

Cell counts, mitotic indices and phase percentages

Group No.	Agent	Duration of exposure	Total cells	Total mitoses	Mitotic index	Phase percentage			
						Prophase	Metaphase	Anaphase	Telophase
		hours				%	%	%	%
1	Colchicine	16	12,432	2,982	0.240	3.2	95.2	0.6	0.9
		20	13,304	6,606	0.496	0.6	98.9	0.1	0.3
2	Colchicine + tropolone . .	16	15,822	4,922	0.311	3.4	95.6	0.7	0.3
		20	13,384	166	0.012	0.6	72.3	6.0	21.1
3	Tropolone	16	8,416	172	0.020	10.5	31.4	12.8	45.3
		20	12,853	310	0.024	4.5	44.5	13.2	37.7
4	Control	16	10,342	230	0.022	2.6	48.2	16.5	32.6
		20	7,248	144	0.020	2.1	50.0	9.0	38.9

and 50 % for the controls. A striking shift is also registered in anaphase and telophase figures. In fixed preparations of cultures exposed to tropolone alone, the spindle is more frequently and more clearly visible than it is in the controls. In the colchicine preparations it is rarely if ever discernible. These and related observations, which will be presented elsewhere in more extended form, suggest that tropolone is able to shorten the duration of the metaphase, perhaps by exerting an influence on factors that govern the formation of the spindle.

The only agent discovered heretofore capable of blocking the action of colchicine has been *meso*-inositol¹. The experiments presented here show tropolone to be even more effective. Though it is unknown whether seven-membered ring compounds occur in animal cells and whether the similarity in effect of tropolone and inositol is more than accidental, it is not unattractive to ascribe the action of colchicine in producing metaphase arrest to its functioning as an antimetabolite in a chain of reactions required for nuclear division.

This investigation was supported by research grants from the Damon Runyon Memorial Fund and from the National Cancer Institute, U. S. Public Health Service.

HELENA H. BENITEZ, MARGARET R. MURRAY, and E. CHARGAFF

Departments of Surgery, Anatomy, and Biochemistry, College of Physicians and Surgeons, Columbia University, New York 32, N. Y., June 30, 1953.

Résumé

Il a été démontré ici que la tropolone, analogue simple de la colchicine, est capable d'agir comme antagoniste puissant de celle-ci. Dans une culture de fibroblastes du rat soumise à l'action d'un mélange de ces deux agents, cette action—consistant dans la disparition soudaine de l'arrêt métaphasique produit par la colchicine—commence à se manifester après 16 h.

¹ M. R. MURRAY, H. H. DE LAM (BENITEZ), and E. CHARGAFF, *Exper. Cell. Res.* 2, 165 (1951).

Antagonistes de l'iodure de dècaméthonium à la jonction neuro-musculaire

La Prostigmine accentue l'inhibition de la transmission neuro-musculaire due à l'iodure de dècamétho-

nium et l'ésérine est inefficace, contrairement à ce qu'on observe pour le tubocurare. Les principaux antagonistes connus du composé dont la propriété est de dépolariser la membrane musculaire sont l'iodure de pentaméthonium¹ et le tubocurare. Dans ce dernier cas, l'antagonisme est réciproque².

Nous avons constaté que toute une série de substances appartenant à des séries chimiques diverses étaient capables, dans une mesure plus ou moins marquée, de réduire le bloc par dépolarisation provoqué par l'iodure de dècaméthonium. C'est le cas pour la Paludrine, le chlorhydrate de bis-(2 heptyl)amine (1637 L), le chlorhydrate d'une butylamine substituée (1745 L), la Stilbamidine, la Pentamidine, le 48-80 et le Tween 20.

Parmi ces composés, la Paludrine est elle-même un inhibiteur faiblement actif de la transmission neuro-musculaire³; son influence qui accuse un caractère cumulatif très marqué, est fortement accentuée tant par l'intervention préalable du tubocurare que par celle de l'iodure de dècaméthonium. Elle ajoute ses effets à ceux du premier et se montre antagoniste du deuxième quand elle est administrée (8 mg de base/kg) pendant que la transmission est entravée par le dépolarisant. Son action inhibitrice propre n'est pas modifiée par l'ésérine.

