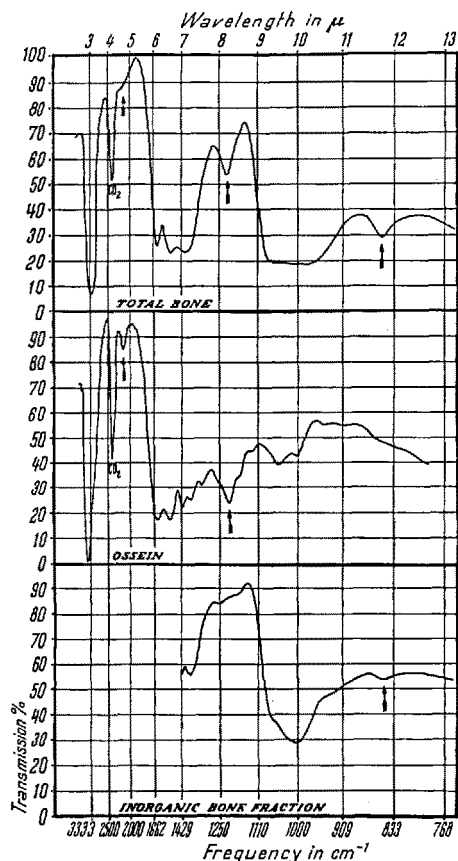


**Results.**—The infrared spectra of total bone, compared with the spectra of ossein as well as those of the inorganic fraction, showed the following main differences (Figure).



(a) In the ossein spectra an absorption occurs at a frequency of about  $2155\text{ cm}^{-1}$ . The same absorption cannot be detected in the spectra of total bone nor in those of the inorganic fraction. Absorption at  $1213\text{ cm}^{-1}$ , found in the ossein spectra, decreases in total bone spectra.

(b) An absorption peak at about  $850\text{ cm}^{-1}$ , found in the spectra of inorganic bone fraction, appears much increased in the spectra of total bone.

The results of some of the above-mentioned studies, as well as some of our unpublished results on the spectra of very simple substances, suggest that the absorption at  $2155\text{ cm}^{-1}$  in the spectra of ossein is the first overtone of the fundamental and totally symmetric frequency at  $1213\text{ cm}^{-1}$  related to the  $-\text{SO}_2-$  grouping<sup>1</sup>.

This view is also supported by the work of SCHREIBER<sup>2</sup> on the infrared spectra of many compounds containing the  $-\text{SO}_2-$  grouping, as well as by the research of MECKE<sup>3</sup> on the  $\text{SO}_2$  absorption frequencies.

In this connection the disappearance of the frequency at  $2155\text{ cm}^{-1}$  in total bone spectra can easily be explained. In fact it is well known that any modification related to the vibrational energy of a functional grouping induces (a) a decrease of the fundamental absorption band, (b) the disappearance of the first overtone. Both the phenomena are present in total bone and suggest that one or

both S–O bonds of the sulfonic groupings pertaining to the ossein may occur in a polar form. Such a condition would increase the electro-negativity of the oxygen which in turn would be able to bind calcium.

The spectra of inorganic bone fraction show the absorption frequencies of the orthophosphates (calcium phosphate, according to CORBRIDGE and LOWE<sup>1</sup>, HUNT, WISHERD and BONHAM<sup>2</sup>). A large absorption band with a maximum at  $1002\text{ cm}^{-1}$  corresponds to a totally symmetric frequency related to the  $\text{PO}_4$  (see also HERZBERG<sup>3</sup>). Another maximum at  $850\text{ cm}^{-1}$  strongly increases in total bone. This increase is probably due to a condition of asymmetry related to the  $\text{PO}_4$  ion. In this manner the P–O bands would not be energetically equivalent and would determine a change of dipolar moment. The modified phosphoric grouping would form bonds (hydrogen bonds) with the OH or the NH groupings of the fundamental substance of the ossein. The existence of hydrogen bonds is suggested by the displacement observed in the fundamental frequency of the OH grouping (or NH grouping, according to POLONOVSKI and CARTIER<sup>4</sup>). In fact this frequency corresponds to  $3546\text{ cm}^{-1}$  in ossein spectra and to  $3289\text{ cm}^{-1}$  in spectra of total bone.

**Conclusion.**—The results of our researches may be summarized as follows. In total bone the bonds between ossein and inorganic fraction occur via the sulfonic groupings of the ossein, the  $\text{PO}_4$  groupings of the inorganic fraction and hydrogen bonds.

V. CAGLIOTI, A. ASCENZI, and  
M. SCROCCO

*Institute of General and Inorganic Chemistry and  
Institute of Morbid Anatomy, University of Rome, April  
14, 1954.*

#### Riassunto

Sulla base di ricerche spettrofotometriche all'infrarosso su sezioni di osso intero, di osso decalcificato (osseina) e di osso privato della frazione organica gli autori sono giunti ai risultati seguenti. Nell'osso intero i legami fra osseina e frazione inorganica sono realizzati dai gruppi solforici dell'osseina, dai gruppi  $\text{PO}_4$  della frazione inorganica e da ponti idrogeno.

