

37°C for 1 h, with shaking. At the end of the incubation period, the reaction mixture was homogenized with a Potter-Elvehjem type homogenizer and 2 ml of the homogenate were used. Chlorpromazine was added in volume of 0.1 ml after being dissolved in distilled water. The determination of pentobarbital was carried out according to BRODIE et al.<sup>6</sup>.

The pentobarbital metabolism had a 44% inhibition by the same concentration of chlorpromazine ( $2 \times 10^{-4}$ ) and 81% with high concentration ( $8 \times 10^{-4}$ ) as shown in the Table.

It is well known that the major metabolic pathway of pentobarbital is the side chain oxidation and that of chlorpromazine is the sulfoxide formation, but both reactions take place in hepatic microsome and require TPNH and oxygen<sup>7,8</sup>. The inhibition of pentobarbital metabolism by chlorpromazine may not be due to a competition in requirement of TPNH. The addition of TPN, glucose-6-phosphate and nicotinamide did not reverse the inhibition.

A similar inhibition was also obtained in the experiments with the microsomal fraction<sup>9</sup>. Our preliminary results indicate that the type of inhibition seems not to be a competitive one<sup>9</sup>.

It was further demonstrated that chlorpromazine also inhibits the metabolism of meprobamate, carisoprodol and hexobarbital, while, on the other hand, meprobamate metabolism was inhibited by pentobarbital, phenobarbital, strychnine, amphetamine, and aminopyrine<sup>9</sup>. The *in vitro* inhibition of microsomal drug-metabolizing

enzymes by the drugs which are also metabolized by microsomal drug-metabolizing enzymes must therefore be quite a general phenomenon in the drug metabolism.

On the other hand, 15 mg/kg of chlorpromazine, unlike SKF 525 A, does not significantly inhibit the pentobarbital metabolism *in vivo*.

It is also of interest that the inhibition of pentobarbital metabolism by chlorpromazine is more remarkable in phenobarbital pretreated rats, which have high enzyme activity, than in normal rats<sup>10-15</sup>.

Further studies on the mechanism of the observed evidence may present some information on the nature of the microsomal drug-metabolizing enzymes and especially on the action of SKF 525 A or on the mechanism of enzyme induction by the phenobarbital pretreatment.

The work in detail will be published elsewhere.

**Riassunto.** Si è osservato che il pentobarbital alla concentrazione di  $2 \times 10^{-4} M$  può inibire per il 44% il metabolismo *in vitro* della clorpromazina alla medesima concentrazione.

Si è discussa quindi la possibilità di inibire il metabolismo *in vitro* di alcuni farmaci propria di altre sostanze che vengono metabolizzate in maniera del tutto simile da sistemi enzimatici a livello microsomale epatico.

R. KATO, E. CHIESARA, and P. VASSANELLI

*Istituto di Farmacologia e di Terapia, Università di Milano (Italy), January 20, 1962.*

Effect of chlorpromazine  
on the *in vitro* metabolism of pentobarbital

Chlorpromazine concentration (Mol)	Pentobarbital metabolism ( $\mu\text{g/g/h}$ )	Inhibition (%)
0	202 $\pm$ 3.5 (8)	
$5 \times 10^{-5}$	182 $\pm$ 4.9 (6)	10
$1 \times 10^{-4}$	152 $\pm$ 4.8 (6)	25
$2 \times 10^{-4}$	123 $\pm$ 3.3 (9)	44
$4 \times 10^{-4}$	83 $\pm$ 4.0 (6)	59
$8 \times 10^{-4}$	38 $\pm$ 3.1 (6)	81

The numerals in brackets show number of determination.

<sup>6</sup> B. B. BRODIE, J. J. BURNS, L. C. MARK, P. A. LIEF, E. BERNSTEIN, and E. M. PAPPER, *J. Pharmac. exp. Ther.* **109**, 26 (1953).

<sup>7</sup> J. R. COPPER and B. B. BRODIE, *J. Pharmac. exp. Ther.* **115**, 68 (1955).

<sup>8</sup> N. P. SALZMAN and B. B. BRODIE, *J. Pharmac. exp. Ther.* **118**, 46 (1956).

<sup>9</sup> R. KATO, E. CHIESARA, and P. VASSANELLI, to be published.

<sup>10</sup> H. REMMER, *Arch. exp. Path. Pharmac.* **237**, 296 (1959).

<sup>11</sup> R. KATO, *Atti Soc. Lomb. Sci. Med.* **14**, 783 (1959).

<sup>12</sup> A. H. CONNEY, C. DAVIDSON, B. GASTEL, and J. J. BURNS, *J. Pharmac. exp. Ther.* **130**, 1 (1960).

