

N-CBO-L-Pyroglutamyl-L-séryl-N^ε-CBO-L-lysinate de méthyle (III-48). On dissout 1,72 g (4,5 mmoles) de L-séryl-N^ε-CBO-L-lysinate de méthyle (II-33) dans un mélange de 20 ml de chlorure de méthylène et 20 ml d'acétate d'éthyle contenant 1,85 g (4,8 mmoles) de N-CBO-L-pyroglutamate de *p*-nitrophényle⁴²). Le mélange est laissé 2 j à temp. ordinaire puis évaporé à sec. On reprend le résidu par de l'éther, agite, filtre du solide obtenu, redissout dans de l'acétate d'éthyle et lave par HCl 1N, eau, NaHCO₃ 1N, eau, NaCl aq. 30% et sèche sur Na₂SO₄. Après éloignement du solvant au vide, cristallisation à partir de 25 ml d'acétate d'éthyle et 120 ml d'éther, refroidissement à -20°, filtration, lavage à l'éther et séchage, on obtient 2,05 g (73%) de produit de F. env. 80°. On recristallise de 70 ml d'acétate d'éthyle chaud, laisse séjourner 3 jours à -20°, lave à l'éther et sèche. On obtient ainsi 1,6 g (57%) de N-CBO-L-pyroglutamyl-L-séryl-N^ε-CBO-L-lysinate de méthyle de F. 85° (déc.). $[\alpha]_D^{22} = -31^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2$; acide acétique à 95%); $-17^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2$; diméthylformamide). $E_{1,9}^1 = 1,0$ Try; $E_{3,8}^2 = 0,9$ His (révélation par chloroc et ninhydrine).

$C_{31}H_{38}O_{10}N_4$ (626,6)	Calc. C 59,4 Tr. „ 59,0	H 6,1 „ 6,3	O 25,5 „ 25,0	N 8,9% „ 8,8%
------------------------------------	----------------------------	----------------	------------------	------------------

SUMMARY

The preparation of new dipeptides and tripeptides, which are useful intermediates in the synthesis of Eledoisin analogues, is described.

Laboratoire de chimie pharmaceutique, SANDOZ SA., Bâle

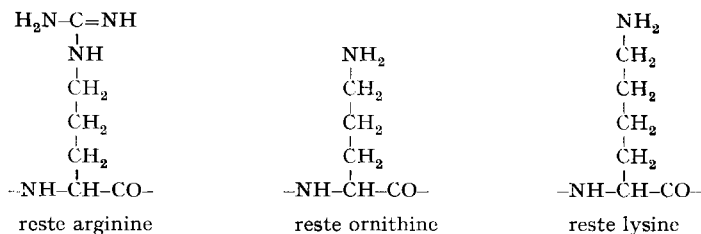
179. Synthèse de l'Orn⁸-vasopressine et de l'Orn⁸-oxytocine

par R. L. Huguenin et R. A. Boissonnas

(29 V 63)

Chez la plupart des mammifères, la vasopressine est présente sous forme d'arginine-vasopressine (= Arg⁸-vasopressine), tandis que chez le Porc et chez l'Hippopotame, elle apparaît sous forme de lysine-vasopressine (= Lys⁸-vasopressine). Ce remplacement du reste arginine par un reste lysine ne diminue que légèrement les activités biologiques (voir tableau).

Il nous a paru intéressant de synthétiser l'Orn⁸-vasopressine, car le reste ornithine possède une structure qui l'apparente tant au reste arginine qu'au reste lysine.



Par la même occasion, nous avons préparé l'Orn⁸-oxytocine, afin de comparer ses propriétés avec celles de l'arginine-vasotocine (= Arg⁸-oxytocine) et de la lysine-vasotocine (= Lys⁸-oxytocine).

