nitrophényle<sup>3</sup>) avec la glycyl-L-proline<sup>17</sup>) à pH 9<sup>12</sup>) a fourni la N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolyl-glycyl-L-proline (XXXVIII) (rdt 46%), qui, à l'aide du tri-(p-nitrophényl)-phosphate<sup>11</sup>) a été transformée<sup>18</sup>) en N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolyl-glycyl-L-proline de p-nitrophényle (XXXIX) (rdt 80%). Ce dernier a été condensé avec le L-phénylalananyl-L-séryl-L-phénylalananyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle<sup>3</sup>) en N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolyl-glycyl-L-prolyl-L-phénylalananyl-L-séryl-L-phénylalananyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XL) (rdt 63%). Après scission des groupes protecteurs par hydrogénation catalytique et purification par contre-courant, nous avons obtenu la L-arginyl-L-prolyl-glycyl-L-prolyl-L-phénylalananyl-L-séryl-L-phénylalananyl-L-arginine (XLI) (rdt 50%) qui, comme l'octapeptide précédent, ne montre aucune activité caractéristique de la bradykinine<sup>1</sup>)<sup>5</sup>).

*L-Arginyl-L-prolyl-glycyl-L-phénylalananyl-L-séryl-L-phénylalananyl-L-arginine* (XLIII) (schéma 4). L'ester tripeptidique XXVIII a été condensé avec le L-phénylalananyl-L-

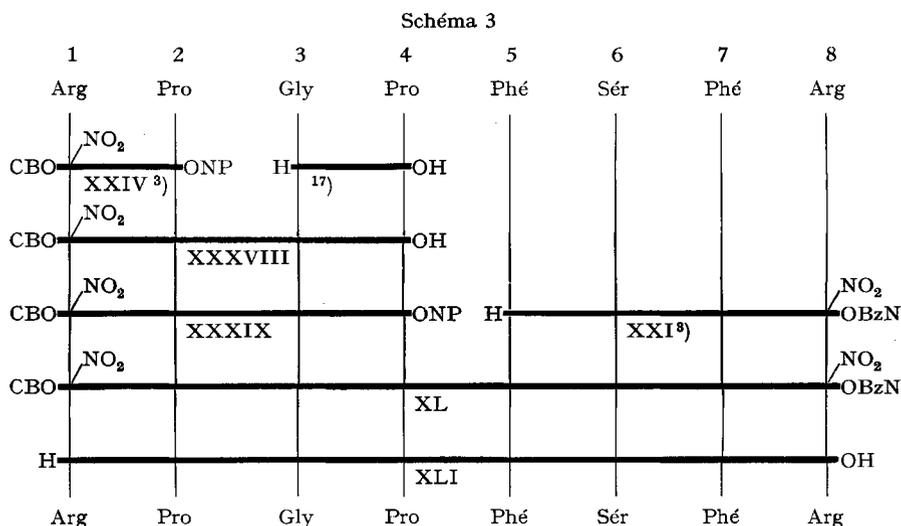
<sup>14</sup>) J. I. HARRIS & J. S. FRUTON, *J. biol. Chemistry* **191**, 143 (1951); R. F. FISCHER & R. R. WHETSTONE, *J. Amer. chem. Soc.* **76**, 5076 (1954).

<sup>15</sup>) ST. GUTTMANN & R. A. BOISSONNAS, *Helv.* **42**, 1257 (1959).

<sup>16</sup>) R. SCHWYZER, B. ISELIN, H. KAPPELER, B. RINIKER, W. RITTEL & H. ZUBER, *Helv.* **41**, 1273 (1958).

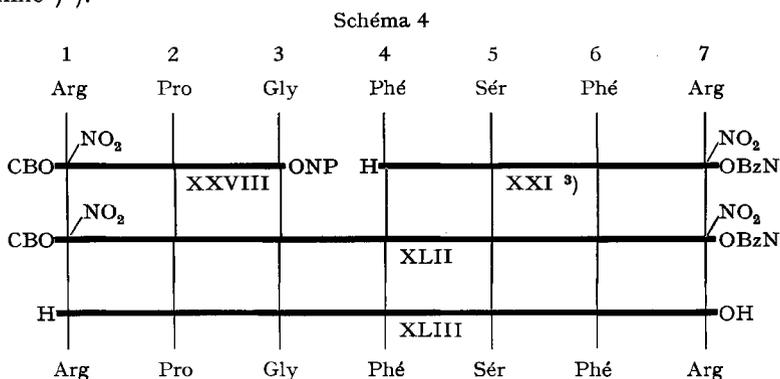
<sup>17</sup>) H. N. RYDON & P. W. G. SMITH, *J. chem. Soc.* **1956**, 3642.

<sup>18</sup>) Il a été montré précédemment que la proline C-terminale n'était pas racémisée dans ces conditions: ST. GUTTMANN, *Chimia* **14**, 368 (1960).



Synthèse de l'analogue XLI

séryl-L-phénylalanil-nitro-L-arginate de p-nitrobzyle<sup>3)</sup> en N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolyl-glycyl-L-phénylalanil-L-séryl-L-phénylalanil-nitro-L-arginate de p-nitrobzyle (XLII) (rdt 58%). Après scission des groupes protecteurs par hydrogénation catalytique et purification par contre-courant, nous avons obtenu la L-arginyl-L-prolyl-glycyl-L-phénylalanil-L-séryl-L-phénylalanil-L-arginine (XLIII) (rdt 50%) qui s'est montrée également dépourvue de l'activité biologique caractéristique de la bradykinine<sup>1)</sup> <sup>5)</sup>.



