

A New Antibacterial Substance from *Inoloma traganum* (Inolomin)

After examination of a great number of representatives of different families of *Hymenomycetes*, an antibacterially effective substance was found in the receptacles of *Inoloma traganum* (g. *Cortinarius*, *Ochrosporeae*, *Agariceae*). We discovered it for the first time in August, 1946, in the fungi collected in the coniferous forests of the Giant's Mountains (near Velká Úpa) and still later in many other localities. Thus the substance seems to be a permanent component of the fungi of this species and independent of their physical environment. The young violet fungi whose head is still spherical, contain far more of the substance than old fungi with a flat head, in which the substance several times was not found at all. Its quantity is about the same in the foot and head.

The first extracts were prepared by crushing the fresh fungi with distilled water in the ratio 1:5 by means of a glass crusher, the mash was centrifuged and, the liquid passed through a paper filter. We obtained a pale violet colloid solution. Its effectiveness was tested by the suppression of the growth of an aerial micrococcus on meat-pepton agar. (On an evenly inoculated plate we placed a ring of filter paper soaked with the solution and the whole was then incubated. The effectiveness was determined by the width of the sterile zone from the border of the filter paper, in mm). These watery extracts had an effectiveness of 6–10 mm.

After filtration with Seitz EK filter we obtained a clear yellowish solution whose effectiveness was unchanged. The extract may also be concentrated by evaporation at a p_H of 5–7 at 100°C.

After saturating the watery extract with ammonium sulphate the colloids are precipitated and can then be separated easily by filtration through paper. The clear yellowish filtrate does not lose its effectiveness. To the filtrate we add animal charcoal (5 g to 1 l), stir it by shaking, and after half an hour filter it. The colouring matters and impurities were adsorbed so that the filtrate is clear, hyaline and its effectiveness was not sensibly lowered. (When washing out the dried animal charcoal with ethanol we obtain after filtration and evaporation a yellowish brown wax-like substance insoluble in a phosphate buffer p_H 7, which on the surface rolls itself up into spheres. Traces of the effective substance are, however, mixed in this substance and are easily dissolved in the buffer). To the filtrate we add a certain quantity of carborafine (30 g to 1 l), stir it from time to time and filter it after two hours. The still moist carborafine with the adsorbed effective substance we extract for one hour at 37°C with concentrated ethanol (600 cc to 30 g). After filtration we evaporated the filtrate at a temperature lower than 65°C (preferably in a vacuum). We obtain a yellow glassy substance which quickly becomes moist in the air, and which is easily soluble in water and in a phosphate buffer of p_H 7. The feebly yellowish 10% solution shows a prevention of the aerial micrococcus in a zone of 12–14 mm. The sterile Seitz-filtered solution does not lose its effectiveness after standing a few days at laboratory temperature. Upon autoclaving at 1½ atm. it turns dark brown and loses its effectiveness after 40 minutes. We believe that this concentration contains still more than one half of impurities. Until the substance is better chemically defined we shall call it *Inolomin* after the fungus *Inoloma traganum*.

The preparation affects only certain micrococci and pseudodiphtheria. As we ascertained in some thirty

cultures of aerial micrococci, the substance affects only certain forms which do not ferment saccharose, levulose, glucose and starch. Further it affects certain "dry pseudodiphtheriae". So far no other species of microbes have been found which are sensitive to *Inolomin*, and we believe that just because of its specific effect on certain micrococci and pseudodiphtheriae it might have a considerable theoretical importance in the study of the analogy of the metabolism and systematic position of the two genera mentioned.

Toxicity: A 10% solution of our concentrate is for white mice entirely non-toxic. The mice (about 16–20 g) bear an intravenous injection of 1 cc of the solution without any symptoms.

We demonstrated the occurrence of a similar antibacterial substance also in some other species of the genus *Cortinarius*. We cannot say as yet whether they are identical with our *Inolomin*.