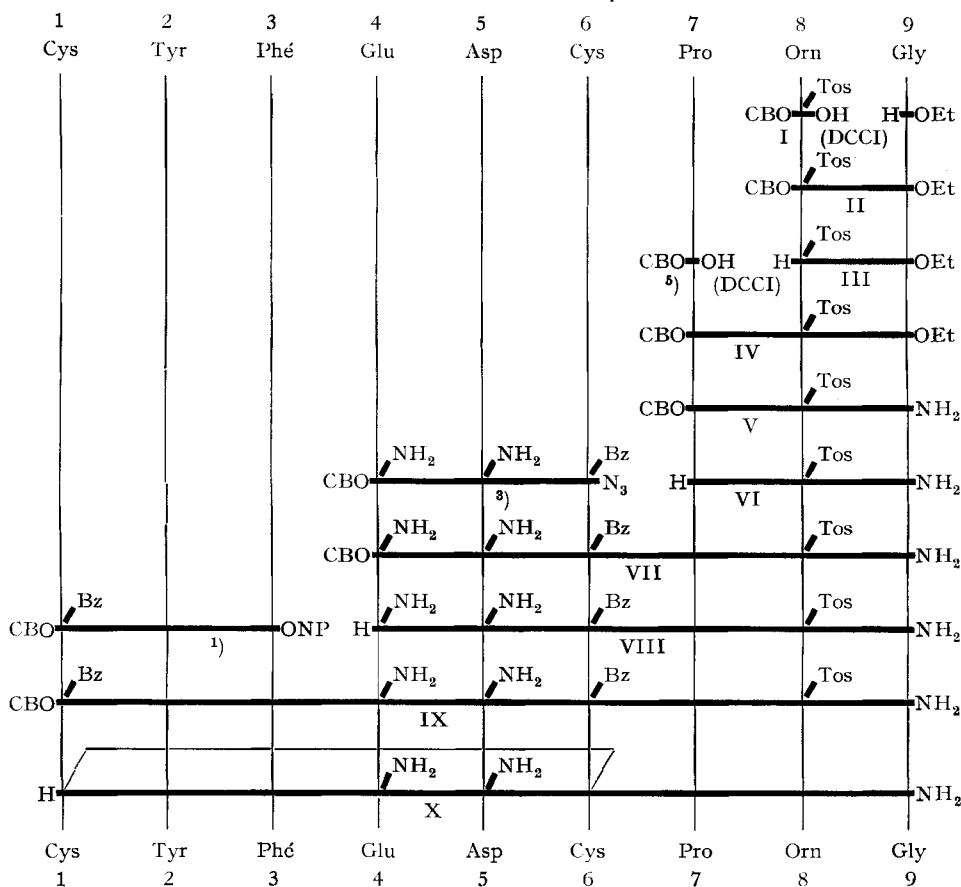
Les méthodes de synthèses que nous avons utilisées sont indiquées dans les schémas 1 et 2; ceux-ci sont similaires à ceux que nous avons suivis lors de nos

Tableau des activités biologiques

Formule chimique et désignation	Activités oxytociques e vasopressiques en unités internationales par mg de base libre			
	Contraction de l'utérus isolé du Rat	Baisse de la pression sanguine du Coq	Augmentation de la pression interne de la glande mammaire du Lapin	Augmentation de la pression sanguine du Rat
H-Cys-Tyr-Phe-Glu(NH ₂)-Asp(NH ₂)-Cys-Pro-Arg-Gly-NH ₂ Arginine-vasopressine (= Arg ⁸ -vasopressine) ¹⁾	16 (± 4)	57 (± 6)	64 (± 8)	380 (± 38)
H-Cys-Tyr-Phe-Glu(NH ₂)-Asp(NH ₂)-Cys-Pro-Orn-Gly-NH ₂ Orn ⁸ -vasopressine (X)	10 (± 2)	21 (± 1)	~ 50	360 (± 26)
H-Cys-Tyr-Phe-Glu(NH ₂)-Asp(NH ₂)-Cys-Pro-Lys-Gly-NH ₂ Lysine-vasopressine (= Lys ⁸ -vasopressine) ²⁾	5 (± 0,5)	40 (± 5)	60 (± 10)	270 (± 20)
H-Cys-Tyr-Ile-Glu(NH ₂)-Asp(NH ₂)-Cys-Pro-Arg-Gly-NH ₂ Arginine-vasotocine (= Arg ⁸ -oxytocine) ¹⁾	155 (± 15)	285 (± 40)	~ 210	245 (± 15)
H-Cys-Tyr-Ile-Glu(NH ₂)-Asp(NH ₂)-Cys-Pro-Orn-Gly-NH ₂ Orn ⁸ -oxytocine (XII)	42 (± 5)	90 (± 3)	95 (± 6)	103 (± 10)
H-Cys-Tyr-Ile-Glu(NH ₂)-Asp(NH ₂)-Cys-Pro-Lys-Gly-NH ₂ Lysine-vasotocine (= Lys ⁸ -oxytocine) ^{1) 2) 6)}	78 (± 10)	210 (± 3)	180 (± 25)	130 (± 13)

⁶⁾ R. D. KIMBROUGH & V. DU VIGNEAUD, J. biol. Chemistry 236, 778 (1961).

synthèses de l'arginine-vasopressine¹⁾, de l'arginine-vasotocine¹⁾, de la lysine-vasopressine²⁾ et de la lysine-vasotocine¹⁾²⁾. Le L-prolyl-N⁶-tosyl-L-ornithyl-glycinamide (VI) a été préparé par voie récurrente et condensé avec le N-CBO-L-glutaminyl-L-asparaginyll-S-benzyl-L-cystéinylazide³⁾. Après éloignement du groupe carbobenzoxy, l'hexapeptide obtenu a été condensé, soit avec le N-CBO-S-benzyl-L-cystéinyl-L-tyrosyl-L-phénylalaninate de *p*-nitrophényle¹⁾, soit avec le N-tosyl-S-benzyl-L-cystéinyl-L-tyrosyl-L-isoleucinate de *p*-nitrophényle⁴⁾. Après scission des groupes

Schéma 1. Synthèse de l'Orn⁸-vasopressine

Abréviations: CBO- = carbobenzoxy-; Tos- = *p*-toluène-sulfonyl- = tosyl-; Bz- = benzyl-; -NP = *p*-nitrophényle; DCCI = condensation au moyen de dicyclohexyl-carbodiimide.

