

Prof. Dr. T. REICHSTEIN danke ich für die Zuweisung des kostbaren Untersuchungsmaterials und für viele wertvolle Ratschläge.

K. MEYER

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel, den 15. Juli 1948.

Summary

Degradation of bufalin-acetate with KMnO_4 in acetone gave methyl 3- β -acetoxy-14-hydroxy-14-*iso*-aetiocholanate and 3- β -acetoxy-14-hydroxy-14-*iso*-20-keto-pregnane-21-acid-(21 $\rightarrow$ 14)-lactone. This proves that bufalin and digitoxigenin differ only with regard to the nature of the lactone ring, the molecular structures being otherwise identical.

Un curare d'une Erythrine africaine

Fin 1947, le Prof. Z. M. BACQ organisa et dirigea, sous les auspices de l'IRSIA, une mission scientifique au Congo belge. Nous avons eu l'avantage de pouvoir disposer du matériel «Erythrina» récolté par cette mission et identifié par M. DUVIGNEAUD.

Il est connu depuis longtemps que des extraits totaux de très nombreuses espèces d'Erythras possèdent la propriété de supprimer l'excitabilité indirecte chez les vertébrés, grenouille et mammifères¹; la substance est généralement injectée à l'animal en expérience et on se borne à constater, soit la paralysie, soit la suppression de la réponse mécanique du muscle lors de l'excitation du nerf moteur.

FOLKERS² en 1937, commença l'isolement d'alcaloïdes purs à partir d'une dizaine d'espèces d'Erythras.

Nous sommes les premiers à étudier l'Erythrina tholloniana au point de vue chimique et pharmacologique. L'un de nous (C. L.) est parvenu à isoler de la fraction alcaloïdique «libre», un alcaloïde à l'état d'iodhydrate, de formule brute $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{NO}_2 \cdot \text{HI}$, dont le point de fusion est 225°; le chlorhydrate fond à 239°; ces sels sont très solubles dans l'eau et peu solubles dans l'alcool. Il s'agit vraisemblablement d'une Erythroïdine.

Des premières recherches avaient permis de mettre en évidence les propriétés curarisantes de ce produit: injecté chez la grenouille à la dose de 500 γ de base par kg, il produit une paralysie complète de l'animal.

Afin de préciser ces premiers résultats, nous avons étudié les effets de l'alcaloïde sur la préparation isolée sciatique-couturier de Rana temporaria, préparation qui s'était montrée particulièrement favorable pour l'étude de nombreuses substances curarisantes³.

A des concentrations de l'ordre de 1/1000000 à 1/2000000 au p_{H} 7,2 et à 20°, on constate une réduction progressive de l'énergie de la contraction produite par l'excitation du nerf moteur, suivie de l'abolition totale de la réponse mécanique; toutefois l'excitabilité directe du muscle est conservée.

Au moment du bloc neuro-musculaire, le muscle répond à une salve nerveuse motrice par une dépolarisation de longue durée qui ne peut être enregistrée que dans la région du muscle où existent les jonctions neuro-musculaires; il s'agit donc d'une onde de sole motrice, onde simple et non pas complexe, identique à celles qui ont été

décrites lors de l'action du curare ou de dérivés de l'ammonium quaternaire sur la même préparation; toutefois les phénomènes d'excitation que déclenchent habituellement l'iodure de tétraméthylammonium ou le chlorure de phényltriméthylammonium n'apparaissent pas avec cet alcaloïde.

Quand on suit l'évolution de la curarisation, on enregistre durant les minutes qui précèdent le bloc total, une onde de sole motrice sur laquelle se superposent des potentiels d'action brefs de fibre musculaire; comme c'est le cas avec le curare, une stimulation un peu trop fréquente, au rythme de un stimulus toutes les secondes, fait disparaître rapidement ces potentiels d'action: la préparation à ce stade est donc très fatigable.

L'excitation du nerf moteur au moyen de deux stimuli brefs et maximaux fait apparaître le phénomène de sommation à la jonction myo-neurale: si la seconde salve nerveuse survient 5 à 20 millisecc. après la première, la réponse électrique qu'elle produit dans le muscle est constituée par une onde lente de même forme que celle qui est produite par la première salve, mais d'une amplitude plus élevée; si la curarisation n'a pas été trop poussée, des potentiels d'action de fibre musculaire viennent s'y superposer et le muscle se contracte. Ces phénomènes de sommation sont identiques à ceux qui ont été décrits lorsque n'importe quel agent curarisant se trouve au contact de la préparation à la concentration juste suffisante pour produire le bloc de transmission.

Le lavage de la préparation agit rapidement pour accroître le voltage de l'onde lente; des potentiels d'action brefs de fibre se superposent à cette onde et la réponse mécanique se produit: la fixation de l'alcaloïde à la jonction myo-neurale est donc réversible.

Enfin la décurarisation peut être aisément réalisée, si on fait agir sur la préparation paralysée – et en présence de l'alcaloïde à la concentration curarisante – de la vératrine à la concentration de 1/200000: l'excitabilité indirecte reparaît, mais il convient de ne stimuler que très rarement le nerf moteur; si on excite trop fréquemment, une fois toutes les 3–4–5 secondes par exemple, on observe des décharges répétitives d'ondes de sole motrice sans potentiels d'action de fibre musculaire; le tracé «en escalier» est très caractéristique et tout pareil à celui que l'on recueille chaque fois que la vératrine exerce son action décurarisante.

La curarisation produite par cet alcaloïde peut donc être comparée à celle que produit le curare.

Sur une préparation phrénique-diaphragme de rat, notre alcaloïde est très peu actif: il faut une concentration de l'ordre de 1/5000 dans du Tyrode pour observer une réduction de l'énergie de concentration produite par l'excitation du phrénique.

C. LAPIERE et G. COPPÉE

Laboratoires de chimie pharmaceutique et de physiologie de l'Université de Liège, le 3 juillet 1948.

Summary

An alkaloid $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{NO}_2$ has been isolated from Erythrina tholloniana; the iodohydrate of this erythroïdine has a melting point of 225°C and 239°C for its chlorhydrate. It has a powerful curare-like action on the frog or on its isolated sciatic-sartorius preparation; at a concentration of less than 1/1,000,000, a complete neuromuscular block is produced: the electrical stimulation of the motor nerve does not produce any contraction, but the muscle reacts by an end-plate potential having the same characteristics (shape, duration, possibility of summation) as the electrical waves produced in the same preparation curarized by

¹ K. FOLKERS et K. UNNA, J. Am. Pharm. Ass. 27, 689 (1938); J. Am. Pharm. Ass. 28, 1019 (1939).

² K. FOLKERS et R. T. MAJOR, J. Am. Chem. Soc. 59, 1580 (1937). – K. FOLKERS, F. KONIUSZY et J. SHAVER, J. Am. Chem. Soc. 66, 1083 (1944).

³ G. COPPÉE, Arch. Int. Physiol. 53, 327 (1943).

ordinary curare or by quaternary ammonium derivatives. Decarization by veratrine 1/200,000 is accompanied by the same electrical reactions as those which have been described in preparations treated by curare.

On mammals, the alcaloid has little curariform activity; on the isolated phrenic-diaphragm preparation of the rat, incomplete block was produced at a concentration of 1/5000.

Cytological Consequences of Decapitation in Onion Roots

During a cytohistological investigation on growth responses and root-forming effects in *Allium Cepa*, the results of which will be published later (D'AMATO and AVANZI, in preparation), I have frequently tried the combined influence of decapitation and various chemicals on onion roots. Results of special interest have been obtained recently by subjecting onions with decapitated and intact roots to different colchicine treatments (exposure to colchicine for 3–6 days followed by recovery in water; alternative periods of treatment with colchicine and water; exposure to colchicine prolonged for 4–5 weeks, and so on). The numerous observations made hitherto do not need to be mentioned in this connection. It will be sufficient to note that, under the influence of colchicine, decapitated roots show a quicker and more intense production of lateral roots as compared with the intact ones. After 3 days of treatment in colchicine, a very great number of cells in the exterior layers of the central cylinder at a distance of about 2–8 mm from the cut surface are to be found in the various stages of C-mitosis, whereas the first indications of C-mitosis in the remaining root region near the wound appear only after 6 days. Owing to repetition of C-mitosis, the cells which were first stimulated to divide reach a higher degree of polyploidy than do those stimulated later. A similar condition can be easily demonstrated by a cytological analysis of the root initials produced by decapitated roots at different distances from the wound surface.

The conclusion seemed, therefore, likely that decapitation alone might stimulate to mitosis the differentiated cells of the region of elongation. Moreover, such a stimulation should be a centrifugal one, that is to say, beginning at a certain distance from the cut surface and gradually moving towards it.

Decapitated roots grown in tap water and fixed at various intervals have proved this conclusion to be true.

Stimulation to mitosis in this case reaches its maximum intensity 6–9 days after the wounding, when some root initials are developing from each root. Mitoses in the cells of the cortical parenchyma are generally of the type with diplochromosomes (as to the effect of colchicine on the cortical cells reference will be made elsewhere); but various stages of the same type of mitosis occur also in the central cylinder.

Apart from the smaller degree of their frequency, the cytological phenomena induced by decapitation are similar to those first described by LEVAN¹ in onion roots treated with various growth substances. According to LEVAN, the cell enlargement caused by growth substances is the stimulus to the chromosome doubling in differentiated cells.

This does not seem to be the case in our decapitation experiments, since no cell enlargement whatever can be noticed. Evidence in the same direction has been

recently obtained from a cytological analysis of the root swelling caused by sodium 2,4-dichlorophenoxyacetate¹. It has been noted that mitoses with diplochromosomes in old differentiated cells can occur as far as 22 mm from the root cap, their greatest frequency being in the not swollen region behind the tumor.

I am, therefore, inclined to conclude that nuclei with diplochromosomes are already present in the old cells of onion roots, these having originated during the differentiation of the cortex and central cylinder. Growth substances and wounding (as to the cytological effect of wounding see also GRAFL²) do not—at least in many cases—induce chromosome doublings, but stimulate old polyploid cells to divide.

The possibility is, however, not excluded that the C-tumor growth may sometimes be the cause of chromosome doublings, as pointed out by LEVAN³.

Another question of interest arising from these decapitation experiments relates to the cytological mechanism underlying the production of tetraploid callus shoots in decapitated stems of tomato and *Brassica*. As recently suggested by HOWARD⁴, they might originate through stimulation to mitosis of tetraploid nuclei contained in old vacuolated cells of the stem.

Concerning the possibility of changing the frequency of mitoses with diplochromosomes in onion roots through the combined influence of decapitation and sodium 2,4-dichlorophenoxyacetate, experiments have been very recently performed. It has been observed that, at least in most concentrations, decapitation exercises an antagonistic action to the typical stimulating effect of sodium 2,4-dichlorophenoxyacetate.

F. D'AMATO

Centro di Studio per la Citogenetica vegetale del Consiglio Nazionale delle Ricerche, Pisa (Italy), April 22 1948.

Résumé

En décapitant des racines d'Oignon en culture aqueuse, on a pu mettre en évidence tous les stades de la mitose à diplochromosomes dans les cellules différenciées du parenchyme cortical et du cylindre central (la plupart de celles du péricycle, généralement diploïdes, exclues).

En se basant sur ces observations et sur d'autres relatives à l'action cytologique du 2,4-dichlorophénoxy-acétate de Sodium (D'AMATO, 1948), on arrive à conclure en faveur de l'existence de noyaux à diplochromosomes dans les cellules différenciées de la racine d'Oignon.

¹ F. D'AMATO, Atti Accad. Naz. Lincei, Cl. Scienze Fis., ser. 8, 4.

² I. GRAFL, Chromosoma 1, 265 (1939).

³ A. LEVAN, Hereditas 25 (1939); Hereditas 30, 161 (1944).

⁴ H. W. HOWARD, Genetics 44, 1 (1942).

Preliminary Data on the Chromosome Cycle of *Lycæides idas* L.

It is known that in some populations belonging to many *Lycænidi* the females show on the wings a thin coat of blue scales which often cover entirely the upper wing surface. These scales make the female wing closely similar to the masculine one which is normally blue.

Some investigations on these forms were undertaken by COCKAYNE¹ on *Plebejus argus* L., *Lysandra corydon*

¹ A. LEVAN, Hereditas 25 (1939).

¹ E. A. COCKAYNE, Trans. R. ent. Soc. Lond., 322 (1916); ib. 225 (1922).