

Measurements of hydrogen activation overpotential have been carried out at c. d. from 10^{-3} – 10^{-1} A cm² on iron in N/10 aqueous HCl solution, unprotected from oxygen¹, containing the inhibitors aniline, o-toluidine, quinoline, acridine, pyridine, naphthylamine, morphine and tert. butanol, and also the corrosion activators quinone, nitrobenzene and picric acid, at concentrations in most cases of 10^{-3} , 10^{-2} , and 10^{-1} mols/l. It has been found that (1) increase of hydrogen activation overpotential occurs when corrosion is partially inhibited and a corresponding decrease occurs in the presence of activators; (2) the magnitude of the effects increase with increasing concentration and molecular complexity of the compounds; (3) corresponding measurements of the true activation overpotential of hydrogen by means of an electronic commutator², which eliminates the possible contribution of a transfer resistance term originating in an adsorbed film, indicate a negligible ohmic overpotential in solutions in which the largest increase of overvoltage on addition of inhibitor is observed.

It must therefore be concluded that the mechanism of the inhibition of acid corrosion by the above organic compounds is principally by means of an increase of the hydrogen activation overpotential and not by mechanical protection through an adsorbed film.

A full account of this work will be published elsewhere.

J. O'M. BOCKRIS and B. E. CONWAY

Laboratories of Inorganic and Physical Chemistry, Imperial College, London, July 9, 1947.

Zusammenfassung

Es wurde die Überspannung von Wasserstoff an Eisen in Gegenwart verschiedener Korrosionsinhibitoren gemessen. Es zeigt sich, daß die Überspannung bei der Gegenwart der Inhibitoren vergrößert ist. Hieraus wird Folgendes geschlossen: Die Erschwerung der Korrosion durch den Inhibitor ist auf Erhöhung der Überspannung zurückzuführen. Sie beruht nicht auf der Bildung einer schützenden Schicht von adsorbierter Inhibitorsubstanz auf der Eisenprobe.

¹ The lack of protection from oxygen was intended to simulate conditions in an actual pickling bath.

² A. HICKLING, Trans. Faraday Soc. 33, 1540 (1937).

Purification et cristallisation de l' α -amylase de salive

La présence d'une α -amylase dans la salive a été constatée chez l'homme, le porc et le rat. Nous rapportons ici l'isolement et la cristallisation de l' α -amylase de la salive humaine. La méthode de purification se rapproche de celle de l' α -amylase de pancréas¹.

Produit de départ. En mâchant de la paraffine un homme peut produire de 50 à 100 cm³ de salive en une heure. Cette salive contient beaucoup moins de mucoïde que celle sécrétée normalement. Pour diminuer la mousse on la recueille en présence d'un peu d'alcool n-décylque.

Purification. Toutes les opérations se font à 0° C. 1° centrifugation à 3000 t/min pendant une heure; le culot est rejeté. 2° Deux précipitations fractionnées successives par l'acétone sans tampon; l'enzyme se trouve dans les fractions entre 48 et 68 %. 3° Deux précipitations successives de la substance active par

(NH₄)₂SO₄ à 32,5 et à 25 % de saturation. 4° Une précipitation fractionnée par l'acétone à p_H 7,9 l'amylase se trouve dans la fraction entre 50 et 70 %. 5° Remplacement de l'ion SO₄²⁻ par l'ion CH₃COO⁻ par des traitements avec un échangeur d'ions basiques (Wofatite M ou Amberlite IR-4 B). 6° Une précipitation à l'acétone jusqu'à 70 %.

Cristallisation et recristallisation. Le culot est dissous dans très peu d'eau et la solution est laissée au froid. 90 % de la substance ont cristallisé après 48 heures. Les cristaux sont rapidement lavés plusieurs fois à l'eau froide. On les dissout en portant le p_H à 8,3 par NH₄OH 0,1 N. La solution est neutralisée et laissée à froid sur une secoueuse lente. Après 48 heures une quantité abondante de cristaux s'est formée.

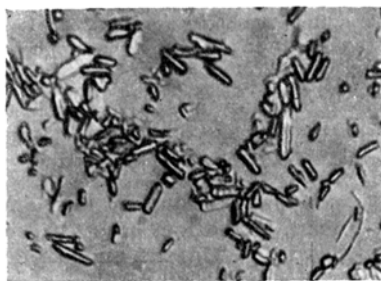


Fig. 1. α -amylase de la salive humaine cristallisée grossissement 300 fois.