¹⁾ R. L. HUGUENIN & R. A. BOISSONNAS, *Helv.* **45**, 1629 (1962).

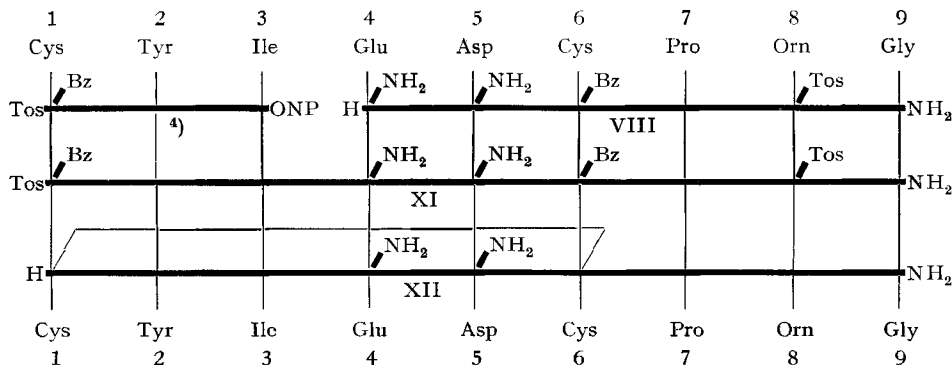
²⁾ R. A. BOISSONNAS & R. L. HUGUENIN, *Helv.* **43**, 182 (1960), et réf. ¹⁾, note 8.

³⁾ R. A. BOISSONNAS, ST. GUTTMANN, P.-A. JAQUENOUD & J.-P. WALLER, *Helv.* **38**, 1491 (1955).

⁴⁾ P.-A. JAQUENOUD & R. A. BOISSONNAS, *Helv.* **45**, 1462 (1962).

⁵⁾ A. BERGER, J. KURTZ & E. KATCHALSKI, *J. Amer. chem. Soc.* **76**, 5552 (1954); M. ZAORAL, *Chem. Listy* **48**, 1583 (1954); W. GRASSMANN & E. WÜNSCH, *Chem. Ber.* **91**, 462 (1958).

protecteurs par le sodium dans l'ammoniac liquide⁷⁾, oxydation au ferricyanure⁸⁾ et purification par distribution en contre-courant, nous avons obtenu l'Orn⁸-vasopressine (X) et l'Orn⁸-oxytocine (XII), qui se sont montrées homogènes à la chromatographie sur papier et à l'électrophorèse sur papier à haut voltage, dans différentes conditions, et qui ont fourni après hydrolyse les acides aminés en proportions attendues. Les activités biologiques de ces deux produits ont été déterminées par les Drs B. BERDE et E. STÜRMER de notre Département de recherches médico-biologiques (Dir.: Dr A. CERLETTI) et sont indiquées dans le tableau.

Schéma 2. Synthèse de l'Orn⁸-oxytocine

Il ressort de ces valeurs que le remplacement des restes arginine ou lysine des vasopressines par un reste ornithine n'affecte qu'assez peu les activités oxytociques et pressoriques.

Dans la série des vasotocines également, le remplacement des restes arginine ou lysine par un reste ornithine ne diminue que légèrement ces activités.

Au pH physiologiques, les fonctions amino latérales de la lysine et de l'ornithine, ainsi que le groupe guanido de l'arginine sont protonisés. La charge positive du groupe guanido, centrée sur l'atome de carbone par un effet de résonance, se trouve de ce fait située à même distance de la chaîne peptidique que la charge portée par le groupe amino latéral de la lysine. Dans le cas de l'ornithine, homologue inférieur de la lysine, la charge de sa fonction amino latérale en est en revanche un peu plus rapprochée. Il semble donc que ce faible déplacement de la charge positive dans cette partie de la molécule soit peu ressenti par le récepteur gouvernant l'action pressorique.

Il est intéressant de remarquer que l'introduction, en position 8 des vasopressines, d'un reste citrulline (Cit⁸-vasopressine⁹⁾) n'abaisse que modérément l'activité pressor-

7) V. DU VIGNEAUD, CH. RESSLER, J. M. SWAN, C. W. ROBERTS & P. G. KATSOYANNIS, J. Amer. chem. Soc. 76, 3115 (1954).

