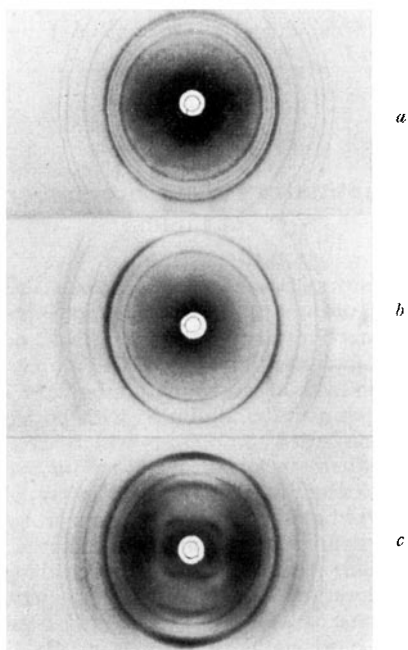


tite inside the collagen is obtained. It may be mentioned that the fibre was kept in the supernatant solution over the solid calcium phosphate and that the specimen was unchanged on washing with distilled water. The X-ray diffraction pattern of a typical specimen, together with the pattern given by a bone specimen, are shown in the Figure (a) and (b). The resemblance between the two is striking but for the greater sharpness of the lines observed in the synthetic specimen, showing that the particle size of the hydroxyapatite crystals is much larger.



HENDRICKS² has suggested that, in bone, carbonate and citrate ions occur essentially on the surface of the hydroxyapatite crystals and that their occurrence limits the particle size. Consequently experiments were made by (a) passing carbon dioxide continuously through the suspension of calcium phosphate and (b) adding citric acid to it. The former had practically no effect on the particle size, while the latter definitely decreased the particle size at very low concentrations. The optimum condition was obtained by adding 0.02 mg/ml of citric acid with the pH of the solution adjusted to 7.6 by addition of 10% ammonium hydroxide. The X-ray diffraction pattern of a specimen obtained with this solution is shown in the Figure (c) and the very close correspondence to the bone pattern is noteworthy. Thus the synthetic formation of a material very similar to bone from collagen appears to have been achieved.

A number of other observations have also been made, such as the inhibiting effect of certain ions and the relative deposition of calcium phosphate and other salts when both are present. These details will be published elsewhere in due course. This appears to be the first time that the deposition of hydroxyapatite on collagen fibres as such has been obtained. Previous studies on the

calcification of cartilage have invariably been made only with collagenous tissue.

G. N. RAMACHANDRAN and M. S. SANTHANAM

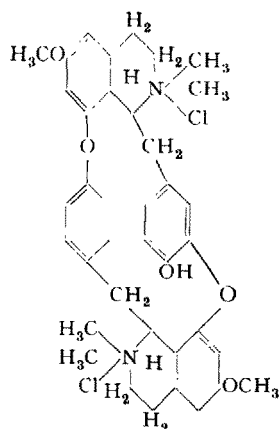
Department of Physics, University of Madras, India,
June 1, 1956.

Zusammenfassung

In Collagenfasern kann durch Aufbewahren in einer wässrigen Suspension von gefällttem Kalziumphosphat eine Ablagerung von Hydroxyapatit erhalten werden. Der Niederschlag lässt sich durch Waschen mit Wasser nicht entfernen. Das Röntgenbild der Abscheidung gleicht weitgehend demjenigen des anorganischen Bestandteils der Knochen. Nach Zufügung einer Spur Zitronensäure ist auch die Teilchengröße von derselben Ordnung wie im Knochen.

Wirkung von δ -Tubocurarinchlorid auf den O_2 -Verbrauch der Eier von *Psammecinus microtuberculatus*

Es wurde der Einfluss von δ -Tubocurarinchlorid (dTC)¹ auf den Stoffwechsel von Seeigeleiern studiert.



