

Gruppen der Schutzeffekt bei der Ektromelie und der SK.-Virusinfektion unter gleichen Bedingungen auftrat. Auch der Wirkungsabfall findet seine Entsprechung bei der Ektromelie nach Behandlungsdosis (0,1 mg/kg) und Vorbehandlungstermin (48 h). Hier und besonders häufig bei der geringeren Infektionsdosis liegt ein Wirkungsumschlag vor, indem die Schwellung der Pfoten früher als bei den unbehandelten Kontrolltieren auftrat und einen höheren Grad erreichte. Die stärksten Aggravationseffekte traten bei der stärkeren Infektion mit steigender Behandlungsdosis zu immer früheren Behandlungsterminen auf und verhielten sich somit genau umgekehrt wie die Maxima des Schutzeffektes (vgl. entsprechend eingerahmte Werte in der Tabelle).

Wesentliches Merkmal dieser Befunde ist die Periodizität von Schutzwirkung und Aggravationseffekt in Abhängigkeit von der Behandlungsart. Es ist nahelegend anzunehmen, dass die Hemmung und Förderung der beiden artifiziellen Virusinfektionen in einem bestimmten Zusammenhang stehen mit einem zeitlichen Aufeinandertreffen bestimmter Infektionsstadien und gewissen Phasen einer Resistenzschwankung. Diesen durch die Behandlung mit dem Polysaccharid geschaffenen Wirkungsbedingungen unterliegen zwei in ihrer systematischen Zugehörigkeit weit auseinanderliegende Virusarten wie das neurotrope Virus der Col.-SK.-Encephalomyelitis und das pantrope Ektromelievirus in weitgehend ähnlicher Weise. Ob noch andere Virusinfektionen in dieser Beziehung gleich reagieren, ist durch weitere Versuche zu zeigen. Die hier mitgeteilten Befunde lassen erkennen, dass die in der Maus durch das von uns verwendete Polysaccharid-Präparat ausgelösten Reaktionen zeitlich, quantitativ und qualitativ von ganz bestimmtem Charakter sind und dass es möglich sein dürfte, eventuell unter Verwendung weiterer Virusarten oder bakterieller Infektionen, die Bedingungen der therapeutischen Wirkung solcher Stoffe genauer zu charakterisieren.

F. KRADOLFER, R. WYLER und R. MEIER

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Pharmazeutische Abteilung, Basel, den 21. Februar 1957.

Summary

The paper analyses the protective or aggravating effect of a purified bacterial polysaccharide in Col.-SK.-Encephalomyelitis and infectious ectromelia in mice, as a function of the method of treatment. Both infections are influenced in a largely similar manner with a typical pattern of variation in the host resistance optimal effects depending on characteristic dose/time relations.

Observations on the Alleged Occurrence of Vitamin A in Baker's Yeast

The claim by ERNSTER, ZETTERSTRÖM, and LINDBERG¹ that vitamin A occurs in respiring baker's yeast has recently been refuted². We had also repeated the experiment of ERNSTER *et al.* and had been unable to demonstrate the presence of vitamin A. The results obtained were similar to those of HEATON, LOWE, and MORTON².

¹ L. ERNSTER, R. ZETTERSTRÖM, and O. LINDBERG, *Exp. Cell. Res.* 1, 494 (1950).

² F. W. HEATON, J. S. LOWE, and R. A. MORTON, *J. chem. Soc.* 1956, 4094.

The aqueous extract of the yeast showed a maximum absorption at a wavelength of 260 m μ but no maximum in the 320–330 m μ region was found. The lipid extract (in ether) showed maxima at 231, 258, 270, and 282 m μ with inflexions at 295 and 325 m μ . Thus the predominant chromogenic material in the lipid extract appears to be ergosterol as already suggested². Negative results for vitamin A were obtained when the SbCl₃ colour reaction was used. We found however, that on testing the lipid extract with SbCl₃ a red colour ($\lambda_{\max}$ 565 m μ) was obtained immediately on mixing; the colour then changed slowly to give a stable greenish-blue with a maximum at 700 m μ . This blue colour could not be due to carotenoids as there was no absorption in the visible range in the original solution. It seems likely that this result could explain the observations of ERNSTER *et al.*¹ who based their detection and estimation of vitamin A on a blue colour which, it now seems, was not due to vitamin A.

E. R. REDFEARN

Department of Biochemistry, The Queen's University, Belfast (N. Ireland), January 11, 1957.

