

SUMMARY

The preparation of 4-chloropiperidine (**1a**) and its N-alkyl derivatives **1b–1e** from 4-piperidones **2** and from 4-pyridone (**6**), respectively, is described.

Institut für Organische Chemie,
Universität Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Vgl. 13. Mitteilung über Fragmentierungs-Reaktionen, *Helv.* **49**, 185. (1966).
- [2] Vgl. Dissertationen R. FANKHAUSER, Basel 1961, und V. KRASNOBAJEV, Basel 1964.
- [3] J. B. ROBINSON & J. THOMAS, *J. chem. Soc.* **1965**, 2270.
- [4] S. M. McELVAIN & K. RORIG, *J. Amer. chem. Soc.* **70**, 1820, 1826 (1948).
- [5] S. M. McELVAIN & R. E. McMAHON, *J. Amer. chem. Soc.* **71**, 901 (1949).
- [6] R. MOZINGO & J. H. McCracken, *Organic Syntheses Coll. Vol.* **3**, 258 (1955).
- [7] B. EMMERT & W. DORN, *Chem. Ber.* **48**, 687 (1915).
- [8] W. B. LUTZ, S. LAZARUS & R. I. MELTZER, *J. org. Chemistry* **27**, 1695 (1962).
- [9] S. M. McELVAIN & G. STORK, *J. Amer. chem. Soc.* **68**, 1049 (1946).
- [10] S. M. McELVAIN, *J. Amer. chem. Soc.* **48**, 2179 (1926).
- [11] A. ZIERIG, L. BERGER, S. D. HEINEMAN & J. LEE, *J. org. Chemistry* **12**, 894 (1947).
- [12] F. FRANCIS, *J. chem. Soc.* **1927**, 2897.

80. Synthèse de la désamino¹-Arg⁸-vasopressine et de la désamino¹-Phe²-Arg⁸-vasopressine, deux analogues possédant une activité antidiurétique plus élevée et plus sélective que celle des vasopressines naturelles¹)

par **R. L. Huguenin & R. A. Boissonnas**

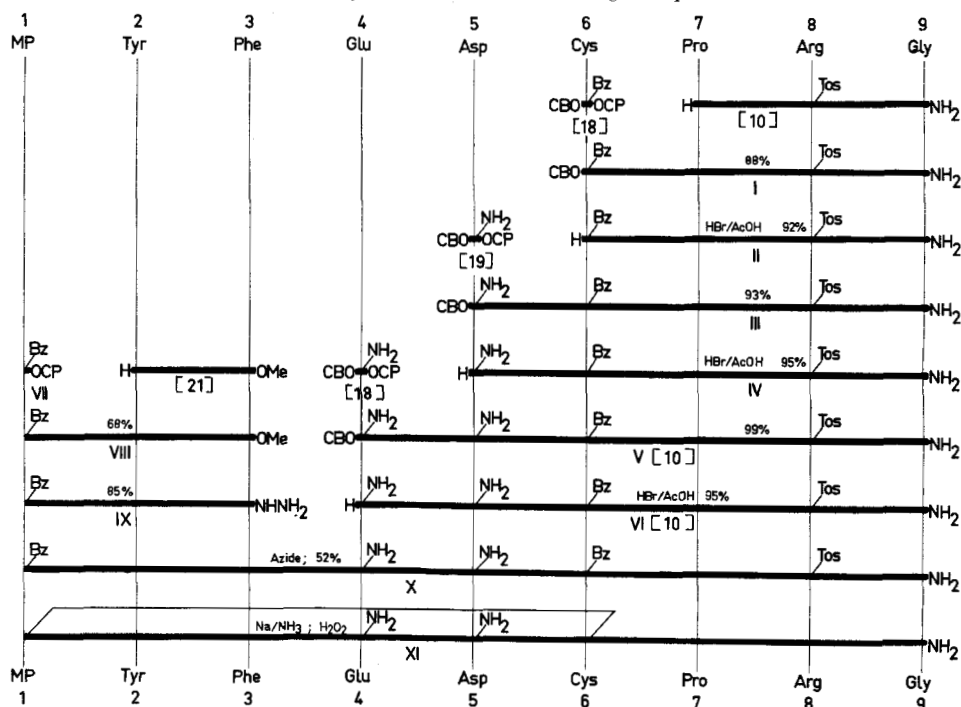
(22 XI 65)

L'étude des nombreux analogues des hormones post-hypophysaires synthétisés jusqu'ici [3] montre que la plupart des modifications altérant des groupes fonctionnels de ces molécules, telles que la suppression [4] ou la méthylation [5] de l'hydroxyle de la tyrosine en position 2, la suppression du groupe carboxamide de la glutamine en position 4 ou de celui de l'asparagine en position 5 [6] et l'acétylation du groupe amino N-terminal [7], provoquent un abaissement plus ou moins marqué de différentes activités biologiques.

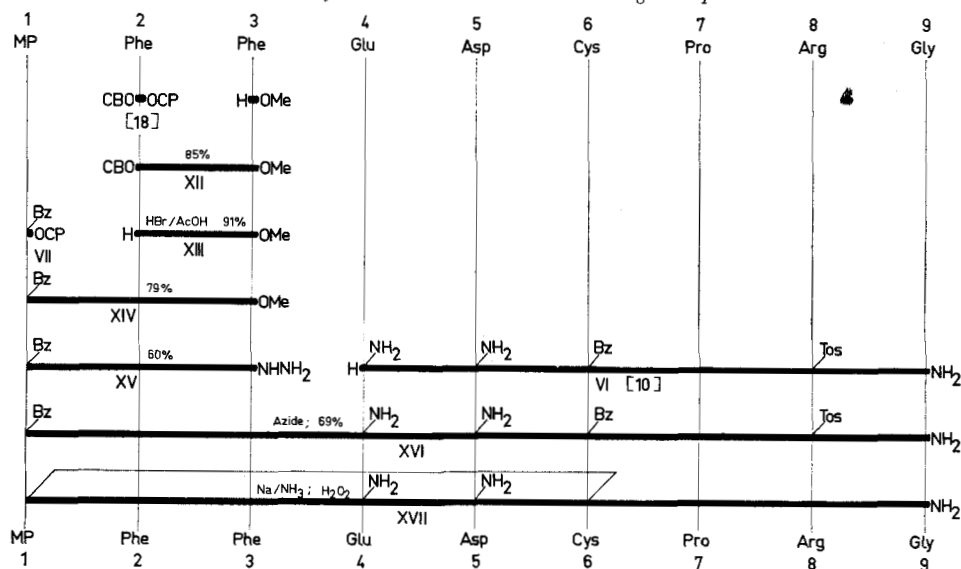
La suppression du groupe amino N-terminal a conduit, chez la lysine-vasopressine, à un abaissement de l'activité pressorique et à une légère augmentation de l'activité antidiurétique [8] et, chez l'oxytocine, à une augmentation d'une partie des activités oxytociques [9]. Afin d'examiner l'influence de cette suppression du groupe amino terminal sur les propriétés biologiques de l'arginine-vasopressine, nous avons synthétisé la désamino¹-Arg⁸-vasopressine.

