

Durch Aufnahme des UV-Spektrums bei -185°C erhielten wir eine Aufspaltung des breiten Maximums bei 363 nm in 3 Maxima bei 351 , 369 und 390 nm , die für die Absorption eines Polyens charakteristisch sind und formal 6 konjugierten Doppelbindungen entsprechen (Figur).

Der gleiche Effekt war erstmals bei der Dodekapeptätsäure beobachtet worden⁶. Nach Reduktion des Flavomycoins mit Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran-Pyridin bei -20°C zeigte das Reduktionsprodukt ein typisches Pentaen-Absorptionsspektrum mit Maxima bei 320 , 337 und 355 nm ⁷. Da andererseits bei der Reaktion mit Natriumborhydrid keine Veränderung des UV-Spektrums eintrat und weder Carboxyl- noch Estergruppierungen im Flavomycoin nachgewiesen wurden, folgt, dass der Pentaenchromophor mit der Laktone-carbonylgruppe des Grossringsystems in Konjugation

steht. Zu gleichen Schlussfolgerungen gelangten WASSERMAN et al.¹ bei der Untersuchung der um 5 bzw. 4 C-Atome ärmeren Mycoticine A und B.

Des weiteren erhielten wir bei der Messung der UV-Absorption des Flavofungins bei tiefer Temperatur sowie nach Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid analoge Ergebnisse wie bei Flavomycoin, so dass auch für Flavofungin eine Konjugation des Pentaens mit der Laktone-carbonylgruppe anzunehmen ist.

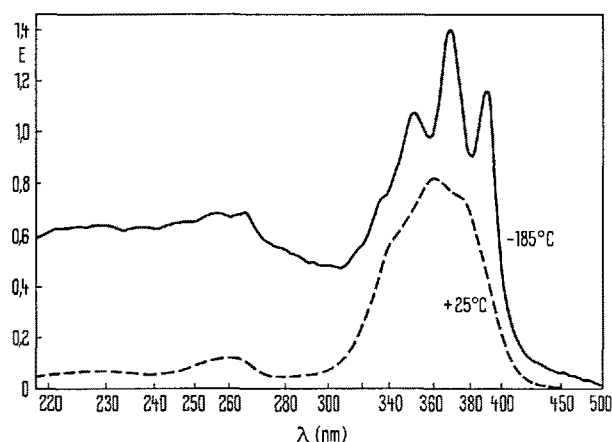
Somit wird durch die Antibiotika Mycoticin A und B, Flavofungin und Flavomycoin ein neuer Typ innerhalb der Polyenantibiotika repräsentiert, der durch die Aufnahme der UV-Spektren bei der Temperatur der flüssigen Luft leicht erkannt werden kann.

Über die weiteren Untersuchungen der Struktur des Flavomycoins sowie seine Bildung und Isolierung wird an anderer Stelle berichtet.

Summary. A new antifungal polyene antibiotic flavomycoine is described. By structural investigations it was shown that this antibiotic belongs to a new type of polyene antibiotics in which the pentaene chromophore is conjugated to the lactone carbonyl group.

R. SCHLEGEL und H. THURM

Institut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Jena (DDR), 6. Juli 1967.



UV-Absorption von Flavomycoin in Methanol/Äthanol (70:30) bei $+25^{\circ}\text{C}$ (----) und -185°C (—). Konzentration: $9,48\text{ }\mu\text{g/ml}$ Schichtdicke: 1 cm .

⁶ K. W. HAUSER, R. KUHN und G. SEITZ, Z. phys. Chemie, Abt. B, 29, 391 (1935).

⁷ W. OROSHNIK und A. D. MEBANE, Fortschr. Chem. org. Natstoffe, 21, 56 (1963).

⁸ Dozent Dr. J. URI, Pharmakologisches Universitätsinstitut Debrecen (Ungarn) danken wir für die freundliche Überlassung einer Probe Flavofungin.

⁹ Für die Durchführung der Wirksamkeitsbestimmungen sind wir Dipl.-Biol. R. FÜGNER und Dr. G. BRADLER zu Dank verpflichtet.

Gamma-hydroxybutyric Acid and Sleep

Gamma-hydroxybutyric acid (GHBA) induces sleep in a number of animals and man¹.