δ -Tubocurarinchlorid

Die Untersuchungen wurden im Mai 1956 in Neapel an befruchteten und unbefruchteten Eiern von *Psammecinus microtuberculatus* durchgeführt. Anwendung fand die direkte Messmethode nach Warburg mit CO_2 -Absorption durch 12prozentige KOH: im Atmungsraum 3 cm³ 5% Eisuspension in Golfwasser, Versuchstemperatur 21°, Schüttelgeschwindigkeit 90 Einzelschläge min⁻¹, Exkursion 5 cm, Gasphase Luft, Bestimmung der Stoffwechselgrößen über 2–3 h in 20-Minuten-Abständen nach Umrechnung auf Grundbedingung mit der Warburgschen Formel für die Gefässkonstante und graphische Darstellung der Q_{O_2} -Einzelwerte in einem Koordinatensystem nach der Zeit.

Die Untersuchungen haben ergeben, dass dTC in Konzentrationen über 1,2 mg% den O_2 -Verbrauch von Seeigeleiern signifikant senkt. Dieser Effekt lässt sich sowohl an befruchteten als auch an unbefruchteten

² S. B. HENDRICKS and W. L. HILL, *Metabolic Interrelations*, Transactions of the Third Conference of Macy Foundation (New York 1951), p. 173.

¹ H. KING and K. FOLKERS, *Science* 97, 467 (1943).

Eiern nachweisen. An befruchteten Eiern ist das Ausmass der Abnahme des O_2 -Verbrauchs grösser. dTC besitzt demnach neben seiner bekannten elektiven Wirkung auf die Endplatten der motorischen Nerven² auch

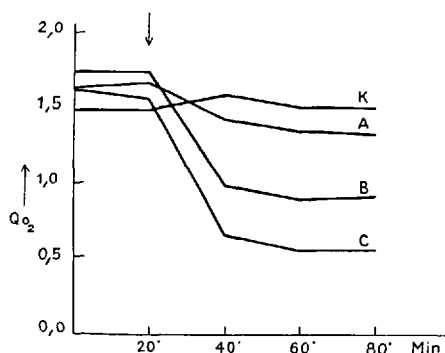


Abb. 1. O_2 -Verbrauch der unbefruchteten Eier von *Psammechinus microtuberculatus* nach der Einwirkung von dTC. K Kontrolle; A 1,2 mg% dTC; B 5 mg% dTC; C 7,5 mg% dTC. Versuch bei 21°; Einkippen der Pharmakalösung bei ↓.

eine direkte Wirkung auf die Einzelzelle. Prostigmin bzw. Mestinin, welche die Curarewirkung an der motorischen Endplatte bekanntlich aufheben³, vermögen die durch dTC hervorgerufene Senkung des O_2 -Verbrauchs nicht zu antagonisieren.

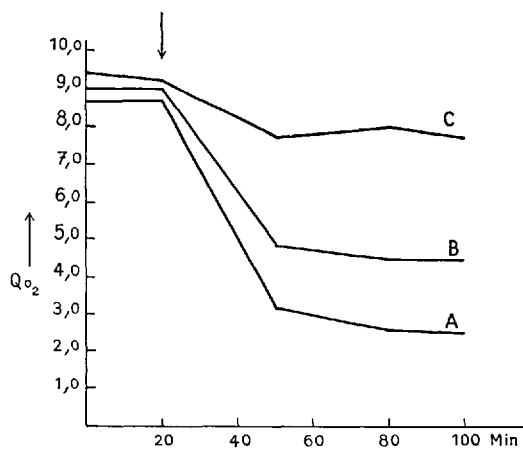


Abb. 2. O_2 -Verbrauch der befruchteten Eier von *Psammechinus microtuberculatus* nach dTC. A 7,5 mg%; B 5 mg%; C 1 mg%. Versuch bei 21°.

