

bile into the small intestine, and that, in contrast to LSD itself, the metabolites are water soluble. This result has been confirmed using rats with bile fistula. In this case 70% of the applied activity was excreted in the bile within 6 h. Paper chromatography of the bile revealed that in addition to a very small amount of LSD (less than 1% of the total activity) it contained 3 radioactive compounds, having R_f values in water-butanol of 0, 0.13, and 0.18, the latter two substances still showing the VAN URK colour reaction of indoles and the blue fluorescence characteristic of lysergic acid derivatives¹.

Experiments on the metabolism of LSD are being continued and a detailed account of this work will be published elsewhere.

A. STOLL, E. ROTHLIN,
J. RUTSCHMANN, and W. R. SCHALCH

Research Laboratories of Sandoz Inc., Basle, Switzerland, Juli 30, 1955.

Zusammenfassung

Es wird die Verteilung, Umwandlung und Ausscheidung von intravenös verabreichtem ¹⁴C-markiertem Lysergsäurediäthylamid (LSD) an der weissen Maus untersucht.

Praktisch die ganze, in Form von ¹⁴C-markiertem LSD applizierte Radioaktivität verschwindet innerhalb weniger Minuten aus dem Blut, um nach 10–15 min in den meisten Organen ein Maximum zu erreichen, aus denen sich die Radioaktivität in den nächsten Stunden langsam wieder verliert. Im Dünndarm steigt die Aktivität in den ersten 2 h zu einem Maximum an, das ungefähr 50% der totalen Dosis entspricht. Die radioaktive Substanz bewegt sich mit dem Darminhalt, und 2–3 h später wird der grösste Teil der Aktivität im Colon gefunden.

Durch Extraktionsversuche unter Zusatz von inaktivem LSD wird gezeigt, dass der grösste Teil des LSD im Organismus chemisch verändert wird. Drei verschiedene, wasserlösliche radioaktive Abbauprodukte werden durch ihre R_f -Werte charakterisiert.

¹ The last mentioned results are in agreement with observations by E. S. BOYD, University of Rochester, Rochester N.Y. (private communication).

Eine neue Umlagerungsreaktion und ein neues Prinzip zum Aufbau von Peptidketten¹

Verbindung I, das Perchlorat von O-Glycyl-salicylsäureamid, liefert beim Auflösen in Wasser unter Umlagerung das Imidazol II, beim Auflösen in wässriger Bicarbonatlösung dagegen das offenkettige Amid III. Diese bisher unbekannten Umlagerungsreaktionen verlaufen vermutlich über ein gemeinsames Zwischenprodukt IV. In saurem Milieu dürfte das Endprodukt II aus IV über IVa, in basischem Milieu das Endprodukt III aus IV über IVb entstehen (Formeln I–IV).

Beim Übergang von I in II bzw. III wird zuerst die dem Perchlorat zugrunde liegende, an sich instabile Base O-Glycyl-salicylsäureamid freigesetzt. Die besonders interessante Umlagerung nach III erfolgt dann formal

so, dass der Glycylrest vom phenolischen Sauerstoff abgelöst, um 180° gedreht und zwischen das Carbonyl und die NH₂-Gruppe des Salicylsäureamids eingeschoben wird.

Die Tendenz zu Umlagerungen im Sinne des Überganges von I in III scheint eine allgemeine Eigenschaft von Verbindungen des Typus V zu sein. So ist es unter anderem gelungen, die Reaktionsfolge VI bis XII in ausgezeichneter Ausbeute durchzuführen. Bemerkenswert ist dabei die völlige Erhaltung der Konfiguration am Asymmetriezentrum des Phenylalanins (Formeln V–XII).

Die Synthese des Tripeptidderivates XII unterscheidet sich von allen bisher denkbaren Möglichkeiten zum Aufbau von Peptiden prinzipiell dadurch, dass sie nicht durch sukzessive Verknüpfung von Carboxyl- und Amino-gruppen erfolgt.

