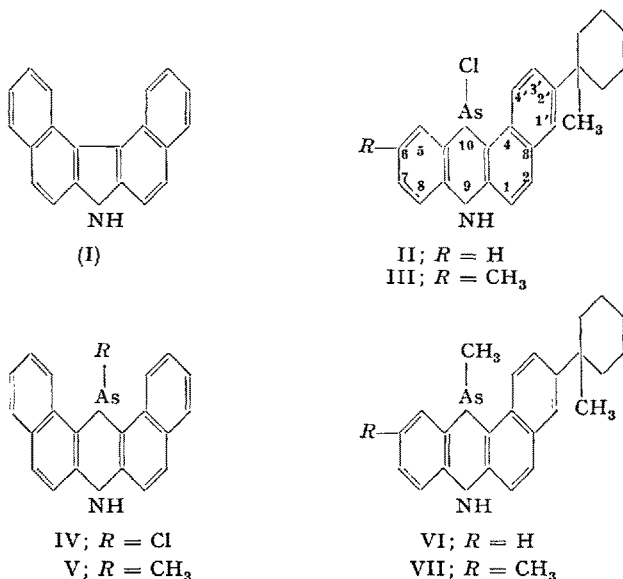


ment, chez ces composés, des atomes de chlore par des radicaux méthyles augmente l'activité, car la 2'-(1-méthylcyclohexyl)-10-méthyl-9,10-dihydro-3,4-benzophénarsazine (VI) et la 10-méthyl-9,10-dihydro-3,4-5,6-dibenzophénarsazine (V) sont staphylostatiques à la concentration de 1,25 μ /ml, et la 2'-(1-méthylcyclohexyl) 6,10-diméthyl-9,10-dihydro-3,4-benzophénarsazine (VII) l'est à la concentration de 2,5 μ /ml.



Par contre, aucune des 6 substances étudiées n'a montré d'activité bactériostatique vis-à-vis d'*Escherichia coli* à la concentration de 10 μ /ml.

En résumé, dans le groupe de benzophénarsazines angulaires, structurellement apparentées au 3,4-5,6-dibenzocarbazole, on trouve des composés possédant une activité bactériostatique élevée vis-à-vis du *Staphylococcus*. On est tenté de penser que, dans les deux cas, les récepteurs cellulaires attaqués pourraient être les mêmes.

N. P. BUU-HOÏ et M. WELSH

Institut du Radium de l'Université de Paris et Institut de Bactériologie de l'Université de Liège, le 14 janvier 1954.

Summary

It is shown that certain compounds belonging to the group of angular benzophenarsazines display a high specific bacteriostatic activity towards *Micrococcus pyogenes* var. *aureus*. This biological property provides a further ground of similarity between these compounds and one of their structural analogues, 3,4-5,6-dibenzocarbazole.

Aureomycin Inactivation by Pathogenic Bacteria

While several organisms have been reported to be resistant to aureomycin¹, there seems to be no reference

in the literature regarding inactivation of aureomycin by bacteria¹. However, the reversal of aureomycin inhibition of *Escherichia coli* by complex natural material has been shown recently². During our studies on the effect of antibiotics in the growth medium on the elaboration of certain enzymes by *Vibrio cholerae*, it was observed that this organism grew well on a medium containing aureomycin in concentrations as high as 1:80,000. It was, therefore, considered of interest to find out whether aureomycin was being inactivated by certain substances produced by *V. cholerae* and if so whether this property was present in other pathogens also. The preliminary results obtained are reported in the present communication.

The procedure adopted for studying the inactivation of aureomycin by *V. cholerae* and other organisms was similar to Gors' method³ for detection of penicillinase. 0.5 ml of 24 h old broth culture of *Staph. aureus* (Oxford) and the desired amount of aureomycin hydrochloride solution (1 mg/ml) were added to 100 ml of melted papain-meat agar (pH 7) at approximately 45°C, mixed thoroughly and dispensed in 12–15 ml lots into sterile petri dishes. 24 h old cultures of organisms under test were then streaked in the middle of the *Staph. aureus*-aureomycin-agar plate and incubated at 37°C. The growth of *Staph. aureus* in the vicinity of the streak was noted after 1, 2, and 3 days of incubation.

From the results presented in the Table, it would appear that the organisms inactivated aureomycin to different levels, as shown by the rapidity and extent of appearance of growth of *Staph. aureus* around the streaked organism. Under identical conditions, the control plates did not show any growth of *Staph. aureus*. In the case of *B. subtilis*, *Proteus X19H* and *Ps. aeruginosa*, it was also observed that the growth of *Staph. aureus* was inhibited in the immediate vicinity of the streak, due obviously to the production of substances inhibitory to the seeded organism.