Il y a quelques années, nous avons synthétisé la Phe²-Arg⁸-vasopressine [10], autre analogue de l'arginine-vasopressine, dans lequel l'hydroxyle phénolique de la tyrosine

¹) Deux brèves communications concernant la synthèse et les propriétés pharmacologiques de ces deux analogues ont paru précédemment [1] [2].

Schéma 1. Synthèse de la désamino¹-Arg⁸-vasopressine

Abréviations: MP- = β - mercaptopropionyle; CBO- = benzyloxycarbonyl; Tos- = tosyl- = *p*-toluènesulfonyl; -OMe = méthoxy; -OCP = trichloro-2,4,5-phénoxy; -Bz = benzyle

Schéma 2. Synthèse de la désamino¹-Phe²-Arg⁸-vasopressine

Abréviations: voir Schéma 1

Tableau des activités biologiques

Formule chimique et désignation	Activités oxytociques en unités internationales par mg de base libre	Activités vasopressives en unités internationales par mg de base libre	Rapport			
	Contraction de l'utérus isolé de Rat	Baisse de la pression sanguine du Coq	Augment. de la pression interne de la glande mammaire du Lapin	Augment. de la pression sanguine du Rat (A)	Inhibition de la diurèse du Rat (B)	activité anti-diurétique/activité pressorifique (B/A)
$\text{H-CyS-Tyr-Phe-Glu(NH}_2\text{)-Asp(NH}_2\text{)-CyS-Pro-Arg-Gly-NH}_2$ Arg ⁸ -vasopressine (arginine-vasopressine)	~ 20	~ 60	~ 70	~ 400	~ 400	1:1
$\text{S-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-Tyr-Phe-Glu(NH}_2\text{)-Asp(NH}_2\text{)-CyS-Pro-Arg-Gly-NH}_2$ Désamino ¹ -Arg ⁸ -vasopressine (XI)	27 ± 4	150 ± 4	80 ± 30	370 ± 20	1300 ± 200	3,5:1
$\text{H-CyS-Phe-Phe-Glu(NH}_2\text{)-Asp(NH}_2\text{)-CyS-Pro-Arg-Gly-NH}_2$ Phe ² -Arg ⁸ -vasopressine [10]	0,2	< 1	3 ± 0,4	122 ± 13	~ 350	2,9:1
$\text{S-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-Phe-Phe-Glu(NH}_2\text{)-Asp(NH}_2\text{)-CyS-Pro-Arg-Gly-NH}_2$ Désamino ¹ -Phe ² -Arg ⁸ -vasopressine (XVII)	0,30 ± 0,09	< 1	~ 3,8	29 ± 7	800 ± 170	27,1:1

en position 2 a été supprimé. Cette substance possède une activité antidiurétique presque égale à celle de l'arginine-vasopressine et une activité pressorifique environ trois fois plus faible, ce qui lui confère une certaine sélectivité en faveur de l'activité antidiurétique. Pour savoir de quels effets serait suivie la suppression simultanée du groupe amino et de l'hydroxyle phénolique, nous avons également préparé la désamino¹-Phe²-Arg⁸-vasopressine.

Les deux analogues faisant l'objet du présent travail ont été synthétisés selon un même plan (schémas 1 et 2). Les méthodes de condensation ont été choisies de manière à éviter les risques de racémisation. Le β -benzylthio-propionyl-L-tyrosyl-L-phénylalaninate de méthyle (VIII), représentant la séquence 1-3 du premier analogue, et le β -benzylthio-propionyl-L-phénylalaninyl-L-phénylalaninate de méthyle (XIV), représentant la séquence correspondante du second, ont été synthétisés par la méthode récurrente à l'aide des esters actifs trichloro-2,4,5-phényliques. Ces deux peptides ont été transformés en hydrazides (IX, resp. XV) puis, au moyen du nitrite de *t*-butyle [11], en azides correspondants. Ceux-ci ont été condensés avec l'hexapeptide L-glutaminyl-L-asparaginyL-S-benzyl-L-cystéinyl-L-prolyl-G-tosyl-L-arginyl-glycinamide, préparé lui-même à partir du L-prolyl-G-tosyl-L-arginyl-glycinamide [10] par la méthode récurrente à l'aide des esters actifs trichloro-2,4,5-phényliques. Après scission des groupes protecteurs par le sodium dans l'ammoniac liquide, oxydation par l'eau oxygénée et purification par distribution en contre-courant, les deux désamino-nonapeptides obtenus se sont montrés homogènes à l'électrophorèse et à la chromatographie sur papier dans une série de systèmes et ont donné à l'analyse élémentaire et au dosage des restes des divers acides aminés les résultats attendus.

L'étude de leurs propriétés pharmacologiques a été effectuée par les Drs B. BERDE et E. STÜRMER de notre Département de recherches médico-biologiques [Dir.: Dr A. CERLETTI]. Comme on peut le voir dans le tableau en comparant les activités de l'arginine-vasopressine avec celles de la désamino¹-Arg⁸-vasopressine (XI), la suppression du groupe amino N-terminal ne modifie que peu les activités sur l'utérus du Rat, sur la glande mammaire du Lapin et sur la pression sanguine du Rat, mais fait plus que doubler l'effet sur la pression sanguine du Coq et triple l'action antidiurétique sur le Rat. La désamino-Arg⁸-vasopressine est ainsi, parmi les peptides de type post-hypophysaire, celui qui possède la *plus forte activité antidiurétique* (1300 unités internationales/mg).

La désamino¹-Phe²-Arg⁸-vasopressine, qui se distingue de celle-ci par la suppression supplémentaire de l'hydroxyle phénolique de la tyrosine en position 2, possède des activités oxytociques et pressorifiques nettement plus faibles que celles de l'hormone naturelle, mais son activité antidiurétique (800 UI/mg) est en revanche deux fois plus élevée que chez cette dernière. Ainsi, alors que la Phe²-Arg⁸-vasopressine [10] présente un rapport activité antidiurétique/activité pressorifique égal à 2,9, et la désamino¹-Arg⁸-vasopressine (XI) un rapport égal à 3,5, celui de la désamino¹-Phe²-Arg⁸-vasopressine (XVII) s'élève à 27,5. Dans le présent cas, la suppression de l'hydroxyle phénolique a donc accentué encore la sélectivité en faveur de l'activité antidiurétique en abaissant toutes les autres activités²). La désamino¹-Phe²-Arg⁸-vasopressine est ainsi non seulement *deux fois plus antidiurétique* que l'arginine-vasopressine, mais encore *près de 30 fois plus sélective*.

Partie expérimentale³⁾

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 en évaporateur rotatif.

