

Dans une première série d'expériences, le milieu contient, à part l'acétate normal, 0,1 mC correspondant à 8,2 mg d'acétate marqué ( $^{14}\text{CH}_3\text{COONa}$ ) pour 3750 cm<sup>3</sup> de milieu au lactate répartis en 150 culture de 25 cm<sup>3</sup> chacune. Les thalles sont récoltés au moment de la plus forte production de caroténoïdes. Nous obtenons 5,2843 g de matière sèche; les thalles sont placés dans du méthanol, séchés dans le vide et pulvérisés. La poudre de thalle est épuisée par l'éther de pétrole. Les caroténoïdes sont précipités par l'iode selon la méthode de KARRER et WALKER<sup>1</sup>. Le précipité est lavé avec de l'acétone, et les caroténoïdes sont régénérés par le thiosulfate de sodium selon P. KARRER, K. SCHÖPP et R. MORF<sup>2</sup>. Un volume d'éther de pétrole est ajouté à la solution acétonique; l'acétone est éliminé par agitation avec de l'eau. La solution dans l'éther de pétrole est agitée plusieurs fois avec du méthanol à 90%. Une chromatographie sur  $\text{Al}_2\text{O}_3$  nous permet de séparer le déhydro- $\beta$ -carotène (iso-carotène) formé par la décomposition du produit d'addition avec l'iode<sup>3</sup>. La solution du caroténoïde est concentrée dans le vide; nous obtenons 3,4 mg du produit qui est immédiatement soumis à l'examen.

L'activité des noyaux du  $^{14}\text{C}$  contribuant à la genèse du caroténoïde est mesurée à l'aide d'un compteur de Geiger-Müller de grand diamètre et à fenêtre de mica très mince. Le caroténoïde est placé sur une petite plaque de laiton sans bord (diamètre 2,2 cm) absolument plane et polie, en couche très mince et homogène (0,5 mg par cm<sup>2</sup>) de manière à réduire le plus possible la self-absorption des rayons  $\beta$  très mous du  $^{14}\text{C}$ .

La détermination de l'activité absolue se fait en tenant compte, entre autre, du facteur de «backscattering» que nous avons déterminé pour le système laiton- $^{14}\text{C}$ ; elle nous a permis de calculer la proportion dans laquelle les atomes de carbone de l'acétate participent à la biosynthèse du caroténoïde. Nous trouvons que 25%, assez exactement, des atomes de carbone du caroténoïde proviennent du groupe méthyle; la répétition de l'expérience, effectuée avec une dose différente d'acétate de sodium, fournit des résultats concordants; l'expérience effectuée avec  $\text{CH}_3^{14}\text{COONa}$  atteste que 50% des atomes de carbone du caroténoïde proviennent du groupe carboxyle; le reste des atomes marqués est réparti entre les lipides et le milieu restant.

Ainsi se trouve confirmée la voie nouvelle de biosynthèse du  $\beta$ -carotène par *Phycomyces* que nous avons indiquée sur la base de nos premières expériences. La méthode à l'acétate est susceptible d'être généralisée et nous permettra d'étudier plus exactement le métabolisme et la biosynthèse des caroténoïdes chez les micro-organismes et les plantes supérieures. Les recherches continuent à ce sujet.

La méthode de préparation utilisée nous fournit du déhydro- $\beta$ -carotène dont la constitution a été établie par P. KARRER et G. SCHWAB<sup>4</sup>. En remplaçant la précipitation par l'iode par une autre méthode nous pourrions obtenir, marqué, le  $\beta$ -carotène si abondant chez *Phycomyces*.

Nous remercions le Dr. M. BEIN pour son aide dans l'exécution des expériences.

<sup>1</sup> P. KARRER et O. WALKER, Helv. chim. acta 17, 43 (1934).

<sup>2</sup> P. KARRER, K. SCHÖPP et R. MORF, Helv. chim. acta 15, 1158 (1932).

<sup>3</sup> R. KUHN et E. LEDERER, Naturwiss. 19, 306 (1931); Ber. dtsch. Chem. Ges. 65, 639 (1932). – P. KARRER, K. SCHÖPP et R. MORF, Helv. chim. acta 15, 1158 (1932).

