

WOHL avait déjà montré que le N-bromo-acétamide attaque facilement ce dernier corps en engendrant  $\text{BrH}$  et  $\text{CO}_2$ .

Ng. Ph. BUU-HOÏ

Laboratoire de chimie organique de l'Ecole polytechnique, Paris, le 1er juin 1946.

### Zusammenfassung

Die Einwirkung von N-bromierten Amiden auf Äthylenketone wurde erforscht. Im Fall von  $\alpha$ -Äthylenketonen wurden Substitutionsprodukte erhalten, die zu einem bisher kaum beachteten Substanzenbereich gehören. Der Mechanismus der Bromierung von Äthylenaldehyden wurde diskutiert.

### Contribution

#### à l'étude de l'acide chondroïtine-sulfurique

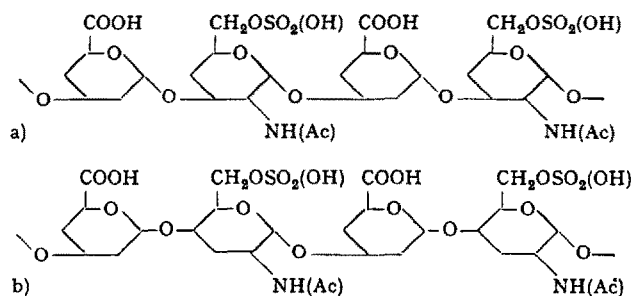
En 1913, LEVENE<sup>1</sup> et coll. proposent pour l'acide chondroïtine-sulfurique la formule d'un tétrasaccharide symétrique non-réducteur composé de deux restes d'acide glucuronique et de deux restes de 6-sulfate de N-acétyl-galactosamine. A partir de 1944, des doutes commencent à être émis quant à cette formule, et BRAY, GREGORY et STACEY<sup>2</sup>, se basant sur des produits d'hydrolyse de l'acide chondroïtine-sulfurique partiellement dégradé puis méthylé, concluent que le produit a un degré de polymérisation beaucoup plus élevé que celui prévu par LEVENE et que la molécule est fortement ramifiée. BLIX et SNELLMANN<sup>3</sup>, en 1945, par une extraction au moyen d'une solution aqueuse de chlorure de calcium, obtiennent avec un rendement minime un produit auquel ils attribuent un poids moléculaire de 200 000 à 300 000. En solution alcaline, ce produit est rapidement transformé en un composé de poids moléculaire beaucoup plus petit et semblable à celui que nous allons décrire. Nous croyons par conséquent qu'il se compose d'aggrégats polymoléculaires contenant peut-être encore des traces de protéines.

Afin d'extraire la plus grande partie du polysaccharide dans les conditions les plus douces possibles, nous avons traité des cartilages nasaux de porcs par la soude caustique aqueuse à froid (2% NaOH,  $t = 5$  degrés C) et éliminé les protéines par précipitation à froid au  $p_H$  4,2 avec l'acide picrique, puis, pour finir, en secouant la solution aqueuse neutralisée avec du chloroforme et de l'alcool amylique, jusqu'à disparition des gels de protéines (procédé SEVAG<sup>4</sup>). Nous avons ainsi obtenu, après purification par dialyse et précipitations à l'alcool éthylique en présence d'électrolyte (NaCl), avec un rendement de environ 20% par rapport au cartilage traité, un produit contenant 2,8 à 2,9% N, 6,3 à 6,5% S, 1,1% Ca, 7,1% Na, ce qui correspond à la formule d'un polysaccharide composé d'un nombre égal de restes d'acide glucuronique et de 6-sulfate de N-acétyl-galactosamine. Sa viscosité limite (lim  $\eta$  spéc/c) était de 0,8, ce qui parle en faveur d'un produit non-ramifié de poids moléculaire compris entre 10 000 et

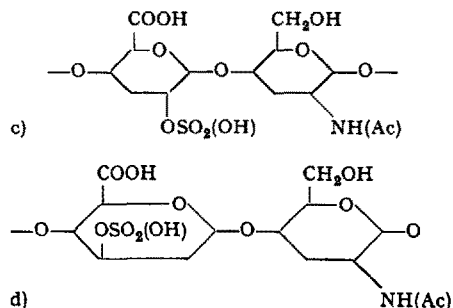
50 000, ou d'un produit ramifié à poids moléculaire beaucoup plus élevé<sup>1</sup>.

Son pouvoir réducteur a été dosé selon LINDERSTRÖMLAND-HOLTER<sup>2</sup> (oxydation à l'hypoiodite de sodium au  $p_H$  10,5). Il fallait en moyenne 1,58 cm<sup>3</sup> d'une solution d'iode N/25 pour oxyder 1 g du polysaccharide, ce qui correspondrait pour ce dernier à un poids moléculaire de 31 600, soit à environ 65,5 fois le poids d'une période ou 131 restes d'hexoses. En comparant ce résultat avec la viscosité limite, il semble bien que le produit ne soit pas ramifié.