Synthèse de l'analogue XLIII

### Partie expérimentale <sup>19)</sup>

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  $60^\circ$  pour les analyses). Les évaporations sous vide ont été conduites dans l'évaporateur rotatif de CRAIG<sup>20)</sup>.

<sup>19)</sup> Les microanalyses ont été effectuées dans notre laboratoire microanalytique (Dr. W. SCHÖNIGER).

<sup>20)</sup> L. C. CRAIG, J. C. GREGORY & W. HAUSMANN, *Analyt. Chemistry* 22, 1462 (1950).

Les chromatographies sur papier ont été effectuées selon la méthode ascendante (20–23 cm) sur papier «SCHLEICHER & SCHUELL 2040 lavé».  $Rf_M$  dans le mélange méthyléthylcétone/pyridine/eau (65:15:20);  $Rf_A$  dans le mélange alcool isoamylique/pyridine/eau (35:35:30);  $Rf_P$  dans le mélange n-butanol/acide acétique/eau (70:10:20).  $Rf^a$  après scission préliminaire du groupe CBO par séjour de 40 min à 20° dans une solution de HBr à 20% dans l'acide acétique glacial, évaporation au vide et reprise dans le solvant de chromatographie ou d'électrophorèse;  $Rf^0$  sans traitement préalable.

Les électrophorèses sur papier ont été effectuées dans l'appareil à électrophorèse sous haute tension de WIELAND & PFLEIDERER<sup>21</sup>): 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. Les exposants a et 0 ont la même signification que pour les chromatogrammes.

Les réactifs utilisés pour la révélation des chromatogrammes et phérogrammes ont été décrits précédemment<sup>22</sup>).

*N-CBO-Nitro-L-arginyl-L-prolyl-glycine (XXVII)*. On dissout 1,50 g (20 mmoles) de glycine dans 20 ml de NaOH 0,5N, ajoute 20 ml de dioxanne, puis 5,71 g (10 mmoles) de N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolinate de p-nitrophényle<sup>3</sup>) dissous dans 40 ml d'un mélange de dioxanne/eau 1:1, agit fortement et maintient le pH à 9,5 en ajoutant du dioxanne/NaOH aqueux 1N 1:1 à l'aide d'un titrateur automatique. La consommation de NaOH (environ 10 mmoles) est terminée en moins de 30 min. On ajoute 500 ml d'eau, extrait par l'acétate d'éthyle puis l'éther, refroidit la phase aqueuse à 0°, acidifie par  $H_2SO_4$  1N et extrait le précipité huileux par  $2 \times 200$  ml de sec-butanol, lave ce dernier par NaCl 30% et évapore à sec. Le résidu obtenu contient, à côté du tripeptide formé, une petite quantité de sels minéraux. On le dissout dans 300 ml d'un mélange d'acétone/dioxanne 1:1, traite par une résine sulfonique (Dowex-50, cycle acide), filtre et évapore à sec. La mousse obtenue est dissoute dans 10 ml d'éthanol. On ajoute 100 ml d'éther ce qui provoque la précipitation de 3,77 g (74%) de N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolyl-glycine sans F. bien déterminé (env. 100°).  $[\alpha]_D^{22} = -61,8 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; méthanol),  $-42,5 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; diméthylformamide);  $-52,9 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; acide acétique 95%).  $E_{1,9}^a = 1,02$  Try;  $E_{3,8}^a = 0$ ;  $Rf_M^a = 0,16$ ;  $Rf_A^a = 0,33$ ;  $Rf_P^a = 0,21$  (révélation par ninhydrine et chlore).

$C_{21}H_{29}O_8N_7$	Calc. C 49,7	H 5,7	O 25,2	N 19,3%
(507,5)	Tr. ,, 49,7	,, 5,6	,, 25,8	,, 19,6%

*N-CBO-Nitro-L-arginyl-L-prolyl-glycinate de p-nitrophényle (XXVIII)*. A une solution de 5,07 g (10 mmoles) d'acide tripeptidique XXVII dans 20 ml de pyridine, on ajoute 3,00 g de tri-(p-nitrophényl)-phosphite<sup>11</sup>), maintient la solution 12 h à 20°, évapore à sec, reprend le résidu dans 200 ml d'acétate d'éthyle, lave cette solution successivement avec HCl 1N,  $NaHCO_3$  1N et eau, sèche sur  $Na_2SO_4$  et évapore à sec. Après cristallisation du résidu dans 40 ml d'éthanol, on obtient 2,12 g (34%) de N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolyl-glycinate de p-nitrophényle de F. env. 95°.  $[\alpha]_D^{22} = -67,2 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; méthanol);  $-45,2 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; diméthylformamide);  $-59,2 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; acide acétique 95%).  $E_{1,9}^a = 0,92$  Try;  $Rf_M^a = 0,64$ ;  $Rf_P^a = 0,38$  (révélation par ninhydrine, chlore et  $NH_3$ ). Le produit est homogène à la chromatographie sur couche mince de silicagel dans le système chloroforme/méthanol 9:1 (révélation au chlore et à l'ammoniac).

