

Neben der Bildung von Hydrogenperoxyd dürften somit an der cytotostatischen Wirksamkeit der Methylhydrazine *Aminomethylierungen* durch die gebildeten Azomethin- und N-Hydroxymethyl-derivate sowie *Hydroxymethylierungen* durch freigesetzten Formaldehyd beteiligt sein. Als tumorhemmende Verbindungsklasse nehmen die Methylhydrazine daher insofern eine Sonderstellung ein, als sie im Zellstoffwechsel zugleich oxydierend und über verschiedene Reaktionswege alkylierend wirken können. Nach ZELLER, BOLLAG et al.<sup>1,2</sup> wirken nur die Derivate des Methylhydrazins tumorhemmend. Dieser Befund stützt die oben vorgelegte Hypothese; denn die cytotostatisch aktiven Reaktionsprodukte IV–VII können nur aus methyl-substituierten Hydrazinen entstehen.

**Summary.** Cytostatic active methylhydrazine derivatives split off formaldehyde after mild dehydrogenation with potassium hexacyanoferrate (III). It is suggested that the primary formed *azomethines* and *N-hydroxymethyl-derivatives* participate in cytotostatic efficacy by their alkylating ability (aminomethylation). Formaldehyde alone and its condensation products with hydrogen peroxide especially bis-hydroxymethylperoxide may exert cytotostatic effects too.

G. WEITZEL, F. SCHNEIDER  
und ANNA-MARIA FRETZDORFF

*Physiologisch-chemisches Institut der Universität  
Tübingen (Deutschland), 17. September 1963.*

### Über Peptidsynthesen. Synthese von Methionyl-Lysyl-Bradykinin, einem Kinin aus Rinderblut<sup>1</sup>

Kürzlich berichteten ELLIOTT, LEWIS und SMYTH<sup>2</sup> über die Bildung einer die glatte Muskulatur stimulierenden Substanz durch Inkubation der säurebehandelten Pseudoglobulinfraktion aus Rinderblut bei pH 7,5 in Abwesenheit von Trypsin. Abbaustudien führten zur Struktur eines Methionyl-lysyl-arginyl-prolyl-prolyl-glycyl-phenylalanyl-seryl-prolyl-phenylalanyl-arginin (I, Methionyl-Lysyl-Bradykinin). Eine von uns durchgeführte Synthese des Undekapeptids nahm folgenden Verlauf: Durch Kondensation von tert.-Butyloxycarbonyl(BOC)-L-methioninhydrazid<sup>3</sup> mit N<sup>ε</sup>-BOC-L-lysin-methylester<sup>4</sup> wurde mit 71% Ausbeute BOC-L-methionyl-N<sup>ε</sup>-BOC-L-lysinmethylester [C<sub>22</sub>H<sub>41</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>S<sub>1</sub> (491,63), F. 93–94° (Nadeln aus Essigester/Petroläther), [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = –17,3° (c = 1, Methanol); Ber. C 53,73 H 8,41 N 8,55 – Gef. C 53,64 H 8,55 N 8,62] und aus diesem durch 72 h Behandlung mit Hydrazinhydrat in Methanol bei 25°C BOC-L-methionyl-N<sup>ε</sup>-BOC-L-lysinhydrazid (II) erhalten (98%) [C<sub>21</sub>H<sub>41</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>S<sub>1</sub> (491,64); F. 123–124° (Nadeln aus Essigester/Petroläther), [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = –21,8° (c = 0,5, Dimethylformamid); Ber. C 51,31 H 8,40 N 14,25 – Gef. C 50,99 H 8,45 N 13,96].