Ensuite, nous avons étudié l'action de l'acide périodique sur le polysaccharide (réaction de MALAPRADE<sup>3</sup>) à un  $p_H$  maintenu entre 4,2 et 4,4 par un tampon à l'acétate de sodium. La consommation en acide périodique M/80 était de 3,38 cm<sup>3</sup> par gramme de substance pour un produit de poids moléculaire moyen de 25 200 (déterminé comme ci-dessus). Donc seulement 4,25 molécules d'acide périodique avaient été réduites en moyenne pour toute la chaîne. Il ressort de cela que seules les extrémités des chaînes sont oxydées et non pas les chaînons internes. Par conséquent le groupe  $-\text{OH}$  de la position 3— du reste d'acide glucuronique ne peut être libre, et l'un des deux modes de liaison s'impose, une structure furanose étant fort peu probable, car BRAY<sup>4</sup> et coll. ont toujours obtenu, après méthylation et scission hydrolytique du produit méthylé, des hexoses méthylées en position 4—.



On pourrait toutefois envisager que le reste sulfurique soit la cause de cette non-agression interne et proposer l'une des deux formules suivantes:



Mais nous avons observé qu'un produit dont environ 10% des restes sulfuriques avaient été scindés au cours de l'extraction alcaline ne consommait pas plus de 4,25 molécules d'acide périodique par chaîne, ce qui exclut cette hypothèse.

<sup>1</sup> P. A. LEVENE, F. B. LA FORGE, J. biol. Chem. 15, 72, 157 (1913); 18, 238 (1914). — P. A. LEVENE, J. biol. Chem. 140, 267 (1941).

<sup>2</sup> H. G. BRAY, J. E. GREGORY, M. STACEY, Biochem. J. 38, 142—146 (1944).

<sup>3</sup> G. BLIX, O. SNELLMANN, Arkiv för Kemi, Mineralogi och Geologi 19 A., n° 32 (1945).

<sup>4</sup> M. SEVAG, Bioch. Z. 273, 419 (1934).

<sup>1</sup> K.-H. MEYER, « Die hochpolymeren Verbindungen », tableau p. 26, Leipzig 1940.

<sup>2</sup> K. LINDERSTRÖMLAND-H. HOLTER, Ann. Chim. anal. 1934, 116.

<sup>3</sup> L. MALAPRADE, Bull. Soc. Chim. 43, 683 (1928).

<sup>4</sup> H. G. BRAY, J. E. GREGORY, M. STACEY, Biochem. J. 38, 142—146 (1944).

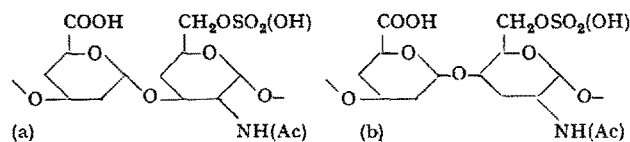
Si nous supposons pour la chaîne un reste initial réducteur d'acide glucuronique, ce dernier consommerait deux molécules d'acide périodique, alors qu'un reste initial de 6-sulfate de N-acétyl-galactosamine en consommerait de 0 à 1, suivant son mode de liaison (cf. formules a et b). Un groupe terminal non-réducteur consommerait 2 molécules d'acide périodique, s'il était formé d'un reste d'acide glucuronique, et une molécule, s'il était formé d'un reste de 6-sulfate de N-acétyl-galactosamine, la réduction totale maximum prévue pour une chaîne non-ramifiée serait de 4 molécules d'acide périodique, ce qui coïncide avec notre résultat expérimental. Le produit n'est donc pas ramifié, contrairement à l'avis de BRAY, GREGORY et STACEY<sup>1</sup>.

K.-H. MEYER et M. ODIER

Laboratoire de Chimie inorganique et organique de l'Université de Genève, le 8 juin 1946.

#### Summary

It is found that chondroitinsulfuric acid is composed of unbranched chain-molecules containing rests of glucuronic acid and N-acetyl-galactosamine-6-sulfate combined in one of the following manners (a) or (b):



<sup>1</sup> BRAY, GREGORY, STACEY, *Biochem. J.* 38, 142—146 (1944).