Although GHBA is structurally related to the central inhibitory substance, γ -aminobutyric acid (GABA), no evidence exists for the interconversion in vivo of these 2 compounds. Thus, despite the occurrence of GABA in the brain in a fairly high concentration, no endogenous GHBA has been detected². Also, administration of hypnotic dose of GHBA to mice and rats does not elevate the GABA level in the brain³. Thus, it can be concluded that GHBA-induced sleep is not a result of the accumulation of GABA in the brain.

The purpose of this communication is to report that despite the lack of elevation of the brain GABA level after GHBA administration, the latter is converted to the former without involving glutamic acid.

GHBA-1- C^{14} was incubated with rat brain homogenates and GABA, glutamine, and glutamic acid were separated by the method of BERL et al.⁴. The amino acids were counted using a Nuclear-Chicago scintillation spectrometer at an efficiency of 53%. As shown in Table I, the

specific activity of the isolated GABA was several folds higher than that of glutamic acid. Incubation of C^{14} -labelled glutamic acid or pyruvic acid under similar conditions always yielded GABA with specific activity lower than that of glutamic acid.

Moreover, incubation in the presence of 10^{-3} M semicarbazide, a glutamic acid decarboxylase inhibitor, re-

¹ H. LABORIT, Int. J. Neuropharmac. 3, 433 (1964).

² N. J. GIARMAN and R. H. ROTH, Science 145, 583 (1964). This paper refutes the claim of BESSMAN and FISHBEIN (Nature 200, 1207, 1963) that GHBA and its lactone are normal brain metabolites.

³ N. J. GIARMAN and K. F. SCHMIDT, Br. J. Pharmac. 20, 563 (1963). Although WOLLEMAN (Agressologie 4, 593, 1963) and PIETRA et al. (Nature 210, 733, 1966) reported observing a net increase in the GABA content of the brain after GHBA injection, we could not confirm these findings, regardless of when the animal was assayed after GHBA injection.

⁴ S. BERL, A. LAJTHA and H. WAELSCH, J. Neurochem. 7, 186 (1961).

Table I. Conversion of labelled GHBA, glutamic acid, and pyruvic acid to GABA

Compound incubated ^b	Isolated compounds (cpm/ μ mole) ^a		
	Glutamic acid	GABA	GABA/glutamic acid
GHBA-1-C ¹⁴ 4 μ c, 5.4 μ moles	1,764	10,988	6.2
Glutamic acid-U-C ¹⁴ 2 μ c, 0.02 μ mole	165,305	32,345	0.2
Pyruvic acid-2-C ¹⁴ 2 μ c, 0.32 μ mole	109,305	77,656	0.7

^a Values are averages of triplicate runs. ^b Brain homogenates were prepared by grinding 1 part of male Sprague-Dawley rat brain in 2 parts of 0.1 M, pH 7.4 phosphate buffer. Incubation was carried out for 1 h in a Dubnoff metabolic shaker at 37°C. The incubation mixture consisted of 2 ml of homogenate, 2 mg of glucose, and labelled substrate in a final volume of 3.1 ml. Labelled GHBA was separated from amino acids by passing the deproteinized reaction mixture through a Dowex-50 column (3 $\times$ 1.3 cm) and rinsing the column with 300 μ moles of unlabelled GHBA and 20 ml of water before eluting the amino acids.

Table II. Comparison of brain glucose level

Compound injected	Time of sacrifice	Glucose level μ g/g brain ^a
Saline	immediately	91 $\pm$ 39
GHBA (500 mg/kg)	75 min	198 $\pm$ 49
GHBA	approx. 2 h	145 $\pm$ 34
GHBA + insulin ^b	approx. 2 h	77 $\pm$ 20

^a Values are averages from 5 rat brains each. ^b Insulin was injected i.p. 75 min after GHBA administration. The rats were killed approx. 2 h after GHBA injection.

sulted in less radioactivity being incorporated into GABA when labelled glutamic or pyruvic acid was the substrate whereas no such decrease in the radioactivity of GABA was observed when GHBA was the labelled substrate. These data indicate that GHBA is converted directly to GABA by the brain homogenate without going through glutamic acid. The implication of this finding to the phenomenon of GHBA-induced sleep is not clear at present.