Les chromatographies ont été effectuées selon la méthode ascendante (20–23 cm) sur papier «SCHLEICHER & SCHUELL 2040 lavé». Rf_M dans le mélange méthyl-éthyl-cétone/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° sans scission préalable; Rf^a après scission des groupes benzyloxycarbonyl par séjour de 40 min à 20° dans une solution 4 N de gaz bromhydrique dans l'acide acétique anhydre.

Les électrophorèses sur papier ont été effectuées dans l'appareil à électrophorèse sous haute tension de WIELAND & PFLEIDERER [15]: à pH 1,9 (E_{1,9}) dans le mélange acide formique/acide acétique/eau (15:10:75); à 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 o ont la même signification que pour les chromatogrammes.

Les réactifs utilisés pour la révélation des chromatogrammes et des phérogrammes ont été décrits précédemment [16]. En outre, la révélation du groupe guanido par la réaction de SAKAGUCHI a été effectuée selon BHATTACHARYA [17].

A. Synthèse de la désamino¹-Arg⁸-vasopressine

N-Benzyloxycarbonyl-*S*-benzyl-*L*-cystéinyl-*L*-prolyl-*G*-tosyl-*L*-arginyl-glycinamide (I). On dissout 34,8 g (70,9 mmoles) de *L*-prolyl-*G*-tosyl-*L*-arginyl-glycinamide [10] et 45,3 g (86,3 mmoles) de *N*-CBO-*S*-benzyl-*L*-cystéinate de trichloro-2,4,5-phényle [18] dans 45 ml de diméthylformamide et laisse séjourner 15 h à 25° . Après évaporation du solvant au vide poussé à 30° , on triture le résidu épais dans 1 l de mélange acétate d'éthyle/éther 1:8 puis deux fois dans l'éther seul. Le produit pulvérulent obtenu est dissous dans 600 ml d'acétate d'éthyle (l'adjonction de 60 ml de diméthylformamide facilite la dissolution) et la solution est lavée par HCl 1N, H₂O, NaHCO₃ 1N, H₂O, séchée sur Na₂SO₄ et évaporée au vide à 30° . Le produit est encore lavé soigneusement à l'éther pour éliminer une petite quantité d'ester actif encore présente (mise en évidence par chromatographie sur couche mince d'oxyde d'aluminium, dans le système chloroforme/méthanol 7:3; révélation par vapeurs d'iode). Après séchage au vide poussé, on obtient 50,6 g (88%) de *N*-CBO-*S*-benzyl-*L*-cystéinyl-*L*-prolyl-*G*-tosyl-*L*-arginyl-glycinamide amorphe. $[\alpha]_D^{21} = -35,5^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,5$; diméthylformamide).

C ₃₈ H ₄₈ O ₈ N ₈ S ₂	Calc.	C 56,4	H 6,0	O 15,8	N 13,9	S 7,9%
(809,0)	Tr.	56,3	5,9	16,2	13,8	8,1%

S-Benzyl-*L*-cystéinyl-*L*-prolyl-*G*-tosyl-*L*-arginyl-glycinamide (II). Dans 200 ml d'acide acétique chaud on dissout 49,0 g (60,6 mmoles) de tétrapeptide protégé I, refroidit à température ordinaire, ajoute 100 ml d'anhydride acétique puis 500 ml d'une solution 4 N de gaz bromhydrique sec dans l'acide acétique anhydre. Après un séjour de 20 min à 25° , on précipite le produit en faisant couler la solution dans 6 l d'éther sec sous vigoureuse agitation, filtre et lave à l'éther puis sèche au vide. On dissout le bromhydrate obtenu dans 150 ml de méthanol, agite la solution $\frac{1}{2}$ h avec 200 ml d'amberlite IRA-410 (cycle basique), puis fait encore passer le filtrat à travers une colonne contenant 100 ml de la même résine, lave au méthanol, évapore au vide et sèche au vide poussé à 30° . On obtient ainsi 37,5 g (92%) de *S*-benzyl-*L*-cystéinyl-*L*-prolyl-*G*-tosyl-*L*-arginyl-glycinamide. $[\alpha]_D^{22} = -25^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,2$; acide acétique) à 95%). Rf_M^o = 0,75; Rf_P^o = 0,35; Rf_A^o = 0,65. E_{1,9}^o = 0,7 Try; E_{5,8}^o = 0,55 His (révélation par ninhydrine et chlore).

C ₃₀ H ₄₂ O ₆ N ₈ S ₂	Calc.	C 53,4	H 6,3	N 16,6	S 9,5%
(674,9)	Tr.	53,4	6,6	16,5	9,6%

²⁾ Il est intéressant d'observer que cette même suppression de l'hydroxyle phénolique avait au contraire augmenté la sélectivité en faveur de l'activité pressorique dans les séries de la lysine-vasopressine (Phe²-Lys⁸-vasopressine [12], Phe²-Ile³-Lys⁸-vasopressine [13]) et de l'ornithine-vasopressine (Phe²-Orn⁸-vasopressine [14], Phe²-Ile³-Orn⁸-vasopressine [14]).

³⁾ Les microanalyses ont été effectuées dans notre laboratoire microanalytique (Dr W. SCHÖNIGER).

N-Benzylloxycarbonyl-L-asparaginyl-S-benzyl-L-cystéinyl-L-prolyl-G-tosyl-L-arginyl-glycinamide (III). Dans 110 ml de diméthylformamide on dissout 28,0 g (62,8 mmoles) de N-CBO-L-asparaginate de trichloro-2,4,5-phényle [14] en chauffant légèrement. Par refroidissement à 20–25° la solution devient laiteuse; on ajoute 37,0 g (54,8 mmoles) de tétrapeptide 11, 30 ml de diméthylformamide, secoue jusqu'à dissolution et laisse reposer encore 20 h à 25°. L'addition de 700 ml d'acétate d'éthyle fait précipiter un produit de consistance sirupeuse qui durcit peu à peu et se laisse pulvériser. On filtre, lave une fois par le mélange diméthylformamide/acétate d'éthyle 1:5 et deux fois à l'acétate d'éthyle seul, sèche au vide, secoue le produit successivement avec deux portions de 100 ml d'HCl 1N puis lave à l'eau jusqu'à neutralité. Après séchage au vide à 40°, on obtient 47,4 g (93%) de N-CBO-L-asparaginyl-S-benzyl-L-cystéinyl-L-prolyl-G-tosyl-L-arginyl-glycinamide de F. env. 155°. $[\alpha]_D^{25} = -36,5^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,2$; diméthylformamide). $Rf_M^O = 0,95$; $Rf_P^O = 0,85$; $Rf_A^O = 0,8$ (révélation par chlore).

