

A few trials were carried out, in collaboration with Mlle ANNETTE PREVOT of the Institut de Chimie Physique, to see if it were possible to reactivate an enzyme preparation under the influence of X-rays which could conceivably cause reduction of SS groups by free radicals. The overall effect of X-irradiation on SH enzymes has been shown by BARRON *et al.*<sup>1</sup> to result in inactivation due to oxidation of the SH groups by free radicals; following irradiation, activity can be partially restored by means of a reducing agent. To eliminate the effect of oxidation, tests were conducted on an old spontaneously oxidized sample of enzyme which still retained an appreciable number of reducible SS groups (as shown by the appearance of enzymatic activity in the presence of cysteine). No measurable activity could be detected, however, following irradiation with increasing doses up to several thousand roentgens. The inference is, therefore, that reduction of SS groups by free radicals does not take place or, if it does, that it is immediately reversed by oxidation. This result, incidentally, is in accord with the recent findings of BARRON and FLOOD<sup>2</sup> in regard to the X-irradiation of thiols; and would appear to indicate that oxidation, rather than reduction, by free radicals is the more important physiological result of irradiation by X-rays.

Full experimental details of the photoreactivation process will be presented in a forthcoming publication on the ultra-violet irradiation of triosephosphate dehydrogenase.

I should like to express my thanks to Mr. B. CHALOPIN for assistance with the ultracentrifugations, to Miss. B. TCHOUBAR for advice and assistance in the preparation of the glyceraldehyde phosphate and to Dr. DOROTHY N. NEEDHAM, F.R.S., for a sample of purified lactic dehydrogenase.

Note added December 12, 1950: Of interest in relation to the above results is an experiment reported by Calcutt (G. CALCUTT, *Nature*, **166**, 443 [1950]), following the writing of this report. Cultures of *Paramecium bursaria*, submitted to the action of SH inhibitors, were found to be killed more rapidly when exposed to light from a mercury arc emitting radiations above 3300 Å. The results lead the author to the conclusion that "radiation with wave-lengths greater than 3300 Å. causes an increased exposure of intra-cellular sulphhydryl groups".

DAVID SHUGAR

Institute of Physical-chemical Biology, Faculty of Sciences, Paris<sup>3</sup>, June 15, 1950.

#### Résumé

On a constaté que le coenzyme (DPN) lié à la triosephosphate déshydrogénase reste lié après réduction. L'irradiation du complexe (enzyme)-(coenzyme réduit) dans l'ultra-violet proche réactive partiellement l'enzyme. Le mécanisme du phénomène est discuté et les résultats de quelques expériences d'irradiation par les rayons X sont donnés.

<sup>1</sup> E. S. G. BARRON *et al.*, *J. Gen. Physiol.* **32**, 537 (1949).

<sup>2</sup> E. S. G. BARRON and V. FLOOD, *J. Gen. Physiol.* **33**, 229 (1950).

<sup>3</sup> Present address: Laboratoire de Morphologie animale, Université libre de Bruxelles.

logie und Derivate dieses Chemotherapeutikums synthetisiert und auf ihre tuberkulostatische Wirkung geprüft worden. Trotz der großen Zahl dieser Versuche wurden bisher die mit PAS erhaltenen Resultate nicht übertroffen, wiewohl PAS den Nachteil aufweist, aus dem Organismus sehr rasch ausgeschieden zu werden. Es kann daher ein Präparat klinisch interessant sein, wenn es zwar PAS in der tuberkulostatischen Wirkung nicht oder nur wenig übertrifft, jedoch infolge günstiger Ausscheidungsverhältnisse die im Körper notwendige Blutkonzentration mit kleinen Mengen erhalten wird. Besonders aussichtsreich schienen PAS-Derivate zu sein, bei denen PAS mit Substanzen kombiniert ist, die selbst eine tuberkulostatische Wirkung aufweisen. Bekanntlich haben zahlreiche Autoren auf die günstige Wirkung einer Kombinationstherapie hingewiesen. Die Arbeiten von RIST<sup>1</sup>, MÖSCHLIN<sup>2</sup> und HEILMEYER<sup>3</sup> haben gezeigt, daß bei gleichzeitiger Verabreichung von PAS und Streptomycin beziehungsweise Sulfonen oder Thiosemicarbazonen ein verstärkter therapeutischer Effekt erzielt wird. Es wurde untersucht, ob auch die Kombination von PAS mit dem zur Therapie der Tuberkulose früher vorgeschlagenen Chaulmoograöl bzw. Chaulmoograsäurederivaten günstigere Resultate ergibt, wie dies schon von WILDBOLZ<sup>4</sup> für die Kombination von Streptomycin und Moogrol gezeigt wurde. Es wurde festgestellt, daß schon die halbe Menge PAS, unter Zusatz von Chaulmoograöl bzw. Chaulmoograsäure oder gewissen Substanzen mit einem Zyklopentenylrest, die gleiche tuberkulostatische Grenzkonzentration ergibt, wie sie für das PAS bestimmt wurde, obwohl die Wirksamkeit dieser Substanzen bedeutend geringer ist als diejenige von PAS.