Eine Übertragung der Umlagerung in die aliphatische Reihe unter Ersatz der Salicylsäure durch β -Oxybuttersäure, Serin oder Cystein hat sich bisher nicht verwirklichen lassen. Hiefür sind wohl sterische Gründe verantwortlich, denn die Energiebilanz sollte auch im Falle eines aliphatischen Esters die Ausbildung einer Peptidbindung gestatten¹. Bei den Salicylsäurederivaten XIII spielt der aromatische Ring gewissermassen die Rolle eines Enzyms, indem er die reagierenden Zentren in räumlich günstiger Lage festhält. Die Existenz ähnlich wirkender wahrer Enzyme, welche entsprechende Threonin-, Serin- oder Cysteinderivate (XIV, XV, XVI) in geeigneter Konstellation «einfrieren» würden, hätte interessante biochemische Konsequenzen (Formeln XIII–XVI).

Von besonderer Bedeutung wäre dabei, dass die α -Aminogruppe eines Threonin- oder Serin- oder Cysteinderivates an der Umlagerungsreaktion nicht teilnähme. Sie könnte frei vorliegen oder dazu dienen, XIV oder XV oder XVI an einem geeigneten Zellbestandteil zu verankern.

Im folgenden seien einige denkbare Reaktionsmöglichkeiten skizziert, die besonderes Interesse beanspruchen.

1. Eine Cysteinmolekel hafte mit ihrem Stickstoff an einer Nukleinsäure. Ihre SH-Gruppe diene fortgesetzt als Akzeptor für herangeführte Aminosäuren. Das Resultat dieser Anordnung ist eine Peptidkette, die nach dem Schema der Formeln VI bis XII aus dem Cysteinrest «herauswächst».

2. Der Cysteinrest sei von Anfang an mittelständiger Bestandteil einer Peptidkette. Die Kette nehme auf dem Weg über die SH-Gruppe Aminosäuren auf. Sie wird dadurch verlängert, ohne dass sich die Enden der Kette verändern. In gleicher Weise kann auch die Erweiterung eines Peptidringes erfolgen.

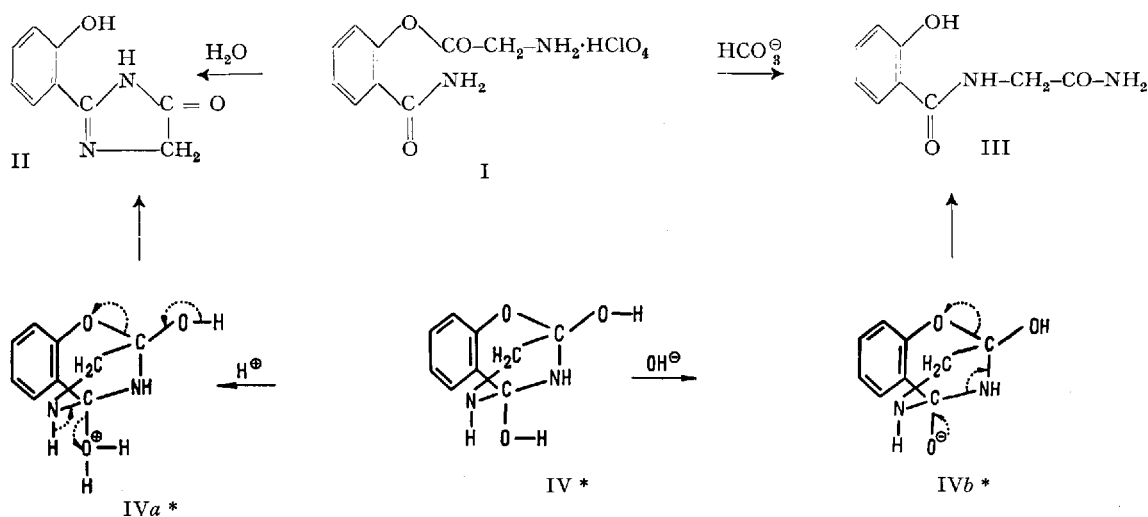
3. Die Synthesereaktion sei umkehrbar. Ein Peptid oder ein Peptidring ist dann in der Lage, über eingebauten Threonin, Serin oder Cystein Aminosäuren aus seiner Kette auszustossen.

4. Es bestehe nebeneinander die Möglichkeit der Aminosäureaufnahme und der Aminosäureabgabe. Ein Polypeptid oder ein Eiweiss kann in diesem Fall eigene Aminosäuren gegen Aminosäuren des umgebenden Mediums austauschen, ohne dass deshalb ein Öffnen der Kette notwendig wird².

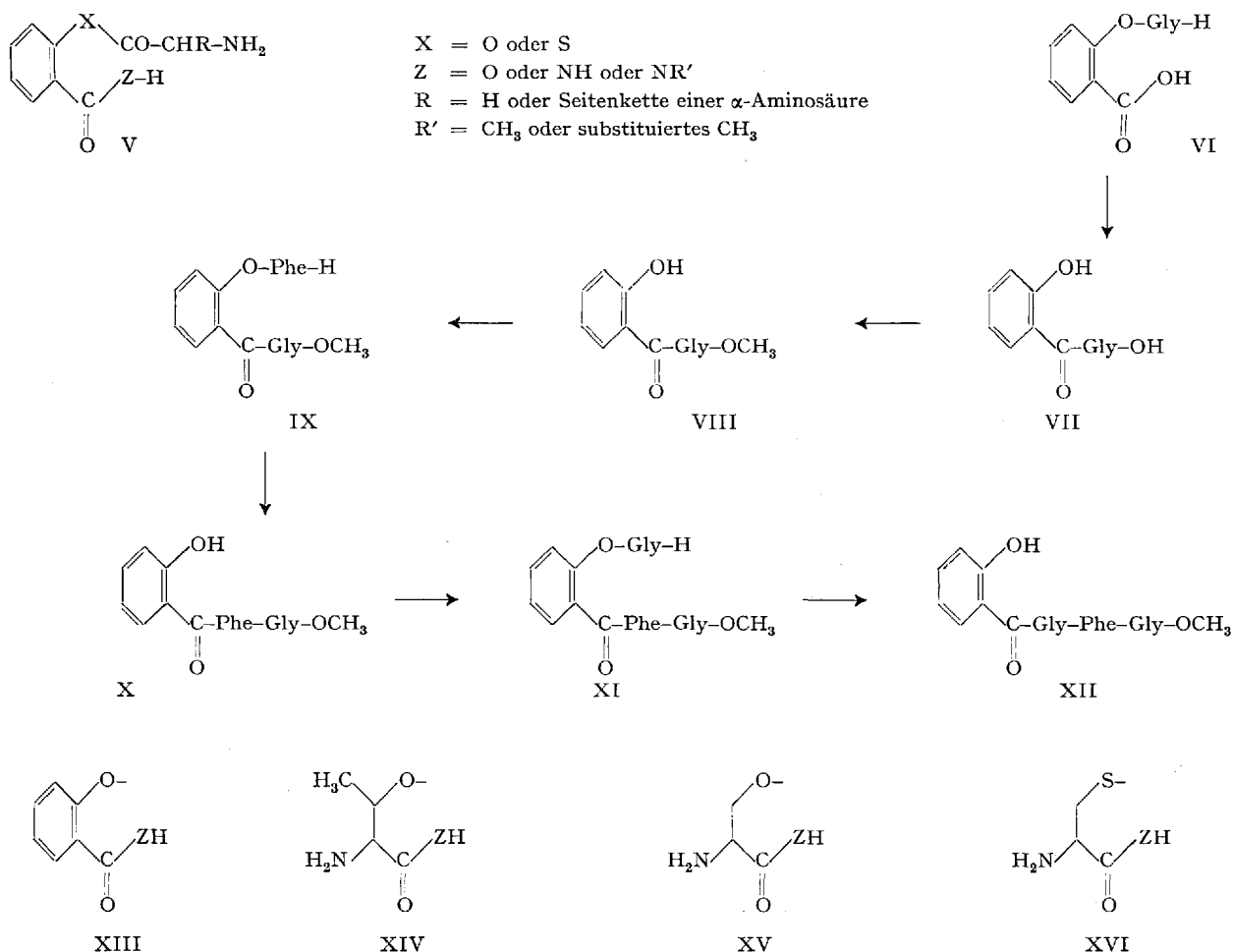
¹ Vgl. M. BRENNER, H. R. MÜLLER und R. W. PFISTER, *Helv. chim. Acta* 33, 580 (1950), Fussnote 4.