Vitalfärberversuche mit Neutralrot deuten darauf hin, dass die durch dTC hervorgerufene Senkung des O_2 -Verbrauches durch eine Verminderung der Grenzflächen-durchlässigkeit hervorgerufen wird. Ausführliche Darstellung und Diskussion der Ergebnisse an anderer Stelle⁴.

² CL. BERNARD und T.-J. PELOUZE, C. r. Acad. Sci. 31, 533 (1850). – A. KÖLLIKER, C. r. Acad. Sci. 43, 824 (1856). – G. COPPÉE, Arch. int. Physiol. 53, 327 (1943).

³ R. BOEHM, *Heffters Handbuch* II/1, S. 183. – A. R. MCINTIRE, *Curare* (The University of Chicago Press, Chicago-Illinois 1947). – H. HOFMANN, *Pharmazie* 1948, 485.

⁴ H. HOFMANN und E. HOFMANN, *Wiss. Z. Friedr.-Schiller-Univ. Jena*, Juni 1956 (im Druck).

δ -Tubocurarinchlorid wurde uns freundlicherweise von der Firma Chemische Fabrik Asta (Brackwede), Prostigmin und Mestinin von der Firma Hoffmann La-Roche (Grenzach) zur Verfügung gestellt.

H. und E. HOFMANN

Institut für Pharmakologie der Friedrich-Schiller-Universität Jena und Zoologische Station Neapel, den 1. Juni 1956.

Summary

δ -Tubocurarinchloride is shown to inhibit the respiration of sea-urchin eggs *in vitro* in concentrations up to 1.2 mg%. This effect is not inhibited by Prostigmin or Mestinin.

Quantitative Paper Chromatography of Lipids¹

Paper chromatographic separations of lipids have been carried out mostly by using reversed phase methods with hydrocarbons as the stationary and polar solvents (methanol, acetic acid, water) as the mobile phase². The commonly used indicators for staining have been Rhodamin B, copper acetate combined with potassium ferrous cyanide³, or similar compounds which are restricted essentially to the detection of lipids having a free carboxyl group. Indicator methods independent of functional groups have been devised for unsaturated esters by chromatographing their mercuric acetate complexes⁴ and detecting them with diphenylcarbazone which forms a colored spot with the mercury compound. All lipids chromatographed on glass fiber paper can be located by charring with sulfuric acid⁵. Use of paper chromatography for the quantitative determination of lipids has been reported only for one of these methods⁶ and has been limited to the determination of acids.

Recently MANGOLD, LAMP and SCHLENK⁷ have described the chromatography of lipids on siliconized paper as the stationary phase with aqueous acetic acid as the mobile phase. This system separates lipids consisting essentially of one long-chain moiety (acids, esters, aldehydes, alcohols, monoglycerides) while a chloroform-methanol mixture can be used to separate the triglycerides. Two indicators cover the whole variety of compounds, regardless of their functional groups. Iodine vapors react with any lipid having double bonds to yield yellowish-brown spots on a light background. Saturated lipids can be detected by means of α -cyclo-dextrin (cyclohexaamylose) and subsequent iodine treat-

¹ This work has been supported by a research grant from the National Institutes of Health (P. H. S. 4226) and by the Hormel Foundation. Hormel Institute publication No. 143.

² J. BOLDINGH, *Exper.* 4, 270 (1948). – J. INOUE and M. NODA, *J. agric. chem. Soc. Japan* 26, 634 (1952).

³ H. P. KAUFMANN and W. H. NITSCH, *Fette, Seifen, Anstrichmittel* 56, 154 (1954).

⁴ I. INOUE, M. NODA, and O. HIRAYAMA, *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 32, 132 (1955).

⁵ J. W. DIECKERT and R. REISER, *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 33, 123 (1956).

⁶ H. WAGNER, L. ABISCH, and K. BERNHARD, *Helv. chim. Acta* 38, 1536 (1955).

⁷ H. K. MANGOLD, B. G. LAMP, and H. SCHLENK, *J. Amer. chem. Soc.* 77, 6070 (1955).