

	Konzentration in		Verteilungs- koeffizient
	Wasser	Hexan	
p-Chlorbenzylalkohol	0,0105 mol	0,0106 mol	1,0
p-Chlor- β -phenylaethylalkohol	0,0037 mol	0,0091 mol	2,5

1) Die Wirkung steigt mit zunehmender Lipoidlöslichkeit.

2) Die Substanz muss in Wasser gelöst sein, damit die Moleküle überhaupt an die hydrophile Aussenschicht der Bakterienzelle gelangen können.

Aus diesen beiden, sich widersprechenden Punkten ergibt sich beim Anstieg in einer homologen Reihe folgende Situation: Bei der Überschreitung eines gewissen Verteilungskoeffizienten kann eine weitere Substitution im Kern oder eine weitere Verlängerung der Seitenkette die Lipoidlöslichkeit (gemessen am Verteilungsgleichgewicht) nur noch unwesentlich erhöhen. Gleichzeitig wird aber die Wasserlöslichkeit stärker erniedrigt. An dieser Stelle einer homologen Reihe muss ein Wirkungsabfall eintreten. Denn die zu geringe Wasserlöslichkeit der Verbindung erlaubt es nicht mehr, genügend Moleküle an die Grenzfläche der Zelle heranzubringen. Folglich ist es auch nicht mehr möglich, die gleiche Konzentration in den Zellipoiden zu erreichen, wie beim nächst niederen Homologen. Es hängt natürlich von der Resistenz der geprüften Bakterienart ab, bei welcher Verbindung einer homologen Reihe der Wirkungsabfall eintritt.

Diejenige Substanz wird also am besten wirken, die bei genügender Wasserlöslichkeit sich zum grössten Teil in der Lipoidphase anreichern kann. Als solche Verbindung kann der zu fast 0,5% in Wasser lösliche p-Chlor- β -phenylaethylalkohol bezeichnet werden, denn er erreicht bei der Verteilung zwischen Wasser und Hexan eine 3mal höhere Konzentration in der Lipoidphase. Dieser aromatische Alkohol dürfte deshalb als neues, bakterizides und wenig toxisches Mittel für viele Verwendungsmöglichkeiten geeignet sein (wie zum Beispiel für die Sterilhaltung oder Konservierung von Injektionslösungen). In der Phenolreihe zeigt p-Chlor-m-kresol ebenfalls ähnliche Eigenschaften bezüglich Wasserlöslichkeit und hohem Verteilungskoeffizienten zwischen lipophiler und wässriger Phase.

Unsere Abtötungsversuche, durchgeführt an mehreren grampositiven und gramnegativen Testbakterien, stützen somit auch die Hypothese einer Lipoidschranke⁷ in der Grenzfläche der Bakterienzelle. Die Verwendung von Hexan zur Ermittlung des Verteilungsgleichgewichtes ist nur als grobes Modell zu betrachten.

H. HESS und P. SPEISER

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel, 3. September 1958.

Summary

The rôle of the partition coefficient for the bactericidal efficiency of phenols and aromatic alcohols is stressed. It is postulated that these compounds in any concentration should have identical bactericidal effects if they attain the same molar concentration in a lipid phase after distribution. It is proposed to use this postulate for a new approach to test phenolic and alcoholic disinfectants. p-chloro- β -phenetyl alcohol reveals a high bactericidal effect due to a favourable distribution coefficient combined with a water solubility of nearly 0.5%.

⁷ P. MITCHELL und J. MOYLE, J. gen. Microbiol. 5, 981 (1951).

Oxidative Phosphorylation and Nitrogen Fixation by Cell-Free Extracts of the *Azotobacter*

Several investigators (SLATER, TISSIERES and SLATER, ROSE, and OCHOA¹) have demonstrated coupled oxidative phosphorylation by fractionated extracts of *Azotobacter vinelandii*. HYNDMAN *et al.*² using crude extracts of the same organism coupled phosphorylation with the oxidation of molecular hydrogen. HARTMAN, BRODIE, and GRAY³ found that the addition of ATP and Mg⁺⁺ stabilized the very labile oxidative phosphorylation system in sonic extracts of this organism. Some investigators have attributed the failure to obtain cell free preparations of the azotobacter that will consistently incorporate N₂¹⁵ to a lack of a readily available energy source. Therefore, the capability of a cell free preparation of *A. vinelandii* O, prepared by the method of HARTMAN, BRODIE, and GRAY³, to fix N₂¹⁵ was determined.

