

résulte donc de ces diverses expériences qu'il faut être extrêmement circonspect lorsqu'on veut extrapoler les résultats obtenus sur un animal ou un tissu à un autre animal ou un autre tissu.

Partie expérimentale

Nipple-test. Une goutte d'une solution d'hormoestrol à 2 γ /ml est appliquée sur une tétine (non pigmentée) d'un jeune cobaye mâle. Après 24 h on injecte (sous-cutané) la solution aqueuse du produit à examiner pour un effet stathmocinétique. 9 h après l'injection, la tétine est excisée et préparée pour l'examen histologique. On juge de l'effet du produit injecté d'après la densité des mitoses pycnotiques trouvées dans l'épiderme.

Toxicité. Les examens de toxicité sur le cobaye, comme pour la souris, ont été faits en injectant (sous-cutané) le produit en solution aqueuse. Ensuite les animaux ont été contrôlés pendant 5 jours.

Préparation du d-tartrate de désacétylcolchicine (triméthylcolchicinic acid methyl ether d-tartrate)

1° Colchicine $\rightarrow$ colchicine. 10 g de colchicine Sandoz et 200 cm³ HCl 0,2N sont chauffés à reflux au bain-marie pendant 1 h 20. Rendement 7,5 g en colchicine crist. brute.

2° Colchicine $\rightarrow$ désacétylcolchicine (selon ZEISEL¹). 7,5 g de colchicine + 28 cm³ HCl ($d = 1,15$) sont chauffés au bain-marie pendant 2 h 50. Dilution avec 15–20 cm³ d'eau (lavage) et extraction en trois fois avec 400 cm³ CHCl₃ (1,2 l en tout). Le CHCl₃ est chassé à la vapeur. La solution aqueuse résiduelle est concentrée sous vide (à moitié). On filtre 480 mg de colchicine non transformée. On neutralise avec NaOH diluée, filtre le précipité volumineux qui s'est formé; cristallise dans le méthanol. On obtient 3,42 g de cristaux, F 156–158°.

3° Désacétylcolchicine $\rightarrow$ désacétylcolchicine $\rightarrow$ d-tartrate de désacétylcolchicine. 3,4 g de désacétylcolchicine sont méthylés par action (à température ordinaire) de diazométhane en solution étherée (15 g nitrosométhylurée). Après 5 h, le produit étant dissous (à part 0,5 à 0,6 g d'huiles qui collent sur les parois du ballon) on chasse le diazométhane en excès ainsi que l'éther (les huiles sont décantées auparavant et éliminées). On obtient 2,7 g de base méthylée brute. Les 2,7 g de base brute sont dissous dans 3–4 cm³ d'éthanol et on ajoute 1,2 g d'acide d-tartrique (1 mol pour 1 mol) également dissous dans l'éthanol. On obtient un précipité collant, hygroscopique. On le reprend par 1/2 cm³ d'eau et ajoute 4 à 5 cm³ d'acétone. On chauffe légèrement et laisse se former un précipité finement cristallin, blanchâtre, F 200–210°, 340 mg. On reprend par l'acétone et lave à chaud; on retrouve 310 mg de cristaux. F 214–216°. Malgré une concentration et une attente prolongée aucun précipité ne peut plus être obtenu à partir des eaux-mères.

Réaction de ZEISEL sur les eaux-mères: négative avant hydrolyse, positive après action, à chaud, de HCl dil.

Les points de fusion sont pris au bloc et corrigés. Marge d'erreur jusqu'à 200° $\pm$ 2°, plus haut $\pm$ 3°C.

C₂₄H₂₈O₁₁N Calc C 56,91 % H 5,57 % N 2,77 %
trouvé C 56,82 % H 5,71 % N 2,79 %

Nous remercions le Dr PEISKER de Brugg qui a effectué l'analyse du produit.

