

Wasserbad erwärmt. Die übliche Aufarbeitung ergab ein Rohprodukt, welches in Benzol an 20 g Kieselgel chromatographiert wurde. Die erhaltene dünnschichtchromatographisch einheitliche rote Verbindung (23 mg) gab beim Umkristallisieren aus Benzol rote Prismen vom Smp. 232–233°.

$C_{20}H_{14}ON_2$  Ber. C 80,51 H 4,73 N 9,39% Gef. C 80,55 H 4,81 N 9,29%

Absorptionsspektrum im UV. und im Sichtbaren (in Feinsprit): Fig. 2, Kurve 3.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung W. MANSER) ausgeführt.

#### SUMMARY

Several derivatives of 1-oxaphenalene (II) and 1-oxaphenalene-7,8-quinone have been synthesized in order to support the constitution I of biflorin by comparison of the absorption spectra.

Organisch-chemisches Laboratorium  
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

## 42. Vergleich von synthetischem und natürlichem Arginin-vasopressin<sup>1)</sup>

von R. O. Studer

(22. XII. 62)

Arginin-vasopressin wurde durch DU VIGNEAUD *et al.* aus Hypophysen-Hinterlappen des Rindes isoliert und in seiner Struktur aufgeklärt<sup>2)</sup>.

Die anfallenden Mengen waren aber derart gering, dass verschiedene physikalisch-chemische Messgrößen, z. B. die optische Drehung, des natürlichen Hormones bisher noch unbekannt geblieben sind.

Ähnliches gilt für das synthetische Arginin-vasopressin. Die von DU VIGNEAUD *et al.* durchgeführten Synthesen<sup>3)</sup>, in welchen die Guanidinogruppe des Arginins nicht durchwegs mit einer Schutzgruppe versehen war, sondern meistens nur in protonierter Form vorlag, lieferten sehr wenig Material. Ein eingehender Vergleich der beiden Substanzen war daher infolge ihrer geringen Mengen erschwert.

Wir haben nun das Hormon in grösseren Mengen unter Verwendung von N<sup>G</sup>-Tosyl-L-arginin<sup>4)</sup> hergestellt, wobei der Aufbau des geschützten Nonapeptides

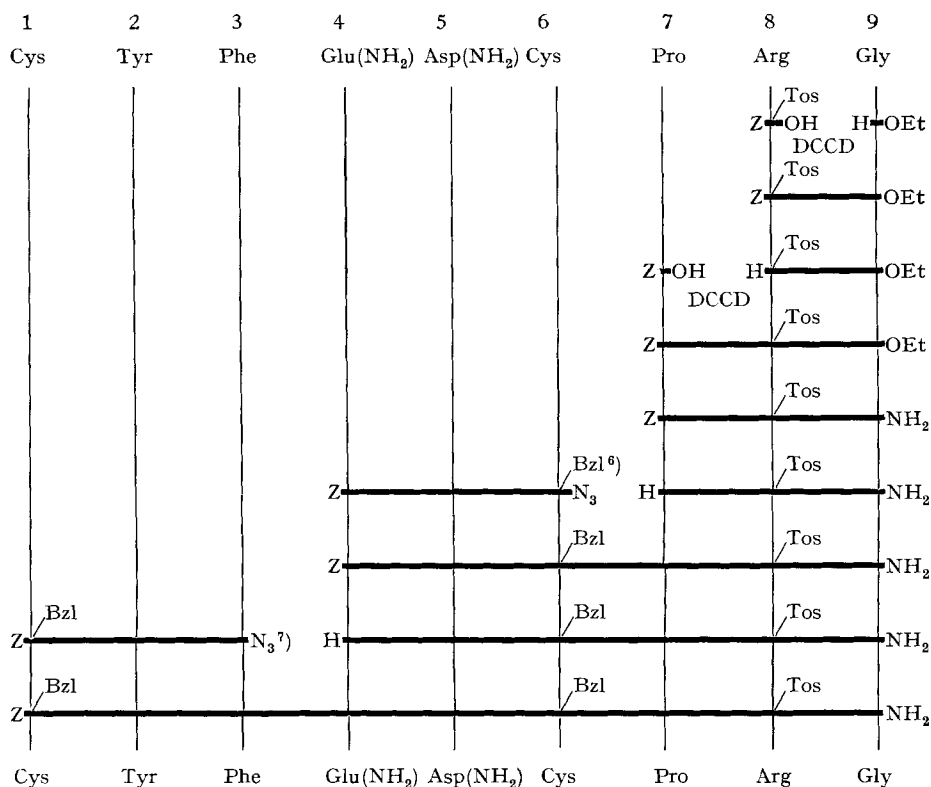
<sup>1)</sup> Die vorliegenden Ergebnisse wurden auszugsweise vorgetragen an der Sommerveranstaltung der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft in Schuls-Tarasp am 8. Sept. 1962.

