

Fig. 1. – Heart fibroblasts from the chick embryo in the presence of 2,500 S-units/cc. The culture looks normal. Hematoxylin.

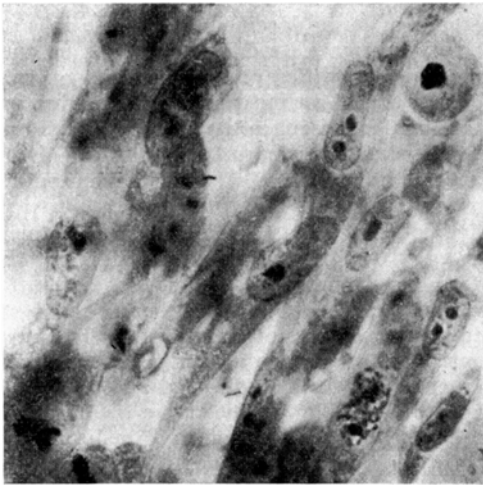


Fig. 2. – A detail from the same culture. At the right a metaphase with pyknotic chromosomes. Hematoxylin.

were used. The concentration of streptomycin 2,500 units/cc caused a small shift of the anaphase to the right (Fig. 3). The concentration of 25,000 S-units/cc was toxic and completely arrested the growth. At higher concentrations some anomalies were observed in the dividing chromosomes. At a concentration of 250 and 2,500 S-units/cc the number of pyknotic chromosomes in the early metaphase increased as compared with the control (Fig. 3). Rhexis of the chromosomes could be observed in the second stage of the metaphase. It in-

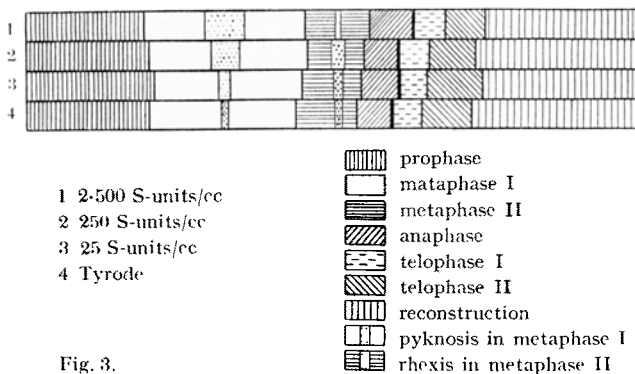


Fig. 3.

creased with the concentration of streptomycin. A sudden decrease taking place at the concentration of 2,500 S-units/cc could be explained by the simultaneous high degree of pyknosis so that only those chromosomes which lay far enough from the others could be observed.

The described influence on mitosis is not characteristic for streptomycin only, rhexis or pyknosis being common pathological phenomena. The majority of those substances which do not destroy the cell instantly, damage mitosis in its most sensitive stage, i.e. in its metaphase.

To emphasize the low toxicity of streptomycin we are quoting the toxic concentration of some other substances which influence and damage the chromosomes during the cell-division in some special way:—The effective concentration of colchicin is  $10^{-8}$ /cc, of tryptaflavin  $10^{-7}$ /cc, of chelidonin  $10^{-6}$ /cc, of narcotin  $2.5 \cdot 10^{-3}$ /cc, of oestradiol  $5 \cdot 10^{-5}$ /cc<sup>1</sup>. The concentration of streptomycin which provokes pathological mitosis is  $2.5 \cdot 10^{-3}$ /cc.

The age of the solution of streptomycin was of no importance. Solutions of two months' standing had the same effect as fresh ones.

We are continuing these experiments with other antibiotics and are trying by the combination of these to obtain sterile cultures from aseptic material.

HELENA KEILOVÁ

Department of Animal Physiology, University of Prague, June 6, 1948.

<sup>1</sup> H. LETTRÉ, Hoppe Seylers Z. physiol. Chemie 278, 201 (1943); 281, 133 (1944); Naturwiss. 30, 184 (1942).