Addendum. Dans des expériences précédentes (1951, *loc. cit.*) nous avons examiné l'effet d'un autre dérivé de la colchicine: la substance F de SANTAVY et REICHSTEIN (appelée maintenant Demecolcin, Ciba). Nous avons confirmé et élargi nos expériences avec ce produit. D'après SANTAVY, WINKLER et REICHSTEIN, *Helv. chim. Acta*, 36, 1320, 1953: «...ist bei diesem Stoff das Verhältnis zwischen antimittotischer und allgemein toxischer Dosis bei der Ratte relativ günstig, so dass er möglicherweise für eine klinische Verwendung Interesse besitzt.» Les résultats que nous avons obtenus avec cette substance examinée sur le cobaye (nipple-test) n'ont pas été meilleurs que ceux que nous avons enregistrés avec d'autres produits stathmocinétiques. En effet, la dose de 1 mg/kg provoque chez le cobaye une mortalité importante; 0,5 mg/kg a une action stathmocinétique très nette, tandis que 0,25 mg/kg n'a plus qu'un effet très faible, presque nul.

R. BRUN et J. PRESS

Clinique universitaire de dermatologie, Laboratoire Vifor et Institut universitaire d'histologie et d'embryologie, Genève, le 17 décembre 1953.

Summary

(1) Experiments made on the epidermis of the guinea pig's nipple ("nipple-test") have shown that desacetylcolchicine d-tartrate (trimethylcolchicinic acid methyl ether d-tartrate) does not give a better ratio

$$\frac{\text{maximum tolerated dose}}{\text{minimum effective dose}}$$

than colchicine, contrarily to the experiments with mice bearing Sarcoma 37 (LEITER *et al.*).

(2) The toxicity (mice) of desacetylcolchicine d-tartrate was greater in our experiments than in those of LEITER *et al.*

(3) The biological method and the chemical process are described.

Micro-Hardness Measurements on Single Haversian Systems in Bone

Earlier investigations with aid of microradiographic techniques¹ have demonstrated that the amount of the inorganic component of bone varies in different types and structures of bone tissue.

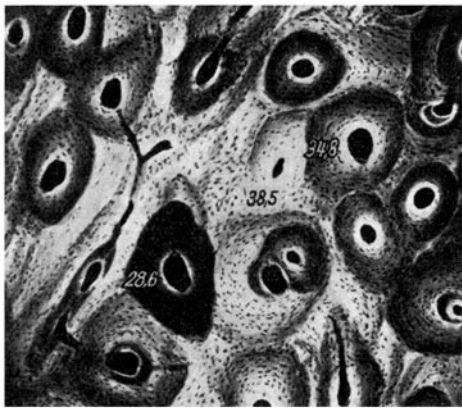
A microradiogram registered with "soft" X-rays of a 230 μ thick ground cross-section of human femur shows the varying degree of mineralization of different Haversian systems. In the enlarged microradiogram the white areas have a larger amount of calcium salts than the darker ones (see Fig.).

On the section microradiographed, three groups of Haversian systems were tested with a metallographic micro-hardness testing equipment. The groups correspond to structures with low, medium, and high content of bone salts. (The difference in mineralization between "low" and "high" is not more than about 10%.) The size of the impression from the pyramidal diamond in the bone were measured in a metallographic microscope. The average area of the impression was about 0.005 mm², and the hardness was calculated according to VICKERS' hardness scale (kg/mm²). As the bone is

¹ S. ZEISEL, *Mh. Chem.* 9, 10 (1888).

¹ R. AMPRINO and A. ENGSTRÖM, *Acta Anatomica* 15, 1 (1952).

somewhat elastic, it is not an ideal substance for hardness testing, and the values given in the Table are therefore not absolute. From the form of the impressions it



Detail of a microradiogram ($\times 115$) of a thin cross-section from human femur registered with "soft" X-rays. The numbers indicate the hardness of three Haversian systems with different degree of mineralization.

could be seen that the less mineralized Haversian systems are more elastic than areas with higher mineralization. This circumstance accentuates the differences in hardness given below.

Degree of mineralization		
Low	Medium	High
30.3	33.8	37.8
28.7	34.3	37.3
31.3	35.7	36.6
27.0	34.8	41.3
31.8		38.5
28.7		
28.6		
Average: 29.5 kg/mm ²	34.7 kg/mm ²	38.3 kg/mm ²

In this communication, only a few micro-hardness measurements are given, but it is quite clear that there is a close relationship between the degree of mineralization and the hardness of different structures of bone.