The present communication has to be considered only as an introduction to the study of the various and very interesting antibacterial substances of the higher fungi of our country.

PETR FRÄGNER

Institute of Microbiology and Immunology, Charles University, Prague, November 20, 1948.

Zusammenfassung

Im Pilz *Inoloma traganum* wurde ein neuer antibakterieller Stoff gefunden. Diese Substanz wirkt nur auf einige Arten von Mikrokokken und Pseudodiphtheriebazillen. Das neue Antibiotikum wurde aus einer Wasserlösung durch Adsorption an aktive Kohle konzentriert, mit konzentriertem Äthanol eluiert und durch Verdampfen der Lösung gewonnen. Für eine Maus ist der Stoff bei intravenöser Applikation nicht toxisch. Er könnte theoretisch beim Studium der systematischen Einordnung von Mikrokokken und Pseudodiphtheriebazillen bedeutsam sein.

Influence de l'énervation sur la composition des extraits protidiques des muscles striés

Des modifications protidiques des muscles énnervés ont déjà antérieurement été signalées. En négligeant les résultats déjà anciens de STEYRER¹, obtenus avec des méthodes qui n'ont plus qu'un intérêt historique, les modifications connues² portent exclusivement sur la myosine de WEBER-EDSALL (moindre solubilité, avec formation de précipités particulièrement denses; difficulté d'obtenir des fils à partir de cette myosine, faible biréfringence des fils obtenus, faible activité ATP-aseique).

On sait que si l'on extrait de la pulpe musculaire par une solution de force ionique qui ne dépasse pas μ : 0,15, à un p_H de 7,20 environ, on fait passer en solution la plupart des constituants protidiques solubles du muscle sauf ceux du groupe II³ (myosines α , β et γ).

La fig. 1A représente un tracé électrophorétique de muscle normal extrait dans de semblables conditions: on y reconnaît une bande principale, la plus lente (I), correspondant aux myogènes (groupe I de JACOB), la

¹ A. STEYRER, Beitr. Chem. Physiol. Path. 4, 234 (1903).

² E. FISCHER et V. W. RAMSEY, Amer. J. Physiol. 145, 571 (1946); Arch. Phys. Therapy 25, 709 (1944); Feder. Proc. 4, 21 (1945). – E. FISCHER, E. HUF, V. W. RAMSEY et C. R. RYLAND, Feder. Proc. 6, 1 (1947).

³ J. JACOB, Bioch. J. 41, 83 (1947).

bande *h* ou groupe III de JACOB (myoalbumine) qui est la plus rapide et, entre les deux, le gradient *k* de JACOB¹ (II).

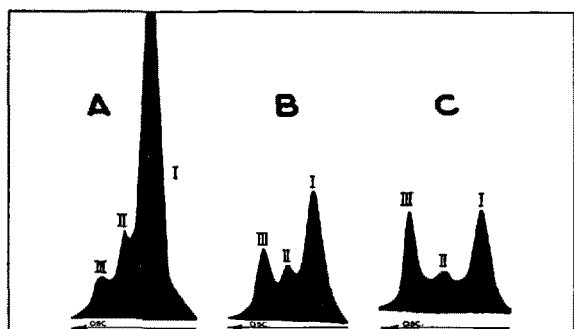


Fig. 1. - Diagrammes électrophorétiques d'extraits totaux de muscle normal (A) et énérvé depuis 45 (B) et 84 (C) jours.

Extraits obtenus et dialysés à μ 0,15; p_H 7,5-7,3; tracés anodiques; états comparables de séparation.

A 7600 secondes d'électrophorèse à 3,3 V/cm

B 6900 secondes d'électrophorèse à 3,7 V/cm

C 11600 secondes d'électrophorèse à 2,68 V/cm

Les fig. 1 B et 1 C ont été obtenues dans des conditions analogues, mais 45 jours (1 B) et 84 jours (1 C) après énérvation. On voit une augmentation très nette du gradient III et une diminution progressive des deux autres groupes de constituants.