$C_{42}H_{64}O_{10}N_{10}S_2 \cdot \frac{1}{2}H_2O$	Calc.	C 54,2	H 5,9	O 18,0	N 15,0	S 6,9%
(932,1)	Tr.	„ 54,2	„ 6,1	„ 18,4	„ 15,1	„ 6,8%

L-Asparaginyl-S-benzyl-L-cystéinyl-L-prolyl-G-tosyl-L-arginyl-glycinamide (IV). On dissout 46,0 g (49,4 mmoles) de pentapeptide protégé III dans 100 ml d'acide acétique anhydre chaud (50°), refroidit à 25° et ajoute 300 ml d'une solution 4N de gaz bromhydrique dans l'acide acétique anhydre. Après séjour d'une heure à 25°, on précipite le bromhydrate du pentapeptide en faisant couler la solution dans 3 l d'éther sous vigoureuse agitation. On filtre, lave à l'éther, sèche au vide, dissout dans 150 ml de méthanol et fait passer la solution à travers 500 ml d'amberlite IRA-410 (cycle basique), lave encore au méthanol puis évapore le filtrat au vide et sèche au vide poussé à 30°. On obtient ainsi 37,0 g (95%) de L-asparaginyl-S-benzyl-L-cystéinyl-L-prolyl-G-tosyl-L-arginyl-glycinamide. $[\alpha]_D^{25} = -43^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,6$; acide acétique à 95%). $Rf_M^O = 0,65$; $Rf_P^O = 0,3$; $Rf_A^O = 0,6$ (produit chromatographié à l'état de chlorhydrate). $E_{1,9}^O = 0,65$ Try; $E_{5,8}^O = 0,5$ His (révélation par ninhydrine et chlore).

$C_{34}H_{48}O_8N_8S_2$	Calc.	C 51,8	H 6,1	O 16,2	N 17,8	S 8,1%
(789,0)	Tr.	„ 51,5	„ 6,4	„ 16,3	„ 17,5	„ 8,1%

N-Benzylloxycarbonyl-L-glutaminyl-L-asparaginyl-S-benzyl-L-cystéinyl-L-prolyl-G-tosyl-L-arginyl-glycinamide (V). Dans 100 ml de diméthylformamide on dissout successivement 36,8 g (46,6 mmoles) de pentapeptide IV et 26,0 g (56,6 mmoles) de N-CBO-L-glutamate de trichloro-2,4,5-phényle [18]. Après une heure déjà, le mélange de réaction est pris en une masse solide. On laisse séjourner 2 jours à 25°, triture dans 500 ml de mélange diméthylformamide/acétate d'éthyle 2:3, centrifuge pour séparer le solide qu'on lave encore trois fois par 500 ml d'acétate d'éthyle. Après séchage au vide à 40°, on obtient 49,5 g (99%) de N-CBO-L-glutaminyl-L-asparaginyl-S-benzyl-L-cystéinyl-L-prolyl-G-tosyl-L-arginyl-glycinamide de F. 190°. $[\alpha]_D^{25} = -53^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,9$; acide acétique à 95%); $-34^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,2$; diméthylformamide). (Litt. [10] (condensation de deux tripeptides par la méthode à l'azide): F. 184–186°; $[\alpha]_D^{25} = -47^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,7$; acide acétique à 95%).)

$C_{47}H_{62}O_{12}N_{12}S_2 \cdot 1H_2O$	Calc.	C 52,8	H 6,0	O 19,5	N 15,7	S 6,0%
(1069,2)	Tr.	„ 52,8	„ 5,8	„ 19,6	„ 15,9	„ 6,1%

L-Glutaminyl-L-asparaginyl-S-benzyl-L-cystéinyl-L-prolyl-G-tosyl-L-arginyl-glycinamide (VI). On dissout 14,0 g (13,1 mmoles) d'hexapeptide protégé V dans 30 ml d'acide acétique en chauffant à 50°, refroidit à 25° et ajoute 120 ml d'une solution 4N de gaz bromhydrique dans l'acide acétique anhydre. Après 1 h on fait couler la solution dans 1 l d'éther sec sous vigoureuse agitation, filtre le précipité, lave soigneusement à l'éther et sèche au vide. Le bromhydrate de l'hexapeptide est ensuite dissous dans 100 ml de méthanol et la solution est passée à travers une colonne de 200 ml d'amberlite IRA-410 (cycle basique); on lave la résine au méthanol, évapore le filtrat au vide et sèche au vide poussé à 30°. On obtient ainsi 11,5 g (95%) de L-glutaminyl-L-asparaginyl-S-benzyl-L-cystéinyl-L-prolyl-G-tosyl-L-arginyl-glycinamide. $[\alpha]_D^{25} = -45,5^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,9$; acide acétique à 95%) [Litt. [10]: $-40^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,5$; acide acétique à 95%)]. Les migrations chromatographiques et électrophorétiques sont les mêmes que pour [10]: $Rf_M^O = 0,5$; $Rf_P^O = 0,25$; $Rf_A^O = 0,55$. $E_{1,9}^O = 0,6$ Try; $E_{5,8}^O = 0,4$ His (révélation par ninhydrine et chlore).

$C_{39}H_{56}O_{10}N_{12}S_2 \cdot \frac{1}{2}H_2O$	Calc.	C 50,6	H 6,2	O 18,1	N 18,2	S 6,9%
(926,1)	Tr.	„ 50,5	„ 6,4	„ 18,2	„ 17,9	„ 6,9%

β -Benzylthio-propionate de trichloro-2,4,5-phényle (VII). Dans 50 ml d'acétate d'éthyle et 6 ml d'acétonitrile on dissout 5,88 g (30 mmoles) d'acide β -benzylthio-propionique [19] et 6,52 g (33 mmoles) de trichloro-2,4,5-phénol, refroidit à -5° et ajoute 6,20 g (30 mmoles) de dicyclohexyl-carbodiimide. On secoue une nuit à température ordinaire, refroidit à -5° , filtre [dicyclohexylurée: 6,4 g (95%)] et évapore le filtrat au vide à 30° . On reprend le résidu dans 100 ml d'acétate d'éthyle, lave par NaHCO_3 1N, H_2O , H_2SO_4 0,2N, H_2O , sèche sur Na_2SO_4 , évapore au vide et sèche au vide poussé à 30° . On obtient ainsi 11,7 g (104%) de β -benzylthio-propionate de trichloro-2,4,5-phényle sous forme huileuse, cristallisant par séjour à -15° (F. env. 17°). Le produit contient encore un peu de trichlorophénol (mis en évidence par chromatographie sur couche mince de silicagel, système benzène/acétone 2:1, révélation par l'iode), mais il peut être employé tel quel pour la suite de la synthèse. Pour l'analyse, 1 g de produit est purifié par chromatographie sur une colonne de 600 ml de silicagel (solvant: benzène/acétone 2:1). On obtient 0,32 g d'ester VII, homogène en chromatographie sur couche mince, effectuée comme ci-dessus.