<sup>4</sup> P. KARRER et G. SCHWAB, Helv. chim. acta 23, 578 (1940).

Ces recherches sont effectuées avec l'appui de la «Fritz-Hoffmann-Stiftung zur Förderung wissenschaftlicher Arbeitsgemeinschaften in der Schweiz», à laquelle nous exprimons notre gratitude.

E. C. GROB, G. G. PORETTI, A. VON MURALT et W. H. SCHÖPPER.

Institut de botanique de l'Université et Institut Th. Kocher, Berne, le 19 avril 1951.

### Zusammenfassung

Unter Verwendung eines speziellen Milieus wurde gezeigt, daß bei *Phycomyces* Na-Azetat die Vorstufe des  $\beta$ -Karotins darstellt. Durch Verwendung von markiertem Azetat ( $^{14}\text{CH}_3\cdot\text{COONa}$  und  $\text{CH}_3\cdot^{14}\text{COONa}$ ) wurde bewiesen, daß 25% des Gesamtkohlenstoffes des Karotins aus der  $\text{CH}_3$ -Gruppe und 50% aus der  $\text{COOH}$ -Gruppe stammen.

### L'isolation de microbes cérolytiques

D'après HAUPT<sup>1</sup> et SCHWARTZ<sup>2</sup>, et contrairement à GLASGOW<sup>3</sup>, l'hydrolyse des cires effectuée par divers homoptères est due à la présence de symbiotes libres ou localisés dans des mycétomes. En cultivant des symbiotes de Tinnéides (*Gall. mellon.*, *Gall. cerean.*, *Gall. soc. alba*, *Achroia* gr.) ainsi que *Dermestes lard.* l'un de nous a déjà pu isoler une cérase *in vitro*<sup>4</sup>. De semblables résultats furent publiés par FLORKIN *et al.*<sup>5</sup>. Dans la présente communication des méthodes d'isolement de microbes cérolytiques sont décrites. Deux milieux solides à base de cire de Chine ont été préparés. La cire de Chine provenant de *Coccus ceriferus* se compose de cérylcérotate ( $\text{C}_{27}\text{H}_{55}\text{O}\cdot\text{OC}_{27}\text{H}_{54}$ ) pur<sup>6</sup>. Deux émulseurs différents ont servi à faciliter la préparation de ces milieux dont voici la formule:

|  |                     |
|--|---------------------|
| 1° Cire de Chine . . . . .   | 15,0 g              |
| Teinture de lacmus . . . . .   | 8,0                 |
| Xylidine . . . . .   | 30,0                |
| 2° $\alpha$ -diéthylamino- $\beta$ -oxypropylamine <sup>7</sup> (émulseur) . . . . . | 1,0                 |
| 3° $\text{CaCl}_2$ . . . . .   | 0,05                |
| $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . . . . .   | 0,1                 |
| $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$ . . . . .                      | 0,06                |
| $\text{MgSO}_4$ . . . . .  | 0,001 (lotion mère) |
| Ferro-ascorbate . . . . .  | 0,003               |
| Peptone W . . . . .  | 2,0                 |
| Agar-agar . . . . .  | 6,0                 |
| Eau distillée <i>ad</i> . . . . .  | 120,0               |

Après tyndallisation, les milieux chauffés à 80°C passent trois fois dans l'appareil d'émulsification (d'après LIESEGANG<sup>8</sup>) et on remplit enfin les boîtes de Petri et les bouteilles de Roux qu'on laisse refroidir. Le milieu est solide, transparent et de couleur violette.

Le deuxième milieu est en principe identique au premier, sauf qu'il contient un autre émulseur.

En voici la composition II:

|                              |        |
|------------------------------|--------|
| 1° Cire de Chine . . . . .   | 10,0 g |
| Teinture de lacmus . . . . . | 5,0    |
| Chloroforme . . . . .        | 20,0   |

<sup>1</sup> H. HAUPT, Z. wiss. Insekten biol. 12, 327 (1916).

<sup>2</sup> W. SCHWARTZ, Biol. Zbl. 44, 265 (1924).

<sup>3</sup> D. GLASGOW, Biol. Bull. 26, 811 (1914).