La bis-(2 heptyl)amine (1637 Labaz) qui a fait l'objet d'une étude pharmacologique de PHILIPPOT⁴ est antagoniste de l'iodure de dècaméthonium et elle réduit nettement la sensibilité du chat à ce composé. Elle additionne ses effets à ceux du tubocurare; quand l'animal a reçu une injection de ce dernier, elle se montre à son tour curarimimétique. Après action de la bis-(2 heptyl)amine, celle du dècaméthonium chez le chat est levée par l'ésérine et par l'adrénaline. Ce composé paraît donc intervenir au niveau des plaques motrices du chat pour empêcher le développement de la dépolarisation: chez le chat soumis à son influence, l'iodure de dècaméthonium devient compétitif comme le tubocurare.

Le 1745 Labaz, dont les propriétés hypotensives ont fait l'objet d'une étude préliminaire effectuée par CHARLIER⁵ possède une action tout à fait semblable (1 mg/kg); cependant, il exerce plus difficilement une influence inhibitrice par lui-même. Il n'empêche toutefois pas l'amyl-triméthylammonium, autre composé

¹ W. D. M. PATON et E. J. ZAIMIS, *Brit. J. Pharmacol.* 4, 381 (1949).

² M. J. DALLEMAGNE et E. PHILIPPOT, *Brit. J. Pharmacol.* 7, 601 (1952). — O. F. HUTTER et J. E. PASCOE, *Brit. J. Pharmacol.* 6, 691 (1951).

³ J. R. VANE, *Brit. J. Pharmacol.* 4, 14 (1949).

⁴ E. PHILIPPOT, *J. Pharm. Belge* 7, 202 (1952).

⁵ R. CHARLIER, *Arch. Int. Pharmacodyn.* (sous presse).

dépolarisant, de provoquer une contraction du muscle énérvé de chat¹ et il réduit nettement l'influence inhibitrice de ce dérivé de l'ammonium quaternaire sur la transmission neuro-musculaire normale de ce mammifère. Son intervention paraît donc s'exercer sur les plaques motrices et non sur le muscle.

Le Phénergan réduit, du moins partiellement, l'hypotension due à l'injection intraveineuse de 1 mg/kg de 1745 L; il ne modifie cependant pas l'action antagoniste du composé vis-à-vis de l'iodure de décaméthonium. Chez l'animal ayant reçu du 1745 L et accusant une hypotension très prolongée, le tubocurare n'est pas antagoniste du décaméthonium et les deux composés intervenant pour bloquer la transmission neuro-musculaire manifestent plutôt un synergisme. Ainsi, les plaques motrices du chat accusent, après l'action du 1745 L, les mêmes caractères pharmacologiques que celles du chien.

La Stilbamide (4:4' diamidinostilbène), la Pentamidine (4:4' diamidinodiphénolpentane), le 48-80 (produit de condensation d'alkoxyphénylalkylamine avec le formol²) et le Tween 20 (monolaurate de sorbitan combiné à 20 groupes d'oxyde d'éthylène) exercent une action moins intense que les composés précédents: quoiqu'ils accélèrent nettement la restauration de la transmission inhibée par l'iodure de décaméthonium, ils ne réduisent pas tous la sensibilité de l'animal aux substances dépolarisantes.

Nous avons été frappés par le fait que tous les composés qui viennent d'être mentionnés sont des libérateurs d'histamine (Paludrine³; Stilbamide, Pentamidine, Tween 20⁴; 48-80⁵) provoquant, pour la plupart, une hypotension prolongée qui est prévenue dans une plus ou moins grande mesure par l'administration préalable de substances antihistaminiques.

On ne peut s'empêcher de faire un rapprochement entre la propriété que possèdent ces substances de libérer de l'histamine et celle d'être antagoniste des substances inhibant la transmission neuro-musculaire du chat par un processus de dépolarisation; cette hypothèse est rendue plus objective encore quand on considère que, en dehors de l'intervention d'un antihistaminique, cet antagonisme ne se montre le plus souvent qu'à l'occasion de la première injection du produit qui s'accompagne de la chute de pression la plus importante. Généralement aussi, ces composés réduisent la sensibilité du chat à l'influence inhibitrice de l'iodure de décaméthonium tout en accentuant de façon importante les contractions fasciculaires (twitching) que manifeste le muscle.

Deux autres composés possédant apparemment la faculté de libérer l'histamine, la cystinamine⁶ (20 mg/kg) dont la synthèse a été réalisée par les Services de Recherches Labaz et l'apomorphine⁷ (5 mg/kg) n'exercent pas d'influence sur le bloc neuro-musculaire par dépolarisation.

Malgré les coïncidences de faits que nous avons notées, il ne nous paraît pas possible d'affirmer que le caractère de libérateur d'histamine est nécessairement lié à celui d'être antagoniste de l'iodure de décaméthonium; on ne peut exclure la possibilité d'un autre mode d'intervention de certaines des molécules étudiées, surtout les plus actives d'entre elles.