### Les besoins en facteurs de croissance de *Mucor Ramannianus* var. *angulisporus* Naoumoff

Les recherches de SCHOPFER (1934), MÜLLER et SCHOPFER<sup>1</sup> et MÜLLER (1941) ont prouvé que *Mucor Ramannianus* est auxo-hétérotrophe pour l'aneurine, ou plus exactement pour l'un de ses constituants, le thiazol. Avec *Rhodotorula rubra*, auxo-hétérotrophe pour la pyrimidine, *M. Ramannianus* forme une symbiose artificielle, chacun de ces deux organismes retirant du métabolisme de l'autre le facteur de croissance nécessaire à son développement, et dont le besoin est déterminé par une perte partielle de pouvoir de synthèse.

On connaît de *M. Ramannianus* une variété *angulisporus* Naoumoff différant de l'espèce type par ses spores sphéro-anguleuses et quelques caractères culturels. Cultivée sur le même milieu et dans les mêmes conditions que l'espèce type (milieu de Coon modifié), la variété se révèle *auxo-autotrophe* pour l'aneurine. Les cultures contrôles attestent le même développement que celles avec vitamine B<sub>1</sub>.

	$\gamma$ B <sub>1</sub> /25 cm <sup>3</sup>				
	0,01	0,1	1	0	
<i>Mucor Ramannianus</i>	3,3	11,3	111	0,8	mg/thalle (moyenne de 18 cultures)
<i>Mucor angulisp.</i> Naoumoff . .	48,2	48,7	47,1	49,9	

<sup>1</sup> W. F. MÜLLER et W. H. SCHOPFER, *C. r. Acad. Sci. Paris* 205, 687 (1937).

Il est à remarquer que le poids moyen obtenu après 30 jours de croissance est de 60 à 70 % plus bas que celui fourni par *M. Ramannianus* en présence de la dose optimale d'aneurine. Il ne semble donc pas que cette auxo-autotrophie soit complète. Son degré reste à déterminer. Cette caractéristique est indépendante de la composition du milieu et semble constituer un caractère physiologique spécifique de la variété. La substitution du citrate d'ammonium à l'asparagine comme source azotée ne semble pas avoir d'influence chez la variété *angulisporus* alors qu'il avait été constaté que le citrate provoquait chez *M. Ramannianus* une amélioration de la croissance d'environ 20 %.

Connaissant l'auxo-autotrophie de *M. angulisporus*, il était intéressant d'observer le comportement de cet organisme en présence de *Rhodotorula rubra*. Il était à prévoir que cette Mucorinée n'aurait pas besoin de l'autre partenaire pour son développement mais que *Rhodotorula* par contre serait dépendant de *M. angulisporus* NAOUMOFF, ce qui fut confirmé par l'expérience. Une légère stimulation dans la croissance de *M. angulisporus* par la présence de cette levure n'est toutefois pas exclue. Il s'agit cependant d'un cas de stimulation unilatérale et non plus d'une symbiose artificielle.

Alors qu'une assez forte croissance (surtout *Mucor*) était déjà perceptible après 5 jours dans les cultures contenant *M. angulisporus* + *Rhodotorula*, *M. Ramannianus* + *Rhodotorula* ne montraient qu'un très faible développement après la même période.

On retrouve ici le cas singulier d'une variété dont le pouvoir de synthèse est différent de celle de l'espèce type, démontrant une fois de plus que l'auxo-hétérotrophie est indépendante de la position systématique de l'organisme. Les besoins en facteurs de croissance de la variété *angulisporus* seront étudiés plus en détails.

F. P. DEBRIT et W. H. SCHOPFER

Institut botanique, Berne, le 20 juillet 1946.

#### Summary

*Mucor Ramannianus* is auxo-heterotrophic for the thiazol of aneurine. The var. *angulisporus* is auxo-autotrophic.

### Untersuchungen über Wachstumsfaktoren für *Candida Reukaufii*

*Candida Reukaufii* (GRÜSS) DIDDENS und LODDER (*Anthomyces Reukaufii* GRÜSS, 1918, *Nectaromyces Reukaufii* [GRÜSS] H. u. P. SYDOW, 1918, *Nectaromyces cruciatus* SCHOELLHORN, 1919) bildet auf festem Nährboden einen gefalteten, gelblichen und weichen Überzug mit gelapptem Rand.

SCHOPFER<sup>1</sup> zeigte, daß *Candida Reukaufii* auxo-heterotroph ist. Sie wächst nicht ohne Vitamine. Biotine (Vitamine H) ist unerläßlicher Faktor, « facteur essentiel », Aneurin ist Ergänzungsfaktor, « facteur complémentaire », allein ohne Wirkung, aber zusammen mit Biotin einen Synergismus gebend.

Auf Anregung von Prof. SCHOPFER habe ich seine Angaben bestätigt und die Untersuchungen weitergeführt.

<sup>1</sup> W. H. SCHOPFER et Mlle M. GUILLOUD, *Actes de la Société helvétique des Sciences naturelles* 171/172 (1945).