Table I

Substrate	Oxygen µatoms	Δ Pi µmoles	P/O ratio
Succinate . . .	7.3—8.0	3.0—4.0	0.41—0.50
Fumarate . . .	8.5—10.0	3.1—4.5	0.36—0.45
α -Ketoglutarate	6.1—7.1	2.9—4.4	0.47—0.61

Each flask contained 1.0 ml dialyzed cell extract (14 mg protein), 20 µmoles substrate, 12 µmoles phosphate, 25 µmoles NaF, 15 µmoles MgCl₂.

Acceptor system: 5 µmoles mannose + 3 mg hexokinase and 2.5 µmoles ADP. Gas phase: air. Incubation time: 10 minutes. Δ Pi indicates inorganic phosphate disappearance. All values have been corrected for endogenous respiration.

The techniques described by these investigators were used for growing cells of *A. vinelandii* O and for the preparation of the crude cell free extract. Protein was estimated by the biuret reaction of GORNALL *et al.*⁴ and inorganic phosphate in the TCA soluble fraction of the reaction mixture by the method of FISKE and SUBBAROW⁵. The N₂¹⁵ concentration was determined by measuring the ratio of mass 28/29 in a Consolidated Nier mass spectrometer. Oxygen uptake was determined by the conventional Warburg method. The reaction time varied from 10 to 20 minutes and was stopped by addition of 0.5 ml of 20% TCA.

¹ E. C. SLATER, Repts. 3rd Intern. Congr. Biochem. Brussels, 264 (1955). — A. TISSIERES and E. SLATER, Nature 176, 736 (1955). — I. A. ROSE and S. OCHOA, J. biol. Chem. 220, 307 (1956).

² L. A. HYNDMAN, R. H. BURRIS, and P. W. WILSON, J. Bact. 65, 522 (1953).

³ P. E. HARTMAN, A. F. BRODIE, and C. T. GRAY, J. Bact. 74, 319 (1957).

⁴ A. C. GORNALL, C. J. BARDAWILL, and M. M. DAVID, J. biol. Chem. 177, 751 (1949).

⁵ C. H. FISKE and Y. SUBBAROW, J. biol. Chem. 66, 375 (1925).

Table II

Exposure time	Conditions	P/O ratio	Atom percent N ₂ ¹⁵ excess
15 min	Substrate: 20μmoles α-ketoglutarate. Dialyzed extract. Acceptor system: 5 μmoles glucose + 3 mg hexokinase + 2.5 μmoles ADP	0.45—0.50	0.020—0.028
20 min	Similar conditions. Mannose substituted for glucose in the acceptor system	0.38—0.48	0.021—0.031
20 min	Similar conditions. Undialyzed extract substituted for dialyzed extract	0.47—0.55	0.030—0.031

Each flask contained 1.0 ml extract (15 mg protein), 20 μmoles substrate, 12 μmoles phosphate, 30 μmoles NaF, 15 μmoles MgCl₂. Gas phase: 10% N₂¹⁵ (32 atom excess), 20% O₂, 70% He. Other conditions were described in Table I.

The data in Table I show the effect of substrate on oxidative phosphorylation. The P/O ratios obtained with succinate and fumarate as substrates agree with those obtained by HARTMAN, BRODIE, and GRAY³. Although the P/O ratios with α-ketoglutarate were consistently higher than with these two substrates, they never reached the values reported by these authors. Experiments with dialyzed and undialyzed extracts gave approximately the same P/O values. However, undialyzed extracts did show a small phosphate uptake in the absence of added acceptor. The replacement of mannose by glucose in the acceptor system did not alter the P/O ratio.

The atom percent N₂¹⁵ excess data presented in Table II, indicate a small but significant incorporation of N₂¹⁵. Substitution of other substrates for α-ketoglutarate had no effect in the amount of N₂¹⁵ incorporated. Although all extracts studied consistently showed a P/O ratio in the ranges indicated for the various systems, not all extracts incorporated N₂¹⁵.