$\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{O}_2\text{Cl}_3\text{S}$	Calc.	C 51,2	H 3,5	O 8,5	Cl 28,3	S 8,5%
(375,7)	Tr.	51,5	3,6	8,3	28,6	8,6%

β -Benzylthio-propionyl-L-tyrosyl-L-phénylalaninate de méthyle (VIII). A une solution, refroidie à 0° , de 6,3 g (14,9 mmoles) de bromhydrate de L-tyrosyl-L-phénylalaninate de méthyle [21] dans 20 ml d'eau, on ajoute une solution, refroidie également, de 2,1 g de carbonate de potassium dans 15 ml d'eau, extrait l'acétate d'éthyle (3×30 ml), sèche la solution organique sur MgSO_4 , filtre et ajoute au filtrat 5,6 g (14,9 mmoles) d'ester actif VII. Après un séjour d'une nuit à 0° , on essore une petite quantité (320 mg) d'une substance cristalline de F. $312-314^\circ$, soluble dans l'acide acétique ou dans le diméthylformamide chauds et cristallisant par refroidissement. La composition indiquée par l'analyse élémentaire correspond à celle de la benzyl-3-*p*-hydroxybenzyl-6-pipérazinedione-2,5 [21]. Le filtrat est lavé par HCl 1N et NaHCO_3 1N, séché sur MgSO_4 puis évaporé au vide à 25° . Le résidu est secoué dans 30 volumes du mélange éther/éther de pétrole 1:2, essoré et lavé avec le même mélange. Le produit ainsi obtenu (6,0 g; rdt 77%, F. $144-145^\circ$), recristallisé dans 8 ml de méthanol, fournit 3,80 g de fines aiguilles de β -benzylthio-propionyl-L-tyrosyl-L-phénylalaninate de méthyle de F. $147-149^\circ$. Après évaporation de la liqueur-mère et recristallisation du résidu dans les mêmes conditions, on obtient encore 1,49 g de même produit (F. $147-148^\circ$) (Rdt total 68%). $[\alpha]_D^{23} = -17,5^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,4$; diméthylformamide).

$\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{O}_5\text{N}_2\text{S}$	Calc.	C 66,9	H 6,2	O 15,4	N 5,4	S 6,2%
(520,7)	Tr.	66,8	6,3	15,4	5,4	6,4%

β -Benzylthio-propionyl-L-tyrosyl-L-phénylalaninyl-hydrazide (IX). On dissout 4,67 g (9,0 mmoles) d'ester peptidique VIII dans 22 ml de méthanol anhydre chaud, refroidit rapidement à 30° environ puis ajoute 2,9 ml d'hydrazine anhydre. Après un séjour d'une nuit à 20° , on essore le précipité formé, le lave au méthanol, puis le recristallise en ajoutant 44 ml de méthanol à sa solution dans 22 ml de diméthylformamide. On obtient ainsi 3,97 g (85%) de β -benzylthio-propionyl-L-tyrosyl-L-phénylalaninyl-hydrazide de F. $250-251^\circ$. Homogène à la chromatographie en couche mince (système: oxyde d'aluminium basique (pH 9,5)/MeOH; révélation par FOLIN ou vapeurs d'iode). Pour l'analyse, on recristallise un échantillon à partir d'acide acétique à 95%. F. $251-253^\circ$. $[\alpha]_D^{22} = -17^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,5$; HCl 0,3N dans acide acétique à 95%).

$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_4\text{N}_4\text{S}$	Calc.	C 64,6	H 6,2	O 12,3	N 10,8	S 6,2%
(520,7)	Tr.	64,5	6,2	12,6	11,1	6,5%

β -Benzylthio-propionyl-L-tyrosyl-L-phénylalaninyl-L-glutaminy-L-asparaginy-L-S-benzyl-L-cystéinyl-L-prolyl-L-glycyl-L-arginyl-L-glycinamide (X). A 4 ml de diméthylformamide on ajoute 1,65 ml d'une solution 2,2N de gaz chlorhydrique dans du tétrahydrofurane sec puis 782 mg (1,50 mmole) d'hydrazide IX. La solution ainsi obtenue est refroidie à -20° et additionnée de 0,183 ml (1,50 mmole) de nitrite de *t*-butyle sous lente agitation. Après 5 min on introduit 0,53 ml (3,8 mmoles) de triéthylamine puis une solution 1,39 g (1,50 mmole) d'hexapeptide VI dans 3,5 ml de diméthylformamide et laisse reposer 2 jours à la glacière. On précipite le produit par adjonction de 30 ml d'acétate d'éthyle, centrifuge, lave une fois par le mélange diméthylformamide/acétate d'éthyle 1:4 puis trois fois à l'acétate d'éthyle seul et sèche au vide (1,83 g, F. $195-197^\circ$). On purifie le produit en le suspendant à cinq reprises dans 5 ml de méthanol bouillant et filtrant à chaud chaque fois. Après séchage au vide poussé à 40° , on obtient 1,12 g (52%) de β -benzylthio-propionyl-

L-tyrosyl-L-phénylalaninyl-L-glutaminyll-L-asparaginyll-S-benzyl-L-cystéinyl-L-prolyl-G-tosyl-L-arginyl-glycinamide de F. 205–207°. $[\alpha]_D^{25} = -38^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,4$; diméthylformamide). Le produit décrit dans la communication préliminaire [1], obtenu avec un rdt de 49% par la méthode classique utilisant le nitrite de sodium au lieu de nitrite de *t*-butyle, présentait un F. de 196°; $[\alpha]_D^{25} = -36,5^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,9$; diméthylformamide). Le produit ne migre pas à l'électrophorèse.

$C_{67}H_{84}O_{14}N_{14}S_3 \cdot 1H_2O$ Calc. C 56,5 H 6,1 O 16,9 N 13,8 S 6,8%
(1423,7) Tr. „ 56,7 „ 5,9 „ 17,0 „ 14,2 „ 7,1%

Désamino¹-Arg⁸-vasopressine (XI). On dissout 1,10 g (0,77 mmole) d'octapeptide protégé X dans environ 250 ml d'ammoniac liquide redistillé sur sodium et ajoute lentement, sous agitation, du sodium jusqu'à persistance de la coloration bleue. Après adjonction de 0,32 g de NH_4Cl , on évapore à sec au vide, dissout le résidu dans 1 l d'acide acétique 0,01N, ajuste le pH à 8,5 au moyen de NH_4OH 4N, ajoute 1,0 ml d'eau oxygénée 1M et laisse reposer jusqu'à réaction négative au nitroprussiate (10–15 min). Après acidification à pH 4,5 au moyen d'acide acétique glacial, on adsorbe le peptide sur 80 ml d'amberlite CG-50 (100–200 mesh). Après lavage par 450 ml d'acide acétique à 1% pour éliminer les sels présents [20], on élue la substance par 350 ml d'acide acétique à 50%. L'éluat est évaporé au vide à 30° et le résidu est soumis à une distribution en contre-courant dans le système *sec*-butanol/eau/acide acétique 120:160:1. Après 200 transferts, on détermine par colorimétrie [22] sur des aliquotes la position du sommet principal ($K = 0,33$), réunit le contenu des tubes centraux de celui-ci, concentre au vide à 30°, filtre et lyophilise. On obtient ainsi 0,48 g de poudre contenant 73,0 mg d'azote peptidique, ce qui correspond à 399 mg (48%) de base libre de désamino¹-Arg⁸-vasopressine. $[\alpha]_D^{25} = -103^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,3$ [concentration de base libre déterminée par dosage de l'azote peptidique]; acide acétique 0,1N); la valeur de $-92,5^\circ$ indiquée dans la communication préliminaire [1] se rapporte à un diacétate. $Rf_M^0 = 0,20$; $Rf_P^0 = 0,23$; $Rf_A^0 = 0,27$. $E_{1,9}^0 = 0,55$ Try; $E_{3,8}^0 = 0,42$ His (révélation par FOLIN, SAKAGUCHI et chlore). Un témoin d'arginine-vasopressine a donné les valeurs chromatographiques: $Rf_M^0 = 0,24$; $Rf_P^0 = 0,13$; $Rf_A^0 = 0,36$. Un témoin d'oxytocine a donné les valeurs électrophorétiques: $E_{1,9}^0 = 0,55$ Try; $E_{3,8}^0 = 0,35$ His. L'hydrolyse acide (HCl 6N, 16 h à 110° en l'absence d'air) fournit les acides aminés constituants dans les rapports suivants: 0,9 Tyr, 0,9 Phe, 1,1 Glu, 1,1 Asp, 1,0 Pro, 1,0 Arg, 1,0 Gly et 1,1 $\frac{1}{2}$ Cys. Les activités biologiques sont indiquées dans le tableau p. 697. Pour l'analyse, un échantillon est séché au vide poussé, 16 h à 60°.