Résumé

Traité au SbCl₃, l'extrait de lipide de levure de boulangerie prend en aérobiose une couleur bleue. Ce résultat n'est pas dû à l'action de la vitamine A ou des caroténoïdes.

Das Verhältnis von Chlorophyll a/b bei vollgedüngten und stickstoffmangelnden Pflanzen

Es hat sich gezeigt, dass ein Mangel an dem einen oder anderen Grundstoff sich nicht nur in deutlich sichtbaren Mangelsymptomen zeigt, sondern dass auch die chemische Zusammensetzung der vollgedüngten Pflanzen im Vergleich zu Mangelpflanzen eine andere ist (RICHARDS¹, STEWARD und THOMPSON²). Da sich nun Stickstoffmangel unter anderem in geringerer Chlorophyllbildung pro Blattflächeneinheit und einer mehr gelblichen Farbe zeigt, und da Chlorophyll b mehr gelblich ist als Chlorophyll a, lag die Annahme nahe, dass das Verhältnis Chlorophyll a:b bei Mangelpflanzen von dem bei vollgedüngten Pflanzen abweichen würde. Um diese Frage zu lösen, wurden Gerstenblätter von vollgedüngten und von stickstoffmangelnden Pflanzen untersucht.

Methodisches. Die zu den Versuchen benutzten Gerstenpflanzen stammten vom Versuchshof für Pflanzenkultur Virumgaard, Lyngby, 12 km nördlich von Kopenhagen gelegen. Das Versuchsareal, auf dem die stickstoffmangelnden Pflanzen wuchsen, ist seit 1943 nur mit Kunstdünger und zwar mit 200 kg Superphosphat mit 7,9% P und 240 kg KCl mit 41,5% K jährlich pro ha gedüngt worden. Das Areal der vollgedüngten Pflanzen hat jährlich 5000 kg Stalldung, 3000 kg Jauche, 100 kg Superphosphat, 150 kg KCl und 230 kg Kalksalpeter pro ha bekommen. Die benutzte Gerstensorte war *Hordeum distichum nutans forma Ymer*. Sie wurde am 21. April 1956 ausgesät und Blätter davon im Juni für die Versuche – immer das dritte Blatt von oben – ausgenommen. 0,8 g Frischgewicht Blattfläche wurde abgewogen,

¹ F. RICHARDS, 8^e Congr. Bot. Paris, Sect. 11, 101 (1954).

² F. STEWARD und J. THOMPSON, in: H. NEURATH und K. BAILEY, *The Proteins*, vol. 2, part A (New York 1954), p. 513.

im Mörser mit Sand (pro 100 g reinem Quarzsand 5 g CaCO_3) zerrieben, anschliessend mit Äther extrahiert und durch ein Jena-Glasfilter 3G3 filtriert. Die Flüssigkeit wurde im Vakuum eingengt und quantitativ auf Whatman-Papier Nr. 1 in Streifen aufgetragen und nach der Methode von BAUER³ modifiziert von SIRONVAL⁴, chromatographiert. Als Lösungsmittel kam ein Gemisch von Benzol, Petroläther und Azeton 100:25:20 in Anwendung. Die Chromatogramme wurden aufgeschnitten, die Chlorophylle in je 40 ml Äther über Nacht bei 0° extrahiert und im Beckman-Spektrophotometer gemessen, Chlorophyll a bei 665 m μ und Chlorophyll b bei 645 m μ .

Ergebnisse. Die Totalmenge von Chlorophyll a betrug bei vollernährten bzw. stickstoffmangelnden Gerstpflanzen pro 100 g Frischgewicht Blattfläche im Durchschnitt:

Chlorophyll a = 252 mg	}	+ N
Chlorophyll b = 86 mg		
Chlorophyll a = 170 mg	}	- N
Chlorophyll b = 50 mg		

Daraus errechnet sich das Verhältnis von Chlorophyll a/b bei vollernährten Pflanzen zu 2,9 und das von N-mangelnden zu 3,4.

SAGROMSKY⁵ fand, dass K ohne Einfluss auf den Quotienten a/b ist, aber dass N-mangelnde Pflanzen von *Chlorella* einen etwas höheren Quotienten a/b haben als Normalkulturen. BAUMEISTER und BURGHARDT⁶, die mit Zink arbeiteten, kamen zu dem Resultat, dass Zinkdüngung keinen Einfluss auf das Verhältnis Chlorophyll a/b hat.

Der Quotient Chlorophyll a/b, der von den Beleuchtungsverhältnissen abhängig ist, scheint somit von N-, K- und Zn-Zufuhr nur wenig beeinflussbar zu sein.

ERIKA LÖHR

Pflanzenphysiologisches Laboratorium der Universität Kopenhagen, Dänemark, den 8. Januar 1957.

Summary

The ratio chlorophyll a/b was investigated in leaves from full-manured and nitrogen deficient barley plants. The quotient a/b was 3.2 in nitrogen deficient and 2.9 in full-manured plants.

³ L. BAUER, *Naturwissenschaften* 39, 88 (1952).

⁴ C. SIRONVAL, *Arch. int. Physiol.* 61, 563 (1953).

⁵ H. SAGROMSKY, *Z. Naturf.* 11b, 548 (1956).

⁶ W. BAUMEISTER und H. BURGHARDT, *Ber. Bot. Ges.* 69, 161 (1956).

Antilipemic Activities of Several new Heparinoids

The important position of heparin in the problem of atherosclerosis is abundantly documented in a great number of experimental and clinical papers. In the search for new potential substitutes for heparin, we prepared a series of new heparinoids, including a sulphonated ovomucoid, a sulphonated hyalomucoid, a sulphonated amylose undepolymerized and partially depolymerized, a sulphonated saponin and a sulphonated tannin. The antilipemic and anticoagulant activities of these substances were determined in comparison with heparin.

All substances studied were applied subcutaneously in different doses to male rats simultaneously with olive

oil, and after 2 h the blood was aspirated from the heart. The turbidity of the serum was measured nephelometrically, total fat was estimated in all dosages and moreover total cholesterol was determined in one dosage (15 mg/kg). The same dosage was subjected to paper electrophoresis. Every dose was applied to 5 animals.

The results of these experiments are shown in Figure 1. The levels of cholesterol oscillate irregularly around the mean value. There is a clear evidence of rough correlation between total fat and the degree of clearing. The heparinoids can be classed into two groups: (1) sulphonated ovomucoid, sulphonated hyalomucoid and sulphonated amylose undepolymerized, all of them substances chemically more closely related to heparin and displaying little antilipemic action; (2) sulphonated amylose depolymerized, sulphonated saponin and sulphonated tannin, evidently substances with little chemical relationship to heparin possessing small molecules and relatively high antilipemic activity. The correlation between dose and action is evident from the total fat determination, whilst, as far as the grade of clearing is concerned, the situation is more complicated. Thus it is very difficult to interpret the two-phase response to rising dose in the case of sulphonated saponin.

The anticoagulant activity of the heparinoids was determined by the modified antithrombin test of STUDER and WINTERSTEIN¹. Figure 2 shows a reversed relationship of activities of the two groups of heparinoids. Whereas the first group shows a relatively high anticoagulant activity, the other group, having smaller molecules, reveals a very low one.

The clearing activity *in vitro* was demonstrated with lipemic rat serum as a substrate. From Figure 3 the same order of antilipemic activities is quite conceivable which was demonstrated previously in the experiment carried out *in vivo*.

Figure 4 represents the results obtained by paper electrophoresis of rat sera after administration of heparinoids and olive oil. The lipoproteins were dyed with Sudan III and the lipidograms were evaluated by elution. In every figure the lipemic control is represented by dashed lines and the change following the application of heparinoids by black areas. In the control curves three peaks are distinguishable. The highest peak is localized near the start and corresponds to β -globulins in the proteinogram, the middle one corresponds to α -globulins and the fastest peak is located within and before the area of albumin. According to the influence they exert on this pattern, the heparinoids can be classified into three groups. The most similar to heparin is the sulphonated saponin and the sulphonated ovomucoid. All three produce only little or no acceleration of migration and a very significant relative lowering of the peak near the start in favour of the other two. The sulphonated amylose and sulphonated tannin show a more conspicuous acceleration of migration of all three peaks. The sulphonated depolymerized amylose exerts, moreover, an especially marked depressing influence on total lipoproteins. In the third group, two substances possessing high molecular weight could be classified: the undepolymerized sulphonated amylose and sulphonated hyalomucoid. Even if the acceleration of migration is moderately marked, the relative change of the peak height is small.

In addition, the acute toxicities were determined on mice. The results are summarized in the Table.

On the basis of comparison of this series of heparinoid substances, it was suggested that the most significant

¹ A. STUDER and A. WINTERSTEIN, *Helv. physiol. Acta* 9, 6 (1951).