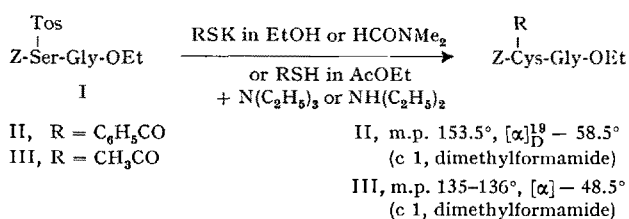


### Transformation of L-Serine to L-Cysteine

The transformation of the –OH group of a serine residue, incorporated into a peptide chain, to an –SH group of a cysteine residue would be of interest for the following reasons: (a) it would facilitate the synthesis of peptides with free –SH groups containing at the same time cystine –S–S– bridges<sup>1</sup>, and (b) it would also contribute to the study of the specific activity of enzymes containing a serine residue at or near their active site<sup>2</sup>, by converting it to a cysteine residue.



In a previous communication<sup>3</sup> we have described the transformation of O-tosyl-L-serine derivatives<sup>4</sup>, under the action of sodium salt of tritylthiocarbinol at room temperature, to the corresponding S-trityl derivatives of cysteine from which the S-trityl group would be removed under very mild conditions<sup>5</sup>. Unfortunately, during this reaction racemization occurs, which is probably due to a mechanism of  $\beta$ -elimination followed by addition.

It has now been found that the configuration is conserved when O-tosyl-L-seryl peptides<sup>3</sup> are converted to

the corresponding S-acyl-L-cysteine peptides<sup>6</sup>. The displacement reaction occurs through the action of salts of thiobenzoic or thioacetic acid on the seryl-peptides at temperatures ranging from 20–50°C. The removal of the S-acyl groups can easily be achieved by alcoholysis<sup>7</sup>.

*Zusammenfassung.* Es wird über die Umwandlung von O-Tosyl-L-seryl-Peptiden zu den entsprechenden S-Acyl-L-cysteinyl-Peptiden berichtet.

IPHIGENIA PHOTAKI and V. BARDAKOS

Laboratory of Organic Chemistry, University of Athens (Greece), January 26, 1965.

<sup>1</sup> L. ZERVAS and I. PHOTAKI, *Chimia* 14, 375 (1960).

<sup>2</sup> D. H. STRUMEYER, W. N. WHITE, and D. E. KOSHLAND JR., *Proc. Nat. Acad. Sci. US* 50, 931 (1963).

<sup>3</sup> I. PHOTAKI, *J. Am. chem. Soc.* 85, 1123 (1963).

<sup>4</sup> For the abbreviations used to denote amino acid residues and substituents see: Report of the Committee on Nomenclature, *Peptides*, Proceedings of the Fifth European Peptide Symposium, Oxford (September 1962) (Ed.: G. T. YOUNG, Pergamon Press, Oxford 1963), p. 261.

<sup>5</sup> L. ZERVAS and I. PHOTAKI, *J. Am. chem. Soc.* 84, 3887 (1962).

<sup>6</sup> L. ZERVAS, I. PHOTAKI, and N. GHELIS, *J. Am. chem. Soc.* 85, 1337 (1963).

<sup>7</sup> This investigation was supported by research grant TW 00107-01 from the National Institutes of Health, United States Public Health Service, to which we are indebted.

### Strukturspezifischer oxydativer Abbau von Peptid-Metall-Komplexen

Als Beitrag zur Untersuchung der möglichen Tertiärstrukturen von Proteinen im gelösten Zustand haben wir Versuche unternommen, die Gruppen einer Polypeptidkette, deren räumliche Nachbarschaft Koordination an ein und dasselbe Metallion ermöglicht, durch geeignete Reaktionen zu identifizieren. Die Tatsache, dass Aminosäuren nur dann durch  $\text{H}_2\text{O}_2$  oxydativ abgebaut werden, wenn sie an ein redoxaktives Metallion koordiniert sind<sup>1</sup>, sollte es erlauben, anhand der beim Abbau von Peptid-Metall-Komplexen durch  $\text{H}_2\text{O}_2$  entstehenden Bruchstücke die Tertiärstruktur des Peptid-Metall-Komplexes zu rekonstruieren (Figur 1). In der vorliegenden Arbeit berichten wir über oxydative Abbaureaktionen von Metallkomplexen des Zehnerpeptides Polymyxin B (Px, Struktur s. <sup>2</sup>), bei denen wir unter geeigneten Reaktionsbedingungen dünnschichtchromatographisch gut differenzierbare Spaltprodukte erhalten konnten.

