

The last group G was given, immediately after infection, 5 mg indole subcutaneously every other day for 30 days. The experimental period was two months, after which the animals were sacrificed. During indole administration it was found that a daily 25 mg dose was fatal to the guinea pigs. For this reason the 5 mg dose was chosen to be given every other day to secure no harmful effect. All animals were examined at autopsy and, in all, touch smears from sections of lymph nodes, spleen, liver, and lungs were made, stained, and examined.

The *postmortem* examination of the control animals showed the spread of infection, manifested by enlargement and caseation of the regional lymph glands at the site of inoculation with generalization, especially in the liver and spleen which were markedly enlarged and full of macroscopic miliary nodules all over. Films made and stained with Ziehl-Neelsen and examined microscopically revealed the presence of the tubercle organism. On the other hand, the animals treated with INH and streptomycin showed no macroscopic lesions; the spleens, livers, and lymph nodes were normal. Microscopic examination proved negative for T. B. The animals treated with indole were similar to those treated with INH and streptomycin showing no lesions. The regional lymph nodes were markedly fibrosed, and microscopic examination of the films showed negative results for T. B.

Indoleacetic acid and indolepropionic acid showed also a certain activity in limiting the spread of tuberculous infection. The lesions in the spleen and liver were much less than in the control animals. The regional lymph nodes, on the other hand, were similar to those of the control animals. Indoleacetic acid was slightly more effective than the indolepropionic acid.

The most interesting finding here is the tuberculostatic effect of indole in therapeutic dose (5 mg per animal) comparable with that of the INH. Indole itself shows this tuberculostatic effect *in vitro* and interferes also with the utilisation of asparagine for the growth of the tubercle organism. The tuberculostatic effect of indoleacetic acid and indolepropionic acid *in vitro* may be due to the oxidation of the side chain by the microorganism which leads to indole production, and this in turn causes the apparent inhibition. The same mechanism of producing indole might take place in the tissue cells of the guinea pig. This might explain the slight tuberculostatic effect of these compounds. It seems possible also that the lengthening of the side chain in the 3-position of the indole ring lessens the tuberculostatic effect of the indole derivative. This is shown from the higher activity of indoleacetic acid than the indolepropionic acid. Of course this suggestion requires confirmation by examining different indole derivatives with longer side chain in the 3-position of the indole ring. The main drawback of indole is its toxicity. Ers and FEINBERG⁷ obtained paralysis of the dog jejunumileum by injecting intravenously 25 or 60 mg indole per kg body weight. It is considered that indole has a depressant effect due to a direct action on the smooth muscle fibres⁸. In fact, indole in 100 mg/kg body weight was fatal to the guinea pig.

Acknowledgment. We wish to thank the Scientific Department of Hoffmann-La Roche for their generous supply of indole derivatives, and Prof. Dr. A. SAEED of the Organic Chemistry Department, Faculty of Science, Cairo University, for provision of indole.

M. M. ABDEL KADER and O. ZAKI

Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Cairo University and Department of Bacteriology, Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University, Cairo (Egypt), July 14, 1959.

Résumé

L'étude des effets de l'indole sur l'organisme *M. tuberculosis hominis* révèle qu'il est bactériostatique *in vitro* et *in vivo* chez les cobayes infectés par lui (5 mg par jour pendant 15 jours). Les acides indol-acétiques et indol-propioniques sont aussi légèrement tuberculostatiques.

⁷ H. N. ERS and I. M. FEINBERG, Amer. J. Physiol. 136, 646 (1942).

⁸ J. A. IZQUIERDO and A. O. M. STOPPANI, Brit. J. Pharmacol. 8, 389 (1953).

Cholesterin und Fettsäuren als Ersatz von Serum in der Kultur von *Trichomonas foetus*

Für Trichomonaden wurden halbsynthetische Medien entwickelt, die Serum, Trypticase und Agar als nicht definierte Bestandteile benötigen^{1,2}. Neben diesen enthalten sie eine Vielzahl von organischen und anorganischen Stoffen, deren Bedeutung im einzelnen nicht völlig abgeklärt ist. Unter diesen Bedingungen scheint dem Serum der Charakter eines essentiellen Wuchsfaktors zuzukommen.

Nach Untersuchungen von SPRINCE³ sind zwei Fraktionen von Rinderserum wichtig, eine wasserlösliche und eine ätherlösliche. Von den in der ätherlöslichen Fraktion vorhandenen Stoffen gilt Cholesterin als wesentlich^{2,4,5}. Die quantitativen Verhältnisse in Beziehung zur wasserlöslichen Fraktion und die Bedeutung anderer lipoidlöslicher Stoffe sind vorläufig nicht genügend abgeklärt⁶. Aus diesem Grunde wurde versucht, zunächst die ätherlösliche Fraktion aus Serum weiter zu charakterisieren. Es wurden vor allem Cholesterin und Cholesterin-Fettsäure-Mischungen geprüft.