Nach WAGNER-JAUREGG<sup>5</sup> kommt für die Wirkung der Chaulmoograsäure dem im Molekül enthaltenen Zyklopentenylkern wesentliche Bedeutung zu. Es wurden deshalb einige PAS-Derivate, welche den Zyklopentenylrest enthalten, synthetisiert und in die Versuche einbezogen. Entgegen den Beobachtungen von LEHMANN<sup>6</sup>, wonach die tuberkulostatische Wirkung durch Azylierung der Aminogruppe abgeschwächt wird, wurde gefunden, daß gewisse PAS-Derivate, die einen Zyklopentenylrest enthalten, bei *in-vitro*-Versuchen gar keine Abschwächung der tuberkulostatischen Wirkung zeigen. Auch die Ausscheidungsverhältnisse scheinen für einige dieser Substanzen günstiger zu liegen, indem z. B. die Präparate Nr. 612 und Nr. 622 nach oraler Applikation beim Kaninchen eine höhere und länger dauernde Blutkonzentration ergeben.

Die Wachstumsversuche von Tuberkelbazillen wurden sowohl nach der Oberflächenwachstums-Methode, wie sie von LEHMANN<sup>6</sup> und BLOCH<sup>7</sup> verwendet wurde, als auch nach der Tiefenwachstums-Methode nach SOLOMIDÈS<sup>8</sup> vorgenommen. Dabei zeigte sich, daß man im SAUTON-Milieu nach SOLOMIDÈS im *in-vitro*-Versuch verlässlichere Resultate erhält, als mit den Oberflächenkulturen. In den Tabellen haben wir denn auch nur die

<sup>1</sup> N. RIST, *Ann. Inst. Pasteur* **77**, 680 (1949); *Schweiz. Med. Wschr.* **78**, 224 (1948).

<sup>2</sup> S. MÖSCHLIN und B. DEMIRAL, *Schweiz. Med. Wschr.* **80**, 373 (1950).

<sup>3</sup> L. HEILMEYER, *Klin. Wschr.* **27**, 717 (1949).

<sup>4</sup> E. WILDBOLZ, *Klinische Demonstration vor dem Bezirksverein Bern* (18. November 1948).

<sup>5</sup> TH. WAGNER-JAUREGG, *Z. Hyg.* **124**, 311 (1942).

<sup>6</sup> J. LEHMANN, *Lancet* **250**, 14 (1946).

<sup>7</sup> H. BLOCH, G. BRUBACHER, H. ERLENMEYER und E. SUTER, *Helv. chim. acta* **30**, 539, 2058 (1947).

<sup>8</sup> J. SOLOMIDÈS, *Ann. Inst. Pasteur* **76**, 371 (1949).