<sup>13</sup> A. H. CONNEY, J. A. MICHAELSON, and J. J. BURNS, *J. Pharmac. exp. Ther.* **132**, 202 (1961).

<sup>14</sup> R. KATO, *Med. Exp.* **3**, 95 (1960).

<sup>15</sup> R. KATO and E. CHIESARA, *Brit. J. Pharmacol.*, **18**, 29 (1962).

## Über einen phytotoxisch wirkenden Stoff aus dem Extrakt von *Brachycaudus napelli* Schrk. (Insecta, Aphidoidea)

Versuche mit wässrigen Extrakten verschiedener Blattlausarten ergaben, dass dieselben das Welken der abgeschnittenen und in die Extrakte gestellten Wirtspflanzenprosse hervorrufen können (KAZDA<sup>1</sup>). Eine nähere Prüfung dieses Effekts – mit dem Extrakt aus *Brachycaudus napelli* Schrk. – ergab auch an abgeschnittenen Tomatensprossen das Auftreten von Welkeerscheinungen, Blattnekrosen und Störungen im Wasserhaushalt. Im Anschluss an Untersuchungen über Thermostabilität, Löslichkeit und Diffusionsfähigkeit des welkeaktiven Agens, die an anderer Stelle veröffentlicht werden, wurde eine Methode zur teilweisen Entfernung der Ballaststoffe aus dem Extrakt entwickelt.

**Methode.** Die in der Natur gesammelten Blattläuse wurden mit destilliertem Wasser zerrieben, im Vakuum

bei 60°C sofort eingedampft, 2 h bei 110°C getrocknet und dreimal mit Äther extrahiert. Der ätherunlösliche Rückstand wurde zunächst dreimal je 3 h mit Wasser und nachfolgend dreimal mit Azeton extrahiert. Die Wasser- und Azetonextrakte wurden im Vakuum zum Eintrocknen eingeeignet, die Rückstände in 5 ml destilliertem Wasser/g freigesetztem Aphidenmaterial gelöst, in den Dialysierschlauch übertragen und 48 h in destilliertem Wasser dialysiert. Es erfolgte eine sechsmalige Wassererneuerung. Das Wasser mit den durch den Dialysierschlauch durchgegangenen Stoffen wurde sofort nach dem Absetzen von der Dialyse durch einen bakteriologischen Filter filtriert und im Vakuum bis zum Eintrocknen abgedampft. Der Rückstand, der nach den vorherigen Untersuchungen einen welkeaktiven Stoff (oder Stoffe) enthalten sollte, wurde unter-

<sup>1</sup> V. KAZDA, *Zool. listy*, im Druck.

sucht und einem papierchromatographischen Trennungsversuch weiter unterworfen.

Der Rückstand wurde dann in 0,5 ml bidestilliertem Wasser/g des ursprünglichen Aphidenfrischgewichts gelöst, je 0,5 ml auf die Startlinie von 20 cm Breite der zur Chromatographie vorbereiteten Whatmann-I-Filterpapiere aufgetragen und in einem *n*-Butanol-Azeton-Wassergemisch (5:1:2) absteigend chromatographiert. Nach dem Trocknen wurden die Chromatogramme in 6 horizontale Zonen mit den Rf-Werten 0,0–0,14, 0,14–0,2, 0,2–0,4, 0,4–0,6, 0,6–0,8 und 0,8–1,0 geteilt. Die Trennungslinie zwischen der ersten und der zweiten Zone wurde mittels einer UV-Lampe gewählt. Einzelne Zonen wurden nach dem Zerschneiden der Chromatogramme mit 50 ml destilliertem Wasser eluiert und alle Eluate im Vakuum auf 5 ml eingengt. Die Anwesenheit phyto-toxisch wirksamer Stoffe in den einzelnen eingengten Eluaten wurde auf den abgeschnittenen Tomatensprossen in den Erlenmeyerkolben untersucht.

Durch die oben beschriebene Methode wurden insgesamt 16 g gesammelte Blattläuse in drei Portionen unabhängig bearbeitet. Auf diese Weise wurden 16 Chromatogramme gewonnen, von denen 7 in Zonen geteilt, eluiert und die Eluate weiter biologisch geprüft wurden. Die Testversuche wurden von August bis Oktober unter Laboratoriumsbedingungen durchgeführt (Lufttemperatur 17–22°C, Luftfeuchtigkeit 60–80%). Die Testtomaten (Sorte «Olmützer») stammten aus der Sommeraussaat. Zu den Versuchen wurden 15 cm der oberen Sprosssteile verwendet, denen nur das zweite Blatt von oben und die Gipfelblätter belassen wurden. Die Testpflanzenteile standen nach dem Abschneiden zunächst 24 h zur Akklimatisation im Versuchsraum, dann wurden pro Kolben 2–3 mit Eluat eingestellt und nach dreitägiger Behandlung ins frische Wasser übertragen. Eluate jeder Chromatogrammzone (mit denselben Rf-Werten) wurden auf je 18 Versuchspflanzen geprüft.