$C_{27}H_{32}O_{10}N_8$	Calc. C 51,6	H 5,1	O 25,5	N 17,8%
(628,6)	Tr. ,, 51,3	,, 5,2	,, 25,5	,, 17,2%

*N-CBO-Nitro-L-arginyl-L-prolyl-glycyl-L-phénylalanyl-L-séryl-L-prolyl-L-phénylalanyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XXIX)*. - a) On dissout 455 mg (0,9 mmole) d'acide tripeptidique XXVII et 827 mg (1,0 mmole) de L-phénylalanyl-L-séryl-L-prolyl-L-phénylalanyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle<sup>4</sup>) dans 5 ml de pyridine, ajoute 5 ml d'acétonitrile, refroidit à  $-20^\circ$ , ajoute 309 mg de dicyclohexyl-carbodiimide et maintient 12 h à 20°. On élimine par filtration la dicyclohexylurée (170 mg), concentre le filtrat à 2 ml et précipite par l'éther. On dissout le précipité dans 50 ml de dioxanne/eau (4:1) et passe la solution ainsi obtenue sur un échangeur d'ions à groupe sul-

<sup>21</sup>) TH. WIELAND & G. PFLEIDERER, Angew. Chem. 67, 257 (1955).

<sup>22</sup>) ST. GUTTMANN & R. A. BOISSONNAS, Helv. 43, 200 (1960).

fonique (Dowex-50, cycle acide). On évapore à sec et triture le résidu dans l'éther jusqu'à pulvérisation complète. Le produit obtenu est suspendu dans 10 ml d'isopropanol bouillant. Après refroidissement, on filtre, lave le précipité à l'éther et sèche. On obtient ainsi 963 mg (81%) de N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolyl-glycyl-L-phénylalananyl-L-séryl-L-prolyl-L-phénylalananyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle de F. 160° (déc.).  $[\alpha]_D^{22} = -42,9 \pm 1^\circ$  ( $c = 1,0$ ; acide acétique 95%).  $E_{1,9}^a = 0,58$  Try;  $Rf_M^a = 0,83$ ;  $Rf_A^a = 0,78$ ;  $Rf_P^a = 0,57$  (révélation par ninhydrine, chlore et bleu de bromophénol). Le produit, sans scission préalable, donne une tache unique par chromatographie sur couche mince de silicagel-G dans le système chloroforme/méthanol (9:1) (révélation au chlore).

$C_{60}H_{75}O_{18}N_{17}$	Calc. C 54,5	H 5,7	O 21,8	N 18,0%
(1322,3)	Tr. ,, 54,7	,, 6,4	,, 21,7	,, 18,2%

b) On dissout 629 mg (1,0 mmole) d'ester tripeptidique XXVIII et 827 mg (1,0 mmole) de L-phénylalananyl-L-séryl-L-prolyl-L-phénylalananyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle<sup>4)</sup> dans 3 ml de diméthylformamide et maintient la solution obtenue 12 h à 20°. On précipite par l'acétate d'éthyle, filtre et purifie le produit ainsi obtenu comme décrit en a). On obtient 1,01 g (76%) d'ester octapeptidique XXX identique au produit obtenu en a).

*L-Arginyl-L-prolyl-glycyl-L-phénylalananyl-L-séryl-L-prolyl-L-phénylalananyl-L-arginine (XXX).* On hydrogène à pression ordinaire 500 mg (0,38 mmole) d'octapeptide protégé XXIX dissous dans 25 ml d'acide acétique/eau (2:1) en présence de 300 mg de catalyseur d'hydrogénation selon KUHN<sup>23)</sup>. Après 16 h, on élimine le catalyseur par centrifugation, évapore la solution à sec et purifie le résidu par contre-courant dans le système sec-butanol/eau/acide trifluoroacétique (120:160:1). Après 200 transferts et détermination de la courbe de répartition par la ninhydrine, on obtient à côté du sommet de trifluoroacétate d'ammonium, un sommet peptidique unique ayant son maximum au tube 100 ( $K = 1,0$ ). On réunit le contenu des tubes 90 à 110, évapore à sec, dissout le résidu dans 50 ml d'acide acétique 0,5N, fait passer la solution obtenue sur 15 ml d'échangeur d'ions faiblement basique (IR-45, cycle acétate) et évapore à sec. On redissout le résidu dans 2 ml de méthanol, précipite à l'éther, filtre et sèche. On obtient ainsi 201 mg (46%) de L-arginyl-L-prolyl-glycyl-L-phénylalananyl-L-séryl-L-prolyl-L-phénylalananyl-L-arginine.  $[\alpha]_D^{22} = -48,8 \pm 1,0^\circ$  ( $c = 1,0$ ; acide acétique 1N).  $E_{1,9}^0 = 1,15$  Glu;  $E_{5,8}^0 = 0,75$  His;  $Rf_M^0 = 0,20$ ;  $Rf_A^0 = 0,40$ ;  $Rf_P^0 = 0,33$  (révélation par ninhydrine, chlore, bleu de bromophénol et SAKAGUCHI).