$C_{46}H_{64}O_{12}N_{14}S_2 \cdot 2CH_3COOH$ Calc. C 50,5 H 6,1 O 21,5 N 16,5 S 5,4%
(1189,4) Tr. „ 50,2 „ 6,2 „ 21,6 „ 16,2 „ 5,6%

B. Synthèse de la désamino¹-Phe³-Arg⁸-vasopressine

N-Benzoyloxycarbonyl-L-phénylalaninyl-L-phénylalaninate de méthyle (XII). – a) *Par la méthode au dicyclohexyl-carbodiimide.* A une solution, refroidie à 0°, de 11,2 g (52 mmoles) de chlorhydrate de phénylalaninate de méthyle dans 25 ml d'eau, on ajoute une solution, refroidie également, de 6 g de K_2CO_3 dans 25 ml d'eau, extrait à l'acétate d'éthyle (3×20 ml), sèche rapidement sur $MgSO_4$, puis évapore l'acétate d'éthyle au vide à +5°. Au résidu on ajoute 10,3 g (50 mmoles) de dicyclohexyl-carbodiimide dissous dans 20 ml de diméthylformamide, refroidit à 0°, introduit encore une solution de 15,0 g (50 mmoles) de N-CBO-L-phénylalanine [23] dans 60 ml d'acétonitrile, secoue 1 h à 0° puis 1 nuit à 20°. Après éloignement de la dicyclohexylurée, on évapore l'acétonitrile au vide à 30°, ajoute 150 ml d'HCl 1N et 150 ml d'acétate d'éthyle, lave encore la phase organique par HCl 1N, NH_4OH 1N, H_2O , sèche sur $MgSO_4$ et évapore au vide à 30°. Après recristallisation dans 3–4 volumes d'acétonitrile, on obtient 16,5 g (72%) de N-CBO-L-phénylalaninyl-L-phénylalaninate de méthyle de F. 148–149°. $[\alpha]_D^{25} = -17,5^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2$; diméthylformamide).

$C_{27}H_{28}O_5N_2$ Calc. C 70,4 H 6,1 O 17,4 N 6,1%
(460,5) Tr. „ 70,5 „ 6,3 „ 16,8 „ 6,4%

b) *Par la méthode à l'ester actif.* A une solution de L-phénylalaninate de méthyle dans 100 ml d'acétate d'éthyle, préparée à partir de 14,8 g (68,6 mmoles) de son chlorhydrate comme décrit sous a), on ajoute 30,0 g (62,7 mmoles) de N-CBO-L-phénylalaninate de trichloro-2,4,5-phényle [18] dissous dans 45 ml de diméthylformamide, puis concentre au vide à 30° jusqu'à un volume de 120 ml environ. Après un séjour d'une nuit à 20°, on dilue par 200 ml d'acétate d'éthyle, lave par HCl 1N, $NaHCO_3$ 1N, H_2O et sèche sur Na_2SO_4 . Après évaporation à sec au vide à 30°, on

recristallise le résidu dans un mélange chloroforme/éther. On obtient 24,6 g (85%) de N-CBO-L-phénylalaninyl-L-phénylalaninate de méthyle présentant les mêmes propriétés que sous a).

L-Phénylalaninyl-L-phénylalaninate de méthyle, HBr (XIII). On dissout 10,0 g (21,7 mmoles) d'ester dipeptidique XII dans 50 ml d'une solution 4N de gaz bromhydrique dans l'acide acétique anhydre. Après séjour d'une heure à 20°, on introduit la solution dans 2 l d'éther sous vive agitation, filtre et lave à l'éther. Après séchage au vide sur KOH à 20°, on obtient 8,1 g (91%) de bromhydrate de L-phénylalaninyl-L-phénylalaninate de méthyle de F. 202°. $[\alpha]_D^{25} = +5,5 \pm 0,5^\circ$ ($c = 2$; méthanol). $Rf_M^a = 0,98$; $Rf_P^a = 0,85$; $Rf_A^a = 0,95$. $E_{1,9}^a = 0,9$ Glu; $E_{5,8}^a = 0,9$ His (révélation par ninhydrine et chlore).

$C_{19}H_{28}O_3N_2Br \cdot \frac{1}{4}H_2O$	Calc.	C 55,4	H 5,8	O 12,6	N 6,8	Br 19,4%
(411,8)	Tr.	55,1	5,7	12,5	7,0	19,3%

β -Benzylthio-propionyl-L-phénylalaninyl-L-phénylalaninate de méthyle (XIV). A une solution, refroidie à 0°, de 8,12 g (19,7 mmoles) de bromhydrate d'ester dipeptidique XIII dans 25 ml d'eau, on ajoute une solution, refroidie également, de 2,9 g de K_2CO_3 dans 20 ml d'eau, extrait à l'acétate d'éthyle (3×30 ml), sèche rapidement sur $MgSO_4$ et ajoute au filtrat 7,5 g (20,0 mmoles) d'ester actif VII. Après un séjour de 15 h à 20°, on éloigne une petite quantité d'une substance cristalline s'étant séparée (455 mg, F. 313–314°), dont l'analyse élémentaire correspond à celle du L-phénylalaninyl-L-phénylalanine-lactame (litt. [24]: F. 315–316° pour l'antipode D-phénylalaninyl-D-phénylalanine-lactame).