Erste Nekrosen auf der Blattfläche einer Tomatenpflanze, welche 3 Tage im Eluat aus der ersten Chromatogrammzone eingestellt worden war (nähere Angaben im Text).

**Ergebnisse.** In Eluaten aus den ersten Zonen (Rf-Werte 0,0–0,14) konnte an Testpflanzen nach 48 h leichtes Erschlaffen der Blätter beobachtet werden. Nach dreitägiger Wirkung der Eluate traten auf den Blattflächen die ersten Anzeichen der Nekrosen auf, die nach 5 Tagen deutlich sichtbar waren. Am Anfang handelte es sich meist um runde, zum Teil auch um unregelmässig geformte kleine bis 3 mm grosse, schwarzbraune nekrotische Flecken auf den Interkostalfeldern der Blattflächen, in geringerem Masse auch auf den Blatträndern und -spitzen. In weiter fortgeschrittenen Stadien flossen manche Flecke zusammen, die Umgebung der Nekrosen begann zu chlorotisieren und schliesslich verdorrte die Blattfläche bis auf restliche Bezirke entlang der Hauptadern. Hauptadern, Mittelrippen, Blattstiele und Stengel blieben symptomlos. Diese Schäden zeigten sich auf allen Blättern der 18 in die Eluate aus den ersten Chromatogrammzonen eingestellten Tomatenpflanzen. An Testpflanzen, die in die Eluate aus den fünften und sechsten Chromatogrammzonen eingestellt wurden, traten an einigen Blattspitzen nach 4–5 Tagen braungrüne Nekrosen auf; doch erschienen sie unregelmässig und in keinem Fall innerhalb der Blattflächen. Tomatenpflanzen in Eluaten aus anderen Zonen sowie auch Kontrollpflanzen im Wasser wiesen keine makroskopisch sichtbaren Schäden auf.

**Schlussfolgerungen.** Auf Grund der erhaltenen Ergebnisse kann für wahrscheinlich gelten, dass durch die angewandte Methode aus dem Extrakt von *Brachycaudus napelli* Schrk. mindestens ein phytotoxischer, wenn auch nicht gereinigter Stoff abgetrennt wurde, der Erschlaffen und irreversible Schädigung der Versuchspflanzen hervorrief. Visuelle Symptome, das heisst nekrotische Flecke auf den Interkostalfeldern der Blattflächen sowie an den Blattspitzen, entsprachen auffallend den von GÄUMANN<sup>2</sup> für die Schädigung durch Welketoxine pilzlicher Natur beschriebenen Symptomen. Zurzeit kann die Frage noch nicht beantwortet werden, ob eine Beziehung zwischen dem hier aus dem Blattlausextrakt gewonnenen und phytotoxisch wirkenden Stoff und den von KLOFT<sup>3</sup> festgestellten Störungen in der Wasserbilanz der durch Blattläuse angestochenen Pflanzenteile besteht.

**Summary.** A substance was isolated from extracts prepared from aphids (*Brachycaudus napelli* Schrk.) which induces black-brown necrotic areas in leaves of detached tomato shoots which are put into an aqueous solution of the substance. The purity of the isolated substance mentioned above has not yet been determined.

V. KAZDA

*Institut für experimentelle Botanik der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Phytopathologische Abteilung, Prag (Tschechoslowakei), 22. Januar 1962.*

<sup>2</sup> E. GAUMANN, ST. NAEF-ROTH und G. MIESCHER, *Phytopath. Z.* 16, 257 (1950). – E. GAUMANN, ST. NAEF-ROTH und H. KOBEL, *Phytopath. Z.* 20, 1 (1952). – E. GAUMANN, *Phytopath. Z.* 29, 1 (1957).

<sup>3</sup> W. KLOFT, *Phytopath. Z.* 22, 251 (1951); *Z. angew. Entomol.* 45, 337 (1960); 46, 12 (1960).

## Induction of the Formation of a Coli-bacteriophage and Colicin by Hydroperoxide

Ultraviolet radiation is nowadays by far the most widely used way of provoking an induction of the formation of bacteriophages from lysogenic bacteria; less is

known about the induction with hydroperoxide. LWOFF and JACOB<sup>1</sup> found that the same factors which induce the production of phage – among them the UV-rays and hydroperoxide – equally well induce the production of colicin in

<sup>1</sup> A. LWOFF and F. JACOB, *C. R. Acad. Sci. Paris* 234, 2308 (1952).