Le produit cristallin donne les réactions typiques des protéines. Il se comporte à l'électrophorèse comme une substance homogène. Son activité (voir¹ page 73) est de $4,6 \cdot 10^3$ mg de maltose par mg d'azote. Ce quotient n'augmente plus par des recristallisations ultérieures. Les cristaux peuvent donc être considérés comme de l' α -amylase de salive pure. Le quotient d'activité par mg d'azote des cristaux est 16 fois plus grand que celui de la salive. 1 cm³ de salive contient environ 0,5 mg d'amylase. Le rendement total en activité depuis la salive jusqu'à la première cristallisation est de 25 à 30 %.

Ce travail a été encouragé par des crédits ouverts par la Confédération en vue de créer des possibilités de travail.

K. H. MEYER, ED. H. FISCHER, P. BERNFELD et A. STAUB

Laboratoire de chimie inorganique et organique de l'Université de Genève, le 12 août 1947.

Summary

The crystallization and recrystallization of human salivary α -amylase are described.

¹ K. H. MEYER, E. H. FISCHER et P. BERNFELD, Helv. chim. Acta 30, 64 (1947).

On the Electrophoretic Properties of a Purified Enterogastrone Preparation

FENG, HOU, and LIM¹ observed that neutral fat poured into the duodenum depressed the secretion of a completely denervated gastric pouch. They proved this effect to depend on a humoral factor which could be extracted from the intestinal mucosa. KOSAKA and LIM² suggested

¹ T. P. FENG, H. C. HOU, and R. K. S. LIM, Chines. J. Physiol. 3, 371 (1929).

² T. KOSAKA and R. K. S. LIM, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 27, 890 (1930).

¹ K. H. MEYER, E. H. FISCHER et P. BERNFELD, Helv. chim. Acta 30, 64 (1947); Exper. 3, 106 (1947).

the name *enterogastrone* for this secretory depressant.

This paper deals with a highly purified extract from the hog's intestine. The preparation process was mainly that recommended by GRAY, BRADLY, and IVY¹. Also cf. GREENGARD, HANDS, GROSSMAN, and IVY¹, GREENGARD, ATKINSON, GROSSMAN, and IVY³, and WINBERG⁴.

Methods. The biological effect of the extracts was tested on dogs with vagotomized gastric pouches according to HEIDENHAIN. As a stimulus histamine dihydrochloride was injected intravenously at a slow constant rate. For technique see ÖBRINK⁵. The enterogastrone preparation was injected intravenously in a massive dose, and the decrease of the gastric fluid was noted.

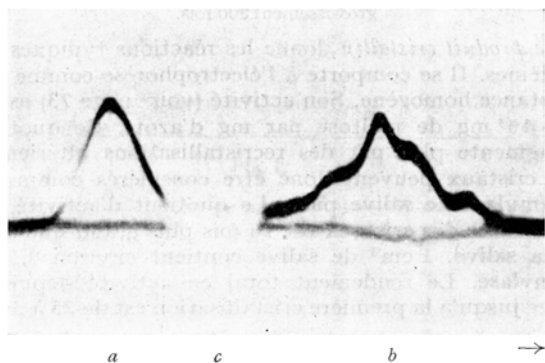
For the electrophoretic analysis the enterogastrone preparations were dissolved in citrate buffer (p_H 2.06 and 3.04), acetate buffer (p_H 4.00 and 5.44) and phosphate buffer (p_H 6.02, 6.43, and 7.42) to the final concentration of 2%. It was found most convenient not to dialyze the solution against the pure buffer system (vide infra: the discussion).

The ionic strength of the buffer systems was 0.1.

The solutions were placed in a Tiselius electrophoretic apparatus (TISELIUS⁶) supplied with the Philpot-Svensson optical system (PHILPOT, 1938, and SVENSSON, 1939 and 1946)⁷.

The technical data were: temperature (outside) $+0.7^\circ\text{C}$, the voltage gradient about 6 V/cm, the electric current 20 mA, and observational time about 2 hours.

Result. At p_H 4.00 one boundary was found to have no mobility (Figure, *a*) and four others to move towards the cathode (Figure, *b*). On the anode side no rising boundary was observed.



Exposure of the negative limb at p_H 4.00 (rising side). The cathode is in the direction of the arrow. (The white field *c* between the boundaries *a* and *b* depends upon the central glass plate separating the two electrophoretic cells.)

The rising side was cut off between the boundaries *a* and *b* and tested on the dogs. An enterogastrone effect was found in the cell with the boundary *a*, while the components in *b* were ineffective. Similar results were obtained at all the different p_H s.

The boundaries *b* had changed their mobility direction towards the anode at p_H 7.42 and never did have any biological effect on the gastric secretion.

In order not to work with too small concentrations of the components *b*, the boundaries were allowed to reach the top of the cell and even pass it. Thus the cell was considered to contain a sufficient amount of an effective component, if present.

The separation on the descending side was never satisfactory and any tests from this limb could not be performed with a significant result.

Discussion. It seems that the secretory depressing factor in extracts from the intestinal mucosa had no or at least a very slight electrophoretic mobility between p_H 2.06 and 7.42, and the components showing mobility seemed to be ineffective in respect to the histamine-induced gastric secretion.

This result was contrary to expectation because of the experiments of HARRIS, GRAY, and IVY¹, in which the secretory depressing factor was destroyed by proteolysis. The result here described does not accord with the conception that enterogastrone might be a protein-like substance, nor does the observation described by WINBERG² that enterogastrone is easily dialysable through a thin cellophane membrane. Experiments have also shown that its effectiveness survives a heating of 100°C for 90 minutes (WINBERG)³.

Any quantitative analysis of the effective component in the extract cannot be made from the electrophoretic results, as the boundary to which it probably may belong is to some extent considered to depend on the falsely resting δ -boundary (TISELIUS)⁴. K. J. ÖBRINK

Institute of Physiology and Institute of Medical Chemistry, University of Uppsala, Sweden, September 3, 1947.

Zusammenfassung

1. Es wird ein Extrakt von Schweinedarm (Enterogastron), der die durch Histamin erzeugte Magensekretion herabsetzt, elektrophoretisch untersucht.

2. Die aktive Enterogastronfraktion scheint keine elektrophoretische Beweglichkeit zu besitzen.

3. Enterogastron ist wahrscheinlich keine proteinähnliche Substanz.

4. Die Resultate werden besprochen und zu früheren Untersuchungen über die Chemie des Enterogastrons in Beziehung gesetzt.

¹ S. C. HARRIS, J. S. GRAY, and A. C. IVY, *Fed. Proc.* 1, 37 (1942).

² H. WINBERG, *Acta Chem. Scand.* In press.

³ H. WINBERG, personal communication.

⁴ A. TISELIUS, *Biochem. J.* 31, 1464 (1937).

L'action du chlorure de lithium et du sulfocyanure de sodium sur la viscosité de la nucléohistone et des extraits d'embryons d'Amphibiens

Dans une note récente, RANZI et ses collaborateurs ont étudié les effets du chlorure de lithium et du sulfocyanure de sodium sur la viscosité d'extraits d'embryons d'Amphibiens préparés suivant la méthode de LAWRENCE, NEEDHAM *et al.*¹ au KCl moléculaire. Ils ont constaté que la viscosité de ces extraits est augmentée par l'addition de LiCl, tandis que NaSCN a une action opposée; ce serait sur une globuline que ces sels agiraient. Mais

¹ A. S. C. LAWRENCE, M. MIAL, J. NEEDHAM et S. G. SHEN, *J. gen. Physiol.* 27, 233 (1944).

¹ J. S. GRAY, W. B. BRADLY, and A. C. IVY, *Am. J. Physiol.* 118, 463 (1937).

² H. GREENGARD, A. P. HANDS, M. I. GROSSMAN, and A. C. IVY, *Fed. Proc.* 2, 17 (1943).

³ H. GREENGARD, A. J. ATKINSON, M. I. GROSSMAN, and A. C. IVY, *Gastroenterology* 7, 625 (1946).

⁴ H. WINBERG, *Acta chem. Scand.* In press. – The preparations have been made by Dr. WINBERG in the Central Laboratory at A. B. Astra, Södertälje, Sweden.

⁵ K. J. ÖBRINK, *Acta physiol. Scand.* 12, 213 (1946).

⁶ A. TISELIUS, *Trans. Farad. Soc.* 33, 524 (1937).

⁷ J. S. L. PHILPOT, *Nature* 141, 283 (1938). – H. SVENSSON, *Koll. Z.* 87, 181 (1939); *Arkiv Kem. Min. Geol.* 22A, No. 10 (1946).