$C_{18}H_{18}O_2N_2$	Calc.	C 73,4	H 6,2	O 10,9	N 9,5%
(294,4)	Tr.	73,5	6,2	10,4	9,8%

Le filtrat est lavé par HCl 1N, $NaHCO_3$ 1N, séché sur $MgSO_4$ puis évaporé au vide à 25°. Le résidu est secoué à deux reprises dans 30 volumes du mélange éther/éther de pétrole 1:2, puis encore lavé sur le filtre par le même mélange. On obtient ainsi 7,90 g (79%) de β -benzylthio-propionyl-L-phénylalaninyl-L-phénylalaninate de méthyle, de F. 133–135°, homogène à la chromatographie en couche mince (oxyde d'aluminium basique pH 9,5, système benzène/acétone 2:1, révélation par vapeurs d'iode). Pour l'analyse, on le recristallise en le dissolvant dans 15 volumes de benzène chaud et en ajoutant 15 volumes d'éther de pétrole. Aiguilles groupées en houpettes, de F. 134–135°. $[\alpha]_D^{25} = -21^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1$; diméthylformamide).

$C_{20}H_{32}O_4N_2S$	Calc.	C 69,0	H 6,4	O 12,7	N 5,6	S 6,4%
(504,7)	Tr.	69,1	6,5	12,3	5,3	6,5%

β -Benzylthio-propionyl-L-phénylalaninyl-L-phénylalaninyl-hydrazide (XV). On dissout 2,02 g (4,0 mmoles) de β -benzylthio-propionyl-L-phénylalaninyl-L-phénylalaninate de méthyle (XIV) dans 10 ml de méthanol anhydre chaud. Après refroidissement on ajoute 1,3 ml d'hydrazine et laisse reposer 1 nuit à température ordinaire. Le précipité formé est essoré, lavé à l'eau puis au méthanol, et séché. Le produit (1,77 g; F. 218–222°) est recristallisé par dissolution dans 8 ml de diméthylformamide chaud, adjonction de 16 ml de méthanol et repos à température ordinaire. Après filtration, lavage au moyen du mélange diméthylformamide/méthanol 1:2 puis au méthanol seul, séchage au vide poussé à 40°, on obtient 1,22 g (60%) de β -benzylthio-propionyl-L-phénylalaninyl-L-phénylalaninyl-hydrazide de F. 229°. $[\alpha]_D^{25} = -26,5^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 1,6$; HCl 0,3N dans l'acide acétique à 95%). $E_{1,9}^a = 0$ (révélation par chlore et FOLIN). Homogène à la chromatographie en couche mince (système: oxyde d'aluminium basique pH 9,5/méthanol; la substance est déposée à l'état de solution dans l'acide acétique à 95%; révélation par FOLIN et par vapeurs d'iode).

$C_{28}H_{32}O_3N_4S \cdot \frac{1}{2}H_2O$	Calc.	C 65,5	H 6,5	O 10,9	N 10,9	S 6,2%
(513,7)	Tr.	65,5	6,4	11,0	11,0	6,3%

β -Benzylthio-propionyl-L-phénylalaninyl-L-phénylalaninyl-L-glutaminyll-L-asparaginyll-S-benzyl-L-cystéinyl-L-prolyl-L-g-tosyl-L-arginyl-glycinamide (XVI). En opérant exactement dans les conditions décrites pour la préparation de l'octapeptide X, purification comprise, on a obtenu, à partir de 771 mg (1,50 mmole) d'hydrazide XV et 1,39 g (1,50 mmole) d'hexapeptide VI, 1,46 g (69%) de β -benzylthio-propionyl-L-phénylalaninyl-L-phénylalaninyl-L-glutaminyll-L-asparaginyll-S-benzyl-L-cystéinyl-L-prolyl-L-g-tosyl-L-arginyl-glycinamide de F. 222–224°. $[\alpha]_D^{25} = -38^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,6$; diméthylformamide). Le produit ne migre pas à l'électrophorèse.

$C_{67}H_{84}O_{13}N_{14}S_3 \cdot 1H_2O$	Calc.	C 57,2	H 6,2	O 15,9	N 13,8	S 6,8%
(1407,7)	Tr.	57,1	6,0	16,0	13,7	6,9%

Désamino¹-Phe²-Arg⁸-vasopressine (XVII). On dissout 1,10 g (0,78 mmole) d'octapeptide protégé XVI dans environ 250 ml d'ammoniac liquide redistillé sur sodium et, sous agitation, ajoute lentement du sodium jusqu'à persistance de la coloration bleue. Après adjonction de 0,55 g de NH₄Cl, on évapore à sec au vide, dissout le résidu dans 0,8 l d'acide acétique 0,01N, ajuste le pH à 8,5, ajoute 1,0 ml d'eau oxygénée 1M et laisse reposer jusqu'à réaction négative au nitroprusiate (10–15 min). Après acidification à pH 4,5 au moyen d'acide acétique glacial, on adsorbe le peptide sur 120 ml d'amberlite CG 50 (100–200 mesh) et, après lavage par 1,0 l d'acide acétique à 1% pour éliminer les sels présents [20], élue la substance par 850 ml d'acide acétique à 50%. L'éluat est évaporé au vide à 30° et le résidu est soumis à une distribution en contre-courant dans le système *sec*-butanol/eau/acide acétique 120:160:1. Après 200 transferts, on détermine colorimétriquement [22] sur des aliquotes la position du sommet principal ($K = 0,45$), réunit le contenu des tubes centraux de celui-ci, concentre au vide à 30°, filtre et lyophilise. On obtient ainsi 0,34 g de poudre contenant 38,6 mg d'azote peptidique, ce qui correspond à 208 mg (25%) de désamino¹-Phe²-Arg⁸-vasopressine libre. $[\alpha]_D^{25} = -109^\circ$ ($c = 1,5$ [concentration de base libre déterminée par dosage de l'azote peptidique]; acide acétique 0,1N; la valeur de -100° indiquée dans la communication préliminaire [2] se rapporte à un mono-acétate dihydraté. $Rf_M^0 = 0,36$; $Rf_A^0 = 0,42$ (la substance est chromatographiée sous forme de chlorhydrate). $E_{1,9}^0 = 0,53$ Try; $E_{5,8}^0 = 0,43$ His (révélation par ninhydrine, SAKAGUCHI et chlore). Un témoin d'oxytocine a donné les valeurs: $Rf_M^0 = 0,62$; $Rf_A^0 = 0,67$; $E_{1,9}^0 = 0,53$ Try; $E_{5,8}^0 = 0,34$ His. L'hydrolyse acide (HCl 6N, 16 h à 110° en l'absence d'air) fournit les acides aminés constituants dans les rapports suivants: 2,04 Phe, 0,99 Glu, 1,01 Asp, 1,01 Pro, 0,99 Arg, 0,99 Gly et 1,01 $\frac{1}{2}$ Cys. Les activités biologiques sont indiquées dans le tableau. Pour l'analyse, un échantillon est séché au vide poussé, 16 h à 60°.