8) V. DU VIGNEAUD, G. WINESTOCK, V. V. S. MURTI, D. B. HOPE & R. D. KIMBROUGH, JR., J. biol. Chemistry 235, PC64 (1960); D. B. HOPE, V. V. S. MURTI & V. DU VIGNEAUD, J. biol. Chemistry 237, 1563 (1962).

9) M. BODANSZKY & C. A. BIRKIMER, J. Amer. chem. Soc. 84, 4943 (1962); Nature 194, 482 (1962).

rique, alors que celle d'un reste leucine (oxypressine = Phé³-oxytocine = Leu⁸-vasopressine¹⁰) diminue considérablement cette activité.

Partie expérimentale^{11,12)}

N^α-CBO-N^δ-Tosyl-L-ornithine (I). Ce produit, préparé selon LI & coll.¹³⁾ a été obtenu sous la forme d'une huile épaisse qui a été employée directement pour la synthèse du dipeptide II. Une certaine quantité de produit, abandonnée à l'air, a cristallisé au bout de plusieurs semaines: F. 85-94°. Par dissolution dans un volume d'eau bouillante assez grand pour que la solution ne soit que légèrement trouble après refroidissement, puis amorçage et séjour de quelques jours à 20°, on obtient, avec un rendement peu élevé, de fines aiguilles de *N^α-CBO-N^δ-tosyl-L-ornithine* de F. 100-102°. $[\alpha]_D^{22} = +2^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,2$; acide acétique à 95%). $E_{5,8}^a = 0,35$ Glu (révélation par chlore).

$C_{20}H_{24}O_6N_2S$	Calc.	C 57,1	H 5,8	O 22,8	N 6,7	S 7,6%
(420,5)	Tr.	57,2	5,8	22,5	7,0	7,7%

Le sel de dicyclohexylamine de I a été préparé par addition de 1,1 équivalent de dicyclohexylamine à une solution de *N^α-CBO-N^δ-tosyl-L-ornithine* dans l'acétate d'éthyle, suivie d'adjonction d'éther. F. 157-158°. Après recristallisation dans l'acétonitrile: F. 160-161°. $[\alpha]_D^{22} = +11^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 0,8$; diméthylformamide).

$C_{32}H_{47}O_6N_3S$	Calc.	C 63,9	H 7,9	O 16,0	N 7,0	S 5,3%
(601,8)	Tr.	64,1	8,2	16,0	7,3	5,5%

N^α-CBO-N^δ-Tosyl-L-ornithyl-glycinate d'éthyle (II). A une solution, refroidie à -5°, de 40 g (95 mmoles) de *N^α-carbobenzoxy-N^δ-tosyl-L-ornithine (I)* et de 10,3 g (100 mmoles) de glycinate d'éthyle dans 160 ml d'acétonitrile, on ajoute 19,6 g (95 mmoles) de dicyclohexylcarbodiimide et agite 4 h à température ordinaire. Le précipité de dicyclohexylurée contient du dipeptide, que l'on sépare par extractions répétées à l'acétonitrile. Les filtrats réunis sont évaporés au vide à 30°. Par trituration dans l'éther de pétrole, le résidu d'évaporation cristallise en aiguilles, qu'on sépare et lave successivement par H₂SO₄ 1N, H₂O, NH₄OH 1N, H₂O, puis sèche au vide poussé à 40°. Le produit (45,7 g, F. 122-124°) est recristallisé dans 50 ml de *n*-propanol bouillant. On obtient ainsi 40,2 g (84%) de *N^α-CBO-N^δ-tosyl-L-ornithyl-glycinate d'éthyle*, de F. 126-128°. Pour l'analyse, on recristallise encore deux fois: F. 135-136°. $[\alpha]_D^{22} = -6,5^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,1$; éthanol à 96%). Le produit est homogène en chromatographie sur couche mince (silicagel et Al₂O₃, chloroforme/méthanol 7:3; révélation par iode). $Rf_M^a = 0,85$; $Rf_P^a = 0,75$; $Rf_A^a = 0,85$; $E_{1,9}^a = 0,9$ Glu; $E_{5,8}^a = 0,95$ His (révélation par ninhydrine et chlore).

$C_{24}H_{31}O_7N_3S$	Calc.	C 57,0	H 6,2	O 22,2	N 8,3	S 6,3%
(505,6)	Tr.	57,3	6,3	22,4	8,4	6,5%

