

tät zudem ein automatischer Mechanismus der biologischen Temperaturregelung gegeben.

R. HIRT und R. BERCHTOLD

Forschungsinstitut Dr. A. Wander AG., Bern, 29. Mai 1959.

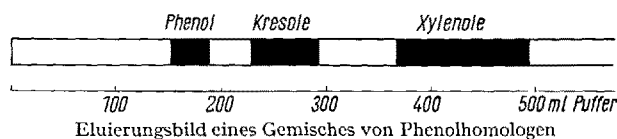
#### Summary

Dissolved in an apolar solvent ( $\text{CCl}_4$ ), lecithin, also when shaken with water, is present in an inactive form of low water content. Certain liposoluble substances hydrate the lipid phase and consequently the lecithin dissolved therein, converting it into the active form.

The importance of lecithin for cell wall permeability and for conduction of nerve impulses is discussed.

### Über die Trennung von Phenol-Derivaten an Ionenaustauscherharzen

Über erfolgreiche Trennungen von Phenol und seinen Derivaten auf papierchromatographischem Wege ist verschiedentlich berichtet worden<sup>1</sup>. Die Ausbeute der getrennten Verbindungen bleibt jedoch im  $\mu\text{g}$ -Bereich; die quantitative Ermittlung lässt sich daher relativ schlecht durchführen.



In eigenen Untersuchungen ist die Möglichkeit geprüft worden, mit Hilfe von kernsulfonierten Polystyrolharzen, die eine hohe Kapazität besitzen, eine Trennung und Reinigung einzelner Phenolderivate zu erreichen. Wir verwendeten 55 X 1 cm-Säulen, die mit der Na-Form des Kationenaustauschers Dowex 50 X 4 (minus 400 mesh) gefüllt waren. Die Präparierung der Harze ist an anderer Stelle beschrieben worden<sup>2,3</sup>.

Das Kationenaustauscherharz wird mit einem Na-Zitrat-Puffer vom pH 3,42 (2,4) in die chromatographische Röhre eingeschlammmt und mit etwa 120 ml 0,2 *n* NaOH gewaschen. Nach Äquilibrierung mit der genannten Pufferlösung ist die Säule gebrauchsfertig. Die Analysenprobe, die 10–15 mg jeder Komponente umfassen kann, soll einen pH-Wert von 3–3,4 besitzen. Die Eluierung erfolgt mit der angegebenen Pufferlösung bei einer Durchlaufgeschwindigkeit von 15 ml/h. Die Durchsatzrate der Pufferlösung kann bis auf 30 ml/h erhöht werden, ohne eine Verschlechterung des Trenneffektes zu bewirken, wenn entsprechend feinkörnige Harzpartikel verwendet werden. Die Einzelkomponenten haben wir mit Hilfe von diazotiertem Nitranilin sowie mittels der Infrarotspektroskopie qualitativ im Eluat nachweisen können.

Über weitere Untersuchungen zur Trennung von komplexen Gemischen von Phenolderivaten an Ionenaustauschersäulen wird an anderer Stelle berichtet werden.

G. KRAMPITZ und W. ALBERSMEYER

Institut für Anatomie und Physiologie der Haustiere der Universität Bonn, 5. Mai 1959.

<sup>1</sup> F. CRAMER, *Papierchromatographie*, 4. Auflage (1958), p. 149.

<sup>2</sup> S. MOORE und W. H. STEIN, *J. biol. Chem.* 152, 663 (1951); 211, 893 (1954).

<sup>3</sup> R. MÜLLER und G. KRAMPITZ, *Z. Tierernähr. Futtermittelkunde* 11, 44 (1956).

#### Summary

A new method for the chromatographic separation of phenolic derivatives on sulphonated polystyrene resins is reported.

### Effet cytologique des traitements mécanique et ultrasonique sur quelques bacilles aérobies

MUDD *et al.*<sup>1</sup> ont soumis divers bacilles gram-positifs à l'action des vibrations soniques; après 10 min ils ont observés des fragments gram-négatifs parmi les bactéries gram-positives et ont utilisé ce procédé pour l'isolement des parois cellulaires. Cependant la plupart des études similaires ont été faites avec un vibreur électromagnétique spécial (MICKLE<sup>2</sup>) en combinaison avec des «ballotini» (perles de verre) de 0,2 mm de diamètre; cette technique a surtout été employée pour l'isolement des parois cellulaires (DAWSON<sup>3</sup>, SALTON et HORNE<sup>4</sup>). D'une façon plus détaillée, TOMCSIK et BAUMANN-GRACE<sup>5</sup> ont étudié l'effet cytologique de cet appareil sur 32 souches de *B. megaterium*, 12 de *B. anthracis* et 31 de *B. cereus*. Le but du présent travail est d'élucider et de comparer les effets de ces 2 techniques sur les formes végétatives et les spores de quelques bacilles aérobies. Nous avons utilisé le vibreur MICKLE et un oscillateur ultrasonique M. S. E. MULLARD.

