

in the second line and those published for a purified preparation of arginine-vasotocin of natural source⁴ in the third line of the Table. The activities printed in normal type refer to 1 mg powder obtained by lyophilisation of a solution containing the peptide. Such values depend on the solvents used and on the conditions under which the lyophilisation is carried out. The activities printed in heavy type refer to 1 mg of the peptide itself (free base, without solvent). These values are obtained on the basis of nitrogen analysis and are therefore independent of the conditions under which the lyophilisation is performed. The values obtained in the present study are in all tests higher than the activities previously published for arginine-vasotocin.

It is fully appreciated that the expression of the activities of a compound in terms of those of another compound is never fully satisfactory. The Third International Standard containing oxytocin and arginine-vasopressin is there-

fore not an ideal reference standard for arginine-vasotocin although it is the best we can use to-day. Even bearing this in mind it is felt that the quantitative difference between the biological activities of arginine-vasotocin found in the present study and those published previously can hardly be due to mere chance. It rather suggests a higher degree of purity of our sample of arginine-vasotocin.

Zusammenfassung. Eine neue Synthese von Arginin-Vasotocin (= Arg⁸-Oxytocin = Ile³-Arginin-Vasopressin) wird beschrieben. Das reine synthetische Peptid erwies sich in verschiedenen biologischen Testen wirksamer als nach früheren Literaturangaben zu erwarten war.

B. BERDE*, R. HUGUENIN**, and E. STÜRMER*

Pharmakologische und Pharmazeutisch-chemische** Forschungslaboratorien der Sandoz AG, Basel (Switzerland), July 10, 1962.*

The Synthesis and some Pharmacological Effects of Serine⁴-Isoleucine⁸-Oxytocin, a Probable Neurohypophysial Hormone

Pharmacological evidence has been advanced for the presence in the neurohypophysis of two species of teleost fish—namely *Pollachius virens*¹ and *Gadus luscus*²—of a hitherto unknown hormone similar to but not identical with oxytocin. The isolation of a hitherto unknown peptide from the neurohypophysis of three species of teleost fish (*Pollachius virens*, *Gadus luscus*, and *Merluccius merluccius*) has recently been published³. On the basis of amino acid analysis and preliminary enzymatic degradation studies it was postulated³ that this peptide is an analogue of oxytocin, namely Ser⁴-Ile⁸-oxytocin. We have synthesised Ser⁴-Ile⁸-oxytocin and tested some of its pharmacological activities.

L-Prolyl-*L*-isoleucyl-glycinamide⁴ was condensed with *p*-nitrophenyl N-CBO-S-benzyl-*L*-cysteinate⁵ to N-CBO-S-benzyl-*L*-cysteinyl-*L*-prolyl-*L*-isoleucyl-glycinamide. After removal of the CBO protecting group, condensation with *p*-nitro-phenyl N-CBO-asparaginate⁶ yielded the expected protected pentapeptide. After removal of the CBO protecting group this was reacted by the dicyclohexylcarbodiimide procedure⁷ with N-trityl-*L*-serine, giving the protected hexapeptide. Removal of the trityl protecting group and condensation with *p*-nitro-phenyl N-tosyl-S-benzyl-*L*-cysteinyl-*L*-tyrosyl-*L*-isoleucinate⁸ yielded N-tosyl-S-benzyl-*L*-cysteinyl-*L*-tyrosyl-*L*-isoleucyl-*L*-seryl-*L*-asparaginy-*L*-S-benzyl-*L*-cysteinyl-*L*-prolyl-*L*-isoleucyl-glycinamide (m.p. 222°. $[\alpha]_D^{25} = -24^\circ$ in dimethylformamide. Analysis calculated for C₆₂H₈₃O₁₄N₁₁S₃: C 57.2; H 6.4; O 17.2; N 11.8; S 7.4. Found: C 56.9; H 6.8; O 17.3; N 11.6; S 7.3). Removal of the protecting groups by treatment with sodium in liquid ammonia, followed by oxydation with air and purification by counter-current in the system sec-butanol/water/acetic acid 100:120:1 yielded homogeneous Ser⁴-Ile⁸-oxytocin (K = 0.57).

This synthetic peptide was compared with the Third International Standard for Oxytocic, Vasopressor and Antidiuretic Substances⁹ in five tests generally used for the quantitative pharmacological characterisation of neurohypophysial hormones. The oxytocic effect was assayed on the isolated rat uterus¹⁰, the avian depressor activity on the blood pressure of white Leghorn cockerels^{11,12} and the milk ejecting potency on the mammary

glands of lactating rabbits *in situ*^{13,14}. The antidiuretic effect was tested in water-loaded rats anaesthetised with alcohol¹⁵⁻¹⁷ and the pressor activity in rats pretreated with an adrenergic blocking agent^{18,19}.

