

Comparing this test to others recently suggested, some advantages of the present method seem to be apparent. PHINNEY *et al.*³ suggested maize dwarf mutants as test plants; the tested material is to be applied by means of drops on intact leaves and results 'read' after several days. With this method, as well as with the cucumber leaf and the dwarf pea seedlings methods⁴, the paper strips, representing different *R_f* values, after chromatographic separation, cannot be tested directly but must be eluted and reconcentrated before application. The wheat leaf sections test of RADLEY⁵ can be used directly with filter paper strips but only qualitative values are obtained. Since the cucumber tendril test has a simple procedure, gives fair quantitative estimates of GA and can be combined directly with paper chromatographic separation of plant extracts, its further use is being advocated.

The author is indebted to Miss R. SMILANSKI-DROR for her skillful technical help. The GA sample was donated by Dr. P. W. BRIAN of the Imperial Chemical Industries, England.

E. GALUN

Plant Genetics Section, Weizmann Institute of Science, Rehovoth (Israel), December 29, 1958.

Résumé

On peut se servir de tronçons de vrilles de concombre en voie de développement *in vitro*, pour déterminer d'après leurs réactions la présence d'acide gibberellique (GA). L'avantage de cette méthode réside dans le fait qu'on peut l'employer en la combinant avec la chromatographie sur papier et ainsi évaluer le GA dans l'extrait des plantes.

³ B. O. PHINNEY, Proc. nat. Acad. Sci. **42**, 185 (1956). - B. O. PHINNEY, C. A. West, M. RITZEL, and P. M. NEELY, Proc. nat. Acad. Sci. **43**, 398 (1957).

⁴ F. J. KRIBBEN, Naturwissenschaften **44**, 429 (1957). - A. J. McCOMB and D. J. CARR, Nature **181**, 1548 (1958).

⁵ M. RADLEY, Ann. Bot. **22**, 297 (1958).

Vobasin und Voacryptin, zwei neue Alkaloide aus *Voacanga africana* Stapf

Kürzlich isolierte RAO¹ aus der Apocynaceae *Voacanga africana* Stapf die Alkaloide Voacafrin und Voacaficin, die mit einer spektralen Absorption bei 240 und 315 m μ gegenüber den bis jetzt bekannten Voacanga-Alkaloiden Voacangin^{2,3}, Voacamin^{3,4}, Vobtusin⁴, Voacarin⁵, Voacamidin⁶, Voacristin⁶ und Voacangarin⁷ einen neuen Spektraltyp repräsentieren. Diese Arbeit veranlasst uns zu der Mitteilung, dass wir aus *Voacanga africana* Stapf ebenfalls ein neues Alkaloid dieses Spektraltyps isoliert haben, für das wir den Namen Vobasin vorschlagen. Zu

¹ K. V. RAO, J. org. Chem. **23**, 1455 (1958).

² M.-M. JANOT und R. GOUTAREL, C. R. Acad. Sci. **240**, 1800 (1955).

³ J. LA BARRE und L. GILLO, Bull. Acad. Méd. Belg. **20**, 194 (1955).

⁴ M.-M. JANOT und R. GOUTAREL, C. R. Acad. Sci. **240**, 1719 (1955).

⁵ R. GOUTAREL und M.-M. JANOT, C. R. Acad. Sci. **242**, 2981 (1956).

⁶ U. RENNER, Exper. **13**, 468 (1957).

⁷ D. STAUFFACHER und E. SEEBECK, Helv. chim. Acta **41**, 169 (1958).

seiner Isolierung chromatographierten wir eine aus Stammrinde in üblicher Weise gewonnene Gesamtalkaloidfraktion an Aluminiumoxyd, trennten aus den Voacarin-Fractionen dieses Alkaloid ab und unterwarfen die in den Mutterlauge enthaltenen Basen nach Abtrennung schwerlöslicher Hydrobromide einer 24-stufigen Craig-Verteilung zwischen Citronensäure-Phosphatpuffer vom pH 4,8 und Benzol/Äther 1:1. Aus den Fraktionen 5-14 der Verteilung kristallisierte Vobasin nach Anreiben mit Äther; die Ausbeute betrug 0,07-0,1%.

