

un accroissement de leur stabilité. On peut ainsi concevoir que le matériel inducteur puisse se trouver dans l'incapacité de réagir avec le tissu compétent, en raison du blocage de groupes réactifs spécifiques et des modifications de la taille moléculaire interférant avec les phénomènes de diffusion réglant le passage du matériel inducteur vers les tissus compétents. L'établissement de liaisons croisées entre le matériel inducteur et les structures cellulaires de l'organisateur peut également faire obstacle à sa diffusion vers les tissus compétents et par là contribuer à l'inactivation de l'organisateur.

Ces expériences ont été faites au laboratoire d'Embryologie et d'Anatomie de l'Université d'Amsterdam.

R. LALLIER

Centre National de la Recherche Scientifique et Station Zoologique, Villefranche-sur-Mer (France), le 15 décembre 1959.

Summary

β -propiolactone-treated dorsal lips of *Ambystoma mexicanum* are grafted in the blastocoele of young gastrulas. The inducing ability of dorsal lips is not altered. These results are compared with the effects of formaldehyde which suppress the inducing ability. An interpretation

of these facts is proposed. The cross-linking reactions which occur between formaldehyde and proteins may be important for the suppressing of the inductive ability by this agent.

Influence de l'anaérobiose et de différentes tensions d'oxygène sur la libération d'histamine dans la réaction anaphylactique *in vitro*

Nous avons récemment mis en évidence une augmentation de la consommation d'oxygène par des tranches de poumon de cobaye sensibilisé, soumises à l'action de l'antigène dans des cupules de Warburg¹. Nous avons également montré l'influence de métabolites du cycle de Krebs^{2,3}, et d'inhibiteurs de la phosphorylation oxyda-

¹ H. MOUSSATCHÉ et A. PROUVOST-DANON, An. Acad. bras. Cienc. 28, XXIII (1956).

² H. MOUSSATCHÉ et A. PROUVOST-DANON, An. Acad. bras. Cienc. 29, XXX (1957).

³ H. MOUSSATCHÉ et A. PROUVOST-DANON, Arch. Biochem. Biophys. 77, 108 (1958).

Tableau I

Action de différentes tensions d'oxygène sur la respiration et la libération d'histamine par des tranches de poumon de cobaye sensibilisé dans la réaction anaphylactique *in vitro*