Si l'on effectue des expériences analogues en utilisant des solutions d'extraction et de dialyse de plus grande force ionique, on fait passer en solution les myosines, ce qui augmente considérablement l'importance du groupe II. Le tracé électrophorétique du muscle normal prend alors l'aspect représenté dans la fig. 2 A. L'énérvation modifie ces tracés comme l'indiquent les fig. 2 B (16 jours après l'énérvation), 2 C (34 jours), 2 D (45 jours), 2 E (84 jours). L'examen comparatif de ces tracés confirme l'augmentation progressive de la bande *h* (groupe III) et une diminution parallèle des gradients correspondant aux myogènes et aux myosines (groupes I et II).

L'ensemble de tous ces résultats peut donc se résumer comme suit: l'énérvation du muscle strié du Lapin est caractérisée par une diminution progressive des myogènes et des myosines et par une augmentation de la myoalbumine.

Le problème se pose maintenant de savoir si ces changements quantitatifs correspondent à une modification réelle de la composition protidique de la cellule musculaire ou bien, en tout ou en partie, à des changements survenus dans les propriétés physicochimiques des protéines elles-mêmes ou d'autres constituants du tissu, entraînant une modification des conditions d'extractibilité ou de solubilité.

Une accessibilité moindre (par exemple par suite de la formation de complexes entre ces protéines normalement extractibles et d'autres constituants) ou une solubilité amoindrie (par modification de la structure des molécules, le gain ou la perte de certains groupements prosthétiques) pourrait aussi bien expliquer la diminution du taux des protéines des groupes I et II que leur réelle disparition dans les tissus et l'accroissement de la myoalbumine dans nos extraits pourrait résulter aussi bien d'une meilleure accessibilité spatiale, ou d'une solubilité accrue, que d'un enrichissement cellulaire. Cette question se pose surtout en ce qui concerne les constituants du groupe des myosines dont l'extractibi-

lité et la solubilité sont aisément affectées, même par les moindres modifications fonctionnelles (voir DUBUISSON¹), et qui sont des constituants dont le passage en solution dans les extraits dépend grandement des conditions physicochimiques de l'extraction. Par contre, le passage en solution des myogènes et de la myoalbumine est beaucoup moins délicat et on n'a pas révélé, jusqu'à présent, de modifications, ni de l'extractibilité, ni de la solubilité de ces constituants en fonction des divers états fonctionnels du tissu. On est aussi tenté de penser que la diminution du taux des myogènes et l'augmentation du taux de la myoalbumine dans les extraits de muscle énérvé correspondent très vraisemblablement à une modification réelle de la composition protidique de la cellule musculaire dégénérée, tandis que la diminution d'accessibilité des myosines est un fait qu'il est d'autant plus difficile d'interpréter dans le cas présent que des modifications du même genre observées dans d'autres conditions physiologiques (fatigue musculaire) n'ont pas encore, jusqu'ici, reçu une interprétation satisfaisante².

