

it increases protoplasmic viscosity¹. (Viscosity measurements of the above and other substances, as well as of blood treated by the same *in vitro* and *in vivo* are in progress.)

(c) Effects of Colchicine on Blood Sedimentation

The Westergreen method was used. To 4.5 ml cattle blood mixed with a 3.8% solution of Na-citrate (1:5) was added 0.5 ml colchicine (1:200 and 1:10,000). Table III shows the rate of sedimentation of the red blood corpuscles.

Table III

Treatment	Rate of sedimentation (mm)		
	1-h	2-h	3-h
Control (blood alone)	1-h	2-h	3-h
Control (blood alone)	.	.5	2.5
Blood—colchicine 1:10,000 . .	.	.5	3.5
Blood—colchicine 1:200 . . .	1.	2.5	4.5

(d) Effects of Colchicine on Leeches (*Hirudo medicinalis* L.) and Earthworms (*Lumbricus terrestris* L.).

Some preliminary tests were undertaken to examine whether leeches which, as is known, produce the anticoagulant hirudine, would show increased resistance to colchicine as compared with other *Vermes* which do not excrete hirudin. This actually proved to be the case: For instance, a leech weighing 2.9 g injected with 1.5 ml colchicine (1:200) resisted during 11 days, while a *Lumbricus*, weighing 2.8 g, injected with 1 ml colchicine, died within 7 hours.

In other experiments I have tried to ascertain whether the action of colchicine could be neutralized by the simultaneous administration of the anticoagulants *Viscum* and heparine. The earthworms were placed in Petri dishes into which was poured 1 ml of each of the various substances. It was found that animals treated with *Viscum* extract (62:1,000) died within about one day, whilst the animals submitted to a treatment of a mixture of colchicine (1:200) and *Viscum* survived for two days. Heparin added to colchicine increased the period of survival in a similar way. The circumstance that colchicine caused arterial dilatation, while both heparin and *Viscum* induced the dilatation of the venous system, may contribute to the explanation of some of the compensatory actions of *Viscum* and colchicine.

Conclusions

In summing up the principle experimental data outlined above, the following preliminary conclusions can be made:

(1) The circumstance that the polyploidogenic and oncogenic agent, colchicine, has an influence on protoplasmic viscosity in plants, and also influences blood plasma viscosity in stimulating the action of thrombin points to the similarity of at least this mechanism among those responsible for the many analogous effects of the drug in plants and animals.

(2) The circumstance that, on the other hand, the two thrombokinetic agents tested, thrombin and vitamin K, act in many respects synergetically with colchicine as oncogenic agents (C-tumours) and that vitamin K is,

moreover, a polyploidogenic agent, even when applied alone, enforces the assumption that these mechanisms are similar.

(3) The finding that *Viscum* acts, like heparin, as an anticoagulant, and that both have a tendency to counteract in plants the oncogenic influence of the thrombokinetic activators colchicine and vitamin K, restricts the circle still more.

(4) Finally, the discovery that, proportionally to its concentration, heteroauxin may influence B.C.T. both as a thrombin activator and as an anticoagulant, is doubly important in consideration of the circumstance mentioned above, that heteroauxin increases protoplasmic viscosity in plants and elicits, like colchicine, oncogenic and polyploidogenic effects¹. The antagonistic actions of heteroauxin to colchicine, including tumour growth in plants and hormonal actions in plants and animals may thus find a new explanation. L. J. HAVAS

Hungarian Institute for Biological Research, Tihany, September 10, 1947.

¹ W. H. GREANLEAF, J. Heredity 29 (No. 12), 452 (1938).

Über die bakteriostatische Wirkung von Anthocyanen und verwandten Stoffen

G. F. GAUSE¹ isolierte aus *Proactinomyces cyaneus antibioticus* eine farbige Verbindung mit ausgeprägter antibiotischer Wirksamkeit. Diese isolierte Substanz besaß Indikatoreigenschaften. Sie wurde auf Grund einiger Farbreaktionen, die allerdings für ihre chemische Konstitution nicht beweisend sind, von GAUSE¹ und BRAZHNIKOVA² als Anthocyaninderivat bzw. als nahe mit diesen natürlichen Farbstoffen verwandte Substanz bezeichnet. Für das Vorhandensein eines Anthocyaninderivates wurde von GAUSE¹ auch auf eine Arbeit hingewiesen, in der KRISS³ aus einem nahe verwandten Aktinomyzeten ein Anthocyan isoliert haben wollte. Bei der genaueren chemischen Nachprüfung dieser Angabe durch R. ROBINSON und Mitarbeiter⁴ wurde jedoch festgestellt, daß der aus *Actinomyces violaceus-ruber* Waksman isolierte Farbstoff kein Anthocyan darstellte. Nach den bisher vorliegenden Literaturangaben⁵ ist es auch wenig wahrscheinlich, daß Anthocyane in Mikroorganismen vorkommen. Sie wurden bis heute im Pflanzenreich nur von den Moosen aufwärts gefunden.