$C_{46}H_{64}O_{11}N_{14}S_2 \cdot 1CH_3COOH \cdot 2H_2O$	Calc. C 50,2	H 6,3	O 20,9	N 17,1	S 5,6%
(1149,3)	Tr. „ 50,6	„ 6,4	„ 20,8	„ 16,7	„ 5,7%

SUMMARY

Deamino¹-Arg⁸-vasopressin and deamino¹-Phe²-Arg⁸-vasopressin have been synthesized by condensation of L-glutaminyl-L-asparaginyl-S-benzyl-L-cysteinyl-L-prolyl-G-tosyl-L-arginyl-glycinamide with β -benzylthio-propionyl-L-tyrosyl-L-phenylalanylazide and β -benzylthio-propionyl-L-phenylalanyl-L-phenylalanylazide, respectively. After removal of the protecting groups and oxidation with hydrogen peroxide, the deamino-nonapeptides have been purified by counter-current distribution. Deamino¹-Arg⁸-vasopressin as well as deamino¹-Phe²-Arg⁸-vasopressin exhibit a higher antidiuretic activity (1300 IU/mg and 800 IU/mg, respectively) and a lower pressor activity than arginine-vasopressin. This confers to both analogues, and especially to the latter, a remarkable selectivity of the antidiuretic action.

Laboratoires de Chimie pharmaceutique,
SANDOZ S.A., Bâle

BIBLIOGRAPHIE

- [1] R. L. HUGUENIN, E. STÜRMER, R. A. BOISSONNAS & B. BERDE, *Experientia* **21**, 68 (1965).
- [2] E. STÜRMER, R. L. HUGUENIN, R. A. BOISSONNAS & B. BERDE, *Experientia* **21**, 583 (1965).
- [3] B. BERDE & R. A. BOISSONNAS, dans «The Pituitary Gland» **3**, p. 624 (Ed.: G. W. HARRIS, Butterworths, London 1965).
- [4] P.-A. JAQUENAUD & R. A. BOISSONNAS, *Helv.* **42**, 788 (1959); M. BODANSZKY & V. DU VIGNEAUD, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 1258 (1959); R. A. BOISSONNAS & ST. GUTTMANN, *Helv.* **43**, 190 (1960); J. MEIENHOFER & V. DU VIGNEAUD, *J. Amer. chem. Soc.* **82**, 6336 (1960); R. L. HUGUENIN & R. A. BOISSONNAS, *Helv.* **45**, 1629 (1962); R. L. HUGUENIN, *ibid.* **47**, 1934 (1964).

- [5] H. D. LAW & V. DU VIGNEAUD, J. Amer. chem. Soc. **82**, 4579 (1960); Z. BERÁNKOVÁ, I. RYCHLÍK, K. JOŠT, J. RUDINGER & F. ŠORM, Coll. czechoslov. chem. Commun. **26**, 2673 (1961); K. JOŠT, J. RUDINGER & F. ŠORM, *ibid.* **28**, 1706 (1963); W. SIEDEL, K. STURM & R. GEIGER, Chem. Ber. **96**, 1436 (1963).
- [6] V. DU VIGNEAUD, G. S. DENNING, S. DRABAREK & W. Y. CHAN, J. biol. Chemistry **238**, PC 1560 (1963); **239**, 472 (1964); ST. GUTTMANN & R. A. BOISSONNAS, Helv. **46**, 1626 (1963).
- [7] R. A. BOISSONNAS, J.-F. PECHÈRE & ST. GUTTMANN, cité dans [3]; R. O. STUDER & W. D. CASH, J. biol. Chemistry **238**, 657 (1963); W. D. CASH & B. L. SMITH, *ibid.* **238**, 994 (1963).
- [8] W. Y. CHAN & V. DU VIGNEAUD, Endocrinology **71**, 977 (1962); R. KIMBROUGH, JR., W. D. CASH, L. A. BRANDA, W. Y. CHAN & V. DU VIGNEAUD, J. biol. Chemistry **238**, 1411 (1963).
- [9] V. DU VIGNEAUD, G. WINESTOCK, V. V. S. MURTI, D. B. HOPE & R. D. KIMBROUGH, J. biol. Chemistry **235**, PC 64 (1960); D. B. HOPE, V. V. S. MURTI & V. DU VIGNEAUD, *ibid.* **237**, 1563 (1962).
- [10] R. L. HUGUENIN & R. A. BOISSONNAS, Helv. **45**, 1629 (1962).
- [11] J. HONZL & J. RUDINGER, Coll. czechoslov. chem. Commun. **26**, 2333 (1961).
- [12] R. A. BOISSONNAS & ST. GUTTMANN, Helv. **43**, 190 (1960); J. MEIENHOFER & V. DU VIGNEAUD, J. Amer. chem. Soc. **82**, 6336 (1960).
- [13] P.-A. JAQUENOUD & R. A. BOISSONNAS, cité dans [3].
- [14] R. L. HUGUENIN, Helv. **47**, 1934 (1964).
- [15] TH. WIELAND & G. PFLEIDERER, Angew. Chem. **67**, 257 (1955).
- [16] ST. GUTTMANN & R. A. BOISSONNAS, Helv. **43**, 200 (1960).
- [17] K. R. BHATTACHARYA, J. DATTA & D. K. ROY, Arch. Biochemistry Biophysics **77**, 297 (1958).
- [18] J. PLESS & R. A. BOISSONNAS, Helv. **46**, 1609 (1963).
- [19] A. SCHÖNBERG & Y. ISKANDER, J. chem. Soc. **1942**, 90.
- [20] H. B. F. DIXON, Biochim. biophysica Acta **34**, 251 (1959).
- [21] R. L. HUGUENIN & ST. GUTTMANN, Helv. **48**, 1885 (1965).
- [22] O. H. LOWRY, N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR & R. J. RANDALL, J. biol. Chemistry **193**, 265 (1951).
- [23] M. BERGMANN, L. ZERVAS, H. RINKE & H. SCHLEICH, Z. physiol. Chem. **224**, 33 (1934).
- [24] Z. J. VEJDELEK, Coll. czechoslov. chem. Commun. **15**, 935 (1950).

81. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen

50. Mitteilung [1]

Die Konfiguration der Arcanose

von G. Roncari und W. Keller-Schierlein

(23. XI. 65)

Das Makrolid-Antibioticum *Lankamycin* [2] gibt bei der sauren Hydrolyse u. a. zwei Zucker, die Lankavose und die 4-O-Acetyl-arcanose [3]. Die letztere wurde durch Abbaureaktionen als 4-O-Acetylderivat eines Stereoisomeren der Cladinose (I, R = CH₃) bestimmt. Der Cladinose, einem Baustein des Erythromycins, sowie ihrer 3-O-Demethylverbindung, der Mycarose (I, R = H), konnte kürzlich auf Grund des Studiums von NMR.-Spektren [4] und durch teilweise stereospezifisch verlaufende Synthesen [5] [6] sowie durch Abbau der Mycarose zur L-Milchsäure [6] die L-ribo-Konfiguration (I) zugeordnet werden.

Über die Stereochemie der Arcanose stand bisher lediglich fest, dass am C-Atom 3 die gleiche absolute Konfiguration besteht wie bei der Cladinose [3]. Ferner kann den