Vobasin C₂₁H₂₄O₃N₂ (ber. C 71,57; H 6,86; N 7,95; gef. C 71,26; H 6,90; N 7,88), aus Äther derbe Würfel, Smp. 111-113°C; $[\alpha]_D^{25}$ -158,5° (CHCl₃, c = 1); -148,3° (MeOH, c = 1), enthält je eine OCH₃- (ber. OCH₃, 8,80; gef. 9,06), eine N-CH₃- (ber. CH₃, 4,26; gef. 4,39) und eine C-CH₃-Gruppe (ber. CH₃, 4,26; gef. 3,48). Bei der Mikrohydrierung mit PtO₂ in Äthanol wurden 2 Mol H₂ verbraucht. Das UV-Spektrum (λ_{max} 239,5 m μ ; log ϵ 4,19 und 315 m μ , log ϵ 4,27) entspricht dem des 2-Phenylindols⁸. IR-Spektrum in CH₂Cl₂: Banden bei 2,91 (NH); 3,60 (N-CH₃ ?); 5,79 (C=O, Ester) und 6,07 μ ; in Nujol: starke Doppelbande bei 13,45 und 13,58 μ (1,2-disubst. Phenyl).

Vobasin-Hydrochlorid C₂₁H₂₅O₃N₂Cl (ber. C 64,84; H 6,48; N 7,21; Cl 9,12; gef. C 64,41; H 6,49; N 7,28; Cl 9,07); aus Methanol prismatische Blättchen, Smp. 245 bis 248°C (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$ -120,1° (MeOH, c = 1).

Vobasin-Methojodid C₂₂H₂₇O₃N₂J (ber. C 53,45; H 5,51; N 5,67; gef. C 53,31; H 5,58; N 5,71); aus Methanol prismatische Stäbchen, Smp. 212-214°C (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$ -117,2° (MeOH, c = 1).

Die physikalischen Daten der Base und ihres Hydrochlorids schliessen eine Identität mit Voacafrin oder Voacaficin aus.

Die im Vobasin enthaltene OCH₃-Gruppe ist Teil einer Methylstergruppierung. Alkalische Verseifung führte zu einer Aminosäure C₂₀H₂₂O₃N₂ (ber. C 70,98; H 6,55; N 8,28; gef. C 70,94; H 6,59; N 8,43), Smp. 290-292°C (Zers.), die mit Diazomethan *Isovobasin*, C₂₁H₂₄O₃N₂ (ber. C 71,57; H 6,86; N 7,95; OCH₃ (1) 8,80; gef. C 71,40; H 6,86; N 8,05; OCH₃ 8,37); Smp. 175-178°C (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$ -191,3° (CHCl₃, c = 1), lieferte. Gewisse Parallelen zwischen Vobasin und der stärker basischen Molekülhälfte des Voacamins (N-CH₃-Gruppe⁹, Umlagerung bei alkalischer Verseifung¹⁰) lassen vermuten, dass Vobasin einer monomeren biogenetischen Vorstufe des dimeren Voacamins nahesteht.

Ein weiteres Nebenalkaloid, für das wir den Namen *Voacryptin* vorschlagen, wurde nach 24stufiger Craig-Verteilung von Voacamin-Mutterlauge zwischen Citronensäure-Phosphatpuffer vom pH 4,2 und Benzol/Äther 1:1 aus den Fraktionen 20-24 isoliert: aus Äther lange, verfilzende Nadeln, Smp. 175-176°C; $[\alpha]_D^{25}$ +24,7° (CHCl₃, c = 1). Das UV-Spektrum (λ_{max} 224 m μ , log ϵ 4,46 und 285 m μ , log ϵ 3,98) entspricht dem des Voacangins. Summenformel (C₂₂H₂₆O₄N₂ ber. C 69,09, H 6,85; N 7,33; OCH₃ (2) 16,22; C-CH₃ (1) 3,93; gef. C 68,83; H 6,91; N 7,63; OCH₃ 16,22; C-CH₂ 3,21) und IR-Spektrum in CH₂Cl₂ (Banden bei 5,80 [C=O, Ester] und 5,83 μ [C=O, Keton]) weisen auf die Struktur eines Oxovoacangins.

⁸ R. B. CARLIN, J. G. WALLACE und E. E. FISHER, J. Amer. Chem. Soc. **74**, 992 (1952).

⁹ R. GOUTAREL, F. PERCHERON und M.-M. JANOT, C. R. Acad. Sci. **243**, 1670 (1956).

¹⁰ U. RENNER, unveröffentlicht.

Die Interpretation der Spektren verdanken wir Herrn Dr. E. GIROD, die Mikroanalysen unserem Mikroanalytischen Laboratorium (Leitung Dr. H. WAGNER).

U. RENNER

Wissenschaftliche Laboratorien der J. R. Geigy A.G.,
Basel, den 21. Januar 1959.

Summary

Vobasine, a monomeric indole alkaloid of novel spectral type, and voacryptine, a monomeric 5-methoxyindole derivative, have been isolated from the bark of *Voacanga africana* Stapf.