I wish to thank Prof. E. RUDBERG and Mr. S. MODIN, The Metallographic Institute, Stockholm, for the permission to use their micro-hardness testing equipment and also for valuable discussions.

D. CARLSTRÖM

Department for Physical Cell Research, Karolinska Institutet Stockholm, January 6, 1954.

Zusammenfassung

Mit Hilfe von weichen Röntgenstrahlen wurde die Mineralsalzverteilung über den Querschnitt des menschlichen Femur registriert. Mittels eines Mikroharteprüfers wurden die Orte hohen, mittleren und niedrigen Mineralsalzgehaltes geprüft. Es ergab sich eine gute Übereinstimmung zwischen dem Grad der Mineralisierung und der Härte des Knochens.

Mikroskopische Studien *in vivo* zur Zytologie der Hefezelle

Im Gegensatz zu der erstaunlich weitgehend geklärten Enzymatik der Hefe herrschen im Bereich der Hefezytologie zum Teil sehr unklare Vorstellungen. Einer der Hauptgründe hierfür liegt darin, dass es mit den üblichen Kernfarbstoffen nicht gelingt, einen charakteristischen Kern in verschiedenen Phasen – vergleichbar demjenigen höherer Zellen – nachzuweisen. Mit ihnen färben sich sehr differente basophile Teile der Hefezelle an. Bei Anwendung der Feulgenschen Nuklealreaktion lässt sich nur ein mehr oder minder gekrümmtes, stäbchenförmig erscheinendes Gebilde als desoxyribonukleinsäurehaltiges Euchromatin ansprechen. In Abkehr von der bisher bei zytologischen Untersuchungen allgemein angewandten Fixierung und den dadurch bedingten Artefakten wurden eigene Beobachtungen *in vivo* mit Hilfe des Phasenkontrastverfahrens und nach Fluorochromierung *in vivo* mit Hilfe des Fluoreszenzmikroskops angestellt. Dabei zeigte sich folgendes:

Ergebnisse

1. *Phasenmikroskopische Untersuchung.* Das phasenoptisch erhaltene Bild zeigt inmitten der Hefezelle eine hell erscheinende, auffallend grosse, oft etwas exzentrisch gelegene Vakuole, der ein dunkler Körper aufgelagert ist. Dieser, ein dunkles (bläschenförmiges?) Gebilde, verhält sich phasenoptisch vergleichbar dem Interphasenkern höherer Zellen. In dem Zytoplasma lassen sich oft bis zu 15 dunkle (bei extrafokaler Einstellung allerdings hell erscheinende) Grana nachweisen (Abb. 1).

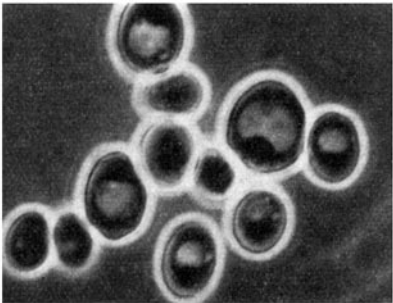


Abb. 1. *Saccharomyces cerevisiae*, Phasenkontrast 1600:1.

2. *Fluoreszenzmikroskopische Untersuchung.* Bei diesen Untersuchungen konnte zunächst von den Erfahrungen STRUGGERS¹ ausgegangen werden, die dieser im Zusammenhang mit der Akridinorange-Fluorochromierung an Hefezellen gewonnen hat. Bei der Anwendung des gleichen Verfahrens konnten seine Ergebnisse vollauf bestätigt werden. Die Vakuole erscheint hier als dunkler Hohlraum (Abb. 2). Ihr lagert ein grün fluoreszierender sphärischer Körper auf, der dem phasenoptisch in positivem Kontrast darstellbaren entspricht. Jedoch erreicht seine Fluoreszenzintensität die der Interphasenkerne höherer Zellen nicht. Fast regelmässig erkennt man – in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Feulgen-Färbung – an der Wandseite dieses relativ chromatinarmen (bläschenförmigen?) Körpers ein mehr oder minder gekrümmtes, in der Projektion meist sichelförmig erscheinendes Gebilde, welches intensiver

¹ S. STRUGGER, *Flora* 137, 73 (1943).