Plusieurs observations signalées dans cette note préliminaire feront l'objet de publications plus détaillées¹.

M. J. DALLEMAGNE et E. PHILIPPOT

Institut de Thérapeutique expérimentale de l'Université de Liège, le 17 juillet 1953.

Summary

The most interesting antagonists of decamethonium iodide known up to now are pentamethonium iodide and tubocurarine. In fact several other compounds principally Paludrine, bis-(2 heptyl)amine and a substituted butylamine are effective inhibitors of the depolarising quaternary ammonium salt in the cat. Stilbamide, Pentamidine, compound 48-80 and Tween 20 have the same property but are less active. All these compounds have the common property to be histamine liberators.

¹ La Direction Scientifique de la Société des Laboratoires Labaz nous a confié l'étude du 1637 L, du 1745 L et nous a procuré la cystinamine que nous avons utilisée. Nous devons au Dr PAUL de la Société Rhône-Poulenc la Stilbamide, la Pentamidine et le Phénergan. Le Dr E. DE BEER de la Wellcome Research Laboratories nous a aimablement transmis un échantillon de 48-80. La Paludrine nous a été offerte par les Laboratoires des Imperial Chemical Industries. Les Laboratoires Allen et Hanburys nous ont permis d'obtenir l'iodure de décaméthonium à l'état cristallin. Nous leur adressons à tous nos plus sincères remerciements.

Das Herzminutenvolumen von *Helix pomatia* L.

Zahlreiche Einzelheiten der Herztätigkeit von Schnecken sind bereits aufgeklärt (siehe v. SKRAMLIK¹), der eigentliche Beitrag des Herzens zum Kreislauf, die Förderleistung, ist wie bei allen Wirbellosen jedoch noch unbekannt. Frühere Untersucher (BIERING²) sind an der Schwierigkeit, den arteriellen Ausgang des Herzens mit einer geeigneten Apparatur zu verbinden, gescheitert. Dieses Hindernis kann, wie an anderer Stelle ausführlich dargelegt wird, durch geeignete Präparation überwunden werden. Es ist dann nicht weiter schwierig, auch in die Lungenvene eine Kanüle einzubinden und das im Perikard befindliche Herz mitsamt Lungenhöhlendach in ein künstliches Kreislaufsystem zu verbringen. In diesem können arterieller und venöser Druck voneinander unabhängig verändert werden. Die Herztätigkeit wird beobachtet, die Zeit für jeweils 10 Systolen mit der Stoppuhr bestimmt und gleichzeitig das ausgeworfene Volumen gemessen.

Zum unmittelbaren Verständnis der Herztätigkeit von *Helix* muss vorausgeschickt werden, dass sich das Herz-Perikard-System mit der Lungenvene im Lungenhöhlendach und damit praktisch ausserhalb des von der Körperwand der Schnecke gebildeten Drucksystems befinden. Daher kann das Herz nach Art einer hydraulischen Presse gegen den Körperinnendruck arbeiten und der Körperwand einen Teil ihrer Spannung verleihen. Die unmittelbar hinter dem Herzen gelegene Aortenklappe fängt während der Kammerdiastole den Körperinnendruck auf. Der Druck im Innern der anschliessenden Arterien unterscheidet sich kaum von jenem, da das Kreislaufsystem offen ist. Mit der nur geringfügigen physiologischen Belastung der Arterienwände hängt deren Zartheit und die Schwierigkeit ihrer Präparation

¹ E. PHILIPPOT et M. J. DALLEMAGNE, Arch. exp. Path. Pharm. 220, 100 (1953).

² R. BALTZLY, J. S. BUCK, E. J. DE BEER et F. J. WEBB, Amer. Chem. Soc. 71, 1301 (1949).

³ J. R. VANE, Brit. J. Pharmacol. 4, 14 (1949).

⁴ W. FELDBERG et W. D. M. PATON, J. Physiol. 114, 490 (1951). - F. C. MAC INTOSH et W. D. M. PATON, J. Physiol. 109, 190 (1949).

⁵ W. D. M. PATON, Brit. J. Pharmacol. 6, 499 (1951).

⁶ J. LECOMTE, Arch. intern. Physiol. 60, 179 (1952).

⁷ W. FELDBERG et W. D. M. PATON, J. Physiol. 114, 490 (1951).

¹ E. v. SKRAMLIK, Erg. Biol. 18, 88 (1941).

² P. BIERING, Z. vgl. Physiol. 10, 465 (1929).