Das Ergebnis der Versuche mit *T. foetus* ist folgendes: Auf einem der genannten leicht modifizierten halbsynthetischen Nährböden vermögen Trichomonaden nur in Gegenwart von mehr als 0,3% der wasserlöslichen Fraktion des Serums allein zu wachsen. Bei niedrigeren Konzentrationen ist jedoch mit Zusatz von Cholesterin (10^{-5}) ein gleich starkes Trichomonadenwachstum wie mit etwa 1% unfraktioniertem Serum möglich. Die verdünnte wasserlösliche Serumfraktion wird somit durch Cholesterin komplettiert. Cholesterin allein in entsprechenden Konzentrationen besitzt keinen Effekt. Die Frage, welcher Art der wasserlösliche Faktor ist, der Cholesterin als Supplement bedarf, um Trichomonadenwachstum zu gestatten, wurde hier nicht näher verfolgt.

In Gegenwart einer für die Vermehrung der Trichomonaden allein ungenügenden Menge der wasserlöslichen Fraktion (0,3%) ergibt der Zusatz von Fettsäuren teilweise eine beschränkte Vermehrung (vgl. Tabelle), die im Maximum 1/5 der in Gegenwart von Cholesterin (10^{-5}) auftretenden Zellzahl erreicht. Hierbei fördern Stearin-, Elaidin- und Ölsäure das Wachstum in Konzentrationen von 10^{-5} und weniger, wogegen höher ungesättigte Fettsäuren mit derselben Anzahl C-Atomen (18), nämlich Linol- und Linolensäure, in keiner der geprüften Konzentrationen fördernd wirken. Höhere Konzentrationen der

¹ H. SPRINCE und A. B. KUPFERBERG, J. Bact. 53, 435 (1947).

² M. SANDERS, J. Protozool. 4, 118 (1957).

³ H. SPRINCE und A. B. KUPFERBERG, J. Bact. 53, 441 (1947).

⁴ R. CAILLEAU, C. R. Soc. Biol., Paris 127, 861 (1938).

⁵ R. GUTHRIE und E. SNELL, Bact. Proc. 28, 44 (1950).

⁶ W. WYSS, Diss. Bern (1959).

Fettsäuren hemmen die Vermehrung in unterschiedlichem Masse. Die geprüften Fettsäuren vermögen somit Cholesterin nicht voll zu ersetzen.

Es scheint deshalb notwendig zu untersuchen, ob sie in Gegenwart von Cholesterin (10^{-5}) eine andere Wirkung besitzen. Das Ergebnis dieser Versuche ist folgendes (Tabelle): Mit Ausnahme von Stearinsäure geben alle geprüften Fettsäuren in einem gewissen niedrigen Konzentrationsbereich (maximal bei 10^{-5}) eine 1,7- bis 3,5mal höhere Zellzahl als Cholesterin allein. Hier haben also auch Linol- und Linolensäure, die ohne Cholesterin sonst nur hemmend wirken, einen die Vermehrung begünstigenden Effekt. Hohe Konzentrationen der Fettsäuren, Elaidin- und Stearinsäure ausgenommen, wirken auch in Gegenwart von Cholesterin im allgemeinen hemmend.

Die Wirkung von Fettsäuren auf die Vermehrung von *T. foetus*

| Fettsäure | Wuchswirkung (Vielfaches der Zellzahl der Kultur ohne Fettsäure) | | | |
|--|--|-------------------------------|-----------------------|------|
| | ohne Cholesterin | mit Cholesterin (10^{-5}) | Max. | Min. |
| <i>n</i> -Octadecansäure (Stearin-) | 2 × (5,0) | | | |
| <i>trans-n</i> -Octadec-9-en-säure (Elaidin-) | 3,2 × (6,5) | | 3,5 × (5,5) | |
| <i>cis-n</i> -Octadec-9-en-säure (Öl-) | 3,9 × (5,0) | | 2,8 × (5,5) 0,6 (4,5) | |
| <i>cis-cis-n</i> -Octadec-9,12-dien-säure (Linol-) | | 0,6 (4,5) | 2,5 × (5,5) 0,1 (4,5) | |
| <i>cis-cis-cis-n</i> -Octadec-9,12,15-dien-säure (Linolen-) | 0,3 (4,5) | 1,7 × (5,5) 0,3 (4,5) | | |

In Klammern steht die Konzentration der Fettsäure als $-\log$

Die Frage nach den Komponenten, die in der ätherlöslichen Serumfraktion in Gegenwart von wasserlöslicher Fraktion die Vermehrung der Trichomonaden fördern, ist somit in folgender Weise zu beantworten: Cholesterin zeigt eine Wuchsstoffwirkung, gewisse Fettsäuren allein sind ebenfalls, aber viel weniger wirksam als Cholesterin. In Gegenwart von Cholesterin vermögen ungesättigte Fettsäuren, sogar höher ungesättigte wie Linol- und Linolensäure, die Vermehrung anzuregen. Mit Cholesterin plus einzelne Fettsäuren wird eine Wuchsleistung erzielt, die mindestens gleich gut ist wie die mit der ätherlöslichen Lipoidfraktion.

Ohne dass auf Grund dieser Versuche entschieden werden kann, ob im Cholesterin und den Fettsäuren bereits sämtliche für die Wuchsleistung massgebenden Bestandteile der ätherlöslichen Fraktion erfasst sind, zeigen sie, dass wahrscheinlich mehrere im Serum normalerweise vorkommende lipoide Stoffe für den Effekt dieser Fraktion verantwortlich sind und dass der Grad der Wuchsleistung in starkem Masse von den quantitativen Mischungsverhältnissen solcher Komponenten abhängig ist.

W. WYSS, F. KRADOLFER und R. MEIER

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft,
Pharmazeutische Abteilung, Basel, 14. Januar 1960.

Summary

In the presence of a minimal amount of a water-soluble growth factor from bovine serum, cholesterol together with an unsaturated fatty acid may replace the ether-soluble lipoid fraction of the same serum. The concentration of cholesterol and fatty acid, as well as the chemical structure of the latter, are relevant.

Elektronenoptische Untersuchungen über die Entstehung «stachliger» Streptomyces-Sporen

Die unterschiedliche Sporenform verschiedener Streptomyces-Arten, die FLAIG *et al.*¹ elektronenoptisch erstmalig nachweisen konnten, ist mehrfach bestätigt worden. Auch über die Bildung typischer Streptomycessporen, die sich innerhalb der Luftmycelmembran — also *endogen* — entwickeln, herrscht prinzipiell Übereinstimmung. Eine verschiedenartige Interpretation hingegen findet der Prozess der Freisetzung dieser Sporen. So neigt ENGHUSEN² zu der Meinung, dass «alle Streptomycessporen nach genügender Reife eine Sporenhülle verlassen», ohne auch nur den grundlegenden Mechanismus anzudeuten. Vorstellungen von VERNON³ zufolge hat man sich die Sporenfreisetzung aus nicht zum Verfall neigenden Hüllen «by means of a longitudinal split» vorzustellen. Letzteres scheint jedoch nicht für alle Arten der Gattung Streptomyces zuzutreffen, vielmehr liegt häufig dem Entstehen von Einzelsporen ein einfacher Modus zugrunde, der im Zerfall der eingeschnürten Luftmycelhyphen beruht, so wie ihn schon LACHNER-SANDOVAL⁴ andeutete und wie er von FLAIG *et al.*⁵ bestätigt wurde.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden an einem Streptomyces-Stamm der morphologischen Sektion «Spira»⁶ (PRIDHAM, HESSELTINE und BENEDICT⁷) ausgeführt, der charakteristisch stachlige Sporen besitzt und sollen einen Beitrag zur Entstehung und Natur dieser Sporenstacheln liefern. Schon nach 48stündiger Kultur des Stammes auf Stärkeagar bei 28°C lassen sich im Kontaktpräparat elektronenoptisch neben glatten, mäßig be-stachelte, sonst aber noch undifferenzierte Hyphen erkennen (Abb. 1a). Nach weiteren 24–48 h zeigten die Hyphen ausgeprägtere Stachelbildung, und gleichzeitig konnten solche mit beginnender Einschnürung beobachtet werden (Abb. 1b und c). Im Laufe des Wachstums kam es zum Zerfall dieser Hyphen und zur Bildung von Einzelsporen, die auch in unmittelbarer Nähe der ehemaligen Verbindungsstellen Stacheln trugen (Abb. 2a). Die Stacheln scheinen hierbei keine Auswüchse der Sporenmembran zu sein, sondern sind offenbar aus der Membran der *Luftmycelhyphen* hervorgegangen. Da die Zellwände junger Hyphen des Streptomyces-Lysozym-anfällig sind, lag es nahe, den Abbau der Stacheln zu versuchen. Behandelte man die Sporen mit Lysozym

¹ W. FLAIG, H. BEUTELSPACHER, E. KÜSTER und G. SEGLER-HOLZWEISSIG, Plant and Soil 4, 118 (1953).

² H. ENGHUSEN, Arch. Mikrobiol. 21, 329 (1955).

³ T. R. VERNON, Nature 176, 935 (1955).

⁴ V. LACHNER-SANDOVAL, Diss. Strassburg, 1898.

⁵ W. FLAIG, E. KÜSTER und H. BEUTELSPACHER unter Mitwirkung von I. SCHLICHTING-BAUER, W. POLITT-RUNGE und R. KURZ, Zbl. Bakteriol. II, 108, 376 (1954/55).

⁶ Diesen Stamm verdanke ich Herrn Prof. E. BALDACCI, Milano (Italien).

⁷ T. G. PRIDHAM, C. W. HESSELTINE und R. G. BENEDICT, Appl. Microbiol. 6, 52 (1958).