<sup>2)</sup> V. DU VIGNEAUD, H. C. LAWLER & E. A. POPENOE, *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 4880 (1953).

<sup>3)</sup> P. G. KATSOYANNIS, D. T. GISH & V. DU VIGNEAUD, *J. Amer. chem. Soc.* **79**, 4516 (1957); V. DU VIGNEAUD, D. T. GISH, P. G. KATSOYANNIS & G. P. HESS, *ibid.* **80**, 3355 (1958); R. O. STUDER & V. DU VIGNEAUD, *ibid.* **82**, 1499 (1960).

<sup>4)</sup> E. SCHNABEL & C. H. LI, *J. Amer. chem. Soc.* **82**, 4576 (1960); R. SCHWYZER & C. H. LI, *Nature*, **162**, 1669 (1958).

<sup>5)</sup> R. L. HUGUENIN & R. A. BOISSONNAS, *Helv.* **45**, 1629 (1962).



## Aufbauschema

Alle Aminosäuren haben durchwegs die L-Konfiguration

Z = Benzylloxycarbonyl; Tos = Tosyl; Bzl = Benzyl; DCCD = Dicyclohexylcarbodiimid

(Schema) mit der inzwischen von HUGUENIN & BOISSONNAS<sup>5)</sup> publizierten Synthese im wesentlichen übereinstimmt.

Nach Abspaltung der Schutzgruppen mit Natrium in flüssigem Ammoniak<sup>8)</sup> und Luftoxydation in verdünnter wässriger Lösung wurde das Produkt durch Ionenaustauscherchromatographie und Gegenstromverteilung gereinigt.

Das zum Vergleich mit dem synthetischen Material notwendige natürliche Arginin-vasopressin wurde aus Trockenpulver von Rinderhypophysen nach DU VIGNEAUD *et al.*<sup>9)</sup> hergestellt. Die nach Ionenaustauscherchromatographie anfallende Substanz wurde noch durch Gegenstromverteilung weiter gereinigt.

Das synthetische Produkt wurde in Parallelversuchen mit dem natürlichen Hormon verglichen (Tabelle), wobei sich die beiden als vollkommen identisch erwiesen.

<sup>6)</sup> R. A. BOISSONNAS, ST. GUTTMANN, P.-A. JAQUENOUD & J.-P. WALLER, *Helv.* 38, 1491 (1955).

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

<sup>8)</sup> V. DU VIGNEAUD & O. K. BEHRENS, *J. biol. Chemistry* 117, 27 (1937).

<sup>9)</sup> A. LIGHT, R. O. STUDER & V. DU VIGNEAUD, *Arch. Biochemistry Biophysics* 83, 84 (1959).

### Experimenteller Teil

A. *Synthetisches Arginin-vasopressin*. – 1. *N<sup>α</sup>-Z-S-Bzl-L-Cysteinyl-L-tyrosyl-L-phenylalanyl-L-glutaminyl-L-asparaginyll-S-Bzl-L-cysteinyl-L-prolyl-N<sup>G</sup>-Tos-L-arginyl-glycinamid*<sup>5)</sup> werden in 20 ml Eisessig gelöst, mit 40 ml Bromwasserstoffsäure in Eisessig (gesättigt) versetzt und 1 Std. bei Raumtemperatur geschüttelt. Darauf wird 15 Min. im Wasserstrahlvakuum entgast, dann das Peptidmaterial mit Äther gefällt, abgenutscht und mit viel Äther gewaschen. Das so erhaltene Produkt wird noch 3mal aus Methanol/Äther umgefällt, in 300 ml Methanol gelöst und mit Amberlite IRA 410 (OH<sup>-</sup>-Form) bis zur völligen Entfernung der Brom-Ionen behandelt, filtriert und eingedampft. Man erhält 4,4 g (90%) eines gelblichen Schaumes.

