

We wish to thank the members of the micro-analytical staff; especially Mrs. VIOLET LOIRE for determining the infrared spectra.

E. SCHLITTLER, P. R. ULSHAFER,
MARY L. PANDOW, REGINA M. HUNT,
and L. DORFMAN

Research Department, Ciba Pharmaceutical Products,
Inc., Summit, New Jersey, October 12, 1954.

Zusammenfassung

Aus *Rauwolfia canescens* wurde Deserpidin, $C_{32}H_{38}O_8N_2$, isoliert und eine Konstitutionsformel für dieses neue Alkaloid vorgeschlagen.

Zur Frage der thermoelastischen Eigenschaften des Nerven

Während über die Thermoelastizität des Skelettmuskels und anderer Strukturen genaueste Messungen vorliegen¹, ist das entsprechende Verhalten des Nerven bisher niemals Gegenstand einer methodisch zufriedenstellenden Untersuchung gewesen. Zu unsrern diesbezüglichen Versuchen wurde ein optisches Lineardilatometer nach WÖHLISCH² benutzt, welches Interferenzfehler der Apparatur ausschliesst und starke Vergrösserungen ermöglicht (Spiegelablesung mittels Fernrohrs). Die lebensfrisch entnommenen Nerven wurden unter geringer Spannung im Dilatometer befestigt (prozentuale Dehnung < 5%) und nach Abklingen der auftretenden elastischen Nachwirkungen auf ihr thermoelastisches Verhalten geprüft. Der Gesamtnerv zeigt im Temperaturbereich oberhalb 10°C in allen Fällen einen positiven linearen Ausdehnungskoeffizienten (l.th.A.K.), dessen ungefährer Wert $\alpha = 10^{-4}$ bis 10^{-5} (pro °C) beträgt. Bei Ausschaltung der thermischen Nachwirkung durch längere Pausen zwischen den Temperaturänderungen (20–30 min) erweist sich diese Längenzunahme des Nerven bei Erwärmung von 17° bis 32°C als voll reversibel (Abb. 1, offene Kreise). Dagegen ist die Reversion unvollkommen, wenn der Nerv stark erwärmt wird oder wenn die Pausen zwischen den Messungen auf 5 min verkürzt werden (Abb. 1, gefüllte Kreise). Für den Froschnerven zeigen sich zwischen 17° und 44°C regelmässig zwei verschiedene l.th.A.K.: ein geringer bei Temperaturen unterhalb 33°C und ein grösserer oberhalb dieses Wertes (Abb. 1, gefüllte Kreise). Wie beim Froschnerven, wird auch beim Warmblüternerven die Reversion der thermischen Längenänderung verzögert bzw. verhindert, wenn die Erwärmung eine bestimmte Temperatur überschreitet. So zeigt der Nerv nach längerer Erwärmung auf 61°C bei Abkühlung trotz längeren Pausen zwischen den Messungen keine Neigung zur Wiederverkürzung (s. Abb. 2, gefüllte Kreise), während im anderen Falle bei einer Maximaltemperatur von 38°C eine deutliche Tendenz zur Verkürzung besteht (Abb. 2, offene Kreise).

Man muss sich fragen, ob bei dem Gehalt des Nerven an Bindegewebelementen dieser positive l.th.A.K. als eine Eigenschaft der Faserstruktur anzusehen ist. In den Versuchen am Muskel war diese Frage leicht zu entscheiden, da der dort gefundene negative l.th.A.K. nicht durch das Bindegewebe hervorgerufen sein kann, welches einen positiven l.th.A.K. zeigt¹. In der Tat zeigen in unseren Versuchen Präparate mit intaktem Epi- und

Perineurium die höchsten Werte für den l.th.A.K. ($\alpha = 1,6 \times 10^{-4}$, Abb. 2, offene Kreise), während wir den geringsten Wert immer dann finden, wenn beide Bindegewebsscheiden vorher präparatorisch entfernt sind ($\alpha = + 1,0 \times 10^{-5}$, Abb. 2, gefüllte Kreise). Mittlere

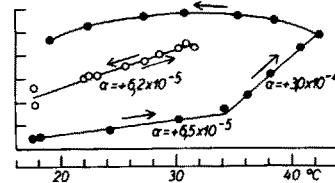


Abb. 1. Thermische Längenänderung zweier Froschnerven (N. glossopharyngeus = offene Kreise, N. ischiadicus = gefüllte Kreise). Veränderung der Nerventemperaturen in Pfeilrichtung. Vergrösserung 427. Ordinate: Längenänderung, nicht maßstäblich.