Polymyxin B, das in neutraler wässriger Lösung als fünffach protoniertes Kation ( $\text{PxH}_5^{5+}$ ) vorliegt, bildet bei pH 8,5 bzw. 9,5 mit äquimolaren Mengen  $\text{Cu}^{2+}$  und  $\text{Ni}^{2+}$  Komplexe der Zusammensetzung  $\text{CuPxH}$  bzw.  $\text{NiPxH}$ <sup>3</sup>. Die Struktur dieser vierzähligen Chelate muss notwendigerweise mindestens einen makrocyclischen Chelatring enthalten, in welchem also das Metallion eine «Brücke» zwischen zwei, in der Aminosäuresequenz u. U. weit getrennten Aminosäuren bildet, wobei die Haftstellen teils durch Deprotonierung der  $\gamma\text{-NH}_3^+$ -Gruppen der Diamino-

buttersäure, teils durch Deprotonierung von Amidgruppen<sup>4</sup> gebildet werden. Setzt man zu diesen Komplexen einen 4–12fachen Überschuss an  $\text{H}_2\text{O}_2$  zu, so beobachtet man – nach Abstoppen der Reaktion mit Hilfe von Komplexon III und Auftrennen des Reaktionsgemisches durch DC – die in der Figur 2 wiedergegebene Aufspaltung des Peptides in Bruchstücke. In Abwesenheit eines Metallions bewirkt  $\text{H}_2\text{O}_2$  keine Degradation des Peptides; Zusatz anderer Liganden wie z. B. Oxalat oder Malonat zum

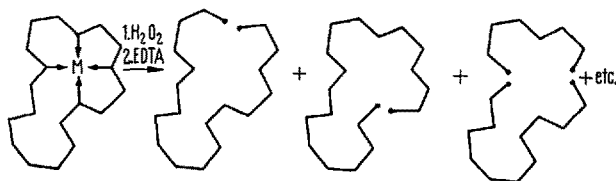


Fig. 1

<sup>1</sup> L. MACHOLAN, *Naturwiss.* 46, 357 (1959). – R. A. PHELPS, K. E. NEET, L. T. LYNN und F. W. PUTNAM, *J. biol. Chem.* 236, 96 (1961).

<sup>2</sup> T. SUZUKI, K. HAYASHI, F. FUJIKAWA und K. TSUKAMOTO, *J. Biochem., Japan* 54, 555 (1963). – K. VOGLER, R. O. STUDER, P. LANZ, W. LERGIER und E. BÖHNI, *Exper.* 20, 365 (1964).

<sup>3</sup> H. BRINTZINGER, *Helv. chim. Acta* 44, 744 (1961).

<sup>4</sup> M. K. KIM und A. E. MARTELL, *Biochemistry* 3, 1169 (1964).

Cu(II)- bzw. Ni(II)-Polymyxin-System unterdrückt die metallkatalysierte Peroxid-Abbaureaktion.

Der Abbau des Peptides durch  $H_2O_2$  erfolgt offenbar immer dann, wenn  $\cdot OH$ - oder  $\cdot OO$ -Radikale, die bei der metallkatalysierten Zerlegung von  $H_2O_2$  primär entstehen<sup>5</sup>, mit dem im katalytisch aktiven Komplex gebundenen Peptid direkt weiterreagieren können. Bei der Reaktion zwischen Cu(II)-Polymyxin und  $H_2O_2$  ist zu beobachten, dass die Lösung bereits nach etwa 10 min kein unzersetztes  $H_2O_2$  mehr enthält.

Die Ausbildung der Cu(II)- und Ni(II)-Komplexe sensibilisiert das Peptid weiterhin auch gegen die Einwirkung von UV-Strahlung: Während wässrige Lösungen von Polymyxin allein gegen 100stündige Einwirkung der

Strahlung einer 125-Watt-Hochdruck-Quecksilberdampf-lampe völlig stabil sind, tritt unter gleichen Bedingungen in Lösungen der Cu(II)- bzw. Ni(II)-Komplexe der in der Figur 2 wiedergegebene Abbau ein. Auch hier ist nicht allein Anwesenheit eines Metallions, sondern wirkliche Ausbildung des Peptidkomplexes für den Eintritt der Spaltungsreaktion notwendig: Bei pH 6, bei dem die Metallkomplexe noch nicht ausgebildet werden, sind auch metallionenhaltige Lösungen von Polymyxin gegen die UV-Bestrahlung völlig stabil.

Die Abklärung der Aminosäuresequenz der einzelnen Spaltprodukte ist im Gang. Über die Identität der Spaltstellen und über die Natur der in diesen Komplexen vorliegenden Koordinationsbindungen soll demnächst ausführlicher berichtet werden<sup>6</sup>.