1,85 g dieser Hexapeptidbase (0,002 Mol) werden in 20 ml Dimethylformamid gelöst und bei 0° mit *N<sup>α</sup>-Z-S-Bzl-L-Cysteinyl-L-tyrosyl-L-phenylalaninazid*<sup>7)</sup> (hergestellt aus 1,5 g des entsprechenden Hydrazides) versetzt und bis zur vollständigen Lösung des Azids bei 0° gerührt. Die Lösung wird über Nacht im Eiskasten aufbewahrt. Nach Filtration wird mit 300 ml Äthanol versetzt, nach 1 Std. bei Raumtemperatur abgenutscht, mit Alkohol und Äther gewaschen und getrocknet. Das anfallende Produkt wird noch 1mal aus Dimethylformamid/Alkohol und aus Dimethylformamid/Wasser umgefällt und getrocknet; 2,2 g (70%), Smp. 208–209°,  $[\alpha]_D^{21,9} = -37,3 \pm 2^\circ$  ( $c = 2$ , Dimethylformamid). (Lit. <sup>5)</sup> Smp. 188°,  $[\alpha]_D^{23} = -37 \pm 1^\circ$  [ $c = 1,5$ , Dimethylformamid].)

$C_{75}H_{91}O_{16}N_{15}S_3$	Ber. C 57,93	H 5,89	N 13,51	S 6,18%
(1554,78)	Gef. „ 57,94	„ 5,90	„ 13,28	„ 6,07%

2. *Arginin-vasopressin*. 500 mg geschütztes Nonapeptid werden in 500 ml über Natrium destilliertem Ammoniak gelöst und mit Natrium reduziert, bis die Blaufärbung 20 Min. bestehen bleibt. Nach Zugabe von 0,35 ml Eisessig wird das Ammoniak verdampft und der Rückstand zur vollständigen Entfernung des Ammoniaks 2 Std. im Wasserstrahlvakuum unter Zwischenschaltung eines CaCl<sub>2</sub>-Rohres evakuiert. Das zurückbleibende Pulver wird in 1 l eiskaltem bidestilliertem Wasser gelöst, die Lösung auf pH 6,7 eingestellt und 3 Std. unter Rühren mit einem leichten Luftstrom oxydiert. Darauf wird das pH mit Eisessig auf 4 gestellt und das Hormon auf einer Säule (1 × 25 cm) von Amberlite IRC 50, XE 64 (H<sup>+</sup>-Form) adsorbiert. Diese wird mit 0,25-proz. Essigsäure bis zur vollständigen Entfernung der Ammonium-Ionen gewaschen, dann wird das Peptidmaterial mit Pyridinacetat (30 ml Pyridin, 4 ml Eisessig, auf 100 ml verdünnt mit Wasser) eluiert und lyophilisiert. Die dabei erhaltenen 355 mg werden durch Gegenstromverteilung im System sek. Butanol/1-proz. Essigsäure über 500 Stufen weitergereinigt. Der Inhalt der Röhren mit den Spitzenfraktionen wird vereinigt, konzentriert und anschliessend lyophilisiert. Dabei werden 190 mg lockeres, weisses Pulver erhalten, dessen analytische Daten in der Tabelle aufgezeichnet sind.

B. *Natürliches Arginin-vasopressin*. Das natürliche Hormon wurde aus 100 g Trockenpulver von Rinderhypophysen (Pituitary Body Posterior Lobe Beef, Desiccated, 1,3 Pressor and 1,2 Oxytoxic units per mg, von PARKE, DAVIS & Co.)<sup>10)</sup> nach DU VIGNEAUD *et al.*<sup>9)</sup> isoliert. Die anfallenden 130 mg wurden noch durch eine Gegenstromverteilung im System sek. Butanol/1-proz. Essigsäure über 490 Stufen gereinigt. Der Inhalt der Röhren mit den Spitzenfraktionen wurde vereinigt, konzentriert und lyophilisiert, wobei 80 mg lockeres, weisses Pulver erhalten wurden, dessen analytische Daten in der Tabelle enthalten sind.

C. *Erläuterungen zur Tabelle*. – 1. *Papierchromatographie*: auf SCHLEICHER & SCHÜLL-Papier 2043b mgl, 15 Std. absteigend, bei ca. 25°. Entwicklung durch Ninhydrin und SAKAGUCHI-Reagens.

2. *Dünnschichtchromatographie*: Herstellung der Kieselgelplatten und Arbeitstechnik entsprechend den Originalangaben von STAHL<sup>11)</sup>; Laufzeit 2–3 Std.

<sup>10)</sup> Das Pulver wurde uns in freundlicher Weise von Herrn Prof. Dr. M. BRENNER, Institut für organische Chemie der Universität Basel, zur Verfügung gestellt.

<sup>11)</sup> E. STAHL, Arbeitsvorschrift für Dünnschichtchromatographie, herausgegeben von der Firma C. DESAGA GmbH., Heidelberg.