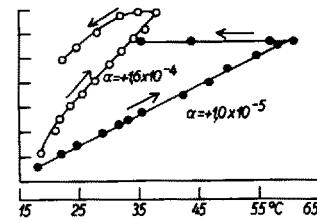


Abb. 2. Wie in Abbildung 1, doch für Warmblüternerven (Katze, N. gastrocnemius). Offene Kreise: Nerv mit Epi- und Perineurium; gefüllte Kreise: Präparation mit nur wenigen Fasern ohne Epi- und Perineurium.

Werte ergeben sich, wenn nur das Epineurium entfernt ist, während das Perineurium intakt bleibt ($\alpha = + 6,2 - 6,5 \times 10^{-5}$, Abb. 1). Zusätzlich auch grösserer Mengen der Bindegewebe abbauenden Hyaluronidase setzt den schwach positiven l.th.A.K. von Nervenfaserbündeln nach präparatorisch entfernten Epi- und Perineurium nicht weiter herab, so dass dieser als Eigenschaft der Nervenfaser und nicht des longitudinal angeordneten äusseren Endoneuriums¹ angesprochen werden muss.

E. DODT

Physiologisches Institut der Universität Bern, den 1. Oktober 1954.

Summary

The thermo-elastic properties of nerve have been studied by measurements of the change in length caused by changes in temperature. The thermal coefficient (per °C) of linear expansion, always positive in sign, is of the order of 10^{-4} for intact nerve and 10^{-5} for dissected nerve.

¹ K. KRNIĆ, Quart. J. exptl. Physiol. 39, 55 (1954).

On the Incorporation of Radiosulfate in the Cartilage

DZIEWIATKOWSKI *et al.*¹ showed that radioactive sulfur administered intraperitoneally to 7 days old rats, becomes fixed in a high proportion in the hyaline cartilage

¹ E. WÖHLISCH und G. CLAMANN, Z. Biol. 91, 399 (1931).

² E. WÖHLISCH, Z. Biol. 91, 137 (1931).

¹ D. D. DZIEWIATKOWSKI, R. E. BENESCH, and R. BENESCH, J. biol. Chem. 178, 931 (1949).

of the skeletal anlagen. DZIEWIATKOWSKI¹ and later BOSTRÖM² gave the further proof that the radiosulfate is incorporated in the chondroitinsulfuric acid; uptake of radiosulfate was also demonstrated in a mucopolysaccharide fraction isolated from rats skin³. Besides, BOSTRÖM and MÅNSSON⁴ have shown that the radioactive sulfur is taken up by slices of hyaline cartilage (e.g., fresh rib cartilage of adult calves, cats and guinea pigs) suspended in Krebs solution and that it is introduced into the chondroitinsulfuric acid during its synthesis: the possibility that in the absence of an enzyme system an exchange reaction of the sulfate group might occur, was disposed of. According to BOSTRÖM and MÅNSSON⁵, exchange does not take place even in solutions of pure chondroitinsulfuric acid alone.

The data presented here offer evidence that also in the living animal the fixation of radiosulfur to cartilage depends upon processes of synthesis and that a simple exchange of radiosulfate with the sulfate group of the chondroitinsulfuric acid does not occur to any autoradiographically detectable extent.

The following results are part of an autoradiographic study on the distribution of radiosulfur in the differentiation and growth of cartilage in chicken embryos. The technique of the experiments and a summary of the main results have been presented elsewhere⁶; here we only want to stress the fact that in given regions of the cartilage in which large amounts of chondroitinsulfuric acid are available for sulfate exchange but no actual increment of the matrix occurs, no fixation of radiosulfur takes place.