'Active Ammonia'

In the course of our investigations on the possible active forms of ammonia, we studied the amination of α -keto acids by rat liver preparations. Liver from freshly sacrificed rats was washed with saline, minced and homogenized in saline with a Potter-Elvehjem type homogenizer. The incubation was carried out in 0.1 M pH 7.0 phosphate buffer. Each vessel received 20 μ mol. of sodium pyrophosphate and 5 μ mol. of malonic acid. The following additions were made at the level of twenty μ mol. of each: adenosine triphosphate (ATP), ammonium phosphate, α -keto glutaric acid (or pyruvic acid) and adenosine phosphoramidate (AMP-NH₂). The total volume was 3.2 ml. At the end of 2-3 h at 38°C trichloroacetic acid was added to a final concentration of 5%. The incubates were centrifuged and analyzed for amino acid by the ninhydrin method. The keto acid left was estimated by the method of FRIEDEMANN and HAUGEN¹. The results are presented in Table I.

Table I
Amino acid formation in rat liver homogenates

No	Additions	Keto acid dis-appeared μ mol	Amino acid formed μ mol
1	None (tissue alone) . . .	None added	3.90
2	α -ketoglutaric acid (K.G.)	0.0	5.10
3	K.G plus ammonium phosphate	0.0	11.85
4	K.G plus ammonia plus ATP	20.0	28.65
5	K.G plus ATP	17.82	23.65
6	K.G plus AMP-NH ₂ . . .	20.0	24.45

The results presented in Table II were obtained by elimination of each component from a complete medium consisting of liver homogenate, phosphate buffer, α -keto glutaric acid, pyrophosphate, malonic acid and adenosine phosphoramidate. Using pyruvic acid in the place of α -keto glutaric acid, similar results were obtained.

¹ T. E. FRIEDEMANN and G. E. HAUGEN, J. biol. Chem. 147, 415 (1943).

Table II
Relative importance of the components of the medium

Medium of Incubation	Keto acid dis-appeared μ mol	Amino acid formed μ mol
Complete medium	20.0	25.6
Minus malonic acid	19.67	32.7
Minus pyrophosphate	19.67	26.8
Minus α -keto glutaric acid .	****	10.8
Minus liver homogenate . . .	0.0	0.0
Minus AMP-NH ₂	10.35	13.4

These data show that adenosine phosphoramidate was as effective as a mixture of ATP and ammonia. ATP alone was quite active and this might be due to the endogenous formation of ammonia in the liver homogenate. Further experiments are in progress to test whether the role of AMP-NH₂ is confined to amino acid synthesis alone or is important in other amination (e.g. biosynthesis of glucosamine) and amidation (e.g. glutamine biosynthesis) reactions also. Further experimental details will be reported elsewhere. While these experiments were in progress, similar results were reported using preparations of *Mycobacterium*².

The authors wish to thank Chas. Pfizer and Company for a grant-in-aid of research, which partly supported this work.

BARBARA J. COSSANO and D. V. SIVA SANKAR

Department of Chemistry, Adelphi College, Garden City, N.Y., and Biochemical Research Laboratory, Children's Unit, Creedmoor State Hospital, Queens Village, New York, January 6, 1959.

Zusammenfassung

Es wurde gefunden, dass Adenosinophosphoramidat (Na) die Synthese von Keto-Säuren aus Rattenleberhomogenaten anregt. Diese Verbindung kommt in ihrer Wirkung einer Mischung von Adenosintriphosphat und Ammonium gleich. Wir beabsichtigen, die Amino- und die Amido-Reaktionen der Reinverbindungen zu untersuchen, um festzustellen, ob die physiologisch wirksame Form des Ammoniums aus Adenosinophosphoramidat besteht.

² N. KATUNUMA, Arch. Biochem. Biophys. 76, 547 (1958).

The Effect of Substance P on the Amount of 5-Hydroxytryptamine in the Gut

It has been shown in a previous work that substance P restored peristalsis when injected intraluminally into the isolated guinea-pig ileum in which the peristaltic reflex was abolished by fatigue, by external or internal application of 5-hydroxytryptamine, or by lowering the temperature of the bath¹. On the other hand, substance P when acting on the outside of the isolated guinea-pig ileum produced a block of the peristaltic reflex². 5-Hydroxytrypt-

¹ D. BELESLIN and V. VARAGIĆ, Brit. J. Pharmacol. 13, 321 (1958).

² D. BELESLIN and V. VARAGIĆ, J. Pharm. Pharmacol. 11, 99 (1959).