## Vergleich von synthetischem und natürlichem Arginin-vasopressin

Charakterisierung	synthetisch	natürlich
Papierchromatographie Rf-Werte		
n-Butanol-Eisessig-Wasser 4:1:5	0,06	0,06
n-Butanol-Pyridin-Eisessig-Wasser 90:60:18:72	0,49	0,49
Dünnschichtchromatographie	einheitlich	einheitlich
Hochspannungselektrophorese		
pH 1,9	0,91 Try	0,91 Try
pH 6,5	2,3 Try	2,3 Try
Gegenstromverteilung, K-Werte		
sek. Butanol/1-proz. Essigsäure	0,18	0,18
Wasserbestimmung nach FISCHER	7,5 %	10,9 %
$[\alpha]_{589}^{25}$ in 1N Essigsäure	-20,6° ± 2°	-19,2° ± 2°
Lyophilisat	-22,2° ± 2°	-21,6° ± 2°
wasserfreie Substanz		
Biologische Aktivität (Blutdruck der Ratte) E/mg	400	380
Lyophilisat	430	415
wasserfreie Substanz		
Mikroanalyse		
(berechnet auf wasserfreie Substanz)	$C_{46}H_{65}O_{12}N_{15}S_2$ , 0,9 CH <sub>3</sub> COOH (1138,2)	$C_{46}H_{65}O_{12}N_{15}S_2$ , 1,5 CH <sub>3</sub> COOH (1174,3)
	Ber. C 50,43 H 6,07 N 18,46 CH <sub>3</sub> COOH 4,74%	Ber. C 50,11 H 6,09 N 17,89 CH <sub>3</sub> COOH 5,50%
	Gef. „ 50,58 „ 6,05 „ 18,17 „ 4,47%	Gef. „ 50,32 „ 6,24 „ 17,72 „ 5,66%

3. *Hochspannungselektrophorese* mit dem Hochspannungs-Pherographen nach WIELAND & PFLEIDERER der Firma L. HORMUTH, Heidelberg, ausgeführt. Arbeitsbedingungen: Papier: SCHLEICHER & SCHÜLL 2043 b mgl. – Elektrolyte: pH 1,9; pH 6,5. – Feldstärke:  $65 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$ . – Kammertemperatur: +1 bis +3°. – Versuchsdauer: 40 Min.

Die Wanderstrecken sind als Verhältnisse zu derjenigen des Tryptophans angegeben.

4. Die *Wasserbestimmung* sowie die übrigen *Mikroanalysen* wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung unter Leitung der Herren Drs. H. WALDMANN und A. DIRSCHERL ausgeführt.

5. Die *optischen Aktivitäten* wurden in einem photoelektrischen Polarimeter mit Thermostat, der in unserer physikochemischen Abteilung durch Dr. F. BURKHARDT entwickelt wurde, gemessen. Konzentrationen: 0,499% für das synthetische und 0,624% für das natürliche Hormon.

6. Die biologischen Aktivitäten wurden in unserer medizinischen Abteilung durch Dr. W. HAEFELY am Blutdruck der Ratte mit Vasopressin synth. (SANDOZ) als Standard bestimmt. Das synthetische und das natürliche Hormon erwiesen sich sowohl qualitativ als auch quantitativ als gleichwertig.

#### SUMMARY

Synthetic arginine-vasopressin, obtained using the tosyl group for protection of the guanidino group of the arginine residue, has been carefully compared with the freshly isolated natural hormone by physico-chemical and biological methods. Both products proved to be identical.

Chemische Forschungsabteilung der  
F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG., Basel

---

### 43. Löslichkeitsprodukte von Metalloxiden und -hydroxiden

7. Mitteilung<sup>1)</sup>

#### Die Bestimmung der Löslichkeit von $\epsilon\text{-Zn(OH)}_2$ mit $^{65}\text{Zn}$

von L. Pinto, K. Egger und P. Schindler

(27. XII. 62)

*Einleitung.* In einer früheren Mitteilung berichteten wir über Versuche, die Löslichkeit von  $\epsilon\text{-Zn(OH)}_2$  mit Hilfe einer geschlossenen Säule zu bestimmen<sup>1)</sup>. In der gesättigten Lösung wurde die Wasserstoffionen-Konzentration durch EMK.-Messung und die totale Zink-Konzentration durch komplexometrische Titration bestimmt. Da die Hydrolyse unter den gewählten Bedingungen vernachlässigt werden kann<sup>1) 2)</sup>

---

<sup>1)</sup> 6. Mitteilung: P. SCHINDLER, H. ALTHAUS, A. SCHÜRCH & W. FEITKNECHT, *Chimia* 16, 42 (1962).

<sup>2)</sup> G. BIEDERMANN, *Proceedings 7th International Conference on Coordination Chemistry* 1962, p. 159.