In another series of experiments, we were unable to obtain data to confirm the speculation of LABORIT¹ that GHBA oriented the metabolism of glucose-6-phosphate toward the hexose monophosphate shunt pathway. The role, if any, of glucose in the induction of sleep by GHBA is obscure. LABORIT reported that supplementing a sub-threshold dose of GHBA with insulin induced sleep in the rat. In our experiments, insulin (0.5 mg/kg, i.p.) given to rats during GHBA-induced (500 mg/kg, i.p.) sleep prolonged the sleeping time from approximately 2 h to 2.5 to 3 h. However, the glucose level in the brain bore no direct relationship to the state of sleep since as shown in Table II, the glucose level was elevated after GHBA administration and the level was brought down to the control level when GHBA and insulin were administered, although in both cases the animals were asleep. The hyperglycemic action of GHBA had been reported by FLEMING and LACOURT^{5,6}.

Zusammenfassung. Nachweis der enzymatischen Umwandlung von γ -Hydroxyl-Buttersäure in γ -Amino-Buttersäure im Gehirn.

CH. MITOMA and SUSANNA E. NEUBAUER

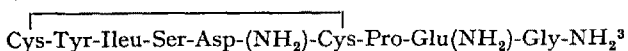
Life Sciences Division, Stanford Research Institute, Menlo Park (California 94025, USA), 24 July 1967.

⁵ M. C. FLEMING and S. LACOURT, *Biochem. Pharmac.* **14**, 1907 (1965).

⁶ This investigation was supported by Public Health Service grant No. 5-SO1-FR-05522-04.

Über Peptidsynthesen, XLIV. Synthese von Ser⁴-Glu(NH₂)⁸-Oxytocin (Glumitocin)¹

Von ACHER et al.² wurde über die Isolierung eines Oxytocin-Analogen, des Glumitocin aus den Hypophysen von Knorpelfischen (*Raia clavata*) berichtet und die Struktur



vorgeschlagen. Wir haben dieses Nonapeptid synthetisiert (vgl. Reaktionsschema). Nach den analytischen Daten (Papierchromatographie, Elektrophorese und Aminosäureanalyse) sowie seiner oxytocischen Wirksamkeit erwies sich dieses synthetische Präparat mit dem natürlichen Hormon als identisch⁴.

Die Synthese verlief über folgende Zwischenstufen: H-Gly-NH₂ · HBr⁵ (aus Z-Gly-OH und Ammoniak in Chloroform nach der Anhydrid-Methode und Behandlung mit HBr/Eisessig) wurde nach Freisetzen mit Triäthylamin mit Z-Glu(NH₂)-OCP⁶ in DMF kondensiert. Das erhaltene Z-Glu(NH₂)-Gly-NH₂ [Ausbeute: 81%; Schmp.

198–199° (wässriges Äthanol); $[\alpha]_D^{25} = -16,2^\circ$ (c = 0,5; 50%iges wässriges Äthanol); C₁₅H₂₀N₄O₅ (336,3); Ber. C 53,57, H 5,99, N 16,66; Gef. C 53,76, H 6,00, N 16,70] wurde in 50%igem wässrigem Äthanol über Pd-Mohr hy-

¹ Über Peptidsynthesen XLIII. Mitteilung, E. KLIEGER, *Experientia* **23**, 620 (1967).

² R. ACHER, J. CHAUVET, M. T. CHAUVET und D. CREPY, *Biochim. biophys. Acta* **107**, 393 (1965).

³ Alle Aminosäuren, mit Ausnahme von Glycin, haben L-Konfiguration. Abkürzungen nach dem «Report of the Committee on Nomenclature» in *Peptides* (Proc. 5th European Symposium, Oxford 1962, Pergamon Press 1963), p. 261.

⁴ Die diesbezüglichen Untersuchungen wurden von Prof. R. ACHER, Laboratoire de Chimie Biologique, Faculté des Sciences, Paris durchgeführt, dem wir bestens dafür danken.

⁵ M. BODANSZKY, M. A. ONDETTI, C. A. BIRKHIMER und P. L. THOMAS, *J. Am. chem. Soc.* **86**, 4452 (1964).

⁶ J. PLESS und R. A. BOISSONNAS, *Helv. chim. Acta* **46**, 1609 (1963).