It would also appear that the Gram negative organisms inactivated the antibiotic to a greater degree than the Gram positive ones. Of the organisms tested, the maximum inactivation was brought about by *Ps. aeruginosa* and *Proteus X19H*, which incidentally have been reported to be quite resistant to aureomycin⁴. The inactivation of aureomycin reported herein may be due either to the breakdown of aureomycin or to the elaboration of substances capable of blocking the inhibitory action of this antibiotic. The latter possibility would be in conformity with the recent findings of FOSTER and PITILLO⁵, who have shown the reversal of aureomycin inhibition by a number of vitamins, amino acids and related compounds.

Further work on the nature of aureomycin inactivation is in progress.

S. N. IYER, A. T. DUDANI, and
D. L. SHRIVASTAVA.

Central Drug Research Institute, Lucknow, India,
January 28, 1954.

¹ T. F. PAINE, Jr., H. S. COLLINS, and M. FINLAND, Ann. N. Y. Acad. Sci. 51, 228 (1948); J. Bact. 56, 489 (1948). – P. H. LONG, Bull. N. Y. Acad. Med. 28, 809 (1952).

² J. W. FOSTER and R. F. PITILLO, J. Bact. 65, 361 (1953).

³ J. S. GOTS, Science 102, 309 (1945).

⁴ C. W. PRICE, W. A. RANDALL, and H. WELCH, Ann. N. Y. Acad. Sci. 51, 211 (1948). – J. C. RANSMEIER, H. E. BROWN, and N. DAVIS, J. Lab. Clin. Med. 38, 620 (1951). – T. F. PAINE, Jr., H. S. COLLINS, and M. FINLAND, Ann. N. Y. Acad. Sci. 51, 228 (1948).

⁵ J. W. FOSTER and R. F. PITILLO, J. Bact. 66, 478 (1953).

¹ C. W. PRICE, W. A. RANDALL, and H. WELCH, Ann. N. Y. Acad. Sci. 51, 211 (1948). – T. M. GÖCKE and M. FINLAND, J. Lab. Clin. Med. 38, 719 (1951). – J. C. RANSMEIER, H. E. BROWN, and N. DAVIS, J. Lab. Clin. Med. 38, 620 (1951).

Table.—Inactivation of Aureomycin by Pathogenic Bacteria

Test organism	Growth of <i>Staph. aureus</i> with aureomycin concentration							
	1:80,000			1:120,000			1:160,000	
	Days			Days			Days	
	1	2	3	1	2	3	1	2
Control	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Escherichia coli</i>	—*	—*	++	—*	—	++++	—	+
<i>Proteus</i> X-19H**	—*	—	++++	—	—	++++	—	+++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> **	—	—	++++	—	—	++++	—	++++
<i>Salmonella typhosa</i>	—*	—*	++	—*	—	++++	—	++
<i>Salmonella typhosa</i> -H 901	—*	—*	+	—*	—	++++	—	++
<i>Salmonella paratyphi</i> A	—	±	++	—	+	++++	—	++
<i>Salmonella paratyphi</i> B	—*	—	+	—*	—	+++	—	—
<i>Shigella dysenteriae</i> Shiga	—	±	+++	—	—	+	—	+
<i>Shigella paradyseuteriae</i> Flexner	—	±	+++	—	—	+	—	++
<i>Shigella sonnei</i>	—*	—	++	—	—	++++	—	++
<i>Vibrio cholerae</i> Ogawa	—	+	++	—	—	++	—	+
<i>Vibrio cholerae</i> Inaba	—	+	++	—	—	++	—	—
Water vibrio Water Tank	—	+	++	—	—	—	—	—
<i>Bacillus subtilis</i> **	—	—	—	—	—	++	—	—
<i>Streptococcus faecalis</i>	—*	—	—	—*	—	++	—	—
<i>Streptococcus haemolyticus</i>	—	—	—	—	—	—	—	—

* Insignificant growth of test organism.

** The growth of the streaked test organism was surrounded by a zone of inhibition, followed by growth of *Staph. aureus*.

Zusammenfassung

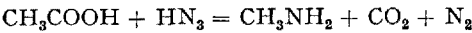
Von 16 pathogenen Bakterien, die auf Inaktivierung des Aureomycins nach einem Vorgang ähnlich von Gors' Methode des Penicillinase-Nachweises getestet wurden, waren 15 inaktivierend.