## Die bakteriostatische Wirkung von Chalkon, Flavanon, Flavon und Flavonol

Im Rahmen unserer chemotherapeutischen Studien konnten wir einen deutlichen wachstumshemmenden Einfluß des Buteins (3',4',2,4-Tetraoxychalkon) auf *Staphylococcus aureus* nachweisen. Es wurde daraufhin eine größere Zahl von Oxychalkonen hergestellt und auf ihre antibakterielle Wirkung hin geprüft. Einige dieser Verbindungen waren noch in einer Verdünnung von 1:640 000 bei *St. aureus* wirksam<sup>1</sup>. Inzwischen war bereits von D. H. MARRIAN, P. B. RUSSELL und A. R. TODD<sup>2</sup> über p-Aminoderivate des Chalkons berichtet worden. Diese Verbindungen wirkten jedoch nur schwach gegenüber *St. aureus* und *Streptococcus haemolyticus*.

Einige Flavone wurden von H. S. MAHAL<sup>3</sup> bei *E. coli* und *B. typhosa* untersucht; eine Wachstumshemmung zeigte sich nicht. Dagegen konnten J. NAGHSKI, M. J. COPLEY und J. F. COUCH<sup>4</sup> einen bakteriostatischen Effekt des natürlich vorkommenden Flavonolderivats Quercetin bei *St. aureus*, *B. abortus* und *Aerobacterium polymyxa* feststellen. Nach A. A. ANDERSEN und J. A. BERRY<sup>5</sup> wird auch das Wachstum von *Cl. botulinum* durch Quercetin beeinträchtigt. Kürzlich wurden von F. BLANK und R. SUTER<sup>6</sup> einige natürlich vorkommende Anthocyane und Flavonole untersucht, wobei jedoch keine bakteriostatische Wirkung dieser Stoffe gegenüber verschiedenen Kokken, *Bacillus coli* und *B. paratyphi* gefunden werden konnte.

<sup>1</sup> E. SCHRAUFSTÄTTER und S. DEUTSCH, Z. Naturf. 3b, 163 (1948).

<sup>2</sup> P. B. RUSSELL und R. A. TODD, J. Chem. Soc. London 1419 (1947).

<sup>3</sup> H. S. MAHAL, Proc. Ind. Acad. Sci. Sect. B. 5, 186 (1937); C 1, 1397 (1938).

<sup>4</sup> J. NAGHSKI, M. J. COPLEY und J. F. COUCH, Science 105, 125 (1947); Soc. Amer. Bact. Abst. Proc. 34 (1947).

<sup>5</sup> A. A. ANDERSEN und J. A. BERRY, Science 106, 644 (1947).

<sup>6</sup> F. BLANK und R. SUTER, Exper. 4, 72 (1948).

Diese Ergebnisse und die Bedeutung der  $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}-$ Gruppierung bei einigen von Pilzen erzeugten antibiotischen Stoffen ließen es wünschenswert erscheinen, die Grundkörper der im Pflanzenreich weitverbreiteten Chalkon-, Flavanon- und Flavonolderivate zu untersuchen. Außer diesen Verbindungen prüften wir ferner das zur Darstellung von Flavanon benötigte 2'-Oxychalkon und die Isonitrosoverbindung des Flavanons, ein Zwischenprodukt bei der Bildung von Flavon, sowie die natürlich vorkommenden Stoffe Butein und Morin. Die Austestung erfolgte in Verdünnungsreihen auf Bouillon, der 1 % Pepton zugesetzt wurde. Mit Ausnahme von Flavonol, bei dem wegen seiner schweren Löslichkeit keine höhere Konzentration gewählt werden konnte, zeigten alle Verbindungen eine deutliche, wenn auch geringe Wirkung. Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle I

Verbindung	Wirksamkeit bei <i>St. aureus</i>
Chalkon . . . . .	1:40000
2'-Oxychalkon . . . . .	1:20000
Flavanon . . . . .	1:20000
Flavon . . . . .	1:10000
Isonitroverbindung des Flavanons . . . . .	1:10000
Flavonol . . . . .	1:20000
	keine Wirkung
Butein (3',4',2,4-Tetraoxychalkon . . . . .)	1:10000
Morin (5,7,2',4'-Tetraoxyflavonol) . . . . .	1: 5000

Keine der genannten Verbindungen war in der höchsten erreichbaren Konzentration bei *Salmonella paratyphi* oder bei *Candida albicans* wirksam.