$C_{45}H_{66}O_{10}N_{14} + 3CH_3CO_2H$	Calc. C 53,5	H 6,9	O 22,4	N 17,2%	Calc. $CH_3COOH$ 3,0 équiv.
(1143,2)	Tr. ,, 53,6	,, 6,7	,, 22,1	,, 17,2%	Tr. ,, 3,1 équiv.

Activité biologique: par rapport à la bradykinine, cet octapeptide a montré une activité environ 50 fois plus faible sur l'ileum de Cobaye, 70 fois plus faible sur l'utérus de Rat, 50 fois plus faible par le test de bronchoconstriction de Cobaye et 80 fois plus faible par celui de perméabilité capillaire.

*N-CBO-Glycyl-L-sérylhydrazide (XXXI).* On dissout 14,0 g (45 mmoles) de N-CBO-glycyl-L-sérinate de méthyle<sup>14)</sup> dans 100 ml de méthanol, ajoute 6,0 ml d'hydrate d'hydrazine et maintient 12 h à 20°. On filtre et lave le précipité cristallin par 50 ml de méthanol, puis 100 ml de méthanol/éther 1:1 et enfin plusieurs fois à l'éther. Après séchage à 50° sur  $P_2O_5$ , on obtient 12,6 g (90%) de N-CBO-glycyl-L-sérylhydrazide de F. 224°.  $[\alpha]_D^{23} = -5,0 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; diméthylformamide);  $-10,6 \pm 0,1^\circ$  ( $c = 1,1$ ; acide acétique 95%).  $E_{1,9}^a = 0,96$  His;  $E_{5,8}^a = 1,43$  His;  $Rf_M^a = 0,53$ ;  $Rf_A^a = 0,58$ ;  $Rf_P^a = 0,28$  (révélation par ninhydrine, chlore et FOLIN).

$C_{13}H_{18}O_5N_4$	Calc. C 50,3	H 5,8	O 25,8	N 18,1%
(310,3)	Tr. ,, 50,1	,, 6,0	,, 25,7	,, 18,1%

*N-CBO-Glycyl-L-séryl-L-phénylalananyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XXXII).* On dissout 6,20 g (20 mmoles) de N-CBO-glycyl-L-sérylhydrazide (XXXI) dans 30 ml d'HCl 2N, ajoute 100 ml d'acétate d'éthyle, refroidit à  $-5^\circ$  et ajoute 1,52 g (22 mmoles) de  $NaNO_2$  en trois portions égales et à 30 s d'intervalle. Après séparation des couches, on extrait la phase aqueuse par 2 x 50 ml d'acétate d'éthyle, lave les solutions organiques réunies par  $Na_2CO_3$  1N, sèche sur  $Na_2SO_4$ , ajoute 10,0 g (20 mmoles) de L-phénylalananyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle<sup>4)</sup> dissous dans 30 ml de

<sup>23)</sup> R. KUHN & H. J. HAAS, *Angew. Chem.* 67, 785 (1955).

diméthylformamide et garde la solution obtenue pendant 2 j à 0°. On évapore l'acétate d'éthyle sous vide, ajoute 300 ml d'éther au résidu et décante du précipité huileux obtenu. On triture ensuite le résidu dans l'éther jusqu'à l'obtention d'une poudre. Cette dernière est dissoute dans un mélange dioxanne/eau (4:1). La solution obtenue est traitée par 50 ml d'un échangeur d'ions à groupe sulfonique (Dowex-50, cycle acide), puis filtrée et évaporée à sec. On reprend le résidu dans 300 ml d'isopropanol bouillant, élimine le petit insoluble par décantation et refroidit la solution limpide à 0°. Le tétrapeptide déposé est isolé par décantation et redissout dans une nouvelle portion de 300 ml d'isopropanol bouillant. La très faible quantité d'insoluble est éliminée et la solution très fortement agitée est refroidie à 0°. Après 12 h à -20°, on filtre, lave le précipité à l'éther, sèche et obtient 8,60 g (55%) de N-CBO-glycyl-L-séryl-L-phénylalananyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle de F. 130° (déc.).  $[\alpha]_D^{23} = -18,8 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,1$ ; méthanol),  $-12,8 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; diméthylformamide).  $E_{1,9}^A = 0,83$  Try;  $E_{5,8}^A = 0,65$  His;  $Rf_M^A = 0,78$ ;  $Rf_A^A = 0,75$ ;  $Rf_P^A = 0,65$  (révélation par ninhydrine et chlore).

$C_{35}H_{41}O_{12}N_9$	Calc.	C 53,9	H 5,3	O 24,6	N 16,2%
(779,8)	Tr.	,, 53,5	,, 5,3	,, 24,8	,, 15,9%

*Glycyl-L-séryl-L-phénylalananyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XXXIII)*. On dissout 7,79 g (10 mmoles) d'ester tétrapeptidique dans 80 ml d'acide trifluoracétique contenant 1% d'eau. On y fait barboter à 0° un fort courant de HBr pendant 70 min, concentre à 20 ml, puis précipite par l'éther. On filtre, redissout le précipité (8,65 g, F. 130°) dans 400 ml de dioxanne/eau (4:1), traite la solution obtenue par 30 ml d'échangeur d'ions fortement basique (IRA-410, cycle basique) et évapore à sec. On redissout le résidu dans 20 ml de dioxanne et précipite par l'éther, puis filtre et sèche. On obtient ainsi 5,92 g (92%) de glycyl-L-séryl-L-phénylalananyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle de F. 130° (déc.).  $[\alpha]_D^{23} = -30,8 \pm 1^\circ$  ( $c = 1,0$  méthanol);  $-24,6 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,1$ ; acide acétique 95%).  $E_{1,9}^0 = 0,83$  Try;  $E_{5,8}^0 = 0,65$  His;  $Rf_M^0 = 0,78$ ;  $Rf_A^0 = 0,75$ ;  $Rf_P^0 = 0,65$  (révélation par ninhydrine et chlore).

$C_{27}H_{36}O_{10}N_9$ (645,6)	Calc.	C 50,2	H 5,5	N 19,5%	Tr. C 49,9	H 5,5	N 19,7%
---------------------------------	-------	--------	-------	---------	------------	-------	---------

*N-CBO-L-Prolyl-L-phénylalananyl-glycyl-L-séryl-L-phénylalananyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XXXIV)*. On dissout 1,78 g (4,5 mmoles) de N-CBO-L-prolyl-L-phénylalanine<sup>16</sup> et 2,96 g (4,6 mmoles) d'ester tétrapeptidique XXXIII dans 10 ml d'acétonitrile, refroidit à -10°, ajoute 1,23 g (6,0 mmoles) de dicyclohexyl-carbodiimide et maintient la solution ainsi obtenue à 20°. La solution devient trouble puis se prend en masse. Après 16 h, on évapore à sec et pulvérise le résidu en le triturant dans l'éther. Le mélange de peptide et de dicyclohexylurée est repris dans 50 ml de pyridine et gardé à -20° pendant 12 h. On filtre pour éliminer la dicyclohexylurée insoluble (920 mg), évapore le filtrat à sec et sèche le résidu au vide poussé. On le redissout dans 200 ml de dioxanne/cau 4:1, traite avec 20 ml d'échangeur d'ions à groupes sulfoniques (Dowex 50 W), filtre, évapore à sec, redissout le résidu dans 20 ml de dioxanne et précipite l'hexapeptide par l'adjonction de 100 ml d'éther. On obtient ainsi 4,08 g (88%) de N-CBO-L-prolyl-L-phénylalananyl-glycyl-L-séryl-L-phénylalananyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle de F. 140° (déc.).  $[\alpha]_D^{23} = -31,1 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,1$ ; méthanol);  $-27,5$  ( $c = 1,0$ ; diméthylformamide).  $E_{1,9}^A = 0,73$  Try;  $Rf_M^A = 0,95$ ;  $Rf_A^A = 0,95$ ;  $Rf_P^A = 0,90$  (révélation par ninhydrine et chlore). Sans scission préalable, le produit est homogène à la chromatographie sur couche mince de silicagel dans le système chloroforme/méthanol 9:1 après révélation au chlore.

$C_{40}H_{57}O_{14}N_{11} + H_2O$	Calc.	C 56,5	H 5,7	O 23,0	N 14,8%
(1042,05)	Tr.	,, 56,5	,, 5,8	,, 22,7	,, 14,7%

*L-Prolyl-L-phénylalananyl-glycyl-L-séryl-L-phénylalananyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XXXV)*. On dissout 3,07 g (3,0 mmoles) d'ester hexapeptidique XXXIV dans 25 ml d'acide trifluoracétique contenant 1% d'eau, refroidit à -2°, fait barboter un courant d'HBr pur pendant 70 min, concentre la solution à 10 ml et précipite le bromhydrate hexapeptidique par l'adjonction de 50 ml d'éther sec. Les 3,17 g de produit obtenus (F. 155°) sont dissous dans 75 ml de dioxanne/eau (4:1) et traités par 8 ml d'échangeur d'ions fortement basique (IRA-410, cycle basique), filtrés et évaporés à sec. Après trituration du résidu par l'éther, filtration et séchage, on obtient 2,67 g

(97%) de L-prolyl-L-phénylalanyl-glycyl-L-séryl-L-phénylalanyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle de F. 135° (déc.).  $[\alpha]_D^{23} = -18,6 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; diméthylformamide);  $-12,4 \pm 1^\circ$  ( $c = 1,0$ ; acide acétique 95%).  $E_{1,9}^0 = 0,73$  Try;  $Rf_M^0 = Rf_A^0 = Rf_P^0 = 1,0$  (révélation par ninhydrine, isatine et chlore).

$C_{41}H_{51}O_{12}N_{11} + 1\frac{1}{2} H_2O$	Calc. C 53,7	H 5,9	O 23,6	N 16,8%
(916,9)	Tr. ,, 54,2	,, 5,9	,, 23,6	,, 16,4%

*N-CBO-Nitro-L-arginyl-L-prolyl-L-prolyl-L-phénylalanyl-glycyl-L-séryl-L-phénylalanyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XXXVI)*. - a) On dissout 571 mg (1,0 mmole) de N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolinate de p-nitrophényle<sup>3</sup>) et 917 mg (1,0 mmole) d'ester hexapeptidique XXXV dans un mélange de 6 ml de dioxanne/diméthylformamide (2:1), maintient pendant 8 h à 50° et 12 h à 20°. Après évaporation à sec, on pulvérise le résidu en le triturant dans l'éther, puis après filtration, on le dissout dans 20 ml de dioxanne/eau 4:1, traite par 5 ml d'échangeur d'ions à groupes sulfoniques (Dowex-50, cycle acide), puis évapore à sec. On suspend le résidu ainsi obtenu dans 15 ml d'acétate d'éthyle bouillant, filtre après refroidissement et répète la même opération en remplaçant l'acétate d'éthyle par l'isopropanol. Après séchage on obtient 1,15 g (87%) de N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolyl-L-prolyl-L-phénylalanyl-glycyl-L-séryl-L-phénylalanyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle de F. 160° (déc.).  $[\alpha]_D^{23} = -49,8 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; méthanol);  $-31,2 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; diméthylformamide).  $E_{1,9}^a = 0,74$  Try;  $Rf_M^a = 0,70$ ;  $Rf_A^a = 0,72$ ;  $Rf_P^a = 0,73$  (révélation par ninhydrine, chlore et bleu de bromophénol).

$C_{60}H_{75}O_{16}N_{17} + H_2O$	Calc. C 53,8	H 5,8	O 22,7	N 17,8%
(1340,4)	Tr. ,, 53,5	,, 5,8	,, 22,6	,, 17,3%

b) A une solution de 450 mg (1,0 mmole) de N-CBO-nitro-L-arginyl-L-proline<sup>4</sup>) et de 917 mg (1,0 mmole) d'ester hexapeptidique XXXV dans 6 ml du mélange diméthylformamide/acétonitrile 1:2 refroidi à  $-5^\circ$ , on ajoute 309 mg (1,5 mmole) de dicyclohexyl-carbodiimide et agite 16 h à 20°. On filtre, évapore à sec et purifie le résidu comme par la méthode «a». On obtient 1,05 g (79%) d'octapeptide pur ayant les propriétés physiques et chimiques du peptide obtenu selon a).

*L-Arginyl-L-prolyl-L-prolyl-L-phénylalanyl-glycyl-L-séryl-L-phénylalanyl-L-arginine (XXXVII)*. On dissout 1,50 g (1,114 mmole) d'octapeptide protégé XXXVI dans 75 ml d'acide acétique/eau (2:1) et hydrogène 16 h à 20° à pression ordinaire en présence de 1,0 g de catalyseur d'hydrogénation selon KUHN<sup>23</sup>), préalablement hydrogéné pendant 30 min. Après l'élimination du catalyseur par centrifugation, on évapore la solution à sec et soumet le résidu à une purification par contre-courant dans le système sec-butanol/eau/acide trifluoroacétique (120:160:1). Après 584 transferts, la courbe de répartition est déterminée à la ninhydrine et le contenu des tubes 250 à 280, correspondant au sommet ayant son maximum au tube 263 ( $K = 0,82$ ), est évaporé à sec. Le résidu est redissous dans 100 ml d'acide acétique 0,1N, traité par 30 ml d'échangeur d'ions faiblement basique (IR-45, cycle acétate), évaporé à sec, redissous dans 2 ml de méthanol, précipité à l'éther, essoré et séché. On obtient ainsi 427 mg (37%) de triacétate de L-arginyl-L-prolyl-L-prolyl-L-phénylalanyl-glycyl-L-séryl-L-phénylalanyl-L-arginine.  $E_{1,9}^0 = 1,22$  Glu;  $Rf_M^0 = 0,19$ ;  $Rf_A^0 = 0,34$ ;  $Rf_P^0 = 0,27$  (révélation par ninhydrine, chlore, SAKAGUCHI et bleu de bromophénol).

$C_{45}H_{66}O_{10}N_{14} + 3CH_3COOH + 3H_2O$  Calc. C 51,2 H 7,1 O 25,4 N 16,4%  $CH_3COOH$  3,0 équiv.  
(1197,4) Tr. ,, 51,0 ,, 7,1 ,, 25,5 ,, 16,1% ,, 2,9 ,,

*N-CBO-Nitro-L-arginyl-L-prolyl-glycyl-L-proline (XXXVIII)*. A une solution de 8,56 g (15 mmoles) de N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolinate de p-nitrophényle<sup>3</sup>) dans 35 ml de dioxanne, on ajoute sous agitation 3,44 g (20 mmoles) de glycyl-L-proline<sup>17</sup>) dissous dans 15 ml de NaOH 1N et maintient le pH à 9,0 par adjonction de NaOH 1N à l'aide d'un appareil automatique. Après la fin de la consommation de NaOH, on agite encore 30 min, ajuste la pH à 7,5 et concentre la solution à 30° sous vide jusqu'à environ 10 ml. On ajoute 100 ml d'eau, ajuste la pH à 9,0 et extrait la solution obtenue par l'acétate d'éthyle. La phase aqueuse est additionnée de 100 ml de dioxanne et de 100 ml d'acétone, puis passée à travers 100 ml d'échangeur d'ions à groupes sulfoniques (Dowex-50, cycle acide) puis à travers 100 ml d'échangeur d'ions faiblement basique (IR-45, cycle basique) et évaporée à sec. On dissout le résidu huileux dans 25 ml d'acétone et laisse cristalliser à 0°. Après filtration, lavage à l'acétone et séchage, on obtient 4,17 g (46%) de

N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolyl-glycyl-L-proline de F. 150° (déc.).  $[\alpha]_D^{21} = -101,5 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; méthanol);  $-73,0 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; diméthylformamide);  $-94,5 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; acide acétique 95%).  $E_{1,9}^a = 0,94$  Try;  $E_{5,8}^a = 0,62$  Try;  $Rf_M^a = 0,19$ ;  $Rf_A^a = 0,29$ ;  $Rf_P^a = 0,16$  (révélation par ninhydrine et chlore). Sans scission préalable, le produit est homogène à la chromatographie sur couche mince de silicagel dans les mélanges chloroforme/méthanol 9:1, 8:2 et 1:1 (révélation au chlore).

$C_{26}H_{36}O_9N_8$	Calc.	C 51,6	H 6,0	O 23,8	N 18,5%
(604,7)	Tr.	„ 51,5	„ 6,3	„ 23,8	„ 18,1%

N-CBO-Nitro-L-arginyl-L-prolyl-glycyl-L-prolinate de p-nitrophényle (XXXIX). On agite une suspension de 1,81 g (3,0 mmoles) d'acide tétrapeptidique XXXVIII et 900 mg de tri-(p-nitrophényl)-phosphite<sup>11</sup>) dans 3 ml de pyridine pendant 12 h à 20°. Après dissolution totale, on ajoute 50 ml d'acétate d'éthyle, lave successivement par HCl 1N, NaHCO<sub>3</sub> 1N et H<sub>2</sub>O, sèche sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et évapore à sec. On suspend le résidu dans 20 ml d'éthanol bouillant, laisse refroidir à 0°, décante, dissout dans 10 ml d'acétate d'éthyle, précipite à l'aide d'éther, filtre et sèche. On obtient ainsi 1,75 g (80%) de N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolyl-glycyl-L-prolinate de p-nitrophényle de F. env. 160°.  $[\alpha]_D^{22} = -66,5 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; méthanol);  $-76,5 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; diméthylformamide);  $-100,5 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; acide acétique 95%).  $E_{1,9}^a = 0,81$  Try;  $Rf_M^a = 0,64$ ;  $Rf_P^a = 0,38$  (révélation par ninhydrine, chlore et NH<sub>3</sub>). Sans scission préalable le produit est homogène à la chromatographie sur couche mince de silicagel dans le système chloroforme/méthanol 9:1.

$C_{32}H_{39}O_{11}N_9$	Calc.	C 53,0	H 5,4	O 24,3	N 17,4%
(725,7)	Tr.	„ 52,7	„ 5,8	„ 23,9	„ 17,1%

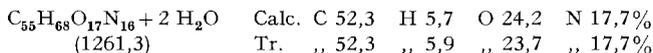
N-CBO-Nitro-L-arginyl-L-prolyl-glycyl-L-prolyl-L-phénylalanyl-L-séryl-L-phénylalanyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XL). On dissout 735 mg (1,0 mmole) de L-phénylalanyl-L-séryl-L-phénylalanyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle et 726 mg (1,0 mmole) d'ester tétrapeptidique XXXIX dans 5 ml de diméthylformamide. Après 48 h à 20° on évapore à sec, triture le résidu successivement dans l'eau, l'éther, l'acétate d'éthyle et sèche au vide. On obtient ainsi 829 mg (63%) de N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolyl-glycyl-L-prolyl-L-phénylalanyl-L-séryl-L-phénylalanyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle de F. 171° (déc.).  $[\alpha]_D^{22} = -52,5 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; diméthylformamide);  $-54,9 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; acide acétique 95%).  $Rf_M^a = 0,75$ ;  $Rf_A^a = 0,70$ ;  $E_{1,9}^a = 0,75$  Try (révélation par ninhydrine et chlore).

$C_{60}H_{75}O_{18}N_{17}$	Calc.	C 54,5	H 5,7	O 21,8	N 18,0%
(1322,3)	Tr.	„ 53,5	„ 5,5	„ 21,6	„ 18,1%

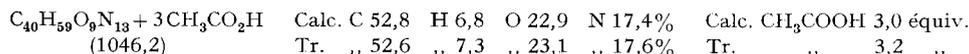
L-Arginyl-L-prolyl-glycyl-L-prolyl-L-phénylalanyl-L-séryl-L-phénylalanyl-L-arginine (XLI). On dissout 500 mg (0,38 mmole) d'octapeptide protégé XL dans 25 ml d'acide acétique/eau (2:1) et hydrogène à pression ordinaire en présence de 300 mg de catalyseur d'hydrogénation selon KUHN<sup>23</sup>), préalablement hydrogéné pendant 30 min. Après 16 h, on ajoute une seconde portion de 100 mg de catalyseur et poursuit l'hydrogénation pendant encore 10 h. On filtre, évapore la solution à sec et soumet le résidu à une purification par contre-courant dans le système sec-butanol/eau/acide trifluoroacétique (120:160:1). Après 208 transferts et détermination de la courbe de répartition à l'aide de la ninhydrine, on obtient à côté du sommet correspondant au trifluoroacétate d'ammonium un sommet peptidique unique ayant son maximum au tube 99 ( $K = 0,91$ ). Le contenu des tubes 85-115 réunis est évaporé à sec, le résidu est repris dans 50 ml d'acide acétique 0,5N et traité par 15 ml d'échangeur d'ions faiblement basique (IR-45, cycle acétate). Après évaporation à sec, on dissout le résidu dans 2 ml de méthanol, précipite à l'éther, filtre et sèche. On obtient ainsi 216 mg (50%) de L-arginyl-L-prolyl-glycyl-L-prolyl-L-phénylalanyl-L-séryl-L-phénylalanyl-L-arginine.  $[\alpha]_D^{23} = -58,5 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; acide acétique 1N).  $E_{1,9}^0 = 1,15$  Glu;  $E_{5,8}^0 = 0,83$  His;  $Rf_M^0 = 0,19$ ;  $Rf_A^0 = 0,32$ ;  $Rf_P^0 = 0,32$  (révélation par ninhydrine, chlore, bleu de bromophénol et SAKAGUCHI).

