

cumstantial evidence<sup>5</sup>, that the hypopharyngeal glands supply the protein in larval food needs no revision. The presence of mandibular gland secretion in the food of worker larvae diminishes the likelihood that these glands are the source of the substance<sup>6,7</sup> that causes female larvae to develop as queens.

Fifty mandibular glands, ground with sand, were extracted with ether and the ethereal extract (2 mg) worked up by the method of BUTENANDT and REMBOLD<sup>1</sup>. The strong-acid fraction weighed 1.4 mg (A).

Worker-bees' heads were extracted for another purpose and the yield cannot be stated exactly. From a portion of an alcoholic extract of 1830 heads an acidic fraction was obtained. This was partitioned between ethanol and light petroleum. The ethanol-soluble fraction on a reverse-phase paper chromatogram (kerosene-30% aqueous *n*-propanol) gave a spot which, eluted with ethanol, yielded crystalline material (B).

About 1 g of royal jelly yielded 22 mg crystalline strong-acid fraction (C), m. p. 45–51°C.

Materials (A), (B), and (C), incorporated in KCl plates, gave essentially identical infra-red absorption spectra (Perkin-Elmer double-beam instrument, Model 21, NaCl prism) and the absorption bands agreed with the descriptions in the literature<sup>1,2</sup>. When chromatographed on Whatman No. 1 paper with the Bush system toluene: ethyl acetate: methanol: water: 9:1:5:5, materials (A), (B), and (C) gave spots at the same distance from the origin,  $R_f$  0.50 and, in the Bush system, toluene: methanol: water: 4:3:1, spots at the same distance from the origin,  $R_f$  0.20. Paper electrophoresis in 0.1 M phosphate buffer, pH 8 gave spots moving at the same rate with (A), (B), and (C).

Dr. OLGA KENNARD very kindly took the X-ray powder photographs in Figure 2. The left side (a) is of the material from a mandibular gland, and right side (b) is of authentic material from royal jelly. Coincidence of the principal lines indicates identity of the two materials, but the glandular material appears to be somewhat contaminated.

We are indebted to Mr. M. YOUNG for the photomicrograph in Figure 1.

R. K. CALLOW, N. C. JOHNSTON, and J. SIMPSON

National Institute for Medical Research, Mill Hill, London and Rothamsted Experimental Station, Harpenden (Herts.), July 13, 1959.

### Zusammenfassung

Die Mandibulardrüsen der Honigbienen-Arbeiterinnen enthalten 10-Hydroxy- $\Delta^2$ -decensäure. Es wird angenommen, dass diese Drüsen die Quelle der im Weisel- und Arbeiterinnenlarvenfutter vorkommenden 10-Hydroxy- $\Delta^2$ -decensäure sind.

<sup>5</sup> Reviewed by C. R. RIBBANDS in *The Behaviour and Social Life of the Honeybee* (Bee Research Association, London 1953).

<sup>6</sup> W. VON RHEIN, Arch. Entw. Mech. Org. 129, 601 (1933).

<sup>7</sup> N. WEAVER, Science 121, 509 (1955).

## Über die Grenzen der metabolischen Adaptationsfähigkeit von *Aspergillus niger*

Nach einer früheren Mitteilung<sup>1</sup> vermag das «Succinodehydrasegift» Malonsäure den Abbau von Zitronen- bzw.

<sup>1</sup> K. TÄUFEL und H. RUTTLOFF, Exper. 14, 276 (1958). – Vgl. auch K. TÄUFEL und H. RUTTLOFF, Nahrung 3 (1959), im Druck.

Tabelle

Einwirkung von fertigen Myzeldecken von *A. niger* auf Malonsäure bzw. verschiedene Derivate ohne bzw. mit Zusatz von 3% Zitronensäure (dargestellt anhand chromatographischer Untersuchungen)

Säurekomponente \ Konzentration	kein Zitronensäurezusatz		Zitronensäurezusatz			
	10 <sup>-1</sup> M/l	3·10 <sup>-1</sup> M/l	10 <sup>-1</sup> M/l	Zitronensäure	3·10 <sup>-1</sup> M/l	Zitronensäure
1	2	3	4	5	6	7
Malonsäure	+	+	+	+	+	+
Methylmalonsäure	+	+	+	+	+	–
Äthylmalonsäure	(+)	(+)	(+)	+	–	–
Propylmalonsäure	–	–	–	–	–	–
Dimethylmalonsäure	–	–	–	+	–	–
Diäthylmalonsäure	–	–	–	(+)	–	–

Erläuterungen: + Säure wird dissimiliert.  
(+) Säure wird wenig dissimiliert.  
– Säure wird nicht dissimiliert.  
+\* Säure wird in Gegenwart von Zitronensäure beschleunigt dissimiliert.

Bernsteinsäure durch *A. niger* nicht nur nicht zu hemmen, sondern es wird selbst – zum Beispiel einer vorgebildeten Myzeldecke als einzige C-Quelle dargeboten – weitgehend metabolisiert. Bei Oxalsäure erfolgt der Umsatz nur in Gegenwart einer zusätzlichen dissimilierbaren Kohlenstoffverbindung. Wir deuteten dies mit einer Decarboxylierung der Malon- zu Essigsäure und deren stoffwechselchemischer Einbeziehung entweder in den Zitronensäurezyklus (Energiegewinnung) oder in den Glyoxylsäurezyklus (Bildung von Kohlenhydrat bzw. zelleigener Substanz).