N-CBO-L-Prolyl-N^δ-tosyl-L-ornithyl-glycinate d'éthyle (IV). Dans 70 ml d'acide acétique anhydre, on dissout 25,8 g (51,0 mmoles) de *N^α-CBO-N^δ-tosyl-L-ornithyl-glycinate d'éthyle (II)*, ajoute 140 ml d'une solution 4N de HBr dans l'acide acétique anhydre, laisse reposer 1 h à 20°, puis introduit la solution, sous forte agitation, dans 2 l d'éther. Après centrifugation, le culot, de consistance pâteuse, est encore trituré dans l'éther, puis dissous dans de l'éthanol absolu. Après évaporation au vide et séchage au vide poussé à 30°, le résidu est dissous dans 150 ml d'acétonitrile. On lui ajoute 12,2 g (48,9 mmoles) de *N-CBO-L-proline^b* et, après refroidissement à -10°, successivement 7,5 ml (53,6 mmoles) de triéthylamine (quantité correspondant aux ions Br⁻ présents, déterminés par argentométrie) et 10,1 g (49,0 mmoles) de dicyclohexylcarbodiimide. On agite une nuit à température ordinaire, refroidit à -5°, essore le précipité de dicyclohexylurée (10,3 g; 94%; F. 234°), évapore le filtrat au vide, triture le résidu d'évaporation dans l'éther de pétrole puis le

¹⁰⁾ R. A. BOISSONNAS, ST. GUTTMANN, P.-A. JAQUENOUD & J.-P. WALLER, *Helv.* 39, 1421 (1956); B. BERDE, W. DOEPFNER & H. KONZETT, *Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy* 12, 209 (1957); P. G. KATSOYANNIS, *J. Amer. chem. Soc.* 79, 109 (1957).

¹¹⁾ La partie expérimentale a été réalisée avec l'assistance technique de M. A. MOSIMANN. Les microanalyses ont été effectuées dans notre laboratoire microanalytique (Dr W. SCHOENIGER).

¹²⁾ Pour les conditions générales de travail, Cf. ST. GUTTMANN & R. A. BOISSONNAS, *Helv.* 46, 1626 (1963).

¹³⁾ C. H. LI, E. SCHNABEL & D. CHUNG, *J. Amer. chem. Soc.* 82, 2062 (1960).

dissout dans 500 ml d'acétate d'éthyle. La solution est lavée successivement par H_2SO_4 1N, H_2O , NH_4OH 1N, H_2O , séchée sur Na_2SO_4 et évaporée au vide à 30° . On obtient ainsi 27,4 g (93%) de N-CBO-L-prolyl- N^δ -tosyl-L-ornithyl-glycinate d'éthyle amorphe qu'on soumet directement à l'amidification. Pour l'analyse, un échantillon est cristallisé dans l'éthanol à 96%; F. 118–120°. $[\alpha]_D^{25} = -51^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,2$; acide acétique à 95%). $\text{Rf}_M^a = 0,8$; $\text{Rf}_P^a = 0,75$; $\text{Rf}_A^a = 0,95$; $E_{1,9}^a = 0,9$ Try; $E_{5,8}^a = 0,7$ His (révélation par isatine et chlore).

$\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{O}_8\text{N}_4\text{S}$	Calc.	C 57,8	H 6,4	O 21,2	N 9,3	S 5,3%
(602,7)	Tr.	„ 57,8	„ 6,7	„ 21,2	„ 9,0	„ 5,2%

N- α -CBO-L-Prolyl- N^δ -tosyl-L-ornithyl-glycinamide (V). Une solution de 22,9 g (38,0 mmoles) d'ester tripeptidique IV amorphe dans 350 ml d'éthanol absolu est saturée à 0° par NH_3 puis laissée 1 nuit à température ordinaire en récipient fermé. Après évaporation au vide à 30° , le résidu d'évaporation est cristallisé par addition de 300 ml d'acétate d'éthyle à sa solution dans 20 ml de diméthylformamide. On obtient ainsi 14,4 g (66%) de N-CBO-L-prolyl- N^δ -tosyl-L-ornithyl-glycinamide, homogène à la chromatographie sur couche mince (Al_2O_3 ; chloroforme/méthanol 9:1) et, après scission du groupe CBO-, à l'électrophorèse. F. 150° (instantané) (inchangé par nouvelle recristallisation). $[\alpha]_D^{25} = -45,5^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 2,2$; acide acétique à 95%).

$\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{O}_7\text{N}_5\text{S}$	Calc.	C 56,5	H 6,1	O 19,5	N 12,2	S 5,6%
(573,7)	Tr.	„ 56,3	„ 6,3	„ 19,4	„ 12,2	„ 5,6%

L-Prolyl- N^δ -tosyl-L-ornithyl-glycinamide (VI). On dissout 5,16 g (9,0 mmoles) d'amide tripeptidique protégé V dans 10 ml d'acide acétique anhydre, ajoute 20 ml d'une solution 4N de gaz bromhydrique dans l'acide acétique anhydre et laisse reposer 1 h à 20° . La solution est ensuite introduite dans 300 ml d'éther anhydre sous vigoureuse agitation. Le précipité formé est essoré, lavé à l'éther, séché au vide sur KOH puis dissous dans 20 ml de méthanol aqueux (1:1). La solution est passée sur 50 ml d'Amberlite IRA 410 (cycle OH). On lave encore par 150 ml de méthanol aqueux puis évapore l'éluat au vide à 30° , reprend le résidu d'évaporation à deux reprises par de l'éthanol et du benzène absolus, en évaporant au vide chaque fois. Après séchage au vide poussé à 30° , on obtient 3,14 g (79%) de L-prolyl- N^δ -tosyl-L-ornithyl-glycinamide amorphe. $[\alpha]_D^{25} = -28^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,3$; acide acétique à 95%); $\text{Rf}_M^0 = 0,65$; $\text{Rf}_P^0 = 0,45$; $\text{Rf}_A^0 = 0,7$ (le produit a été chromatographié à l'état de chlorhydrate). $E_{1,9}^0 = 0,95$ Try; $E_{5,8}^0 = 0,75$ His (révélation par isatine et chlore).