**Summary.** The decapeptide polymyxine B can be split into sub-units by hydrogen peroxide or by UV-irradiation when complexed with copper(II) or nickel(II); the splitting points are probably related to the points of attachment of the metal ions.

H. ERLÉNMEYER, H. BRINTZINGER,  
H. SIGEL und H. C. CURTIUS

*Institut für Anorganische Chemie der Universität Basel  
und Laboratorium der Universitäts-Kinderklinik,  
Zürich (Schweiz), 1. April 1965.*

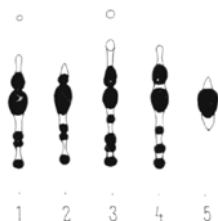


Fig. 2. Radikalische Spaltungen von Polymyxin B (Px): 1, Spaltung von CuPxH durch UV-Strahlung (100 h, 125 Watt). 2, Spaltung von NiPxH durch UV-Strahlung (100 h, 125 Watt). 3, Spaltung von CuPxH durch  $H_2O_2$  (12facher molarer Überschuss). 4, Spaltung von NiPxH durch  $H_2O_2$  (12facher molarer Überschuss). 5, Unbehandeltes Polymyxin B als Vergleich. Es wurden jeweils  $2 \mu\text{Mol}$  des Cu- bzw. Ni-Polymyxin-Komplexes, gelöst in 3,5 ml Wasser, zur Reaktion gebracht (pH 8,5 bzw. 9,3). Chromatographie unter Zusatz von Komplexon III mit Butanol-Pyridin-Eisessig-Wasser (50:20:6:24) als Fließmittel auf Kieselgel S.

<sup>5</sup> J. H. BAXENDALE, *Advances in Catalysis* 4, 31 (1952). – N. URI, *Chem. Rev.* 50, 375 (1952).

<sup>6</sup> Für die Überlassung von Substanzen und für wertvolle Ratschläge sind wir den Herren Dr. K. VÖGLER und W. LERGIER, Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel, zu Dank verpflichtet. – Dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung danken wir für Unterstützung dieser Arbeit.

## Some Additional Observations on the Chemical Nature of Neutramycin

Accurate molecular weights are generally difficult to obtain for neutral macrolide antibiotics. Both members of the class for which complete structures have appeared, chalcomycin (I)<sup>1</sup> and lankamycin (II)<sup>2</sup>, illustrate this problem, for in neither case was a reliable molecular formula available until the structure determination was far advanced. Similar difficulties have been encountered with neutramycin<sup>3</sup>. The Rast method failed, isothermal distillation gave widely divergent values (513, 551, 589, 607, 621 and 660), saponification gave non-specific decomposition, hydrogenation produced mixtures, etc. X-ray analysis gave a value of  $686 \pm 35$ . The X-ray method was less reliable than usual because the crystals were small and the resulting photographs indistinct. These problems have now been overcome by use of direct inlet mass spectroscopy, which gave a value of  $686 \pm 0$  for neutramycin<sup>4</sup> and therefore established the molecular formula as  $C_{34}H_{54}O_{14}$ . As was the case with lankamycin<sup>2</sup> microanalyses obtained under normal drying conditions<sup>3</sup> were misleading, and only after a reliable molecular weight became available was it possible to devise sufficiently vigorous drying conditions so that correct microanalytical data were obtained.

*Anal. Calcd. for  $C_{34}H_{54}O_{14}$ : C, 59.46; H, 7.93; O, 32.61. Found (dried 3 days at 56°): C, 58.78; H, 7.97; O, 32.81. Found (dried 7 days at 100°): C, 59.17; H, 8.22; O, 32.31.*

Tenacious binding of solvent could explain the unusually divergent molecular weight values obtained by isothermal distillation. In fact a value of 685 was obtained (chloroform solution) using a sample which had been dried under strenuous conditions.

The neutral antibiotics contain a variety of unusual sugars of which chalcose (III), mycinose (IV) and 4-o-acetylarcnose (V) have been characterized structurally. It has now been found that methanolysis of neutramycin produces two methyl glycosides and that these are identical with methyl chalcose and methyl mycinose (microanalysis, infrared, nmr, optical rotation, melting

<sup>1</sup> P. W. K. WOO, H. W. DION, and Q. R. BARTZ, *J. Am. chem. Soc.* 86, 2726 (1964).

<sup>2</sup> W. KELLER-SCHIERLEIN and G. RONCARI, *Helv. chim. Acta* 47, 78 (1964).

<sup>3</sup> D. V. LEFEMINE, F. BARBATSCHI, M. DANN, S. O. THOMAS, M. P. KUNSTMANN, L. A. MITSCHER, and N. BOHONOS, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (1963), p. 41.

<sup>4</sup> Professor K. L. RINEHART, private communication.