

turstoffe nach der hier angegebenen Methode wäre nun um so mehr angezeigt, da in der Pteroyl-Triglutaminsäure, die mit diesen Verbindungen in mancher Beziehung nahe verwandt ist, die  $\gamma$ -Glutamylbindungen durch Synthese bereits bewiesen wurden<sup>1</sup>.

Eine ausführliche Mitteilung erscheint in den Acta Chim. Hung.

I. KANDEL und M. KANDEL

*Organisch-Chemisches Institut der Universität Budapest, den 6. Juli 1954.*

### Summary

The method used previously for determination of the structure of native poly-D-glutamic acid was extended in modified form (paper chromatography) to the  $p$ -aminobenzoyl polypeptide of yeast. It was found that this polypeptide is built up of  $\gamma$ -glutamyl bonds.

<sup>1</sup> J. H. BOOTH und Mitarbeiter, Am. Soc. 70, 1098 (1948); 71, 2304 (1949).

### Über die Bindungsart der amidierten Reste der $\beta$ -Aminodicarbonsäuren in Eiweißstoffen

Es wird allgemein angenommen, dass in Eiweißen die nicht-C-endständigen Reste der  $\alpha$ -Aminodicarbonsäuren durch  $\alpha$ -Peptidbindungen eingebaut sind, während ihre  $\omega$ -Carboxyl-Gruppen entweder frei oder amidiert vorliegen. Eine Untersuchung von HAUROWITZ und BURSA<sup>1</sup>, deren Ergebnisse von diesen Forschern als ein Beweis der Anwesenheit sehr weniger  $\gamma$ -Glutamylbindungen in einigen Eiweißen betrachtet wurde, fand bisher anscheinend wenig Beachtung, denn es wird auch neuerdings betont<sup>2</sup>, dass ein Beweis von  $\omega$ -Peptidbindungen noch nicht geliefert wurde.

Wir haben jetzt über die Bindungsart der amidierten Reste der  $\alpha$ -Aminodicarbonsäuren in Gliadin und Chymotrypsinogen Näheres zu erfahren versucht, und zwar mit Hilfe der Methode, die zur Konstitutionsermittlung der natürlichen D-Polyglutaminsäure<sup>3</sup> und unlängst<sup>4</sup> auch der sogenannten Polyaspartsäure<sup>5</sup> mit Erfolg herangezogen wurde. Es wurden die kristallisierten Eiweißstoffe mit Natriumhypochloritlösung (Alkalität: In; Menge: ber. auf die Amidgruppen) zuerst bei Raumtemperatur dem Hofmannschen Abbau unterworfen, dann nach Verbrauch des Hypochlorits mit Salzsäure hydrolysiert. Gemäß der Reaktionsfolge I  $\rightarrow$  II  $\rightarrow$  III ist aus Asparaginyl- bzw. Glutaminylresten (Ia bzw. Ib) die Entstehung von  $\alpha, \beta$ -Diaminopropionsäure (IIIa) bzw.  $\alpha, \gamma$ -Diaminobuttersäure (IIIb) zu erwarten, während Isoasparaginyl- bzw. Isoglutaminylreste (IVa bzw. IVb) laut Reaktionsfolge IV  $\rightarrow$  V  $\rightarrow$  VI und Decarboxylierung von VIa-Acetaldehyd bzw.  $\beta$ -Formylpropionsäure (VIb) liefern sollten:

<sup>1</sup> F. HAUROWITZ und F. BURSA, Biochem. J. 44, 509 (1949).

<sup>2</sup> F. SANGER, *The Arrangement of Amino Acids in Proteins*, S. 4, in M. L. ANSON, K. BAILEY und J. T. EDSELL, *Advances in Protein Chemistry*, Bd. 7 (Academic Press, New York 1952). – P. DENISSELE, *The General Chemistry of Amino Acids and Peptides*, S. 134, in H. NEURATH und K. BAILEY, *The Proteins*, Bd. I, Teil A (Academic Press, New York 1953).

<sup>3</sup> V. BRUCKNER, J. KOVÁCS und H. NAGY, Chem. Soc. 1953, 148.

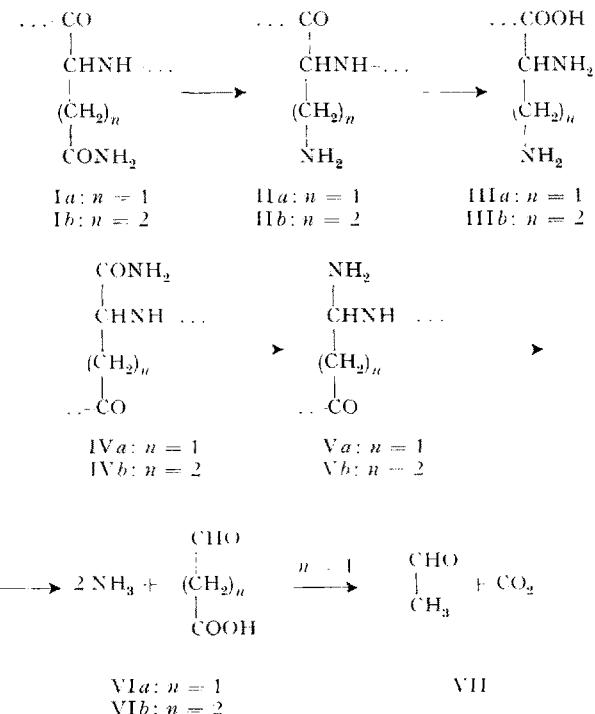
V. BRUCKNER, J. KOVÁCS und K. KOVÁCS, Chem. Soc. 1953, 1512.