<sup>1</sup> D. E. C. CORBRIDGE and E. J. LOWE, *J. Chem. Soc.* 1954, 493.

<sup>2</sup> J. M. HUNT, M. P. WISHERD, and L. C. BONHAM, *Anal. Chem.* 22, 1478 (1950).

<sup>3</sup> G. HERZBERG, *Infrared and Raman Spectra* 5 Ed. (Van Nostrand Co. Inc., New York, 1951).

<sup>4</sup> M. POLONOVSKI and P. CARTIER, *C. r. Acad. Sci. Paris* 232, 119 (1951).

#### Lipide und Virulenz bei Typhusbakterien

Die Virulenz bestimmter Typhusstämmen wird, wie bekannt, einem besonderen, von FELIX<sup>1</sup> entdeckten und von anderen Autoren<sup>2</sup> erforschten Vi-Antigen zugeschrieben. Es interessierte uns, zu prüfen, ob und in welchem Zusammenhange die Virulenz mit dem Lipidgehalt verschiedener Stämme steht. DENNIS<sup>3</sup> fand nämlich, dass sämtliche Lipoidfraktionen eine ähnliche Wirkung auf verschiedene Gewebe ausüben, wie es sonst unter der Einwirkung von Phthionsäure beobachtet wurde. Wir untersuchten zu diesem Zweck zwei stark virulente

<sup>1</sup> A. FELIX und R. M. PITT, *J. Path. Bact.* 38, 409 (1934).

<sup>2</sup> A. BOIVIN, *Exposés ann. biochim. méd.* 3, 113 (1942).

<sup>3</sup> E. W. DENNIS, *Amer. J. Hyg.* 32 B, 1 (1940).

<sup>1</sup> In the region  $1250\text{--}950\text{ cm}^{-1}$ , absorption bands are also present related to bonds pertaining to polysaccharides. We have kept account of these bands by means of comparative investigations.

<sup>2</sup> I. C. SCHREIBER, *Anal. Chem.* 21, 1168 (1949).

<sup>3</sup> R. MECKE, *Z. phys. Chem. B.* 16, 409 (1932).

Typhusstämme (Vi-Bhatnagar und den bei uns isolierten Stamm Z 47), einen etwas weniger virulenten Paratyphus-C-Stamm (Hirschfeld) und zwei für den Menschen schwach pathogene Stämme (*S. gallinarum* und *S. balle-  
lerup*). Die Lipide wurden den Bakterien durch ein früher beschriebenes Verfahren<sup>1</sup> entzogen und die Phosphatide durch Fällen mit Azeton bestimmt. Die Ergebnisse, in Prozent auf Trockensubstanz berechnet, sind in der folgenden Tabelle geschildert:

Stamm	Z 47	Vi-Bhatnagar	Hirschfeld	<i>S. gallinarum</i>	<i>S. balle- rup</i>
Virulenz . . . . .	+++	+++	++	+	+ -
% azetonlöslicher Lipide . . . . .	5,01	1,29	2,85	9,48	1,01
% Phosphatide . . . . .	0,14	0,21	0,81	0,57	1,07
% Gesamtlipide . . . . .	5,15	1,50	3,66	10,05	2,08

In bezug auf die Neutrallipide könnte man aus diesen Ergebnissen keinen Zusammenhang mit Virulenz feststellen, was aber die Phosphatide anbetrifft, kann man ein deutliches Absinken mit dem Steigen der Virulenz beobachten. Nur bei *S. gallinarum* ist der Phosphatidgehalt etwas geringer. Deren Lipide unterscheiden sich überhaupt von den Lipiden anderer Typhusbakterien, worüber wir an einer anderen Stelle berichten werden.

Es muss hier hervorgehoben werden, dass unsere Befunde im Gegensatz mit den Tatsachen, die für säurefeste Bakterien bekannt sind, stehen, und mit der Virulenz möglicherweise nichts Gemeinschaftliches haben und vielleicht nur speziesbedingt sein könnten. SEIBERT, LONG und MORELEY<sup>2</sup>, MARTIN<sup>3</sup>, und ASSELINEAU<sup>4</sup> fanden, dass virulente Stämme von *M. tuberculosis* bedeutend mehr Lipide enthalten als nichtvirulente Stämme. Diese Unterschiede beziehen sich auf die mit Chloroform extrahierten Lipide, die als Hauptbestandteil Mycol-säure enthalten. Auf Grund unserer bisherigen Untersuchungen kann man annehmen, dass in den azeton-äther-alkohol- und chloroformlöslichen Lipiden von Typhusbakterien derartige Lipide nicht vorhanden sind. Die Virulenz müsste hier durch andersartig gestaltete Faktoren bedingt sein.