$\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{O}_5\text{N}_5\text{S}$	Calc.	C 51,9	H 6,7	N 15,9	S 7,3%
(439,5)	Tr.	„ 52,0	„ 6,9	„ 15,7	„ 7,0%

N-CBO-L-Glutaminyl-L-asparaginyll-S-benzyl-L-cystéinyl-L-prolyl- N^δ -tosyl-L-ornithyl-glycinamide (VII). On dissout 2,99 g (6,80 mmoles) de tripeptide VI dans 40 ml de diméthylformamide, ajoute 4,04 g (6,60 mmoles) de N-CBO-L-glutaminyl-L-asparaginyll-S-benzyl-L-cystéinylazide³) et agite une nuit sous lente concentration au vide. Le précipité obtenu par adjonction à la solution de 3 volumes d'acétate d'éthyle est séparé, lavé par le mélange diméthylformamide/acétate d'éthyle 1:3 puis à l'acétate d'éthyle et enfin séché au vide poussé à 40° . On obtient ainsi 4,1 g (61%) de N-CBO-L-glutaminyl-L-asparaginyll-S-benzyl-L-cystéinyl-L-prolyl- N^δ -tosyl-L-ornithyl-glycinamide de F. 176–178° (déc.). $[\alpha]_D^{20} = -33^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,2$; diméthylformamide). $\text{Rf}_P^0 = 0,8$; $\text{Rf}_A^0 = 0,8$ (révélation par chlore).

$\text{C}_{46}\text{H}_{60}\text{O}_{12}\text{N}_{10}\text{S}_2$	(1009,2)	Calc.	C 54,7	H 6,0	O 19,0	N 13,9	S 6,4%
$\text{C}_{46}\text{H}_{60}\text{O}_{12}\text{N}_{10}\text{S}_2 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$	(1018,2)	„	„ 54,3	„ 6,0	„ 19,6	„ 13,8	„ 6,3%
		Tr.	„ 54,3	„ 6,5	„ 19,8	„ 13,9	„ 6,4%

L-Glutaminyl-L-asparaginyll-S-benzyl-L-cystéinyl-L-prolyl- N^δ -tosyl-L-ornithyl-glycinamide VIII. On dissout 2,84 g (2,79 mmoles) d'hexapeptide protégé VII dans 5 ml d'acide acétique anhydre à 50° , refroidit à température ordinaire, ajoute 10 ml d'une solution 4N de gaz bromhydrique dans l'acide acétique anhydre et laisse reposer 1 h à 20° . On fait couler la solution dans 500 ml d'éther anhydre sous vive agitation, sépare le précipité, le lave à l'éther et le sèche au vide sur KOH. Pour obtenir la base libre, on dissout le produit dans 15 ml de méthanol, fait passer la solution sur 30 ml d'Amberlite IRA 410 (cycle OH) et lave encore la résine par 100 ml de méthanol. L'éluat est évaporé au vide puis séché au vide poussé à 30° . On obtient ainsi 2,15 g (88%) de L-glutaminyl-L-asparaginyll-S-benzyl-L-cystéinyl-L-prolyl- N^δ -tosyl-L-ornithyl-glycinamide amorphe. $\text{Rf}_M^0 = 0,55$; $\text{Rf}_A^0 = 0,55$; $E_{1,9}^0 = 0,65$ Try; $E_{5,8}^0 = 0,5$ His (révélation par ninhydrine et chlore).

N-CBO-S-Benzyl-L-cystéinyl-L-tyrosyl-L-phénylananyl-L-glutaminyll-L-asparaginyll-S-benzyl-L-cystéinyl-L-prolyl-N^δ-tosyl-L-ornithyl-glycinamide (IX). Dans 3,5 ml de diméthylformamide, on dissout 962 mg (1,10 mmole) d'hexapeptide VIII et 855 mg (1,10 mmole) de N-CBO-S-benzyl-L-cystéinyl-L-tyrosyl-L-phénylananyl-L-glutaminyll-L-tyrosyl-L-phénylananyl-L-glutaminyll-L-asparaginyll-S-benzyl-L-cystéinyl-L-prolyl-N^δ-tosyl-L-ornithyl-glycinamide de f. 220-224°. $[\alpha]_D^{21} = -40,5 \pm 1$ ($c = 1,1$; diméthylformamide). $Rf_M^a = 0,9$; $Rf_A^a = 0,8$; $Rf_P^a = 0,75$; $E_{1,9}^a = 0,5$ Try (révélation par ninhydrine, FOLIN et chlore).