V. BRUCKNER, J. KOVÁCS und I. KANDEL, Naturwiss. 40, 243 (1953).

– V. BRUCKNER, J. KOVÁCS und G. DÉNES, Nature 172, 508 (1953).

<sup>4</sup> J. KOVÁCS und I. KÖNYVES, Naturwiss. 41, 333 (1954).

<sup>5</sup> J. KOVÁCS, I. KÖNYVES und A. PUSZTAI, Exper. 9, 459 (1953).



Bei der Hydrolyse wurde zum Absingen der flüchtigen Aldehyde eine salzsaure Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin verwendet, die man dann mit Äther extrahierte, desgleichen auch das Hydrolysat, das vorher mit demselben Reagens versetzt wurde. Der Rückstand der abgedampften Ätherlösungen wurde in absolutem Alkohol oder Essigester gelöst und dann papierchromatographisch untersucht (Lösungsgemisch: mit 3%igem wässrigen Ammoniak gesättigtes n-Butanol). Das ausgeätherte salzsaure Hydrolysat wurde von den anorganischen Salzen befreit<sup>1</sup>, dann die Diaminocarbonsäuren nach der Methode von BLOCK<sup>2</sup> abgesondert und papierchromatographisch untersucht.

Die Versuchsergebnisse sind in der Tabelle zusammengefasst:

Gesuchtes Abbauprodukt	Gliadin	Chymotrypsinogen
Acetaldehyd . . . . .	+	0
$\beta$ -Formylpropionsäure . .	+	0
$\alpha, \beta$ -Diaminopropionsäure .	+	+
$\alpha, \gamma$ -Diaminobuttersäure . .	+	+

Vor Auswertung der Versuchsbefunde muss beachtet werden, dass Natriumhypochlorit freie  $\alpha$ -Aminosäuren zu den nächst niedrigeren Aldehyden abbaut<sup>3</sup> und denselben Abbau dieses Reagens auch an N-endständigen Aminosäureresten, jedoch nicht an Zwischengliedern der Peptidkette, bewirken kann<sup>3</sup>. Kontrollversuche zeigten, dass nach derselben alkalischen Einwirkung, denen das Gliadin während des Hofmannschen Abbaus ausgesetzt

<sup>1</sup> E. CONSDEN, A. H. GORDON und A. J. P. MARTIN, Biochem. J. 41, 590 (1947).

<sup>2</sup> R. J. BLOCK, Science 108, 609 (1948).

<sup>3</sup> K. LANGFELD, Ber. 42, 2360 (1909). – W. SIDNEY, S. W. FOX und M. W. BULLOCK, Am. Soc. 73, 2754 (1951). – ST. GOLDSCHMIDT und CH. STEIGERWALD, Ber. 58, 1346 (1925). – ST. GOLDSCHMIDT, E. WIBERG, F. NAGEL und K. MARTIN, Ann. Chem. 456, 1 (1927).

war, Asparaginsäure, Glutaminsäure und Alanin, die zur Bildung von VIb bzw. VII Anlass geben könnten, in der alkalischen Lösung nicht nachweisbar sind (DNP-Methode). Hingegen lässt sich im Säurehydrolysat des nach der alkalischen Vorbehandlung dinitrophenylierten Gliadins DNP-Asparaginsäure nachweisen. Es ist also Vorsicht geboten, aus der Entstehung des auch präparativ fassbaren Acetaldehyds beim Abbau des Gliadins auf die Anwesenheit von Isoasparaginylresten (IVa) zu schliessen.

Wir glauben aber schliessen zu können, dass im Gliadin nicht nur Asparaginyl- (Ia) und Glutaminylreste (Ib), sondern auch Isoglutaminylreste (IVb) vorliegen dürften, doch wäre es angezeigt, diesen Befund auch mit Hilfe einer anderen, noch aufzusuchenden Methode zu bestätigen.

Eine ausführliche Mitteilung erscheint in den Acta Chim. Hung.

J. KOVÁCS, I. KANDEL,  
M. KANDEL und V. BRUCKNER

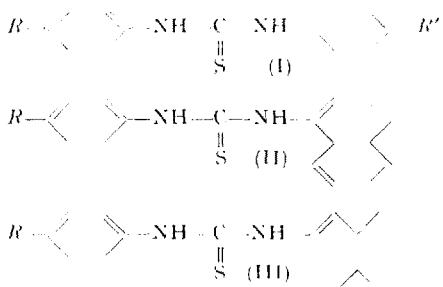
Organisch-Chemisches Institut der Universität Budapest, den 6. Juli 1954.