Wenn man annimmt, daß die Wirkung dieser Stoffe auf dem Vorhandensein der  $-\text{C}=\text{C}-\text{CO}-$ Gruppierung beruht (bei den Antibiotika mit ungesättigter Lacton- oder Ketonstruktur geht durch Hydrierung der Doppelbindung die Wirkung verloren), so ist es verwunderlich, daß das Flavanon, das nur eine gesättigte Ketogruppe enthält, die gleichen bakteriostatischen Eigenschaften wie das 2'-Oxychalkon besitzt. Vielleicht ist der Effekt auf eine Überführung des Flavanons in das 2'-Oxychalkon im Nährmedium durch das Bakterium zurückzuführen. In Pflanzen dürfte sehr wahrscheinlich mit einer Umwandlung von Flavanon in Chalkon und umgekehrt zu rechnen sein.

Viele Antibiotika mit einer  $-\overset{1}{\text{C}}=\overset{1}{\text{C}}-\text{CO}-$ Gruppe werden durch Cystein und andere SH-haltige Stoffe antagonistisch beeinflusst. In eigenen Versuchen prüften wir sämtliche in Tab. I aufgeführte Verbindungen auf einem Nährmedium, das zusätzlich Cystein (abgepuffert auf  $p_{\text{H}} = 6,5$ ) in einer Konzentration von 1:1000 enthält. Bemerkenswerterweise ergab sich nur beim unsubstituierten Chalkon eine geringe Wirkungsabschwächung, während bei allen anderen Verbindungen kein Einfluß des Cysteins zu bemerken war.

Nachdem nun von dem im Pflanzenreich vorkommenden Quercetin, Morin, Flavon und Butein eine gewisse antibakterielle Wirkung sichergestellt war, schien es von Interesse, Extrakte von Pflanzen, die Chalkone, Flavonone, Flavone, Isoflavone und Flavonole enthalten, auf ihr Verhalten gegen *St. aureus* zu untersuchen. (Es wurden bereits bei einigen Pflanzenstoffen mit ungesättigter Lactonstruktur, wie Parasorbinsäure<sup>1</sup>,  $\alpha$ -Methylenbuty-

Tabelle II

Droge	Verbindungs-klasse	Inhaltsstoff	Wirksamkeit (Verdünnungsgrad d. Stammlös.)
Herba Hyssopi	Flavanon	Hesperetin	1:80
Herba Bursae pastoris	Flavanon	Hesperidin; Diosmin (Flavonderivat)	1:10
Herba Conii maculati	Flavanon	Hesperidin; (Flavonderivat)	1:10
Folia Bucco	Flavon	Diosmin	1:40
Flores Trifolii fibrini	Flavon	Pratol	1:80
Gemmae Populi	Flavon	Chrysin	1:640
Flores Chamomillae vulgaris	Flavon	Apiin	1:20
Radix Iridis	Isoflavon	Iridin	1:40
Herba Genistae tinctoriae	Isoflavon	Genistein; Luteolin (Flavonderivat)	1:80
Cortex Quercus	Flavonol	Quercitrin; Quercetin	1:40
Herba Rutae hortensis	Flavonol	Rutin; Quercetin	1:320
Herba Ericae	Flavonol	Quercitrin; Quercetin	1:20
Herba Hederae helici	Flavonol	Rutin; Quercetin	1:40
Folia Fraxini	Flavonol	Quercitrin; Fraxin (Cumarinderivat)	1:160
Radix Galangae	Flavonol	Galangin-Kämpferid	1:640
Flores Pruni spinosae	Flavonol	Kämpferol	1:40
Flores Calceatrippae	Flavonol	Kämpferol	1:40

rolacton<sup>1</sup> und Anemonin<sup>2</sup>, bakteriostatische Eigenschaften festgestellt.) Hierbei war von vorneherein zu bedenken, daß die Wirkung der Extrakte komplexer Natur sein kann und nicht allein auf einem Inhaltsstoff beruhen wird. Es muß daher zumindest bei einigen Ergebnissen fraglich bleiben, ob die Hemmung des Bakterienwachstums durch die Flavonone usw. allein bedingt wird. Die Versuchstechnik war kurz folgende: 10 g Droge wurden mit 20 cm<sup>3</sup> 70%igem Methanol 10 Stunden extrahiert. Die Austestung erfolgte wiederum in Verdünnungsreihen, und zwar enthielt das erste Röhrchen den Extrakt in einer Verdünnung 1:10 (dies würde beim Vorhandensein von 1 % Inhaltsstoff einer Verdünnung dieser Substanz von 1:2000 entsprechen).

Die angegebenen Inhaltsstoffe wurden nach den üblichen Methoden qualitativ nachgewiesen. Quantitative Bestimmungen konnten bisher noch nicht durchgeführt werden.