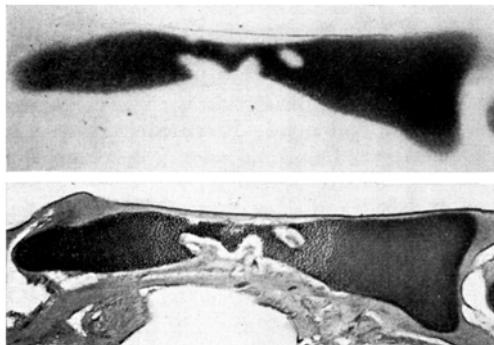


Fig. 1.-14 days chick embryo, 10 days after radiosulfate treatment; second phalanx of the 2nd digit of the foot. 21 ×.

By treating chicken embryos of various ages with small amounts of S³⁵-labeled sodium sulfate (e.g., 5 to 10 μ C), different results are obtained according to whether the embryos are fixed from 2 to 10 h or from 5 to 10 days after the treatment. In short term experiments, only the matrix which formed or underwent increment during the period of treatment, shows a varying degree of radioactivity. In long term experiments, especially if the treatment with radiosulfate is started before the beginning of chondrification of the cartilaginous anlagen (viz., in the 4th or 5th day of incubation), the whole cartilage of the skeletal pieces appears radioactive (Fig. 1); however, differences in the degree of radio-

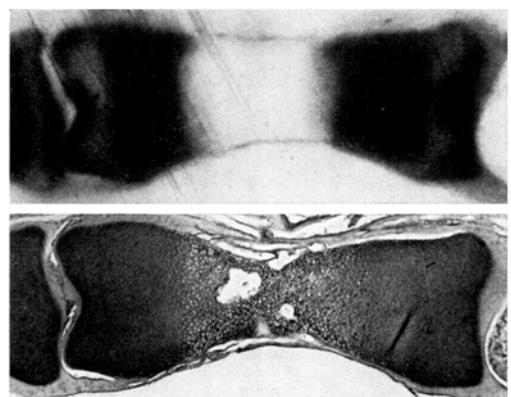


Fig. 2.-14 days chick embryo, 10 h after S³⁵ treatment; first phalanx of the 3rd digit of the foot. 25 ×.

activity are apparent between different cartilaginous segments or from region to region of the same skeletal element, according to the degree of their histological differentiation. In other words, while the short term experiments indicate the site and the amount of the chondroitinsulfuric acid which was synthesized during the few hours of treatment, the long experiments give, so to speak, the result of the algebraic sum of successive variations of the synthesis in the same site during a long period of time.

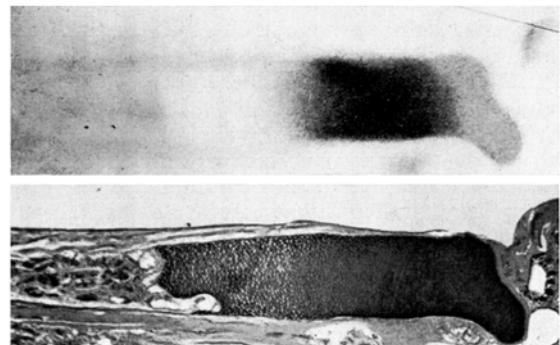


Fig. 3.-14 days chick embryo, 2-30 h after S³⁵ treatment; second metatarsal. 21 ×.

In the cartilaginous anlage of bones, the synthesis of chondroitinsulfuric acid, as revealed by radiosulfur uptake, undergoes with time remarkable quantitative variations parallel to changes of the amount and of the basophilia of the matrix (AMPRINO, I.c.). Just before the perichondral bone ring is laid down, the radioactivity of the middle third of the diaphyseal cartilage falls quite rapidly in comparison with that of other regions of the same anlage; and it becomes practically zero when the inner resorption of cartilage starts (short term experiments). From this moment up to the complete destruction of the diaphyseal cartilage, no uptake of radiosulfate was ever detected in the cartilage of the middle third of the diaphysis in 12 to 20 days embryos fixed from 2 to 12 h after treatment with labelled sulfate; at the same time the radiosulfate uptake is extremely high in the parts of the cartilaginous diaphysis next to the metaphyseal regions and in the metaphyseal cartilage proper (Fig. 2 and 3). On the other hand, it should be recalled that, in birds' osteogenesis, the diaphyseal

¹ D. D. DZIEWIATKOWSKI, J. biol. Chem. 189, 187 (1951).