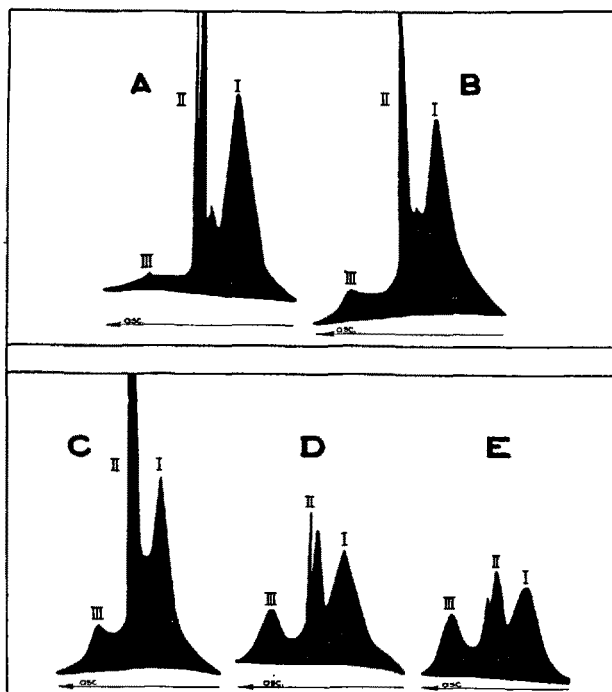


Fig. 2. - Diagrammes électrophorétiques d'extraits totaux de muscle normal (A) et énérvé depuis 16 (B), 34 (C), 45 (D) et 84 (E) jours. Extraits obtenus et dialysés à μ 0,35; p_H 7,5-7,0; tracés anodiques; états comparables de séparation.

A 32000 secondes d'électrophorèse à 1,84 V/cm

B 33400 secondes d'électrophorèse à 1,44 V/cm

C 28500 secondes d'électrophorèse à 1,5 V/cm

D 38000 secondes d'électrophorèse à 1,31 V/cm

E 29000 secondes d'électrophorèse à 1,5 V/cm

On est évidemment tenté de rapprocher ces modifications de la composition protidique du muscle énérvé d'autres propriétés qui sont spécifiques des mêmes muscles: leur structure histologique particulière et les changements de propriétés physiologiques qui les accompagnent. Mais de semblables recoupements ne pourront prendre toute leur valeur que lorsque nous

¹ M. DUBUISSON, Exper. 2, 258 (1946); *Les Protéines musculaires*. Expos. ann. de Bioch. méd., 9^e sér. Paris, 1948. - J. JACOB, Exper. 3, 241 (1947).

² M. DUBUISSON et L. MATHIEU, Exper. 4, 152 (1948).

¹ J. JACOB, Bioch. J. 41, 83 (1947).

posséderons une documentation plus abondante et plus diverse sur la distribution des protides et les caractères physiologiques et histologiques de muscles considérés à divers états fonctionnels, normaux ou pathologiques.

P. CREPAX

Laboratoire de biologie générale, Faculté des sciences, Université de Liège, le 20 janvier 1949.

Summary

The denervation atrophy (16 to 48 days duration) of striated rabbit muscles shows, according to electro-

phoretic investigations of crude protein extracts, a characteristic complex alteration in the protein composition of these muscles. Beside of the decrease in the myosin content, as previously described by others, a progressive decrease of the myogens and rise of the myoalbumin are noticeable. These quantitative changes, observable in tissue extracts, are almost surely related to corresponding quantitative changes occurring in the tissue in the cases of the myogens and myoalbumin. As far the myosins are concerned, the fact does not appear so clearly because the observed decrease could be related also to changes either in the conditions of extractibility or in these of solubility.

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensionen - Reviews

Chemical and Physical Investigations on Dairy Products

Monographs on the Progress of Research in Holland

By H. EILERS, R. N. J. SAAL, and M. VAN DER WAARDEN
215 pp. 51 figures and plates
(Elsevier Publishing Company Inc., New York and Amsterdam, 1947. In boards: fl. 10.60.)

Das Buch behandelt Probleme der Milch und der Butter, die von den Autoren während des Krieges im Auftrag der General Netherlands Dairy Union (Cooperative Dairies) in den Laboratorien der Bataafschen Petroleum Co. bearbeitet wurden.

In einem ersten Abschnitt werden von EILERS kolloidchemische Probleme der Magermilch behandelt. Er befaßt sich mit dem Ca-Caseinat/Ca-Phosphat-Komplex der Milch und den durch Hitze denaturierbaren Proteinen, dem Verhalten der Magermilch beim Eindicken mit oder ohne Zusatz von Zucker. Durch Viskositätsmessungen wurden wertvolle Einblicke in das System erhalten.