<sup>4</sup> M. MUFTIC, Zbor Lijec, Hrv. reg. 32, 496 (1946).

<sup>5</sup> F. LOZET et M. FLORKIN, Exper. 5, 403 (1949). – H. SARLET et M. FLORKIN, Exper. 5, 404 (1949).

<sup>6</sup> M. GASCARD, C. r. heb. S. Acad. sc. 170, 78 (1920).

<sup>7</sup> D. R. P. 687224 (1929), I. G. Farbenindustrie.

<sup>8</sup> R. E. LIESEGANG, Kolloidchemische Technologie (1932), p. 619.

- 2° Tween 80<sup>1</sup> . . . . . 0,5 (émulgateur)  
 3° Comme dans le milieu I.  
 Emulsification à 72°C.

L'aspect est le même que celui du premier milieu mais la couleur est un peu plus claire. Tous les deux ont un  $p_H$  d'environ 7,2. Ces milieux furent ensemencés des contenus intestinaux de divers Tinnéides, Cicadidés et Cercopidés, tels que des mycétomes des Psyllides et Cercopidés obtenues par macération en Tyrode II. La moitié des boîtes furent cultivées à l'air, le reste dans une atmosphère d'azote humide.

On a aussi fait des cultures sur lacmus-agar, Endo- et Giemsa-agar. L'effet de l'hydrolyse a été constaté par le changement de la transparence, de la couleur et de la fluorescence sous l'action des rayons ultra-violets (2700 ÅU) par la méthode de RADLEY<sup>2</sup>.

Ainsi furent isolés jusqu'à présent cinq microbes ayant des pouvoirs cérolytiques.

Ce sont:

1° Un Streptobacille ellipsoïde cérolytique type A<sub>1</sub> qui fut isolé des cryptes intestinales de certaines espèces de Tinnéides et Cicadidés. Il est Gram-positif, aérobie; lim.  $p_H$  6,2/7,4. Il fermente xylose, lactose, dulcité.

2° Un Streptobacille ellipsoïde cérolytique type A<sub>2</sub> qui fut isolé du contenu intestinal de certains Tinnéides et de *Dermester lard*. Il est Gram-positif, aérobie; lim.  $p_H$  6,2/7,4. Il fermente xylose, lactose, maltose.

3° Un Streptobacille ellipsoïde cérolytique type B isolé du contenu intestinal de certaines Cixies et Cercopidés. Il est Gram-positif, anaérobie, lim  $p_H$  6,4/7,2. Il fermente dextrose, arabinose, maltose.

4° Un Blastomyces intracellulaire cérolytique, variation anaérobie, isolé des mycétomes de *Plata marginella* et *Plata lustra*. Il est Gram-positif et présente une fine granulation à l'intérieur; lim.  $p_H$  6,4/7,2. Il fermente saccharose, lactose, rhamnose, dextrose et tributyrine. Il est très sensible à la lumière ultra-violette.

5° Un Blastomyces intracellulaire cérolytique, variation facultative. Il fut isolé des mycétomes de certains Cercopidés et surtout des *Pseudococc. citri*. Il est Gram-positif, lim.  $p_H$  6,4/7,2. Il fermente xylose, maltose, lactose, dextrose et tributyrine. M. KAMAL et M. MUFTIC

Laboratoires biologiques S. A., Djeddah, Arabie Saoudite, le 5 décembre 1949.

### Zusammenfassung

Aus dem Darminhalt von Insekten wurden 5 verschiedene Mikrobenarten isoliert, die Wachs zu hydrolysieren vermögen. Die angewandten Kulturmethoden werden beschrieben.

<sup>1</sup> R. DUBOS, Proc. Soc. exper. Biol. and Med. 58, 361 (1945)

<sup>2</sup> J. A. RADLEY, Analyst. 57, 1932; Chem. Zbl. 1, 529 (1933).