1. *Effet des vibrations ultrasonique sur les formes végétatives de B. anthracis, B. cereus et B. megaterium (Bacillus M)*. Les cultures sur le milieu Gladstone-Fildes gélosé ont été maintenues 16 h dans l'étuve à 30° C (*B. cereus* et *Bacillus M*) ou dans l'étuve à 37° C (*B. anthracis*). Le premier effet de l'agitation ultrasonique sur les formes végétatives est le découpage des chaînes: après un temps très court de 1 ou 2 min, toutes les formes sont monocellulaires. Le second effet se manifeste sur la paroi latérale: les parois deviennent vides, sont brisées en fragments de plus en plus petits et après 30 min leur dissolution est presque complète. De cette observation, nous pouvons tirer la conclusion que les parois transversales sont scindées avant la lésion des parois latérales. L'effet sur la capsule de *Bacillus M* a été également étudié: après 90 s d'agitation ultrasonique le serum antipolysaccharidique ne révèle plus de septums transversaux mais des condensations polaires sont encore visibles; le serum antipeptidique montre une destruction partielle de la capsule. Après 5 à 10 min 80% des formes monocellulaires sont vides mais l'encre de Chine révèle encore la présence de la couche intérieure de la capsule. Après 20 min, la dissolution des cellules est très avancée. La capsule ne protège donc pas, d'une façon appréciable, la paroi cellulaire.

*Bacillus M* ne forme des spores que sur l'extrait de pommes de terre gélosé mais même après 14 jours d'incubation sur ce milieu, on n'observe pas de libération des spores (TOMCSIK et BAUMANN-GRACE<sup>6</sup>). Si l'on sou-

Travail effectué avec l'aide du Fonds de recherches Hans Buess.

<sup>1</sup> S. MUDD, K. POLEVITZKY, T. F. ANDERSON et L. A. CHAMBERS, *J. Bact.* 42, 251 (1941).

<sup>2</sup> H. MICKLE, *J. R. micr. Soc.* 63, 10 (1948).

<sup>3</sup> J. M. DAWSON, *The Nature of the Bacterial Surface* (Blackwell, Oxford 1949), p. 119.

<sup>4</sup> M. R. J. SALTON et R. W. HORNE, *Biochim. biophys. Acta* 7, 19 (1951).

<sup>5</sup> J. TOMCSIK et J. B. BAUMANN-GRACE, *Schweiz. Z. Path. Bakt.* 19, 566 (1956).

<sup>6</sup> J. TOMCSIK et J. B. BAUMANN-GRACE, *Schweiz. Z. Path. Bakt.* 21, 914 (1958).

met de telles cultures à la désintégration ultrasonique, on voit, comme avec les formes non sporulées, tout d'abord un découpage des chaînes, ensuite une destruction des parois latérales. Bien que ces parois soient probablement influencées enzymatiquement, elles ne sont pas plus rapidement dissoutes que celles des formes végétatives: après 20 min, une partie des parois est solubilisée mais une autre partie persiste sous la forme de débris; les spores sont libres, parfaitement intactes.

2. *Effet des procédés sur les spores de quelques souches de B. cereus.* Après 1 à 2 h d'agitation dans l'oscillateur sonique, les spores de 2 souches de *B. cereus* sont restées réfringentes, intactes mais l'examen dans l'encre de Chine et l'addition d'un serum antispores de *B. cereus* a révélé que l'exosporium était presque complètement dissout. Par ce procédé il sera donc possible de séparer l'exosporium de la paroi des spores et nous espérons que l'isolement de l'exosporium facilitera les études chimiques et immunologiques de cette couche superficielle des spores.

Nous avons comparé l'effet des vibrations ultrasonique et de l'agitation mécanique sur une mélange de spores de diverses souches de *B. cereus*. Après 45 min d'agitation dans l'oscillateur sonique, toutes les spores ont conservé leur réfringence mais l'exosporium est presque complètement dissout. Après la même durée d'agitation dans le vibreur MICKLE toutes les spores sont noires ou vides mais ont gardé leur exosporium. La moitié de cette dernière suspension est de nouveau agitée durant 45 min dans le vibreur MICKLE: on peut encore voir beaucoup de spores vides avec leur exosporium et la suspension reste trouble; l'autre moitié est agitée durant 45 min dans l'oscillateur sonique: il n'est plus possible d'identifier une seule paroi de spores même après l'addition du serum antispores de *B. cereus* et la clarification de la suspension est très nette. Une agitation préalable de 45 min dans le vibreur ultrasonique ne semble pas augmenter la sensibilité des spores de *B. cereus* à la désintégration mécanique dans le vibreur MICKLE.