The results are summarised in the Table; the biological potencies of Ser⁴-Ile⁸-oxytocin in the different tests are given in International Units per mg pure peptide (free base).

Pharmacological activities of Ser⁴-Ile⁸-oxytocin in International Units per mg

Rat uterus (isolated)	Chicken blood pressure	Rabbit mammary gland	Rat blood pressure	Rat anti-diuresis
150 ± 12	320 ± 15	300 ± 15	0.06 ± 0.01	0.18 ± 0.03

¹ H. HELLER, B. T. PICKERING, J. MAETZ, and F. MOREL, *Nature* **191**, 670 (1961).

² R. ACHER, J. CHAUVET, M. T. CHAUVET, and D. CREPY, *Biochim. biophys. Acta* **51**, 419 (1961).

³ R. ACHER, J. CHAUVET, M. T. CHAUVET, and D. CREPY, *Biochim. biophys. Acta* **58**, 624 (1962).

⁴ P.-A. JAQUENOUD and R. A. BOISSONNAS, *Helv. chim. Acta* **44**, 113 (1961).

⁵ M. BODÁNSZKY, M. SZELKE, E. TÖMÖRKÉNY, and E. WEISZ, *Chem. and Ind.* **1955**, 1517.

⁶ M. BODÁNSZKY and V. DU VIGNEAUD, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 5688 (1959).

⁷ J. C. SHEEHAN and G. P. HESS, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 1067 (1955).

⁸ P.-A. JAQUENOUD and R. A. BOISSONNAS, *Helv. chim. Acta* **45**, 1462 (1962).

⁹ D. R. BANGHAM and M. V. MUSSETT, *Bull. Org. mond. Santé* **19**, 325 (1958).

¹⁰ P. HOLTON, *Brit. J. Pharmacol.* **3**, 328 (1948).

¹¹ J. M. COON, *Arch. int. Pharmacodyn.* **62**, 79 (1939).

¹² R. E. THOMPSON, *J. Pharmacol. exp. Therap.* **80**, 373 (1944).

¹³ H. B. VAN DYKE, K. ADAMSONS, JR., and S. L. ENGEL, *Recent Progr. Hormone Res.* **11**, 1 (1955).

¹⁴ B. BERDE and A. CERLETTI, *Gynaecologia* **144**, 275 (1957).

¹⁵ W. A. JEFFERS, M. M. LIVEZEY, and J. H. AUSTIN, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **50**, 184 (1942).

¹⁶ W. H. SAWYER, *Endocrinology* **63**, 694 (1958).

¹⁷ B. BERDE and A. CERLETTI, *Helv. physiol. Acta* **19**, 135 (1961).

¹⁸ J. DEKANSKI, *Brit. J. Pharmacol.* **7**, 567 (1952).

¹⁹ *British Pharmacopoeia* (Pharmaceutical Press, London 1958).

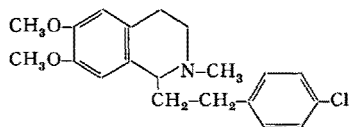
It is evident that Ser⁴-Ile⁸-oxytocin is an oxytocin-like peptide with relatively high activities on the uterus, the mammary gland and the avian blood pressure. On the other hand its pressor and antidiuretic potencies are lower than those of oxytocin. The selectivity of its oxytocin-like effects is therefore higher than that of oxytocin. Furthermore, the ratio between the avian depressor and the uterotonic activities of Ser⁴-Ile⁸-oxytocin is 2.2. The same ratio (2.3) has been published for the 'second oxytocic pollock peptide'¹. Our findings are therefore compatible with the assumption² that Ser⁴-Ile⁸-oxytocin may well be the oxytocin-like peptide hormone of the pituitary of some teleost fish.

Über eine Tetrahydroisochinolinverbindung mit analgetischer Wirkung

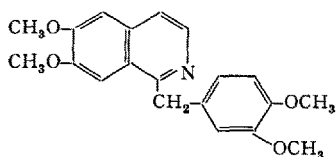
Von den in der Natur vorkommenden einfachen Isochinolinverbindungen ist Papaverin der wichtigste Vertreter. Dieses Alkaloid besitzt spezifische peripher spasmolytische, aber keine analgetische Wirkung.

Synthetische Arbeiten in dieser Körperklasse haben zu substituierten Arylalkyl-Isochinolinderivaten mit verschiedenem Hydrierungsgrad geführt, die nicht nur spasmolytisch, sondern auch analgetisch wirksam sind. BROSSI et al.¹ haben berichtet, dass für Verbindungen, die sich vom Grundkörper 1-Phenäthyl-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin ableiten und welche im Phenylrest Halogen-substituiert sind, der analgetische Effekt von Art und Stellung des Halogens abhängt. Ferner wurde erkannt, dass bei Spaltung der racemischen Verbindungen beide Antipoden spasmolytisch, aber nur der eine Antipode² analgetisch wirksam ist.

Im folgenden wird über eine Verbindung dieser Reihe berichtet, die auf Grund der pharmakologischen Befunde ausgewählt, sich auch in der Klinik als analgetisch wirksam und sehr gut verträglich erwiesen hat. Es handelt sich um Ro 4-1778/1, rac. 1-(4'-Chlorphenäthyl)-2-methyl-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin, dessen strukturelle Verwandtschaft zum Papaverin (1-(3',4'-Dimethoxybenzyl)-6,7-dimethoxyisochinolin) aus den Formelbildern ersichtlich ist.



Ro 4-1778/1



Papaverin

Resultate der pharmakologischen Prüfung. Analgetische Wirkung: Der analgetische Effekt wurde an Maus, Ratte und Kaninchen untersucht und mit Codein verglichen. Im Wärmereiztest an der Maus (Methode nach GROSS³) ist Ro 4-1778/1, subkutan verabreicht, analgetisch so wirksam wie Codein. Bei oraler Applikation ist für eine gleiche Wirkung das doppelte der subkutanen Dosis erforderlich. Die Hemmung der Reaktion auf Wärmereiz

Zusammenfassung. Ser⁴-Ile⁸-oxytocin wurde synthetisiert und in einer Anzahl pharmakologischer Tests geprüft. Dieses synthetische Peptid zeigt relativ hohe oxytocinartige und sehr geringe vasopressinartige Aktivitäten. Die Befunde sind vereinbar mit der Annahme, dass Ser⁴-Ile⁸-oxytocin das oxytocinähnliche Hormon der Hypophyse von Knochenfischen sein könnte.

ST. GUTTMANN*, B. BERDE**, and E. STÜRMER**

Pharmazeutisch-chemische* und Pharmakologische** Forschungslaboratorien der Sandoz AG, Basel (Switzerland), July 30, 1962.

an der Ratte (Methode nach HARDY, GOODELL und WOLFF⁴) war bei der neuen Isochinolinverbindung – subkutan appliziert – von ähnlicher Intensität wie beim Codein. Am Kaninchen erwies sich Ro 4-1778/1 bei intravenöser Injektion deutlich wirksamer als Codein (Methode nach RUCKSTUHL⁵). Der Wirkungseintritt erfolgt rasch, die Wirkungsdauer ist etwas geringer als diejenige von Codein. Die bei den genannten Versuchen ermittelte ED 50 (Dosis für 50% Verlängerung der Reaktionszeit bzw. Erhöhung der Reizschwelle) wurde in der Tabelle I eingetragen.

Tab. I. Analgetische Wirkung bei verschiedenen Tierspezies

	ED 50, angegeben in mg/kg		Kaninchen
	Maus	Ratte	
Ro 4-1778/1	18 s.c. 38 p.o.	40 s.c.	4,4 i.v.
Codein*	18 s.c.	35 s.c.	7,4 i.v.

* Base

Das Präparat wurde auch im Writhingtest an der Maus untersucht (Methode nach SIEGMUND et al.⁶). Es verhindert das Writhing-Syndrom (d.h. die durch den Peritonealschmerz ausgelöste Reaktion) mit 10 mg/kg subkutan und 40 mg/kg peroral vollständig. Codein ist in den gleichen Dosen nicht voll wirksam. Weiterhin wurde die Schmerzempfindlichkeit auf Druck an der Pfote der Ratte gemessen (Methode nach RANDALL et al.⁷). Für eine Erhöhung der Reizschwelle sind Dosen von 25–50 mg/kg subkutan erforderlich. An Ratten, die an 5 Tagen während 3 Wochen Ro 4-1778/1 intramuskulär erhielten, zeigte sich keine Abnahme der analgetischen Wirksamkeit.

Weitere Wirkungen: Im Gegensatz zu Codein besitzt Ro 4-1778/1 auch noch eine spasmolytische Wirkung, die am isolierten Darm $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{2}$ derjenigen des Papaverins entspricht. Die Beeinflussung adrenergischer und cholinер-

¹ A. BROSSI, H. BESENDORF, B. PELLMONT, M. WALTER und O. SCHNIDER, *Helv. chim. Acta* **43**, 1459 (1960).

² A. BROSSI und F. BURKHARDT, *Helv. chim. Acta* **44**, 1558 (1961).

³ F. GROSS, *Helv. physiol. Acta* **5**, C31 (1947).

⁴ J. D. HARDY, H. GOODELL und H. G. WOLFF, *Amer. J. Physiol.* **133**, P 316 (1941).

⁵ K. RUCKSTUHL, Dissertation Bern (1939).

⁶ E. SIEGMUND, R. CADMUS und G. LU, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **95**, 729 (1957).

⁷ L. O. RANDALL and J. J. SELITTO, *Arch. int. Pharmacodyn. Therap.* **111**, 409 (1957).