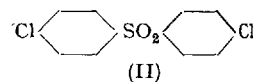
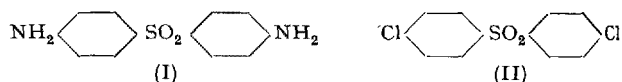
### Azione del diclorodifeniltricloroetano sullo sviluppo del bacillo di Koch

LÄUGER, MARTIN, MÜLLER<sup>1</sup> avevano osservato l'analogia tra la struttura del bis-(4-aminofenil)-sulfone (I), attivo *in vitro* ed *in vivo* sul bacillo di KOCH (RIST<sup>2</sup>; RIST e HAMON<sup>3</sup>) ed il bis-(4-clorofenil)-sulfone (II), insetticida per ingestione:

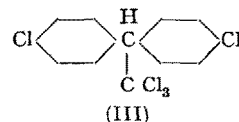
<sup>1</sup> P. LÄUGER, H. MARTIN e P. MÜLLER, Helv. chim. acta 27, 892 (1944); 29, 405 (1946).

<sup>2</sup> N. RIST, C. r. Soc. Biol. 130, 972 (1939).

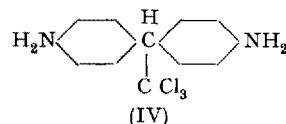
<sup>3</sup> N. RIST, F. BLOCH e V. HAMON, C. r. Soc. Biol. 130, 976 (1939).



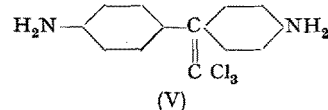
Da (I), per sostituzione del gruppo (—SO<sub>2</sub>) con CH—CCl<sub>3</sub> si ha il 2,2-bis-(p-clorofenil)-1,1,1-tricloroetano (DDT). Questa molecola (III), secondo lo schema del LÄUGER<sup>1</sup> si scinde in due gruppi: il p,p'-diclorodifenilico che esplica l'azione tossica ed il CCl<sub>3</sub>, dalla cui introduzione in (III) dipende l'incremento di attività rispetto a (II), che è responsabile della liposolubilità:



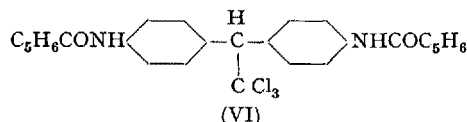
Dopo la scoperta del LÄUGER, sono stati sintetizzati diversi composti, dei quali si poteva prevedere che per la loro liposolubilità potessero agire su germi a forte protezione lipoidea come il bacillo di KOCH. Infatti, sostituendo in (I) l'—SO<sub>2</sub> con CH—CCl<sub>3</sub> si ha l'1,1,1-tricloro-2,2-bis(p-aminofenil)-etano (IV):



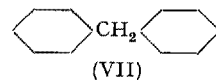
Secondo KIRKWOOD, PHILLIPS e Mc COY<sup>2</sup> il (IV) inibisce completamente lo sviluppo del M. tbc. alla diluizione di 1/100.000 ed è ancora attivo ad 1/1.000.000. Somministrato alla dose di 0,5% della razione giornaliera influenza favorevolmente il decorso della infezione sperimentale della cavia. Anche l'1,1-dicloro-2,2-bis(p-aminofenil)-etilene (V) è attivo *in vitro*



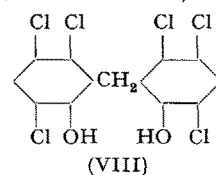
Poiché il (IV) perde facilmente cloro è stato stabilizzato come dibenzoilderivato (VI)



il quale, secondo BURGER, GRAEF e BAILEY<sup>3</sup>, è attivo *in vitro* sul M. tbc. alla concentrazione di 0,007–0,015 g/l.



Va segnalato che di recente (1949) il FLORESTANO ha sperimentata l'attività sul bacillo di KOCH del difenilmetano (VII) e di diversi derivati, dei quali il più attivo è il bis(2-idrossi-3,5,6-triclorofenil)metano (VIII):



<sup>1</sup> P. LÄUGER *et al.*, l. c.

<sup>2</sup> S. KIRKWOOD e P. H. PHILLIPS, J. Pharm. Exper. Ther. 87, 375 (1946); J. Amer. Chem. Ass. 69, 934 (1947). — S. KIRKWOOD, P. H. PHILLIPS e E. MCCOY, J. Amer. Chem. 28, 2405 (1946).

<sup>3</sup> A. BURGER, E. GRAEF e M. S. BAILEY, J. Amer. Chem. Soc. 68, 1725 (1946).