² H. BOSTRÖM, J. biol. Chem. 196, 477 (1952).

³ H. BOSTRÖM and S. GARDELL, Acta Chem. Scand. 7, 216 (1953).

⁴ H. BOSTRÖM and B. MÅNSSON, J. biol. Chem. 196, 483 (1952).

⁵ R. AMPRINO, C. r. Ass. Anat., 41^e Réun., Genova 1954 (in press); Atti Acc. naz. Lincei, S. VIII, V. 16, 781 (1954).

cartilage does not undergo calcification before it is gradually absorbed; this cartilage maintains throughout its structural characteristics with large cells and intensely basophytic and metachromatic matrix.

It therefore seems reasonable to conclude: (a) that synthesis of chondroitinsulfuric acid no longer occurs in this region, and (b) that the sulfate group of the previously formed chondroitinsulfuric acid does not exchange with the radiosulfate of the blood and of the interstitial fluid.

R. AMPRINO

Institute of Human Anatomy, University of Turin, August 31, 1954.

Riassunto

Con metodo autoradiografico di contrasto dopo trattamento di embrioni di pollo con radiosolfato, si è visto che durante un periodo relativamente lungo dello sviluppo degli abbozzi delle ossa lunghe non si produce sintesi di solfato di condroitina nella cartilagine della regione diafisaria. In tale segmento di cartilagine non si manifesta neppure scambio ionico fra il solfato dell'abbondante acido condroitinsolforico della sostanza fondamentale ed il radiosolfato presente nel sangue e nella linfa interstiziale del connettivo.

Vergleichende Untersuchungen über die hypertensive Wirkung von Aldosteron und Desoxycorticosteron

Von den bis heute bekannten Hormonen der Nebennierenrinde besitzt Aldosteron die stärkste Wirkung auf die Natrium- und Chlorausscheidung. Sowohl im akuten Versuch an der Ratte¹ als auch im Lebenserhaltungsversuch am nebennierenlosen Hund² ist es in dieser Hinsicht etwa 25mal wirksamer als Desoxycorticosteron, und bei Patienten mit Nebennierenrindeninsuffizienz liess sich eine ähnliche Wirkungsrelation zwischen den beiden Steroiden feststellen³. Aldosteron unterscheidet sich aber auch qualitativ von Desoxycorticosteron, das an der nebennierenlosen Ratte relativ stärker wasserretinierend wirkt¹ und bei Überdosierung im akuten Versuch am nebennierenlosen Hund zu deutlicher Wasser- und Kochsalzretention führt².

Für die Charakterisierung der Wirkungsqualitäten von Aldosteron sind aber neben den im akuten oder kurzdauernden Versuch erhobenen Befunden die bei chronischer Anwendung relativ hoher Dosen auftretenden Symptome von besonderer Wichtigkeit. Desoxycorticosteron führt bei chronischer Überdosierung und gleichzeitiger Gabe von Kochsalz an der durch Nebennierenextirpation und einseitige Nephrektomie «sensibilisierten» Ratte zu den bekannten Nebenwirkungen in Form von Wasser- und Kochsalzretention, Hochdruck, perivaskulären Infiltraten und Nierenschädigungen⁴. Es war daher abzuklären, ob Aldosteron bei gleicher Versuchsanordnung in Dosen, die im Hinblick auf die Natrium- und Chlorretention als analog zu beurteilen sind, ähnliche Veränderungen hervorruft.

¹ P. DESAULLES, J. TRIPOD und W. SCHULER, Schweiz. med. Wschr. 83, 1088 (1953).

² F. GROSS und H. GYSEL, Acta Endocrinolog. 15, 199 (1954).

³ R. S. MACH, J. FABRE, A. DUCKERT, R. BORTH und P. DUQUESNE, Schweiz. med. Wschr. 84, 407 (1954). — F. T. G. PRUNTY, R. R. McSweeney, H. MILLS und M. A. SMITH, Lancet 267, 620 (1954).