Da uns bisher keine Untersuchungen über die bakteriostatische Wirkung von Anthocyanen aus der Literatur bekanntgeworden sind, schien es uns von Interesse zu sein, einige Anthocyane und chemisch verwandte Stoffe auf ihre bakteriostatische Wirkung zu prüfen. Wir untersuchten außer Rubrobrassicin, einem acylierten Anthocyan aus Rotkohl, das uns aus früheren Versuchen⁶ zur Verfügung stand, Cyanin, Pæonin und das Aglycon Pæonidin. Die drei letzten Präparate stellte uns Herr Prof. Dr. P. KARRER, Zürich, freundlicherweise zur Verfügung, wofür wir ihm auch an dieser Stelle bestens danken möchten. Ferner bezogen wir zwei Flavonolglykoside (Quercitrin und Rutin) und drei Fla-

¹ G. F. GAUSE, J. Bact. 51, 649 (1946).

² M. G. BRAZHNIKOVA, J. Bact. 51, 655 (1946).

³ A. E. KRISS, C. R. Acad. Sci. U.R.S.S. 4, 283 (1936).

⁴ D. ERIKSON, A. E. OXFORD und R. ROBINSON, Nature 142, 211 (1938).

⁵ F. BLANK, Botanical Rev. (New York) 13, 241 (1947).

⁶ A. FREY-WYSSLING und F. BLANK, Ber. Schweiz. Ges. 53, 550 (1943).

¹ N. NYBOM and B. KNUTSON, Hereditas 33, 58 (1947).

vonole (Quercetin, Rhamnetin und Morin) als chemisch nahe verwandte Substanzen in unsere Versuche ein.

Die Prüfung der vorstehend erwähnten Verbindungen auf bakteriostatische Wirkung geschah nach der in unseren Laboratorien üblichen Untersuchungsmethoden an je einem Stamm von *Staphylococcus pyogenes aureus*, *Streptococcus haemolyticus*, *Pneumococcus* Typ I, *Corynebacterium diphtheriae*, *B. coli commune*, *B. typhi abdominalis*, *B. paratyphi B*, *B. enteritidis* Gaertner, *B. dysenteriae* Typ E und *Pseudomonas pyocyanea*. In allen unseren Versuchen zeigten die geprüften Substanzen in Konzentrationen von 1/10 und 1/50 Mol keine bakteriostatische Wirkung.

F. BLANK und R. SUTER

Aus den wissenschaftlichen Laboratorien der J. R. Geigy AG., Basel, den 7. November 1947.

Summary

Some anthocyanins and flavonols have been found to have no bacteriostatic effect on pathogenic microorganisms.

Über die Einwirkung von Pankreasfermenten auf DL-Methioninisopropylester

O. WARBURG hat seinerzeit festgestellt, daß aus dem Äthyl- und aus dem Normalpropylester des DL-Leucins in Gegenwart von «Pankreasferment» und Wasser durch asymmetrische Verseifung ein Gemisch von freiem L-Leucin und unverändertem D-Leucinester entsteht¹.

Der DL-Methioninisopropylester reagiert unter der Einwirkung von handelsüblichen Fermentpräparaten, wie Pankreatin, «Trypsin Difco» und «Pangestin Difco», in ähnlicher Weise wie die Ester des DL-Leucins. Über die Auswertung dieser Reaktion zur Gewinnung von D- und L-Methionin soll an anderer Stelle ausführlich berichtet werden.

Die Fermentreaktion beschränkt sich jedoch nicht in allen Fällen auf die Verseifung der im racemischen Ester vorhandenen L-Komponente. Dies wird besonders deutlich, wenn man ein bei der Firma Novo Therapeutisk Laboratorium, Kopenhagen, käufliches Pankreasenzym oder kristallisiertes Chymotrypsin² verwendet und die Vorschrift von WARBURG¹ etwas abändert. So werden aus 100 Teilen DL-Methioninisopropylester, 2 Teilen Ferment³ und 5 Teilen Wasser nach 15–20stündigem Stehen bei 38° rund 35 Teile eines ätherunlöslichen Reaktionsproduktes erhalten, das nur zu etwa 2/3 aus freiem L-Methionin besteht. Der Rest setzt sich zur Hauptsache aus amorphen oder mikrokristallinen Substanzen zusammen, welche in kaltem Wasser schwer löslich sind. Ein Teil davon ist auch in heißem Wasser, Alkohol, verdünnter Salzsäure oder Natronlauge unlöslich. Das Gemisch der in heißem Wasser schwerlöslichen Verbindungen liefert bei energischer saurer Hydrolyse geringfügig racemisiertes L-Methionin.

¹ Z. physiol. Ch. 48, 205 (1906).

² Das von uns verwendete Präparat stammt aus dem Plaut Research Laboratory und ist bereits älteren Datums. Wir waren noch nicht in der Lage, es an Hand bekannter Substrate auf sein enzymatisches Verhalten zu prüfen. Für seine freundliche Überlassung sind wir Herrn Dr. P. C. ZAMECNIK, Boston, Mass., zu bestem Dank verpflichtet.

³ Das dänische Pankreasenzym wird vor dem Gebrauch zweckmäßig durch Dialyse gereinigt und lyophil getrocknet. Die angegebene Menge bezieht sich auf ein derart hergestelltes Trockenpräparat. – Bei Verwendung von kristallisiertem Chymotrypsin kann die Fermentmenge um mindestens 50% reduziert werden.

Wir halten es nicht für ausgeschlossen, daß es sich bei den schwerlöslichen Produkten um peptidartige Verbindungen handelt. Versuche zur Abklärung dieser Frage sind im Gange.

Der eine von uns (M. BRENNER) dankt der J.-R. Geigy-AG. in Basel für die Unterstützung dieser Arbeit.

M. BRENNER und V. KOCHER

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel, den 2. Dezember 1947.

Summary

Commercially available preparations of the proteolytic enzymes of the pancreas are suitable for asymmetric saponification of DL-methionine isopropyl ester. Certain preparations, including crystalline chymotrypsin, yield in addition to L-methionine insoluble products behaving like peptides of L-methionine when hydrolysed.

Enzymatic Breakdown of Nitrogen Compounds by the Nitrogen Fixing Bacteria of Insects

Symbiotic bacteria of plant lice can fix atmospheric nitrogen¹. The fixation takes place in a surviving system – a physiological salt-solution containing 0.2% succinic acid and 0.5% glucose – or in the same solution inoculated with cultivated symbiotic bacteria of insects. In investigations of surviving systems we found that the nitrogen-fixing capacity depends on the initial amount of nitrogen compounds in the system. It is shown in Table I that the lower the original nitrogen content of the system (according to KJELDAHL) the higher the nitrogen-fixing capacity.

We carried out further experiments with very high nitrogen content. In these experiments large numbers of plant lice (*Aphis sambuci* L.) were used in the surviving system. It was found that in this case no nitrogen fixation took place, rather a loss in the amount of nitrogen (Table II).

The same results were obtained in the experiments with cultivated bacteria. The bacteria fixed atmospheric nitrogen in a culture medium containing no nitrogen but salts, succinic acid, and glucose. If peptone or ammonium sulphate were added, a breakdown of these compounds was found instead of fixation (Table III).

It follows that the fixation of atmospheric nitrogen by the symbionts of insects is a reversible enzymatic process. When the concentration of the end product – the nitrogen compounds – is low the reaction tends towards fixation, if it is high, breakdown takes place.

We have some evidence that the end product of the nitrogen breakdown is a low-degree nitrogen compound, or perhaps gaseous nitrogen. It follows from our findings that ammonium salts are also broken down. But experiments were made to prove directly whether ammonia could be the end product. In the experiments where breakdown took place, we found in most cases no ammonia either in the surviving experiments or in the experiments with isolated bacteria. In some cases, where a certain amount of ammonia could be detected,

¹ L. Tóth, The Biological Fixation of Atmospheric Nitrogen. Budapest, 1946. Monographs Natural Sciences 5. – L. Tóth, A. WOLSKY, and M. BÁTORI, Z. vergl. Physiol. 30, 67 (1942–44). – L. Tóth, A. WOLSKY, and E. BÁTVKA, Z. vergl. Physiol. 30, 300 (1942–44).