² Ein solcher Mechanismus bietet vielleicht eine Erklärung für Austauschreaktionen, wie sie zwischen markierten Aminosäuren und Eiweiss beobachtet worden sind. Vgl. H. BORSOOK, 3^e Congrès Internat. Biochimie, Bruxelles 1955, Rapports, p. 54, und E. GALE, Rapports, p. 71.

¹ Vorgetragen am XIV. Internationalen Kongress für Reine und Angewandte Chemie, 21. bis 27. Juli 1955, Zürich.



* Methylengruppe und Stickstoff des Glycolrestes liegen über der Ebene des aromatischen Ringes.



Die Umlagerung von aminoacylierten β -Oxy- bzw. β -Mercaptosäuren und ihren Amid-Derivaten eröffnet also in der Eiweisschemie grundsätzlich neue Denkmöglichkeiten und bietet damit eine Fülle von experimentellen Anregungen.

In den Helvetica chimica Acta wird ausführlich über diese Ergebnisse berichtet werden.

Zur Durchführung dieser Arbeiten standen uns Mittel aus den Arbeitsbeschäftigungskrediten des Bundes zur Verfügung, für die wir auch an dieser Stelle unseren besten Dank aussprechen. Ebenso dan-

ken wir der Firma Sandoz AG. Basel und der Stiftung für Staatsstipendien in Griechenland für die gewährte Unterstützung.

M. BRENNER, J. P. ZIMMERMANN,
J. WEHRMÜLLER, P. QUITT und
IPHIGENIA PHOTAKI.

*Organisch-Chemische Anstalt der Universität Basel, den
16. August 1955.*

Summary

In a series of model reactions, it is shown that residues of α -aminoacids may be inserted by a particular rearrangement into certain carboxyl or carbonylamido groups. Repeated insertion results in the formation of a peptide derivative. It is concluded that natural peptides or proteins must not necessarily be formed by head to tail combination of aminoacids. Other implications of the new principle are discussed.

The Effect of Ferrimyoglobin on the Oxidation of Succinic Acid by Horse Heart Muscle Preparations¹

Not much is yet known about the physiology of myoglobin. MILLIKAN² has discussed the possible functions that myoglobin may have *in vivo* and has excluded the possibility that it can act as an oxygen carrier within muscle fibre; he has considered the possibility, which is not yet demonstrated, of a catalytic action of myoglobin, which has moreover intermediate properties between those of haemoglobin and those of the oxidases; he has concluded that the myoglobin principal property should be of oxygen storage for muscle activity.

Therefore, from MILLIKAN's considerations, even accepting the prominent storage function of myoglobin, we cannot exclude other properties. Regarding haemoglobin, it has been universally demonstrated and accepted that a small part of it (1–3%) is transformed in the red cells by autooxidation into (HbOH), and afterwards reduced by glycolysis. It has also been observed by GIBSON³ that a lack of this normal mode of reduction of HbOH causes the appearance of methaemoglobinemia. If we consider that the velocity of autooxidation of myoglobin is much higher than that of haemoglobin, we can also assume that a normal enzymatic pathway should be present in the muscle for the reduction of ferrimyoglobin which could be formed in the muscle.

In these researches, the action of MbOH on two enzymatic systems of horse heart muscle has been studied. It has been observed that MbOH has no influence on the cytochrome-oxidase-system; on the contrary, the MbOH strongly inhibits the succinic oxidase system.