⁴ H. SELVE, J. Clin. Endocrin. 6, 117 (1946); Brit. Med. J. 203, 1950/51.

Methode. Männliche weisse Ratten im Gewicht von 140 bis 150 g wurden doppelseitig adrenalektomiert und einseitig nephrektomiert. Vom Tage der Operation an erhielt eine Gruppe von 6 Tieren täglich je 0,04 mg Aldosteron in 0,4 ml Sesamöl, eine Gruppe von 12 Tieren täglich je 1 mg Desoxycorticosteronacetat in 0,5 ml Sesamöl. Die Nahrung bestand aus Trockenfutter (Wayne Lab-Blox «R», Allied Mills, Inc., Chicago) *ad libitum* sowie 1% Kochsalzlösung. Die Menge der getrunkenen Flüssigkeit wurde täglich bestimmt. Das Verhältnis der Dosen von Aldosteron und Desoxycorticosteron wurde auf Grund der Natrium retinierenden Wirkung der beiden Substanzen gewählt, unter der Annahme, dass Aldosteron in dieser Hinsicht 25mal stärker wirkt als Desoxycorticosteronacetat.

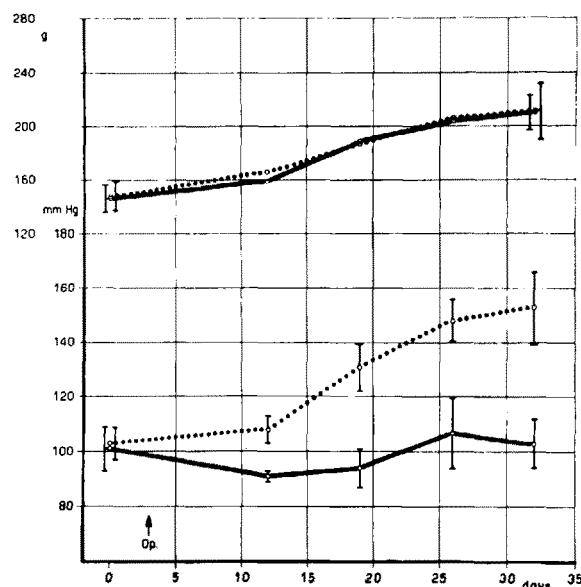


Abb. 1. Verhalten von Blutdruck (untere Kurven) und Körpergewicht (obere Kurven) unter täglicher subkutaner Injektion von 0,04 mg Aldosteron (ausgezogene Linie) und 1 mg Desoxycorticosteronacetat (unterbrochene Linie). — Op.: Doppelseitige Adrenalectomie und einseitige Nephrektomie.

Nach der Operation wurden einmal wöchentlich Blutdruck und Gewicht bestimmt. Die Blutdruckmessung erfolgte mit der von WILLIAMS *et al.*¹ angegebenen plethysmographischen Methode in leichter Äthernarkose. Für Blutdruck und Gewicht wurden Mittelwerte und Streuung in den beiden Versuchsgruppen berechnet.

Da nur geringe Mengen von Aldosteron zur Verfügung standen, musste der Versuch nach 29 Tagen abgebrochen werden. Die Tiere wurden mit Äther getötet und Herz, Aorta, Lunge, Leber, Niere, Pankreas, Schilddrüse und Hypophyse histologisch untersucht.

Ergebnisse. Während die mit Desoxycorticosteron behandelten Tiere einen langsam ansteigenden Blutdruck aufweisen, der vom 15. Versuchstag an signifikant ist, bleibt der Blutdruck der mit Aldosteron behandelten Tiere während der gesamten Versuchsdauer praktisch unverändert (Abb. 1). Bis zum Versuchsende steigt der Blutdruck-Mittelwert der mit Desoxycorticosteron behandelten Gruppe auf 155 mmHg an, während derjenige der mit Aldosteron behandelten Gruppe bei 105 mmHg liegt. Das Durchschnittsgewicht beträgt zu Beginn des Versuches 150 g und nach 4 Wochen 210 g, wobei die

¹ J. R. WILLIAMS, A. GROLLMANN und T. R. HARRISON, J. clin. Invest. 18, 373 (1939).