Reaktion von II in 2,2*n* salzsaurem Tetrahydrofuran mit tert.-Butylnitrit bei –20°, Neutralisation mit Triäthylamin und Zugabe von Bradykinin-dihydrochlorid in Dimethylformamid lieferte nach 2tägigem Stehen bei 0°, Einengen und Verreiben mit Essigester mit 85%iger Ausbeute BOC-L-methionyl-N<sup>ε</sup>-BOC-L-lysinyl-bradykinin (III) Monohydrochlorid Trihydrat [C<sub>71</sub>H<sub>116</sub>N<sub>18</sub>O<sub>19</sub>S<sub>1</sub>Cl<sub>1</sub> (1593,3); F. 170–174° (Zers.), [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = –49,9° (c = 0,5, Dimethylformamid); Ber. C 53,52 H 7,34 Cl 2,22 N 15,83 O 19,08 = Gef. C 52,33 H 7,36 Cl 2,44 N 15,74 O 18,84] als elektrophoretisch praktisch einheitliche Substanz. Eine vollständige Reinigung gelang durch präparative trägerfreie Elektrophorese<sup>5</sup> in Pyridiniumacetatpuffer pH 5,5. Zur Abspaltung der beiden BOC-Gruppen aus dem rohen III wurde 1 h bei Raumtemperatur mit Trifluoressigsäure behandelt und das Undekapeptid durch präparative Elektrophorese (pH 5,5) in einheitlicher Form isoliert (75% bezogen auf III) [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = –86,5° (c = 0,5, Wasser). C<sub>61</sub>H<sub>94</sub>N<sub>18</sub>O<sub>13</sub>S<sub>1</sub> · 2CH<sub>3</sub>COOH · 6H<sub>2</sub>O (1547,8). Ber. C 50,44 H 7,42 N 16,29 CH<sub>3</sub>CO 5,56 H<sub>2</sub>O 6,99 = Gef. C 49,61 H 7,35 N 15,84 CH<sub>3</sub>CO 5,99 H<sub>2</sub>O 7,21. Methionyl-Lysyl-Bradykinin zeigt bei pH 5 (0,1 mol Pyridiniumacetat + 10% Propylenglykol) eine elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit, die zwischen Bradykinin

und Kallidin liegt (Ornithin = 1; Bradykinin = 0,55; Met-Lys-Bradykinin = 0,65; Kallidin = 0,68).

Durch Einwirkung von Leucinaminopeptidase (Ferment-Substrat-Verhältnis 1:10000; 15 h; pH 8,6; 37°) wird Methionyl-Lysyl-Bradykinin quantitativ in Methionin, Lysin und Bradykinin aufgespalten. Mit Trypsin (Ferment-Substrat-Verhältnis 1:100; 15 h; pH 8,6; 37°) wird das Undekapeptid zu Methionyl-Lysin und Bradykinin hydrolysiert.

Methionyl-Lysyl-Bradykinin besitzt folgende biologische Eigenschaften (Schwellendosen): Meerschweinchenileum: 3 ng/ml; Rattenuterus: 0,3 ng/ml; Kaninchenblutdruck: 2–5 ng/kg; (Bradykinin<sup>6,7</sup>: 1 ng/ml; 0,1 ng/ml bzw. 50 ng/kg). Ein quantitativer Vergleich von Methionyl-Lysyl-Bradykinin mit Bradykinin am Kaninchenblutdruck bei Dosen von 10, 20, 50, 100, 200, 500 ng, 1 und 2 γ ergab, dass das Undekapeptid doppelt so wirksam ist wie Bradykinin. Für BOC-Methionyl-N<sup>ε</sup>-BOC-Lysyl-Bradykinin wurden als Schwellendosen ermittelt: Meerschweinchenileum: > 150 ng/ml; Rattenuterus: 15 ng/ml; Kaninchenblutdruck: 5–10 γ<sup>8</sup>.

**Summary.** The synthesis and the pharmacological actions of methionyl-lysyl-bradykinin, a new kinin from ox blood, are described.

E. SCHRÖDER

*Hauptlaboratorium der Schering AG, Berlin-West  
(Deutschland), 14. August 1963.*

<sup>1</sup> Über Peptidsynthesen XXI. 4. Mitt. über Bradykinin- und Kallidin-Analoga. XX. Mitt. über Peptidsynthesen, 3. Mitt. über Bradykinin- und Kallidin-Analoga: E. SCHRÖDER, Liebigs Ann., im Druck.

<sup>2</sup> D. F. ELLIOTT, G. P. LEWIS und D. G. SMYTH, Biochem. J. **87**, 21P (1963).

<sup>3</sup> ST. GUTTMANN und R. A. BOISSONNAS, Helv. chim. Acta **41**, 1852 (1958).

<sup>4</sup> R. SCHWYZER und W. RITTEL, Helv. chim. Acta **44**, 159 (1961).

<sup>5</sup> J. BARROLIER, E. WATZKE und H. GIBIAN, Z. Naturforsch. **13b**, 754 (1958).

<sup>6</sup> E. SCHRÖDER, Liebigs Ann., im Druck.

<sup>7</sup> A. CERLETTI, E. STÜRMER und H. KONZETT, Deut. Med. Wschr. **86**, 678 (1961).

<sup>8</sup> Für die Durchführung der präparativen Arbeiten bin ich Herrn M. LEHMANN, für die biologischen Teste Herrn Dr. R. HEMPEL zu Dank verpflichtet.