Es kann möglich sein, dass auch die komplex gebundenen Lipide eine Rolle bei der Virulenz von Typhusbakterien spielen. BOIVIN und MESROBEANU<sup>5</sup> fanden, dass die O- und Vi-Antigene eine bedeutende Menge komplex gebundener Fettsäuren enthalten, über deren Natur noch nichts Näheres bekannt ist. Wir isolierten unlängst aus den komplex gebundenen Lipiden eines stark virulenten Stammes eine Fraktion flüssiger Fettsäuren, deren Neutralisationsäquivalent auf das Vorhandensein hochmolekularer Fettsäuren schliessen lässt und deren biologische Wirkung ebenfalls geprüft werden müsste.

S. ČMELIK

Zentrales Hygienisches Institut der Universität Zagreb, Jugoslawien, den 18. April 1954.

<sup>1</sup> S. ČMELIK, Z. physiol. Chem. 290, 146 (1952); 293, 222 (1953).  
<sup>2</sup> F. B. SEIBERT, E. R. LONG und N. MORLEY, J. infect. Dis. 53, 175 (1933).  
<sup>3</sup> G. J. MARTIN, J. Amer. Chem. Soc. 60, 768 (1938).  
<sup>4</sup> J. ASSELINEAU, Progrès Explor. Tuberc. 5, 20 (1952).  
<sup>5</sup> A. BOIVIN und L. MESROBEANU, C. r. Acad. Sci. 206, 1416 (1938); C. r. Soc. Biol. 128, 5, 9 (1938).

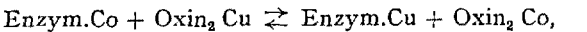
Summary

Researches on lipids from various strains of the *Salmonella* group showed that in the content of neutral lipids there is no difference between virulent and not virulent strains. Virulent strains contain by far less phosphatides than not virulent or weakly virulent strains.

Komplex-Stabilität und tuberkulostatische Aktivität einiger 8-Oxychinolinderivate<sup>1,2</sup>

ERLENMEYER, BÄUMLER und ROTH<sup>3</sup> haben kürzlich eine Arbeitshypothese über den Zusammenhang zwischen Komplexbildungsvermögen und tuberkulostatischer Aktivität veröffentlicht. Wir sind auf Grund unabhängiger Versuche auf ähnliche Ergebnisse gekommen.

Wir vermuteten, dass das 8-Oxychinolin und isostere Verbindungen ihre Wirkung durch kompetitiven Antagonismus entfalten. Sie vermögen als Cu-oxinat die Co-prosthetische Gruppe eines Enzymsystemes der Mycobakterien zu stören und so das Co auszutauschen. Die hypothetische Reaktion ist



deren Gleichgewichtskonstante

$$K = \frac{[Enzym. Cu] \cdot [Oxin_2 Co]}{[Enzym. Co] \cdot [Oxin_2 Cu]}$$

Setzen wir nun die Stabilitätskonstanten der einzelnen Reaktionsteilnehmer ein und beachten, dass bei jeder Oxinverbindung dasselbe Enzymsystem angegriffen wird (und so das Verhältnis der Stabilitätskonstanten auch konstant bleibt), so gelangen wir zu der Gleichung

$$K = k \frac{K_{Oxin_2 Co}}{K_{Oxin_2 Cu}}$$

Die Auswahl der zu untersuchenden Verbindungen (präparative Einzelheiten siehe<sup>2</sup>) geschah teils messtechnisch bedingt, teils so, dass ein möglichst grosser Bereich tuberkulostatischer Aktivität gefasst wurde.

Wir bestimmten die Stabilität der Cu<sup>++</sup>-Komplexe polarographisch, die der Co<sup>+++</sup>-Komplexe spektrophotometrisch. Wir vermuten nämlich auf Grund der Untersuchungen von WARBURG<sup>4</sup>, dass in den Lebensvorgängen das stärker zur Komplexbildung befähigte Co<sup>+++</sup>-Ion teilnimmt. Wir haben die Stabilität der Cu<sup>++</sup>-Komplexe mit einem Polarographen, Typ Radiometer PO 3e, in 0,1 M KNO<sub>3</sub> gemessen. Die Ergebnisse sind in der Tabelle zusammengefasst. Es ist interessant, zu bemerken, dass amino- und karboxylsubstituierte 8-Oxychinolin-Derivate keine Halbwellenpotential-Verschiebung verursachen; das steht im Einklang mit ihrer sehr geringen in-vitro-Aktivität.

<sup>1</sup> Vorgetragen an der Organisch-Chemischen Konferenz des Vereines ungarischer Chemiker, 27. September 1953.  
<sup>2</sup> III. Mitteilung: Acta chim. Hungarica (im Druck).  
<sup>3</sup> H. ERLMEYER, J. BÄUMLER und W. ROTH, Helv. chim. Acta 36, 941 (1953).  
<sup>4</sup> O. WARBURG, Schwermetalle als Wirkungsgruppen von Fermenten (Berlin 1946).