Über die Biosynthese des β -Carotins bei *Mucor hiemalis*. Die Beteiligung der Essigsäure am Aufbau des Carotinmoleküls, untersucht mit Hilfe C^{14} -markierter Essigsäure

Kürzlich haben wir darüber berichtet¹, dass mit C^{14} -markiertem Azetat die Beteiligung der Essigsäure an der Biosynthese des Carotins bei *Mucor hiemalis* und *Phycomyces blakesleeana*s sichergestellt werden konnte. Die quantitativen Bestimmungen mit methyl- und carboxyl-markiertem Azetat haben ergeben, dass die Methyl- und die Carboxylgruppe zu gleichen Teilen am Aufbau des β -Carotins teilnehmen². Der prozentuale Anteil der Kohlenstoffatome der Essigsäure am gesamten Kohlenstoffbestand des β -Carotins ist derselbe, wenn die Mikroorganismen auf einer Nährlösung kultiviert werden, die als Kohlenstoffquelle Na-azetat und NH_4 -laktat (das zugleich Stickstoffquelle ist) enthält, oder einer solchen, bei der das Azetat die einzige Kohlenstoffquelle darstellt [Stickstoffquelle ist $(NH_4)_2SO_4$]³. Die nächsten Schritte unserer Untersuchungen gelten der Bestimmung der Positionen im Carotinmolekül, in welche die Methyl- bzw. die Carboxylgruppen der

Essigsäure eingebaut werden. Die ersten Ergebnisse dieser Arbeiten sind hier in Kürze wiedergegeben. Diese betreffen die 4 seitenständigen Methylgruppen und ihre direkt benachbarten C-Atome der zwischen den beiden Jononringen liegenden Kette (siehe untenstehende Formel).

Die beschriebenen C-Atome finden wir nach dem oxydativen Abbau mit Permanganat nach KARRER und HELFENSTEIN¹ als Essigsäure im Reaktionsgemisch. Dabei bildet die Methylgruppe des β -Carotins auch die Methylgruppe der Essigsäure. Die durch Oxydation gewonnene Essigsäure kann durch Decarboxylierung in zwei C_1 -Komponenten zerlegt werden. Diese Decarboxylierung führten wir nach der Schmidtschen Reaktion durch (Nach Angaben von SCHUERCH und HUNTRESS²), welche sich nach der Gleichung:



vollzieht. Die Methylgruppe der Essigsäure fällt als Methylamin an, während die Carboxylgruppe als CO_2 das System verlässt und in $Ba(OH)_2$ aufgefangen werden kann.

Für die Bildung des radioaktiven β -Carotins haben wir den *Mucor hiemalis* herangezogen, welchen wir auf einem Nährmilieu³ mit Na-Azetat als einzige Kohlenstoffquelle gezüchtet haben. Um eine für die Spaltungsversuche ausreichende Menge radioaktiven β -Carotins von genügender Aktivität zu erhalten, sind 1000 Einzelkulturen, in Erlenmeyer von 150 cm³ Rauminhalt mit je 25 cm³ Nährlösung, notwendig. Aus diesen 1000 Kulturen gewinnen wir etwa 10 mg radioaktives β -Carotin, welches mit β -Carotin (aus Carotin «Roche» durch Umkristallisieren und Chromatographieren gewonnen) auf rund 80 mg verdünnt wird. Diese Menge gewährleistet

¹ E. C. GROB, G. G. PORETTI, A. VON MURALT und W. H. SCHOPFER, Exper. 7, 218 (1951). – E. C. GROB, W. H. SCHOPFER und G. G. PORETTI, Z. Vitaminforschg. 23, 484 (1952). – E. C. GROB und W. H. SCHOPFER, II^e Congr. int. Biochim. Paris, Rés. des Communications, S. 212 (1952).

² E. C. GROB, W. H. SCHOPFER und G. G. PORETTI, Z. Vitaminforschg. 23, 484 (1952).

³ W. H. SCHOPFER und E. C. GROB, Exper. 8, 140 (1952).

¹ P. KARRER und A. HELFENSTEIN, Helv. chim. Acta 12, 1142 (1929).

² C. SCHUERCH und E. H. HUNTRESS, J. amer. chem. Soc. 71, 2233 (1949).

³ W. H. SCHOPFER und E. C. GROB, Exper. 8, 140 (1952).