$C_{45}H_{66}O_{10}N_{14} + 3CH_3COOH + 2H_2O$	(1179,3)
Calc.	C 51,9   H 7,2   O 24,4   N 16,6%   CH <sub>3</sub> COOH 3,0 équiv.
Tr.	„ 51,8   „ 7,1   „ 24,1   „ 17,2%   „ 3,0   „

*N-CBO-Nitro-L-arginyl-L-prolyl-glycyl-L-phénylalanyl-L-séryl-L-phénylalanyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle (XLII)*. On dissout 2,21 g (3,0 mmoles) de L-phénylalanyl-L-séryl-L-phénylalanyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle<sup>3</sup>) et 1,89 g (3,0 mmoles) d'ester tripeptidique XXVIII dans 15 ml de diméthylformamide, maintient la solution 2 j à 20°, évapore à sec et triture le résidu dans l'acétate d'éthyle jusqu'à pulvérisation complète. On filtre, dissout le précipité dans 50 ml du mélange dioxanne/eau (4:1), traite la solution obtenue par 10 ml d'échangeur d'ions à groupes sulfoniques (Dowex-50, cycle acide) et évapore à sec. On dissout le résidu dans 10 ml d'éthanol, précipite à l'éther, filtre et sèche. On obtient ainsi 2,16 g (58%) de N-CBO-nitro-L-arginyl-L-prolyl-glycyl-L-phénylalanyl-L-séryl-L-phénylalanyl-nitro-L-arginate de p-nitrobenzyle de F. 100° (déc.).  $[\alpha]_D^{23} = -21,8 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; méthanol),  $-17,0 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; diméthylformamide);  $-22,2 \pm 0,5^\circ$  ( $c = 1,0$ ; acide acétique 95%).  $E_{1,9}^a = 0,61$  Try;  $Rf_M^a = 0,77$ ;  $Rf_A^a = 0,72$ ;  $Rf_P^a = 0,77$  (révélation par ninhydrine, chlore et bleu de bromophénol).



*L-Arginyl-L-prolyl-glycyl-L-phénylalanyl-L-séryl-L-phénylalanyl-L-arginine (XLIII)*. On hydrogène à pression ordinaire une solution de 1,00 g (0,82 mmole) d'heptapeptide protégé XLII dans 50 ml d'acide acétique/eau 2:1, en présence de 500 mg de catalyseur d'hydrogénation selon KUH $\ddot{N}$ <sup>23</sup>). Après 16 h, on ajoute encore 200 mg de catalyseur et poursuit l'hydrogénation pendant 10 h. On filtre, évapore à sec et purifie le résidu par contre-courant dans le système sec-butanol/eau/acide trifluoracétique (120:160:1). Après 300 transferts et détermination de la courbe de répartition à l'aide de la ninhydrine, on obtient, à côté du sommet contenant du trifluoracétate d'ammonium, un sommet peptidique unique ayant son maximum au tube 127 ( $K = 0,74$ ). On réunit le contenu des tubes 110 à 140, évapore à sec, redissout dans l'acide acétique 0,5N, traite la solution ainsi obtenue par un échangeur d'ions faiblement basique (IR-45, cycle acétate) et évapore à sec. On dissout le résidu dans 2 ml de méthanol et précipite l'heptapeptide par adjonction d'éther. On obtient ainsi 576 mg (67%) de triacétate de L-arginyl-L-prolyl-glycyl-L-phénylalanyl-L-séryl-L-phénylalanyl-L-arginine.  $[\alpha]_D^{22} = -26,6 \pm 1^\circ$  ( $c = 1,0$ ; acide acétique 1N).  $E_{1,9}^0 = 1,18$  Glu;  $E_{5,8}^0 = 1,00$  His;  $Rf_M^0 = 0,21$ ;  $Rf_A^0 = 0,35$ ;  $Rf_P^0 = 0,28$  (révélation par ninhydrine, chlore, bleu de bromophénol et SAKAGUCHI).



#### SUMMARY

The synthesis of the four following analogues of Bradykinine is described in detail: H-Arg-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH, H-Arg-Pro-Pro-Phe-Gly-Ser-Phe-Arg-OH, H-Arg-Pro-Gly-Pro-Phe-Ser-Phe-Arg-OH and H-Arg-Pro-Gly-Phe-Ser-Phe-Arg-OH. The first of these peptides exhibited a small bradykinin-like activity. The three others were inactive.

Laboratoire de Chimie Pharmaceutique SANDOZ, Bâle