#### Über die tuberkulostatische Wirksamkeit einiger Derivate der para-Aminosalizylsäure

Seit der Einführung der para-Aminosalizylsäure (PAS) in die Therapie sind zahlreiche Isomere, Homo-

Tabelle I

Kombination	Molare Verdünnung, die Wachstumshemmung bei Tb-Stamm H 37 rv bewirkt (nach SOLOMIDÈS)
PAS (allein) . . . . .	900000-1000000
½ PAS + ½ Ol. Hydnocarpi. . . . .	900000-1000000
½ PAS + ½ Zyklopentenylessigsäureäthylester . . . . .	1-2000000
½ PAS + ½ Hydnochaulsäureäthylester . . . . .	900000-1000000
½ PAS + ½ Chaulmoograsäureäthylester . . . . .	800000- 900000

Verdünnungen, welche auf SAUTON-Nährmilieu nach SOLOMIDÈS-Wachstumshemmung bewirken, aufgeführt. Zur Versuchsanordnung wurde SAUTON-Nährmilieu in Reagensröhren abgefüllt, Pferdeserum ( $1/50$ ) zugesetzt und die in Alkohol gelösten Tuberculostatica in

Verdünnungen von 1:5000 bis 1:5000000 molar zugegeben. Hernach wurden die Röhren mit einer gleichen Menge einer Tuberkelbazillen-Aufschwemmung des Stammes H 37 rv beschickt. Nach 14-tägiger Bebrütung wurden die molaren Verdünnungen festgestellt, bei denen die Tuberkelbazillen kein Wachstum mehr zeigten.

Die Darstellung der Substanzen erfolgte nach bekannten Methoden. Die für die Charakterisierung angegebenen Schmelzpunkte sind unkorrigiert, wobei zu beachten ist, daß PAS-Derivate sich bei Schmelzpunkttemperatur zersetzen.

Die Resultate sind in den Tabellen I, II und III zusammengefaßt.

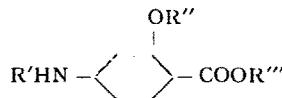
W. TATERKA, A. DEMOLIS und R. URSPRUNG

Wissenschaftliche Laboratorien der AG. vorm. B. Siegfried, Zofingen, den 1. September 1950.

### Résumé

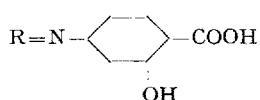
Nous avons effectué la synthèse d'une série de combinaisons du PAS qui pour la plupart sont nouvelles et dont nous avons évalué le pouvoir bactériostatique. Nous

Tabelle II



	R' =	R'' =	R''' =	Formel	Molekulargewicht	I <sup>r</sup> (unkorrigiert)	Analyse		Molare Verdünnung, die Wachstumshemmung bei Tb-Stamm H 37 rv bewirkt (nach SOLOMIDÈS)
							kalkuliert %	gefunden %	
607 555	$\text{C}_6\text{H}_5-$ $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{SO}_2-$	H H	H H	$\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}$ $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{O}_5\text{NS}$	229 307	181 <sup>0</sup> 211 <sup>0</sup>	N: 4,5	4,2	10000- 50000 100000-500000
562	$\text{CH}_2\text{OH}\cdot(\text{CHOH})_4\text{CH}-$ $\text{SO}_3\text{Na}$	H H	H H	$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_{11}\text{NSNa}$	419		S: 7,6	7,6	100000-500000
618	$\text{CH}_3$ $\text{CH}_3$ $\text{C}-$ $\text{P}(\text{OH})_2$	H H	H H	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_5\text{NP}\cdot\text{H}_2\text{O}$	277	164 <sup>0</sup>	P: 11,18	11,0	50000-100000
619	$\text{C}_2\text{H}_5$ $\text{CH}_3$ $\text{C}-$ $\text{P}(\text{OH})_2$	H H	H H	$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_5\text{NP}\cdot2\text{H}_2\text{O}$	309	168 <sup>0</sup>	P: 11,34	11,3	50000-100000
571 572	$\text{CH}_3\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CO}-$ $\text{CH}_3\text{C}\cdot\text{H}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CO}-$	H H	H H	$\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{O}_4\text{N}$ $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{O}_4\text{N}$	209 223	223 <sup>0</sup> 207 <sup>0</sup>			50000-100000 500000-600000
612	$\text{C}_8\text{H}_7\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CO}-$	H H	H H	$\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{O}_4\text{N}$	261	190-191 <sup>0</sup>	C: 64,35 N: 5,36 H: 5,79	63,98 5,45 5,81	900000-1000000
611 625 624 581 580 577	$\text{C}_6\text{H}_5\cdot(\text{C}_2\text{H}_5)\text{CH}-\text{CO}-$ $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\cdot\text{CO}-$ $\text{C}_5\text{H}_5\cdot(\text{CH}_2)_{12}\text{CO}-$ $\text{ClCH}_2\cdot\text{CO}-$ $\text{Cl}_2\text{CH}\cdot\text{CO}-$ $\text{Cl}_3\text{CCO}-$	H H H H H H	H H H H H H	$\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{O}_4\text{N}$ $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{O}_4\text{N}$ $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{O}_4\text{N}$ $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4\text{NCl}_2$ $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4\text{NCl}_2$ $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4\text{NCl}_3$	289 263 415 229,5 264 298,5	169 <sup>0</sup> 222-223 <sup>0</sup> 194-196 <sup>0</sup> 227-228 <sup>0</sup> 219-221 <sup>0</sup> 222-223 <sup>0</sup>	N: 4,84 N: 5,32 N: 3,37 N: 6,08 N: 5,34 N: 4,68	4,7 5,25 3,5 5,95 5,47 4,75	50000-100000 10000-50000 600000-700000 100000-500000 100000-500000 100000-500000
615	$\text{COOH}$ $\text{C}_6\text{H}_4$ $\text{NHCO}-$ $\text{OH}$	H H	H H	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_7\text{N}_2$	331	233 <sup>0</sup> Zers.	N: 8,44	8,55	100000-500000
525 534 574 573 569	H H $\text{C}_6\text{H}_7\cdot(\text{CH}_2)_{10}\cdot\text{CO}-$ $\text{C}_6\text{H}_7\cdot(\text{CH}_2)_{12}\cdot\text{CO}-$ $\text{C}_6\text{H}_5\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CO}-$	$\text{CH}_3$ H $\text{CH}_3$ $\text{CH}_3$ H	H $\text{C}_2\text{H}_5$ $\text{CH}_3$ $\text{CH}_3$ $\text{CH}_3$	$\text{C}_8\text{H}_9\text{O}_3\text{N}$ $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}$ $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_4\text{N}$ $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{O}_4\text{N}$ $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{O}_4\text{N}$	167 181 401,4 429 277	152 <sup>0</sup> 113-114 <sup>0</sup> 91 <sup>0</sup> 89 <sup>0</sup> 135 <sup>0</sup>	N: 8,3 N: 7,7 N: 3,5 N: 3,25 N: 5,06	8,1 7,6 3,4 3,0 5,2	100000-500000 100000-500000 50000-100000 300000-400000 800000-900000

Tabelle III



	R =	Formel	Molekular- ge- wicht	F	Analyse		Molare Verdün- nung, die Wachs- tumshemmung bei Tb-Stamm H 37 rv bewirkt (nach SOLOMIDES)
					kalkuliert %	gefunden %	
519		C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub> N <sub>2</sub>	314	—	N: 8,9	9,1	10 000–50 000
520		C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> O <sub>4</sub> N <sub>2</sub> Cl	348,5	—	Cl: 11,1	10,7	100 000–500 000
521		C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub> N <sub>2</sub>	288	—	N: 9,65	9,4	100 000–500 000
526		C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub> N <sub>4</sub>	330	—	N: 16,9	16,65	500 000–600 000
528		C <sub>26</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub> N <sub>6</sub> S	576	—	S: 5,55	5,7	50 000–100 000
561 557	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ·CH= C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ·CH=CH—CH=	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> O <sub>3</sub> N C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> O <sub>3</sub> N	241 267	Zersetzung 169° Zers.	N: 5,8 N: 5,24	5,55 5,0	100 000–500 000 50 000–100 000
559		C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> N	257	198°	N: 5,45	5,6	50 000–100 000
560		C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> O <sub>4</sub> N	271	Zersetzung	N: 5,15	5,0	100 000–500 000
558		C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> O <sub>5</sub> N	287	Zersetzung	N: 4,87	4,75	500 000–600 000
556		C <sub>13</sub> H <sub>17</sub> O <sub>8</sub> N	273		N: 5,14	5,02	600 000–700 000

avons pu ainsi mettre en évidence l'activité accrue de quelques combinaisons du PAS avec des dérivés de

l'acide chaulmoogrique et montrer que celles ayant un radical cyclopentényle étaient parmi les plus actives.