E. SCHRAUFSTÄTTER

Laboratorium R. Pfleger, Erlangen, den 9. Juni 1948.

### Summary

Chalcone, flavanone, flavone, and its derivatives had a certain bacteriostatic effect on *St. aureus*. Flavonol has

<sup>1</sup> C. J. CAVALLO und T. H. HASKELL, J. Amer. Chem. Soc. 68, 2332 (1946).

<sup>2</sup> F. BOAS und R. STEUDE, Bio. Z. 279, 417 (1935). – G. SCHMIDT, Z. Immunitätsforsch. exp. Ther. 102, 233 (1942).

<sup>1</sup> R. KUHN und Mitarbeiter, Naturw. 31, 468 (1943).

no activity and morin, a derivative of flavonol, showed only a weak inhibition of the bacterial growth.

Cystein did not have any antagonistic effect.

Extracts of drugs, which contain natural flavanones, flavones, isoflavones and flavonols, are more or less bacteriostatic.

Die Beeinflussung der Fibrinogengerinnung durch Ribosenukleinsäure und adenosintri-phosphorsaures Na (ATP)

Während die hochmolekularen Nukleinsäuren vom Ribosetypus geeignet sind, die Gerinnung allein durch die starke Erhöhung der Viskosität der Lösungen zu hemmen, fällt dieser physikalische Faktor bei den Ribosenukleinsäuren dahin. Die Löslichkeit der letzteren in Wasser oder NaCl (phys.) ist derart gering (vgl. WUNDERLY<sup>1</sup>), daß von dem vorliegenden Tetranukleid<sup>2</sup> (C<sub>38</sub>H<sub>49</sub>O<sub>29</sub>N<sub>15</sub>P<sub>4</sub>) und der Adenosin-3-phosphorsäure<sup>2</sup> (C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>P · H<sub>2</sub>O) Stammlösungen (Wasser) von nur 30 mg% Gehalt hergestellt wurden. Die Lösung von ATP (C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>13</sub>P<sub>3</sub>Na<sub>4</sub>) enthielt 1 g%. Das Fibrinogen wurde aus Oxalatplasma vom Pferd, nach der Methode von ASTRUP und DARLING<sup>3</sup> gewonnen. Als Meßvorgang wurde die Sol/Gel-Umwandlungszeit (SGZ) gewählt, deren Technik wir beschrieben haben (WUNDERLY<sup>4</sup>).

Um die Beeinflussung der Gerinnung von Fibrinogen durch Thrombin zu verfolgen, enthalten die Ansätze neben 200 mg% Fibrinogen und 10 mg% Thrombin-Roche<sup>2</sup> (entsprechend 5 Mellanby-Einheiten) so viel an Ribosenukleinsäuren und ATP wie auf der Abbildung angegeben ist. Das Volumen der Ansätze ist 0,5 cm<sup>3</sup>; Volumenausgleichsflüssigkeit ist physiologische NaCl-Lösung. Die SGZ des Leerversuchs beträgt 21'' bei einer Badtemperatur von 30°C.

Demnach ist die hemmende Wirkung von Adenosintri-phosphorsäure stärker als die der Hefenukleinsäure, und diese letztere rund 20mal stärker als die von ATP. Die Wirkung der beiden erstgenannten Stoffe beruht auf den freien Phosphorsäuregruppen, denn die Hemmung von 5 mg% Adenosin-3-phosphorsäure mit einer freien Phosphorsäuregruppe in 3-Stellung des Riboserestes wird durch den Zusatz von 1,2 mg% NaHCO<sub>3</sub> aufgehoben.

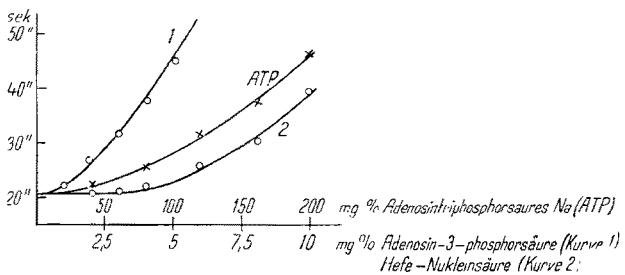
Gehalte im Ansatz		Sol/Gel-Umwandlungszeit
NaCl, physiologisch. . .	—	21''
—	Albumin 820 mg%	22''
Hefenukleinsäure 6 mg%	Albumin 820 mg%	22''
Hefenukleinsäure 6 mg%	Albumin 410 mg%	22''
Adenosin-3-phosphorsäure 6 mg% . . . .	Albumin 820 mg%	22''
Adenosin-3-phosphorsäure 6 mg% . . . .	Albumin 410 mg%	26''
ATP 100 mg% . . . . .	Albumin 820 mg%	28''
ATP 200 mg% . . . . .	Albumin 820 mg%	43''
ATP 300 mg% . . . . .	Albumin 820 mg%	56''