We conclude that previous attempts to obtain consistent fixation of N₂¹⁵ by cell free extracts of the azotobacter (see, for example, MAGEE and BURRIS⁶) did not arise from lack of oxidative phosphorylation.

Supported in part by grant E-1417 from the National Institutes of Health, Public Health Service.

A. TEMPERLI and P. W. WILSON

Department of Bacteriology, University of Wisconsin Madison, Wisc., (U.S.A.), May 15, 1958.

Zusammenfassung

Zellfreie Extrakte von *Azotobacter vinelandii* O wurden auf ihr Vermögen zur oxydativen Phosphorylierung und Stickstofffixierung untersucht. Obwohl alle Präparate die Fähigkeit zur oxydativen Phosphorylierung besaßen und einige davon in der Lage waren Stickstoff zu fixieren, konnte zwischen den beiden Vorgängen – unter den geschilderten experimentellen Bedingungen – keine Abhängigkeit gefunden werden.

⁶ W. E. MAGEE and R. H. BURRIS, J. Bact. 71, 635 (1956).

Eintritt und Mechanismus phagenhemmender Wirkungen

Verschiedene, von uns¹ aufgefundene, phagenhemmende Stoffe besitzen Wirkungen gegenüber T₁ Phagen und nicht gegenüber den anderen Coliphagen, andere zeigen

¹ L. NEIPP, W. KUNZ und R. MEIER, Exper. 13, 74 (1957).

eine Wirksamkeit gegen T₁, ₃, ₅ und ₇, nicht auf die T₂, ₄, ₆ Phagen. Es schien zur Aufklärung dieser Wirkungsspezifität erwünscht, die Wirkungsbedingungen solcher Substanztypen genauer abzuklären. Es wurde zunächst die zeitliche Relation des Wirkungseintrittes zu Phagen- und Bakterienentwicklung untersucht.

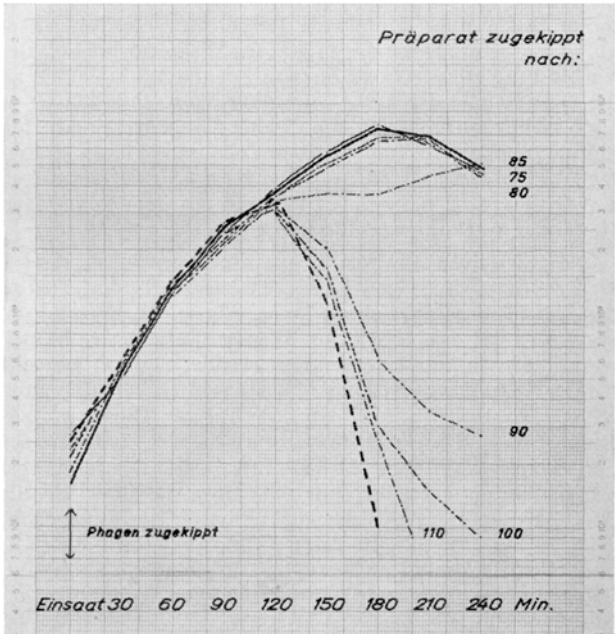


Abb. 1. 15858/E + *Coli* 207 1:60 + Phagen 10⁸ in Difco Bouillon 6% (Präparat Konzentration 1:5000).

Bakterien-Kontrolle —————
Phagen-Kontrolle - - - - -
Präparaten-Kontrolle
Bakterien + Phagen + Präparat - · - · - ·

Mit Hilfe der von uns angewandten Methode der Atmungsmessung nach WARBURG ist diese Untersuchung leicht und sicher durchzuführen.

Methodik. Im Hauptraum des Warburggefäßes befindet sich die Bakterienkultur in Difco Bouillon 6%; im 1. Anhang die Phagensuspension. Ein zweiter Anhang dient zur Aufnahme der Wirksubstanz. Das Mittelstück des Warburggefäßes wird zur Neutralisation des entstehenden CO₂ mit KOH-Lösung beschickt. Warburggefäß und Manometer werden mit O₂ durchlüftet und bei 37° C im Warburgapparat eingehängt. Nach erfolgtem Temperaturengleich und Erreichen des gewünschten Bakterienwachstums (Einsaat), werden die Phagen und danach, in bestimmten Intervallen, die Wirksubstanz zugekippt. Als Testorganismen wählten wir: