

	Standort	Erntedatum	Erntezeit Stunde	Biologischer Wirkungswert Dosis letalis in Gramm Droge pro Kilogramm Tiergewicht		Glykosidgehalt in Prozent berechnet als Digitoxin nach der chemischen Methode
				Meer- schweinchen	Frosch	
Versuch I	Korneuburg	27. 4. 1948	18	—	0,37	0,24
Sonnentag	Korneuburg	28. 4. 1948	8	—	0,38	0,26
<i>Digitalis lanata</i>	Korneuburg	28. 4. 1948	18	0,117	0,37	0,23
1. Vegetationsjahr	Korneuburg	29. 4. 1948	6	0,130	0,38	0,22
Versuch II	Schwechat	30. 5. 1949	20	0,107	0,35	0,29
Sonnentag <i>Digitalis lanata</i>		31. 5. 1949	6	0,117	0,34	0,30
1. Vegetationsjahr	Wien	31. 5. 1949	18	0,109	0,35	0,27
Versuch III		1. 6. 1949	8	0,104	0,34	0,27
Sonnentag <i>Digitalis lanata</i>	Schwechat	29. 6. 1949	18	0,078	0,27	0,37
2. Vegetationsjahr		30. 6. 1949	6	0,077	0,28	0,37
Versuch IV						
Regentag <i>Digitalis lanata</i>						
1. Vegetationsjahr						

ströme des Herzens), andererseits prüften wir die Digitalisblätter auch am Frosch (*Rana esculenta*), jedoch mittels der 4-Stunden-Methode, nach der die offizinellen Folia Digitalis des D.A.B. VI eingestellt werden sollen¹. Schließlich führten wir zum Vergleich noch eine chemische Untersuchung aus, und zwar verwendeten wir das auf der Keller-Kilianischen Digitoxosereaktion beruhende, von Soos² angegebene photometrische Verfahren, um daraus einen Anhaltspunkt für den jeweils vorliegenden Glykosidgehalt – bezogen auf Digitoxin – gewinnen zu können. Die Versuche wurden mit *Digitalis lanata* Ehrh. im ersten und zweiten Vegetationsjahr aus dem Versuchsgarten des Pharmakognostischen Institutes in Wien bzw. in Korneuburg bei Wien und aus einem privaten Garten in Schwechat bei Wien durchgeführt. Das Einsammeln der Blätter erfolgte am Abend eines sonnigen Tages und am darauffolgenden Morgen (Versuch I). Denselben Versuch wiederholten wir ein Jahr später unter ähnlichen Bedingungen (Versuche II und III) und am Abend eines Regentages wie am darauffolgenden Morgen (Versuch IV). Die Blätter wurden jedesmal sofort nach der Ernte im Trockenschrank bei 60° getrocknet und nach dem Pulverisieren untersucht.

Nach den aus der Tabelle ersichtlichen Untersuchungsergebnissen besteht praktisch kein Unterschied im physiologischen Wirkungswert zwischen den am Abend und am darauffolgenden Morgen geernteten Blättern von *Digitalis lanata*, und zwar gleichgültig, ob die Pflanzen vorher mindestens einen Tag lang der direkten Sonnenbestrahlung ausgesetzt waren oder ob Regenwetter herrschte. Ebenso konnte nach der chemischen Untersuchung kein über die Digitoxosestufe hinausgehender Abbau der Glykoside eingetreten sein.

Um jedoch auch den Einfluß eines längerdauernden Lichtentzuges feststellen zu können, wurden einige Pflanzen von *Digitalis lanata*, die sich im ersten Vegetationsjahr befanden und im Versuchsgarten im Freien aufgezogen worden waren, nach Entnahme von Blattproben (abends) 14 Tage lang im Keller unter nahezu vollständiger Ausschaltung des Tageslichtes bei sonst normaler Pflege aufbewahrt. Nach dieser Zeit wurden abnormals Blattproben entnommen und mittels der oben angegebenen Methoden untersucht. Das Ergebnis war:

Vor Aufbewahrung im Dunkeln: Dosis letalis in Gramm Droge (Trockensubstanz) pro Kilogramm Versuchstier

0,078 (Meerschweinchen), 0,27 (Frosch) und 0,37 % Glykoside, berechnet als Digitoxin (chemische Methode).

Nach 14tägiger Aufbewahrung im Dunkeln: Dosis letalis in Gramm Droge (Trockensubstanz) pro Kilogramm Versuchstier 0,078 (Meerschweinchen), 0,28 (Frosch) und 0,35 % Glykoside, berechnet als Digitoxin (chemische Methode).

Da selbst die vierzehntägige Aufbewahrung der Digitalispflanzen im Dunkeln noch keine Abnahme der Wirksamkeit ergab, muß wohl die auf Grund weit zurückliegender Untersuchungen auch heute noch vielfach vertretene Ansicht, daß während der Nacht durch Abbau der herzwirksamen Glykoside in den Blättern der Pflanze eine beträchtliche Wirkungsabnahme erfolgt, während des Tages aber unter dem Einfluß des Sonnenlichtes die Wirksamkeit wieder ansteigt, als irrig bezeichnet werden. Ein Abbau der Glykoside bis zu den Aglykonen oder eine teilweise Abspaltung von Digitoxose aus den Glykosiden im Dunkeln findet nach der hier vorgenommenen chemischen Untersuchung jedenfalls nicht statt.

L. FUCHS, E. SOOS und I. KABERT

Pharmakognostisches Institut der Universität Wien, den 12. Mai 1951.

Summary

Repeated examinations of Folia *Digitalis lanata* Ehrh. collected in the evening and the next morning have shown no difference in their physiological activity (Dosis letalis for guinea pig and frog) and in their glycoside content. Therefore, the belief—still widely held—that a decrease of heart-effective digitalis-glycosides, and with it a decrease of their activity, takes place during the night, is disproved. Even plants of digitalis, after having been kept in the dark for a fortnight, showed the same activity and the same content of glycosides as before. Therefore, the time of day, at which Folia *Digitalis* is gathered, is not of decisive influence on the value of these drugs.

Les fibrilles collagènes de l'os
(Etude au microscope électronique)

De nombreux auteurs ont étudié la structure du collagène dans différents tissus: peau¹, tendons², cartilage³.

¹ Kommentar zum DAB, VI, I. Bd. (Verlag Springer, Berlin 1928), S. 647.

² E. Soos, Sci. Pharm. 16, 1, 29 (1948).

³ J. GROSS et F. O. SCHMITT, J. Exp. Med. 88, 555 (1948).

⁴ F. O. SCHMITT, E. HALL et M. A. JAKUS, J. Cellul. Comp. Physiol. 20, 11 (1942).

⁵ C. WOLFERS, Das Leder 1, 3 (1950).

Alors que la périodicité des fibrilles est constante, valant en moyenne 640 Å, le diamètre est variable. Les fibrilles collagènes de la peau humaine ont une épaisseur moyenne de 1000 Å chez l'adulte et de 300 Å chez l'enfant¹. Dans les tendons et le cartilage, WOLPERS² trouve des valeurs allant de 200 à 2500 Å³. LELLI et MAROTTA⁴, étudiant la répartition des diamètres fibrillaires de quelques affections du sein, constatent des écarts marqués entre le diamètre moyen des fibrilles du derme (1074 Å) et celui des fibrilles d'un carcinome mammaire (554 Å). Ces variations n'ont rien d'étonnant. Une fibrille collagène est composée de filaments de 50 à 100 Å d'épaisseur, réunis entre eux par des liaisons latérales. Cet accollement de protéines fibreuses dépend, entre autres facteurs, du pH du milieu et de la rapidité de formation⁵.

Nous nous sommes proposés d'étudier les caractères des fibrilles collagènes de l'os, jamais observées jusqu'alors, à cause des difficultés techniques inhérentes à la structure de l'os.

Nous avons abordé le problème par la technique de l'empreinte double, cellulöid – monoxyde de silicium, précédemment décrite⁶. Comme matériel, nous avons choisi des fragments de diaphyse fémorale et tibiale humaines, un cas d'ostéite condensante de la mâchoire et des os longs, avec cals, chez le chien. Les os, fixés au formol, sont coupés, les surfaces obtenues polies et attaquées par des acides, des bases ou des ferments⁷.

Le grossissement a été établi à 3 % près à l'aide d'une empreinte au formvar d'un réseau optique en verre. Pour augmenter sa stabilité, nous avons procédé à un ombrage préalable à l'or. La constante de l'empreinte du réseau montée sur treilli a été déterminée optiquement. La déformation éventuelle due au faisceau électronique n'a pas pu être déterminée d'une façon précise; mais elle est, pour le microscope TTC, certainement inférieure à 5 %.

La périodicité des fibrilles collagène. Elle est remarquablement constante, indépendante de l'âge de l'os (corticale ancienne – cal récent), de l'âge de l'individu (enfant, adulte) et des deux espèces étudiées (homme, chien). Elle vaut environ 610 Å. Les mensurations sont indiquées dans le tableau. Elles ont été établies en comparant une suite de périodes (environ 10) avec une échelle dessinée au grossissement correspondant. Les valeurs indiquées représentent la moyenne des mesures faites sur une même photographie (10 à 20 mesures par photos). Notre valeur moyenne est légèrement inférieure à celle donnée par la plupart des auteurs.

Le diamètre des fibrilles. – Si pour une fibrille donnée, le diamètre est constant, il est variable d'une fibrille à l'autre et montre des différences encore plus accusées suivant l'os considéré. C'est ainsi que l'épaisseur moyenne d'une fibrille est de 1000 Å dans un fémur d'homme adulte

Périodicité des fibrilles collagènes	
Os	Périodicité (en Å)
Tibia humain adulte (♂ de 24 ans)	613, 600, 603, 605
Fémur humain adulte (♂ de 52 ans)	606, 621, 615, 599
surface longitudinale . . .	620, 600, 620, 612
Fémur humain adulte (♂ de 52 ans)	614, 624, 622,
surface transversale . . .	633, 616, 609, 620
Mâchoire humaine, ostéite condensante . . .	601, 613, 607, 605, 612, 607
Fémur humain, enfant de 3 semaines . .	619, 604, 606, 610
Radius du chien	614, 619, 616,
cal de fracture	612, 615

(52 et 63 ans) (fig. 2), de 700 Å dans le fémur d'un enfant de 3 semaines (fig. 3) et dans un cas d'ostéite condensante de la mâchoire (fig. 1).

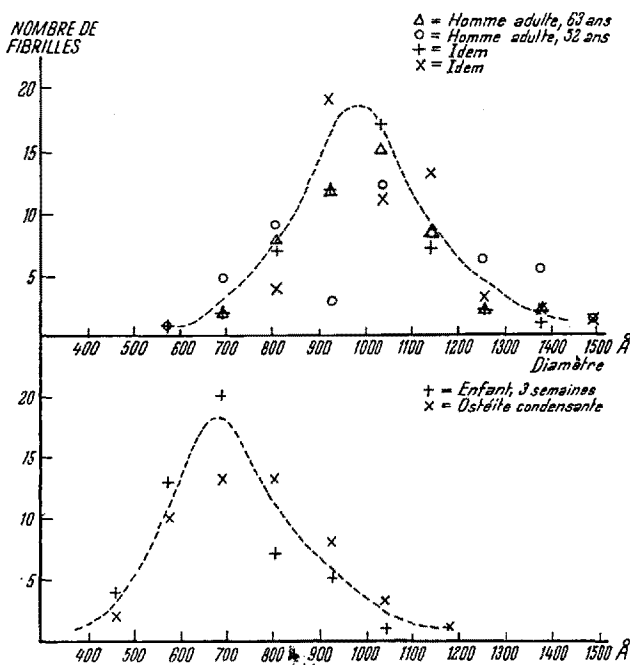


Fig. 1. – Distribution des diamètres fibrillaires

Autres caractères des fibrilles collagènes de l'os. – Les fibrilles ne s'anastomosent pas mais sont accolées ou tissées entre elles, formant des faisceaux. Ceux-ci s'enchevêtrent à leur tour et déterminent un treillis caractéristique de la lamelle fibrillaire de l'ostéone¹.

Autour des ostéocytes jeunes, les fibrilles sont disposées radialement. Ces dernières n'occupent jamais toute la périphérie de la cavité ostéocytaire mais la cellule est bordée, d'un côté, par une substance amorphe (fig. 4). On peut se demander si la formation des fibrilles, dont l'ostéoblaste est responsable, n'est pas polarisée dans une certaine direction.

¹ CH. ROUILLER, L. HUBER, E. KELLENBERGER et E. RUTISHAUSER, Acta anatomica (en publication).

¹ J. GROSS et F. O. SCHMITT, J. Exp. Med. 88, 555 (1948).

² C. WOLPERS, Virchow Arch. 312, 292 (1944).

³ C. WOLPERS, Das Leder 1, 3 (1950).

⁴ G. LELLI et U. MAROTTA, Rend. Istit. Sup. San. 13, 1 (1950).

⁵ J. D. FERRY et P. R. MORRISON, J. Amer. Chem. Soc. 69, 388 (1947). – K. R. PORTER et CLINTON VAN ZANDT HAWN, J. Exp. Med. 90, 225 (1949).

⁶ E. KELLENBERGER, Exper. 4, 407, 449 (1948). – E. KELLENBERGER et CH. ROUILLER, Schweiz. Z. Pathol. 13, 1 (1950). – E. RUTISHAUSER, L. HUBER, E. KELLENBERGER, G. MAJNO et CH. ROUILLER, Arch. Soc. Sci. Phys. Hist. Nat., Genève, 3, 175 (1950).

⁷ CH. ROUILLER, L. HUBER, E. KELLENBERGER, G. MAJNO et E. RUTISHAUSER, Congr. int. microsc. électron., Paris, 14–22 sept. 1950.

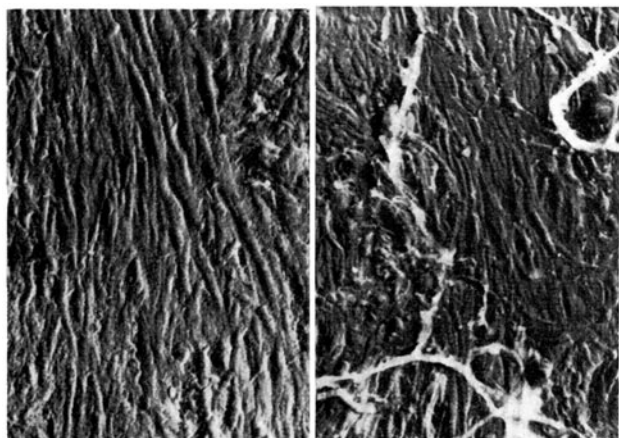


Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 2. – Os humain adulte (empreinte positive). Fibrilles collagènes périodiques d'un diamètre moyen de 1000 Å. Grossissement: 16500 ×.

Fig. 3. – Os d'enfant. Fibrilles collagènes périodiques d'un diamètre moyen de 700 Å. Grossissement: 16500 ×.

Une attaque à l'acide chlorhydrique (1:1000, 2') de la surface polie démasque les fibrilles qui deviennent encore plus nettes après un traitement complémentaire à la papaïne¹. La potasse les détruit. Le collagène de l'os normal n'est donc pas pétrifié mais enrobé de ciment (Kittsubstanz), composé d'une substance organique amorphe

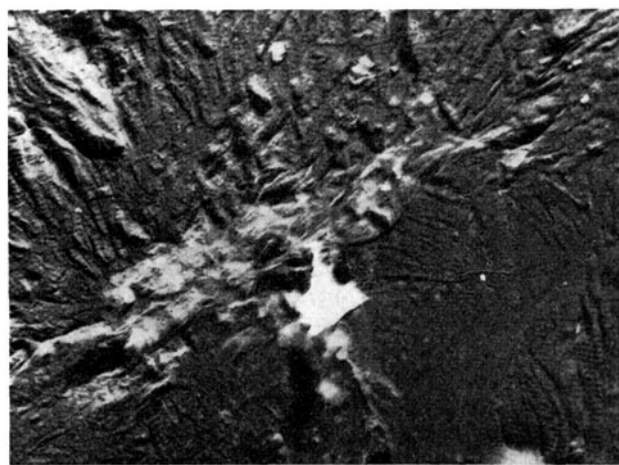


Fig. 4. – Ostéocyte partiellement entouré de fibrilles collagènes radiaires. Noter la présence d'une substance amorphe bordant un côté de l'ostéocyte (la technique de l'empreinte n'est pas destinée à l'étude de la cellule osseuse. Cette dernière est détruite et il ne subsiste que sa cavité, remplie de débris cellulaires). Grossissement: 13000 ×.

et de sels minéraux. Dans l'os jeune (cal périostique récent), la mise en évidence des fibrilles est beaucoup plus aisée que dans l'os ancien. L'enrobage du collagène par le ciment n'est pas contemporain à la formation des fibrilles mais survient plus tardivement. Il est probable qu'avec l'âge, l'os s'enrichisse en substance fondamentale.

Nos recherches ont été facilitées par une subvention accordée par la fondation fédérale pour l'Encouragement des Recherches scientifiques.

L. HUBER et CH. ROUILLER

Institut de physique et Institut de pathologie de l'Université de Genève, le 3 juillet 1951.

¹ CH. ROUILLER, L. HUBER, E. KELLENBERGER, G. MAJNO et E. RUTISHAUSER, Congr. int. microsc. électron., Paris, 14–22 sept. 1950.

Zusammenfassung

Die elektronenmikroskopische Untersuchung des Knochenkollagens mit Hilfe von Abdrücken hat ergeben, daß die Fibrillenperiode konstant ist (610 Å), während die Dicke je nach Knochen verschieden ist. Das Fibrillenkollagen des normalen Knochens ist nicht mineralisiert, sondern nur von Kittsubstanz umgeben. Diese Einbettung erfolgt aber wahrscheinlich erst nach der Bildung der Fibrillen.

Chromosomes de Muridæ

La diversité véritablement stupéfiante de la morphologie chromosomique et hétérochromosomique des Muridæ nous encourage vivement à poursuivre l'étude cytologique de ces rongeurs. Il nous semble en effet que lorsque les documents recueillis seront suffisamment nombreux, il sera peut-être possible d'arriver à une compréhension meilleure de l'évolution chromosomique.

Microtinæ. – La découverte d'hétérochromosomes géants¹ chez *Microtus agrestis* L. posait un problème intéressant: aux Etats-Unis, se rencontre le *Microtus pennsylvanicus* Ord., généralement considéré par les systématiciens comme une forme très voisine, peut-être «jumelle», de *Microtus agrestis*. On pouvait donc s'attendre à retrouver dans l'espèce américaine des chromosomes sexuels géants et, d'autre part, une formule voisine de celle de *Microtus agrestis*. Il n'en est rien: *Microtus pennsylvanicus* possède 46 chromosomes, soit 44 autosomes dont deux à trois paires sont métacentriques ou submétacentriques, et un couple XY de taille normale se disjoignant préréductionnellement. L'Y est métacentrique, l'Y punctiforme, probablement acrocentrique.

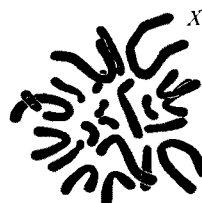


Fig. 1. – *Cricetulus griseus* – Métaphase spermatogoniale. 2N = 22; l'X est un V de grandes dimensions. Flemming-Heitz, Feulgen. × 2700.

Microtus guentheri Danf. et Alston est le chef de file d'un groupe d'espèces dont aucune n'a encore été étudiée cytologiquement. Ce campagnol possède 54 chromosomes, soit 52 autosomes acrocentriques et une paire XY se disjoignant à l'anaphase I. L'X et l'Y sont métacentriques et de petites dimensions. La formule de ce *Microtus* est très analogue à celle de *Microtus nivalis*² et d'*Evotomys glaveolus*³, les nombres 2N de ces deux espèces étant respectivement 56 et 58.

Cricetinae. – Le nombre diploïde, chez *Mesocricetus auratus* Waterh., n'est pas de 38 (KOLLER⁴, MULDAL⁵), mais de 44. Je suis sur ce point en plein accord avec HUSTED⁶ et ses collaborateurs. *Cricetus cricetus* L. ne

¹ R. MATTHEY, Cellule 53, 163 (1950).

² R. MATTHEY, Sci. Genet. 3, 23 (1947).

³ P. RENAUD, Rev. Suisse Zool. 45, 349 (1938).

⁴ P. C. KOLLER, J. Genet. 36, 177 (1938); Proc. Royal Soc. London [B] 133, 313 (1946).

⁵ S. MULDAL, Ann. Rep. J. Innes Hort. Inst. 38, 23 (1948).

⁶ L. HUSTED, J. T. HOPKINS et M. B. MOORE, J. Hered. 36, 93 (1945).