Der Befund der metabolischen Verwertung von Malonsäure durch *A. niger* legt die Frage nahe, ob und inwieweit Derivate der Malonsäure mit Seitenkette, zum Beispiel ihre Mono- und Dialkylverbindungen, in den Stoffwechsel einbezogen werden. Mit dieser Zielsetzung wurden die Methyl-, Dimethyl-, Äthyl-, Diäthyl- und Propylsubstitutionsprodukte der Malonsäure allein wie in Gegenwart von Zitronensäure «fertigen» Myzeldecken von *A. niger* angeboten.

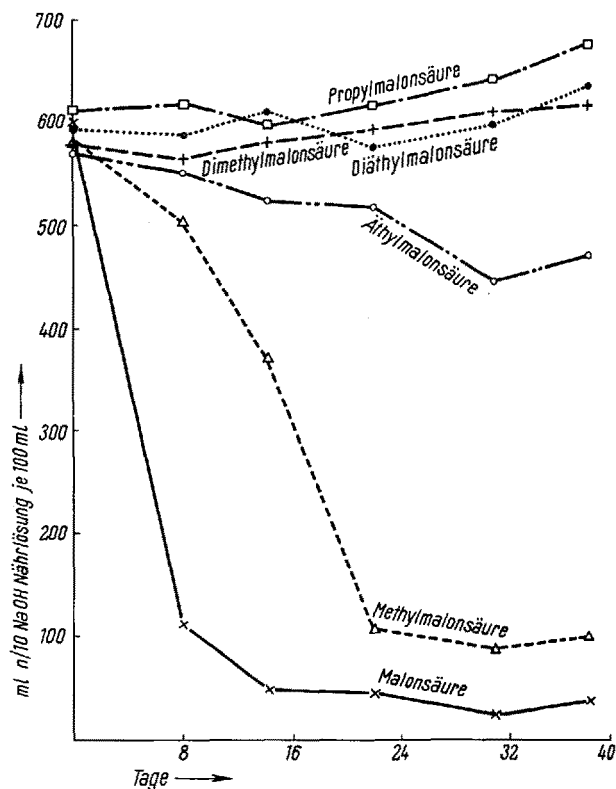
**Präparate und Methoden.** Die Darstellung der Malonsäurederivate erfolgt in der üblichen Weise mittels Alkyljodid über die Mono- bzw. Dinatriumverbindungen der Ester unter nachfolgender Verseifung<sup>2</sup>.

Die mikrobiologische Technik bedient sich des Prinzips der Kultur der fertigen Pilzdecken<sup>1</sup> auf einer Nährlösung nach H. HAEHN (Saccharosebasis). Die vorgebildeten Myzelien (jeweils 5 Parallelansätze) werden auf die zur Untersuchung vorgesehene Nährlösung (nach HAEHN) übertragen, wobei statt der Saccharose nunmehr das zu testende Substrat als Kohlenstoffquelle eingesetzt wird; eine pH-Einstellung erfolgt nicht. Anschliessend werden die Ansätze bei 30°C bebrütet; über experimentelle Einzelheiten unterrichtet die Tabelle.

**Analytik.** In bestimmten Zeitabständen (0, 5, 10, 15, 25, 30 Tage) werden jeweils etwa 3 ml der Untersuchungs-lösung steril entnommen. Man titriert 2 ml hiervon nach

<sup>2</sup> L. GATTERMANN und H. WIELAND, *Die Praxis des organischen Chemikers*, 33. Aufl. (Verlag Walter de Gruyter & Co., Berlin 1948), S. 229; *Beilstein's Handbuch der Organischen Chemie*, Bd. II, 4. Aufl. (Verlag J. Springer, Berlin 1920), S. 648. – K. WINTERFELD, *Praktikum der organisch-präparativen pharmazeutischen Chemie*, 3. Aufl. (Verlag Th. Steinkopff, Dresden und Leipzig 1950), S. 87, 155.

entsprechender Verdünnung mit destilliertem Wasser mit 0,1 *n* Natronlauge gegen Phenolphthalein; die Kurven in der Abbildung stellen den Verbrauch an ml 0,1 *n* Natronlauge je 100 ml Lösung dar. Der andere Teil der Probe



Einwirkung von vorgebildeten Myzeldecken aus *A. niger* auf  $3 \cdot 10^{-1}$  M Lösungen von Malonsäure bzw. Derivaten derselben (Nährsalze nach H. HAEHN)

wird chromatographisch geprüft. Man trägt jeweils  $5 \times 4$  mm<sup>3</sup> bzw.  $10 \times 4$  mm<sup>3</sup> nacheinander auf das Papier auf und entwickelt absteigend mit Butanol/Ameisensäure (100:15, mit Wasser gesättigt); als Sprühmittel dient Bromphenolblau (0,05%ige alkoholische Lösung, der zu je 100 ml Lösung 3 ml 0,1 *n* NaOH zugesetzt sind); man erhält gelbe Flecken auf blauem Grund.