J. TOMCSIK et MÉLINA BOUILLE

*Institut d'Hygiène de l'Université de Bâle (Suisse), le 28 juillet 1959.*

#### Zusammenfassung

Ultraschall-Behandlung der in Ketten gewachsenen aeroben Bazillen spaltet vorerst die Querwände des Zellverbandes, wodurch in 60 s intakte, monozelluläre Formen entstehen. Die «vegetative» Zellwand wird erst nach einigen Minuten geschädigt; sie wird dann je nach Spezies in 20–60 min mehr oder weniger aufgelöst, wobei die Kapsel weder bei der Mickle- noch bei der Überschallbehandlung nennenswerte Schutzwirkung entfaltet. Die von den vegetativen Zellresten befreiten, bakteriellen Endosporen bleiben bei der Ultraschall-Behandlung, im Gegensatz zur Mickle-Behandlung, selbst nach 2 h intakt; ihr Exosporium wird aber nach etwa 1 h aufgelöst. Diese Beobachtung ermöglicht die Isolierung des Exosporiums und das serologische und chemische Studium dieser bisher nicht klar definierten Sporenschicht. Durch alternierende Behandlung: Ultraschall-Mickle-Ultraschall kann auch die Sporenwand, frei vom Exosporium, in Lösung gebracht werden.

### Der Einfluss von Chlorpromazin auf die oxydative Phosphorylierung von Tumormitochondrien

In früheren Untersuchungen<sup>1,2</sup> konnten wir zeigen, dass Trijodthyronin in hoher Konzentration auf den Fundamentalprozess der mit der Atmung gekoppelten oxydativen Phosphorylierung störend einwirkt. Die glykolyisierende Karzinomzelle erleidet eine stärkere energetische Schädigung als ökonomisch arbeitende, normale proliferierende Zellen wie das Knochenmark usw. Experimentelle und klinische Beobachtungen zeigten eindrucksvolle Regressionen verschiedener Tumorarten<sup>3</sup>. Da aber TjTh Nebenerscheinungen zeigte, prüften wir Chlorpromazin (als «Megaphen» der Firma Bayer) auf seine Wirksamkeit innerhalb unserer Kombinationsmöglichkeiten.

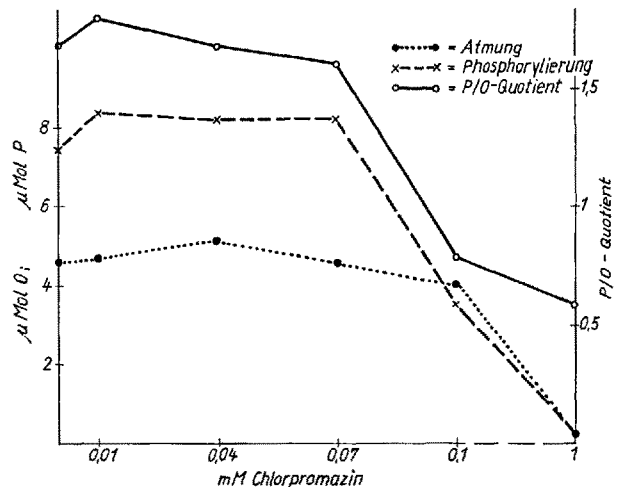


Abb. 1. Einfluss von Chlorpromazin auf die Atmung, Phosphorylierung und den P/O-Quotienten von Lebermitochondrien. Medium: 50 μM Phosphat; 60 μM MgCl<sub>2</sub>; 30 μM NaF; 150 μM Glukose; 0,4 mg Hexokinase; 150 μM KCl; 30 μM-Ketoglutarat; 5 μM ATP; 0,3 ml Mitochondrien (1–1,5 mg N) in 0,25 M Zucker- und 0,002 M EDTA-Lösung; pH 7,0. Endvolumen: 3,0 ml; Temperatur 30°C; Zeit: 15 min.

Vom Chlorpromazin ist bekannt, dass es die Atmung von isolierten Lebermitochondrien der Ratte bei gleichzeitiger Verminderung der Phosphorylierung herabsetzt<sup>4–7</sup>. Im Gegensatz zu Löw<sup>7</sup> fanden wir, dass Chlorpromazin in geringen Konzentrationen von 10<sup>-8</sup> bis 10<sup>-5</sup> M eine Steigerung der Atmung und Phosphorylierung bei isolierten Lebermitochondrien der Ratte erkennen lässt. Es fand sich eine Zunahme des P/O-Quotienten (Abb. 1).

Wir untersuchten den Einfluss von Chlorpromazin auf die oxydative Phosphorylierung von Tumormitochondrien und fanden eine deutliche Beeinflussung der P/O-Quotienten schon bei geringen Chlorpromazindosen.

<sup>1</sup> W. LÜHRS, E. HEISE und G. BACIGALUPO, *Nature*, **183**, 1534 (1959).

<sup>2</sup> G. BACIGALUPO, W. LÜHRS und E. HEISE, *Acta biol. med. german.*, **2**, 455 (1959).

<sup>3</sup> W. LÜHRS, 7. Deutsch. Krebskongress, April 1959 in Berlin (im Druck).

<sup>4</sup> H. B. COLLIER und G. M. ALLENBY, *Can. J. med. Sci.*, **30**, 443 (1952).

<sup>5</sup> L. G. ABOOD, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, N.Y., **88**, 688 (1955).

<sup>6</sup> M. BERGER, H. J. STRECKER und H. WAELSCH, *Nature*, **177**, 1234 (1956).

<sup>7</sup> H. LÖW, *Biochim. biophys. Acta*, **32**, 11 (1959).