<sup>1</sup> CH. WUNDERLY, Helv. chim. acta 28, 911 (1945).

<sup>2</sup> Die Präparate wurden von der Firma F. Hoffmann-La Roche & Co., Basel, freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

<sup>3</sup> F. ASTRUP und S. DARLING, Acta physiol. Scand. 4, 45 (1942).

<sup>4</sup> CH. WUNDERLY, Helv. physiol. pharmacol. acta 5, C 38 (1947); Helv. chim. acta 31, 50 (1948).



Um den Einfluß von Albumin auf die Verzögerungen der Sol/Gel-Umwandlung kennenzulernen, wurden Ansätze gemessen, in welchen neben 200 mg% Fibrinogen, 10 mg% Thrombin-Roche (5 Mellanby-Einheiten), Ribosenukleotide, noch salzarmes Serumalbumin vorhanden war. Die mg% beziehen sich auf den Gesamtansatz von 0,5 cm<sup>3</sup>.

Bei der gewählten Albuminkonzentration wird die hemmende Wirkung von ATP nicht beeinflusst, dagegen diejenige der Ribosenukleotide. Ähnliche Verhältnisse werden auch bei der Gerinnung des Blutplasmas beobachtet, jedoch sollen sie einer umfassenderen Bearbeitung vorbehalten sein.

CH. WUNDERLY

Medizinische Universitätsklinik Zürich, den 20. Juli 1948.

Summary

The coagulation of fibrinogen by thrombin is delayed by yeast nucleic acid and still more by adenosin-3-phosphoric acid. This action is due to a free phosphoric acid group and can be measured already in concentrations of 6 mg% yeast nucleic acid or of 2 mg% adenosin-3-phosphoric acid, whereas ATP only becomes effective in a concentration of 75 mg%.

Presenza di un principio antidiuretico nelle ghiandole salivari posteriori degli Octopodi<sup>1</sup>

Nel corso di esperienze dirette a studiare l'azione ipotensiva degli estratti di ghiandola salivare posteriore di *Eledone* nell'uomo sano e malato, avemmo la sorpresa di constatare che in un diabetico insipido, iniettato intramuscoli con l'estratto ottenuto da 1,5 g di tessuto salivare fresco, s'era verificata una riduzione della diuresi giornaliera da 8 litri a 5 litri circa. L'effetto benefico si ripeté a una seconda iniezione.

Questa casuale osservazione ci ha spinti a studiare a fondo l'azione antidiuretica degli estratti di ghiandola salivare posteriore di Octopode. Le complesse esperienze sono tuttora in corso. Qui ci limiteremo semplicemente a riassumere i primi risultati ottenuti con la metodica di GILMAN e GOODMAN<sup>2</sup> su circa 100 gruppi di 4-5 ratti.

1.° Gli estratti salivari, alcoolici e acetonicici, di *Eledone moschata*, *Eledone Aldrovandi* e *Octopus vulgaris* posseggono tutti una sicura, evidente azione di ostacolo sulla diuresi provocata nel ratto da somministrazione di acqua. L'intensità dell'effetto antidiuretico sembra all'incirca uguale per gli estratti di *Octopus vulgaris* (allestiti da materiale freschissimo) e per quelli di *Eledone* (allestiti da materiale prelevato da animali morti da qualche giorno e conservati su ghiaccio).

L'effetto si comincia a apprezzare con evidenza per dosi di estratto corrispondenti a 0,1 g di tessuto salivare fresco per 100 g di ratto.

<sup>1</sup> Le presenti ricerche sono state in parte sovvenzionate da un contributo straordinario del Consiglio Nazionale delle Ricerche.

<sup>2</sup> A. GILMAN e L. GOODMAN, J. Physiol. 90, 113 (1937).