**Auswertung der Ergebnisse.** Gemäss Abbildung wird die Malonsäure am raschesten, die Methylmalonsäure etwas verzögert dissimiliert; das Äthylderivat ist nur noch sehr wenig, die Propylverbindung praktisch nicht mehr umsetzbar. Die geprüften dialkylierten Malonsäuren sind offensichtlich für den Pilz nicht verwertbar. Das gleiche Verhalten zeigt sich, wenn man die Säuren in geringerer Menge darbietet ( $10^{-1}$  M). Das bei einigen Kurven in der Abbildung manifest werdende leichte Ansteigen des Säuregehaltes mit voranschreitendem Gärverlauf beruht auf der experimentell kaum ausschaltbaren Wasserverdunstung der Proben. Die chromatographischen Ergebnisse (Tabelle) stehen mit den Befunden nach der Abbildung im Einklang.

Zugabe von Zitronensäure erhöht nach der Tabelle, Spalte 4, die Abbaugeschwindigkeit der getesteten Säuren lediglich im Falle der Malon- sowie der Methylmalonsäure, allerdings nur in geringem Umfang. Entgegen dem Verhalten der Oxalsäure tritt eine Dissimilation der für sich allein nicht abbaufähigen Verbindungen (Propyl-, Dimethyl-, Diäthylmalonsäure) auch in Gegenwart von Zitronensäure nicht in Erscheinung (Tabelle, Spalte 6);

bei geringer Substratkonzentration, zum Beispiel bei  $10^{-1}$  M/l Dimethyl- bzw. Diäthylmalonsäure, wird ausschliesslich die zugesetzte Zitronensäure dissimiliert; letztere bleibt unverwertbar liegen, wenn grössere Mengen am Disubstitutionsprodukt (zum Beispiel  $3 \cdot 10^{-1}$  M/l) vorhanden sind (Tabelle, Spalte 7).

Zusammenfassend ergibt sich, dass bei Monosubstituierung der von *A. niger* verwertbaren Malonsäure mit zunehmender Kohlenstoffzahl ihre Abbaufähigkeit abnimmt. Unterstellt man für die metabolische Einbeziehung der Malonsäuren eine Decarboxylierung, so nimmt die Fähigkeit des Mikroorganismus hierzu mit steigender Kettenlänge der Alkyle ab. Nach neueren Untersuchungen<sup>3</sup> spielt die Methylmalonsäure – über eine Carboxymethylmalonsäure – im tierischen Organismus beim Abbau von Propionsäure als Durchgangsglied auf dem Wege zu Bernsteinsäure eine Rolle. Das Einmünden in den Zitronensäurezyklus könnte ihre rasche Dissimilation auch bei *A. niger* erklären. Eine im gleichen Sinne ablaufende Reaktionsfolge bzw. eine Decarboxylierung erscheint bei Äthylmalonsäure nur noch beschränkt, bei Propylmalonsäure nicht mehr möglich.

Dialkylierte Malonsäurederivate sind – auch in Gegenwart von Zitronensäure – für das Myzel nicht verwertbar; dem Pilz stehen offenbar die erforderlichen Enzyme nicht zur Verfügung. Es ist offenzulassen, ob die Fähigkeit zum Umsatz solcher «unphysiologischer» Verbindungen durch gesteuerte Adaptation realisierbar ist.

K. TÄUFEL und H. RUTTLOFF

Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Institut für Ernährung in Potsdam-Rehbrücke, 8. Mai 1959.

### Summary

The ability of *A. niger* to assimilate malonic acid, which we consider to be the way both of obtaining energy (citric acid cycle) and of synthesizing cell substances (glyoxylic acid cycle), is reduced by substitution. While methyl malonic acid is quickly assimilated and ethyl malonic acid more slowly propyl-, dimethyl-, and diethyl malonic acid cannot be used by already formed molds.

<sup>3</sup> Vgl. Bericht in Chemiker-Ztg. 80, 204 (1956).

### The *in vivo* Effect of some Peroxides upon the Mouse Ascites Carcinoma of Ehrlich<sup>1</sup>

It has been suggested that some of the biological events following the passage of radiation through living tissue may be due to formation of peroxides<sup>2,3</sup>. Because, of the well known palliative effect of irradiation in certain malignancies, the survival of mice (white Swiss, weight about 25 g) inoculated with ascites tumor cells ( $20 \times 10^6$  cells) was investigated after intraperitoneal injections of various peroxides 24 h after implantation of the tumor cells.

Hydrogen peroxide and urea peroxide (Amend, New York) prolonged the life span of the mice inoculated with

<sup>1</sup> This work was supported by a grant from the United States Public Health Service (C-3538).

<sup>2</sup> M. R. ZELLE in A. HOLLANDER, *Radiation Biology* (McGraw-Hill Book Company, 1955).

<sup>3</sup> V. J. HORGAN, J. ST. PHILPOT, BARBARA W. PORTER, and D. B. ROODYN, *Biochem. J.* 67, 551 (1957).