## Summary

Gliadin and chymotrypsinogen, respectively, were treated with alkaline sodium hypochlorite solution equivalent to the carbonamide groups present, and then hydrolysed by acid. The proteins treated with dilute alkaline solution have been assayed in control experiments for their content of N-terminal amino acids. The degradation products identified by paper chromatography seem to indicate that in chymotrypsinogen the amido groups of the amino dicarboxylic acids represent asparaginyl (Ia) and glutaminyl (Ib) residues. In gliadin, besides these residues, the presence of isoglutaminyl residues (IVb) also seems to be probable.

## Activité tuberculostatique de nouvelles N,N'-diarylthiouurées

Il a été montré récemment que certains dérivés *para*-disubstitués (I) de la N, N'-diphénylthiouurée (ou thiocarb-anilide) possèdent une activité tuberculostatique considérable *in vitro* et *in vivo*<sup>1</sup>, et également une activité fongistatique notable. Dans ce même groupe des thiocarb-anilides, on a trouvé également des substances



douées d'autres propriétés pharmacodynamiques intéressantes: ainsi, le 4-chloro-4'-fluorothiocarbanilide (I;  $R = Cl$ ,  $R' = F$ ) et plusieurs composés analogues possèdent une activité antivirale<sup>1</sup>, et, dernièrement, certains 4,4'-dialkyloxythiocarbanilides ont été utilisés avec succès dans la chimothérapie de la lèpre<sup>2</sup>.

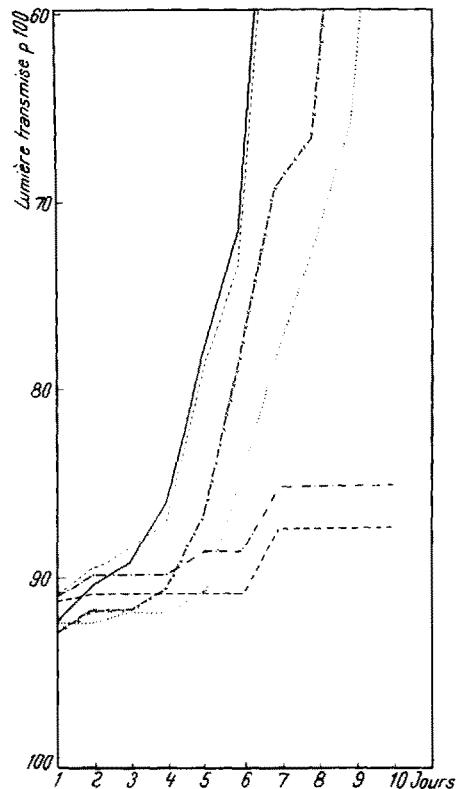


Figure 1. Témoin (culture glycérinée) —  
Témoin (culture ordinaire) - - -  
 Concentration de la substance |  $10^{-5}$   
 |  $10^{-6}$   
 |  $10^{-7}$   
 |  $10^{-8}$

Ces résultats nous ont conduit à examiner en détail les propriétés biologiques d'un grand nombre de N, N'-diarylthioureas Ar-NH-CS-NH-Ar' dont les molécules possèdent des substituants en nombre et en position variés. Dans le présent travail, nous consignons les activités tuberculostatiques *in vitro* d'une série de ces composés, déterminées sur deux souches de bacilles tuberculeux: la souche H37RVD, et une souche à développement plus vigoureux provenant de l'hôpital de Brévannes. Le milieu de culture utilisé est celui de DUBOS, et l'inhibition de la croissance des cultures est mesurée quantitativement par opacimétrie à l'aide d'un dispositif photométrique comprenant deux cellules photoélectriques en opposition. On peut de cette manière tracer des courbes d'opacité (pourcentage de lumière transmise) en fonction du temps.

Dans ces conditions, les résultats suivants ont été obtenus:

<sup>11</sup> Trois des substances étudiées ne présentent d'activité notable sur les deux souches étudiées qu'à la concentration de  $10^{-4}$ (100  $\mu$ g/ml): ce sont le 4-éthyl-

<sup>1</sup> N. P. BUU-HOI, P. GLEY, N. D. XUONG et A. BOUFFANais, C. r. Acad. Sci. 238, 2582 (1954).

<sup>2</sup> N. P. Bui-Hoi, Internat. J. Leprosy 22, 16 (1954).

<sup>1</sup> R. L. MAYER, P. C. EISMAN et E. A. KONOPKA, Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 82, 769 (1953). — C. F. HUEBNER, J. L. MARSH, R. H. MIZZONI, R. P. MULL, D. C. SCHROEDER, H. A. TROXELL et C. R. SCHOLZ, J. Amer. Chem. Soc. 75, 2274 (1953). — N. P. BUI-HOF et N. D. XUONG, C. r. Acad. Sci. 237, 498 (1953). — P. C. EISMAN, E. A. KONOPKA, R. L. MAYER *et al.*, Amer. Rev. Tuberc. 70, 121, 130 (1954).