This inhibitory effect seems to be specific on the succinic dehydrogenase; in fact the inhibition is not removed by adding methylene blue but is completely reversed by adding KCN. This may be explained by suggesting that MbOH might oxidize SH groups of the succinic dehydrogenase; KCN may reverse the inhibitory effect by opening the S–S bridge formed after the oxidation; the succinic dehydrogenase activity is thus

immediately restored. These results obtained with Warburg apparatus are quite clear from Figure 1.

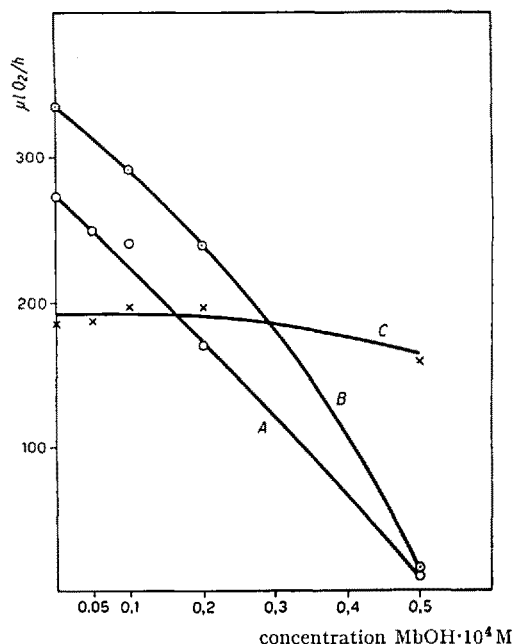


Fig. 1.—The inhibitory effect of the MbOH on the succinic oxidase and on the succinic dehydrogenase. In the center well 0.2 ml NaOH 30%; in the side arm 0.2 ml enzyme preparation and increasing amounts of MbOH; in the flask 0.2 ml Na succinate 0.4 M and phosphate buffer 0.18 M pH 7.25 up to 3 ml. Temperature 38°. Curve A enzyme + MbOH; curve B enzyme + MbOH + 0.3 ml methylene blue 0.01 M; curve C enzyme + MbOH + methylene blue + 0.2 ml KCN 0.1 M (neutralized with acetic acid).

The inhibitory effect of MbOH is not modified by adding variable and increasing amounts of cytochrome C. It is also conserved after denaturation of MbOH with NaOH. A very slight inhibition has also been observed after the addition of increasing amounts of HbOH in the same concentration of MbOH. In this case our results do not agree with those of KEILIN and HARTREE¹ who have observed a higher oxygen uptake by adding HbOH 2% to succinic oxidase system.

This inhibitor effect is immediate and gradually increases. After one hour of incubation of the enzyme in contact with MbOH, the inhibition is more than doubled. This increasing inhibition after prolonged incubation is only slightly reversed by KCN. In these experiments we have used small amounts of MbOH in order to follow the gradual increase; these amounts are calculated in 0.75 milliequivalents for ml of enzyme. The results are clearly explained in Figure 2.

In addition the inhibitory effect of MbOH does not remain long in the solutions of MbOH, and even the crystals of MbOH conserved for some months at 0° have, after dialysis, a notable decrease of inhibitory effect. The highest inhibition has been observed with MbOH solutions of recent crystallization.

The experimental conditions were as follows: horse MbOH crystallized according to ROSSI-FANELLI² has been dialyzed and used in concentration 0.3 mM; the concentration of the solution has been measured according to the De Duve's method; horse haemoglobin, crys-

¹ Aided by a grant of the Rockefeller Foundation and the Consiglio Nazionale delle Ricerche.

² G. A. MILLIKAN, *Physiol. Rev.* 19, 503 (1939).

³ Q. H. GIBSON, *Biochem. J.* 42, 14 (1948).

¹ D. KEILIN and E. F. HARTREE, *Biochem. J.* 41, 500, 503 (1947).

² A. ROSSI-FANELLI, *Haemoglobin* Butterworths Sci. Publ., 115 (1949).