SAAL und HENKELOM befassen sich im zweiten Abschnitt mit dem Oxydations/Reduktions-Potential von Milch und Butter. Diese Untersuchungen bezweckten, die Frage abzuklären, ob Oxydationsvorgänge in Milcherzeugnissen einen Einfluß auf die Entwicklung von Geschmacksfehlern haben.

VAN DER WAARDEN befaßt sich im dritten Abschnitt mit den chemischen Vorgängen, die sich bei den Geschmacksveränderungen bei der Kaltlagerung der Butter abspielen. Die unerwünschten Geschmacksstoffe werden durch Oxydation gebildet. Diese wird besonders durch Kupfer beschleunigt, in einem etwas geringeren Maße auch durch Eisen, welche nahezu vollständig an die Butterkolloide gebunden sind.

Das Buch ist, abgesehen von den mitgeteilten Untersuchungsergebnissen über drei milchwirtschaftlich sehr wichtige Probleme, auch aus dem Grunde zur Lektüre empfehlenswert, weil die Autoren die sehr umfangreiche Literatur kritisch gesichtet und angeführt haben und so einem jeden, der sich eingehender mit der komplexen Materie befassen will, die Arbeit wesentlich erleichtern.

H. HOSTETTLER

Tabellen für Chemiker und Physiker

Von MAX LÜTHI

(Wepf & Co., Verlag, Basel 1948)

Der Verfasser bietet mit seinen Tabellen einen Ersatz für die vom Büchermarkt verschwundenen entsprechenden ausländischen Erzeugnisse. Um einen Überblick über das vorliegende Werk zu geben, soll es mit den bekannten Tabellen von KÜSTER-THIEL verglichen werden. Während diese speziell für Chemiker oder gar analytische Chemiker gedacht waren, sind LÜTHI'S Tabellen mehr allgemein gehalten. In KÜSTER'S Gasreduktionstabellen wird beispielsweise das Gewicht von 1 cm³ Stickstoff bei experimentellen Bedingungen angegeben, bei LÜTHI die Umrechnungsfaktoren auf Normalbedingungen. Für Lösungen tabelliert KÜSTER Normalitäten und Volumengewichte, LÜTHI Prozentgehalte und Dichten.

Es ist weitgehend der Zweck von KÜSTER'S Tabellenwerk, die mathematischen Hilfsmittel zur Auswertung analytischer Bestimmungen und physikalisch-chemischer Messungen zu geben. Dasjenige LÜTHI'S hat nicht mehr so ausschließlich diesen Charakter, sondern ist mehr ein Tabellenwerk physikalisch-chemischer Größen. So fehlen unter anderem bei LÜTHI Rechentabellen für Versuche mit der Wheatstoneschen Brücke, für p_H -Bestimmungen aus Potentialwerten, für kolorimetrische p_H -Bestimmungen, dagegen gibt er Tabellen über Isotope, Elektronenanordnung, Dissoziationskonstanten, Normalpotentiale, Aktivitätskoeffizienten, Reaktionswärmen, physikalische Eigenschaften fester, flüssiger und gasförmiger Stoffe.

Die wichtigsten Tabellen von KÜSTER-THIEL'S Werk sind auch in dem LÜTHI'S aufgenommen: Gewichte von Äquivalenten, Gruppen und Molekülen, gravimetrische Faktoren, Tabellen zur Maßanalyse, die schon erwähnten Gasreduktionstabellen, vier- und fünfstellige Logarithmentafeln. Von besonderem Interesse für Technik und präparatives Laboratorium sind bei LÜTHI die Gasreduktionstabelle für größere Temperatur- und Druckdifferenzen, Angaben über Pufferlösungen, Umrechnungstabelle Fahrenheit-Celsius, die Tabelle über Wasserdampftension und thermodynamische Eigenschaften von Wasserdampf.

Zur Ausführung von LÜTHI'S Tabellen ist zu bemerken, daß die ihnen beigelegten Erläuterungen äußerst knapp