$C_{74}H_{89}O_{16}N_{13}S_2$	Calc. C 58,8	H 5,9	O 16,9	N 12,0	S 6,4%
(1512,8)	Tr. „ 58,5	„ 6,1	„ 16,9	„ 12,1	„ 6,1%

Orn⁸-Vasopressine X. On dissout 623 mg (0,412 mmole) de nonapeptide protégé IX dans environ 100 ml d'ammoniac liquide redistillé sur sodium et, sous agitation, ajoute lentement du sodium jusqu'à persistance de la coloration bleue. Après adjonction de 0,45 g de NH₄Cl, on évapore à sec au vide, dissout le résidu dans 400 ml d'acide acétique 0,01 N, ajuste le pH à 7 puis ajoute du ferricyanure de potassium⁸) en solution aqueuse 0,05 N jusqu'à apparition d'une teinte jaune pâle (utilisé 15,0 ml, soit 91% de la théorie), acidifie à pH 4,2 au moyen d'acide acétique glacial et évapore au vide à 30°. Le résidu est introduit dans le premier tube d'un appareil de distribution en contre-courant. Après 364 transferts dans le système *sec*-butanol/eau/acide trifluoroacétique 120:160:1, on détermine sur des aliquotes¹⁴) la courbe de répartition. Le contenu des tubes centraux du sommet principal ($K = 0,36$) est concentré au vide pour chasser le *sec*-butanol, et la solution aqueuse résiduelle est passée sur 250 ml d'Amberlite IRA 410 (cycle acétate). On lave encore par 250 ml d'acide acétique 0,01 N. Après concentration au vide à 30°, la solution est lyophilisée. On purifie encore la substance par chromatographie sur colonne d'Amberlite IRC-50 (XE-64) avec gradient de concentration en acide acétique (de 0,1 N à 5 N). Les fractions contenant la substance sont évaporées au vide à 30°, le résidu est repris dans un peu d'eau et la solution est lyophilisée. On obtient 160 mg de produit contenant 21,8 mg d'azote peptidique, ce qui correspond à 125 mg de base libre d'Orn⁸-vasopressine. $E_{1,9}^0 = 0,9$ Try; $E_{5,8}^0 = 0,7$ His; $Rf_M^0 = 0,12$; $Rf_P^0 = 0,05$ (révélation par ninhydrine, FOLIN et chlore); un témoin d'Arg⁸-vasopressine a donné les valeurs: $E_{1,9}^0 = 0,9$ Try, $E_{5,8}^0 = 0,6$ His, $Rf_M^0 = 0,22$ et $Rf_P^0 = 0,10$. L'hydrolyse totale (HCl 6 N, 16 h à 110°, en l'absence d'air) a fourni les acides aminés constituants dans les rapports attendus. Les activités biologiques sont indiquées dans le tableau.

N-Tosyl-S-benzyl-L-cystéinyl-L-tyrosyl-L-isoleucyl-L-glutaminyll-L-asparaginyll-S-benzyl-L-cystéinyl-L-prolyl-N^δ-tosyl-L-ornithyl-glycinamide (XI). A partir de 840 mg (1,10 mmole) de N-tosyl-S-benzyl-L-cystéinyl-L-tyrosyl-L-isoleucinate de *p*-nitrophényle⁴) et de 962 mg (1,10 mmole) d'hexapeptide VIII, on obtient, en procédant comme pour la synthèse du nonapeptide IX, 1,02 g (62%) de N-tosyl-S-benzyl-L-cystéinyl-L-tyrosyl-L-isoleucyl-L-glutaminyll-L-asparaginyll-S-benzyl-L-cystéinyl-L-prolyl-N^δ-tosyl-L-ornithyl-glycinamide de f. 222-226°. $[\alpha]_D^{21} = -52^0 \pm 1,5^0$ ($c = 1,2$; acide acétique à 95%).

$C_{70}H_{91}O_{16}N_{13}S_4$	Calc. C 56,1	H 6,1	O 17,1	N 12,1	S 8,6%
(1498,9)	Tr. „ 55,6	„ 6,5	„ 16,8	„ 12,2	„ 8,6%

Orn⁸-oxytocine (XII). On dissout 702 mg (0,468 mmole) de nonapeptide protégé XI dans environ 150 ml d'ammoniac liquide redistillé sur sodium et, sous agitation, ajoute lentement du sodium jusqu'à persistance de la coloration bleue. Après adjonction de 0,35 g de NH₄Cl, on évapore à sec au vide, dissout le résidu dans 450 ml d'acide acétique 0,01 N, ajuste le pH à 7, puis ajoute du ferricyanure de potassium⁸) en solution aqueuse 0,05 N jusqu'à apparition d'une teinte jaune pâle (employé 18,8 ml, soit la quantité théorique), acidifie à pH 4,5 au moyen d'acide acétique glacial, adsorbe le peptide sur 55 ml d'Amberlite IRC-50 (XE-64) (cycle acide) et, après lavage

¹⁴) O. H. LOWRY, N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR & R. J. RANDALL, J. biol. Chemistry 193, 265 (1951).

par 250 ml d'acide acétique à 1% pour éliminer les sels présents¹⁵⁾, élue la substance par 300 ml d'acide acétique à 50%. L'éluat est évaporé au vide à 30° et le résidu, dissous dans 50 ml d'acide acétique 0,01N, est encore passé sur 15 ml d'Amberlite IRA 410 (cycle acétate) pour éliminer les ions ferrocyanure encore présents. On lave par 50 ml d'acide acétique 0,01N et évapore au vide à 30°. Le produit obtenu est soumis à une distribution en contre-courant dans le système *sec*-butanol/cau/acide trifluoracétique 120:160:1. Après 279 transferts, on détermine sur des aliquotes¹⁶⁾ la position du sommet principal ($K = 0,26$), réunit le contenu des tubes centraux de celui-ci, évapore le *sec*-butanol au vide à 30°, fait passer la solution résiduelle sur 250 ml d'Amberlite IRA 410 (cycle acétate) pour éliminer l'acide trifluoracétique, lave à l'acide acétique 0,01N, concentre au vide à 30° et lyophilise. On obtient ainsi 283 mg de poudre contenant 26 mg d'azote peptidique, ce qui correspond à 143 mg de base libre d'Orn⁸-oxytocine. $E_{1,9}^0 = 0,95$ Try; $E_{5,8}^0 = 0,7$ His; $Rf_M^0 = 0,08$; $Rf_p^0 = 0,05$ (révélation par ninhydrine, FOLIN et chlore); un témoin d'arginine-vasopressine a donné les valeurs $E_{1,9}^0 = 0,9$ Try; $E_{5,8}^0 = 0,6$ His; $Rf_M^0 = 0,22$ et $Rf_p^0 = 0,10$. L'hydrolyse totale (HCl 6N, 16 h à 110°, en l'absence d'air) fournit les acides aminés constituants dans les rapports attendus. Les activités biologiques sont indiquées dans le tableau. Pour l'analyse, un échantillon est séché au vide poussé, 16 h à 100°.

$C_{42}H_{66}O_{12}N_{13}S_2$, 2CH ₃ COOH, 1H ₂ O (1146,3)	Calc. C 48,2 H 6,6 O 23,7 N 15,9 S 5,6%
	Tr. „ 48,0 „ 6,8 „ 23,7 „ 16,1 „ 5,4%

SUMMARY

Orn⁸-vasopressin and Orn⁸-oxytocin have been synthesized and their biological activities compared with those of arginine-vasopressin and lysine-vasopressin and of arginine-vasotocin and lysine-vasotocin, respectively. The replacement of the arginine or lysine residues by an ornithin residue do not considerably affect the oxytocic and pressorie activities.

Laboratoires de chimie pharmaceutique,
SANDOZ SA., Bâle

¹⁵⁾ H. B. F. DIXON, *Biochim. biophys. Acta* **34**, 251 (1959).

180. Tricyclo[2, 2, 2, 0^{2,6}]octan und Tricyclo[2, 2, 2, 0^{2,6}]oct-7-en Konjugation in Cyclopropyl-äthylenen

Bicyclo[2. 2. 2]octan-Reihe, 6. Mitteilung

von G. A. Grob und J. Hostynek

(30. V. 63)

Die Addition von Brom an Bicyclo[2, 2, 2]octa-2, 5-dien (**1**)¹⁾ führt zu zwei Arten von Dibromiden, nämlich dem *trans*-2, 3-Dibrom-bicyclo[2, 2, 2]oct-5-en (**2**) und dem 3, 5-Dibrom-tricyclo[2, 2, 2, 0^{2,6}]octan (**3**) im Verhältnis 7:3²⁾. Während Struktur und hydrolytisches Verhalten des mehrheitlich gebildeten Dibromids **2** relativ leicht geklärt werden konnten, bot die Untersuchung des sehr reaktiven tricyclischen Dibromids **3** Schwierigkeiten, nicht zuletzt wegen der schweren Zugänglichkeit des als Ausgangsmaterial dienenden Diens **1**. So gelang damals die Identi-

¹⁾ C. A. GROB, H. KNY & A. GAGNEUX, *Helv.* **40**, 130 (1957).

²⁾ A. GAGNEUX & C. A. GROB, *Helv.* **42**, 1753 (1959).