Atmosphère		Consommation d'oxygène ^b	Histamine libérée ^c			%	
Tension d'oxygène	Temps d'incubation ^a min		Sans antigène (a)	Avec antigène (b)	(b-a)	Consommation d'oxygène	Histamine libérée
100	50	6,34 ± 0,35 (4) ^d	0,0 (1)	2,9 ± 0,14 (4)	2,9	100	100
0	50	0,30 ± 0,18 (2)	0,0 (1)	0,0 ± 0,0 (4) ^t	0,0	5	0
100	50	7,71 ± 0,03 (4)	3,7 (1)	11,0 ± 1,3 (4)	7,3	100	100
0	50	0,14 ± 0,03 (2)	3,8 (1)	3,6 ± 0,3 (4) ^t	0,0	2	0
100	45	7,15 ± 0,18 (4)	2,0 (1)	6,4 ± 0,54 (4)	4,4	100	100
0	45	0,17 ± 0,12 (4)	2,7 (1)	2,3 ± 0,14 (4) ^t	0,0	2	0
100	55	5,55 ± 0,34 (3)	0,5 (1)	5,8 ± 0,57 (3)	5,3	100	100
0	25	0,21 ± 0,03 (2)		1,3 ± 0,1 (2) ^t	0,4	4	8
0	55	0,19 ± 0,10 (3)	0,9 (1)	1,1 ± 0,07 (3) ^t	0,2	4	4
100	45	7,12 ± 0,20 (3)	1,3 (1)	14,0 ± 0,6 (3)	12,7	100	100
0	15	0,32 ± 0,11 (3)		2,0 ± 0,17 (3) ^t	0,1	4	1
0	45	0,18 ± 0,03 (2)	1,9 (1)	1,9 ± 0,14 (2) ^t	0,0	2	0
100	40	6,99 ± 0,20 (4)	0,8 (1)	3,6 ± 0,25 (4)	2,8	100	100
0,7	40	0,18 ± 0,10 (4)	1,0 (1)	1,5 ± 0,06 (4) ^t	0,5	3	18
100	50	6,77 ± 0,27 (3)	1,0 (1)	6,0 ± 0,6 (3)	5,0	100	100
0,7	20	0,50 ± 0,03 (3)		2,3 ± 0,2 (3) ^t	1,1	7	22
0,7	50	0,46 ± 0,05 (3)	1,2 (1)	1,7 ± 0,07 (3) ^t	0,5	7	10
100	50	6,38 ± 0,13 (3)	1,0 (1)	10,4 ± 0,3 (3)	9,4	100	100
0,7	20	0,66 ± 0,03 (2)		2,9 ± 0,1 (2) ^t	1,6	10	17
0,7	50	0,56 ± 0,14 (3)	1,3 (1)	2,9 ± 0,3 (3) ^t	1,6	9	17
100	60	6,75 ± 0,17 (4)	0,7 (1)	4,8 ± 0,53 (4)	4,1	100	100
1,4	60	0,66 ± 0,10 (4)	1,1 (1)	2,0 ± 0,14 (4) ^t	0,9	10	19
100	45	7,27 ± 0,23 (4)	0,5 (1)	7,0 ± 0,37 (4)	6,5	100	100
1,4	45	0,80 ± 0,12 (4)	0,6 (1)	2,7 ± 0,22 (4) ^t	2,1	11	32
100	60	6,77 ± 0,10 (4)	0,7 (1)	2,7 ± 0,17 (4)	2,0	100	100
4,5	60	1,43 ± 0,17 (4)	1,1 (1)	2,1 ± 0,18 (4) ^t	1,0	21	50
100	60	5,96 ± 0,37 (4)	2,1 (1)	16,5 ± 0,94 (4)	14,4	100	100
4,5	45	1,86 ± 0,32 (2)		12,6 ± 1,7 (2) ^e	10,6	31	74
4,5	60	1,90 ± 0,15 (3)	2,0 (1)	12,9 ± 0,3 (3) ^t	10,9	32	75
100	60	6,25 ± 0,32 (4)	1,6 (1)	10,1 ± 0,38 (4)	8,5	100	100
10	60	3,80 ± 0,29 (4)	1,2 (1)	9,7 ± 0,2 (4)	8,5	61	100
100	60	6,26 ± 0,18 (4)	0,0 (1)	3,3 ± 0,25 (4)	3,3	100	100
10	60	3,25 ± 0,19 (4)	0,0 (1)	3,3 ± 0,62 (4)	3,3	52	100
100	60	5,99 ± 0,19 (4)	1,8 (1)	12,8 ± 1,0 (4)	11,0	100	100
11,2	60	2,93 ± 0,34 (4)	2,0 (1)	12,6 ± 1,5 (4)	10,6	49	96
100	60	6,38 ± 0,47 (4)	1,7 (1)	10,9 ± 1,5 (4)	9,2	100	100
21	60	4,85 ± 0,27 (4)	1,9 (1)	12,2 ± 1,8 (4)	10,3	76	112

^a Temps d'incubation avant l'addition de l'antigène.

^b Consommation d'oxygène pendant les 30 min suivant l'addition d'antigène, et calculée en Q_{O_2} .

^c En μ g de bichlorhydrate d'histamine/g tissu humide.

^d Moyenne ± déviation standard. Entre parenthèses nombre de cupules de Warburg.

^e Différence significative ($P < 0,05$).

^t Différence hautement significative ($P < 0,01$).

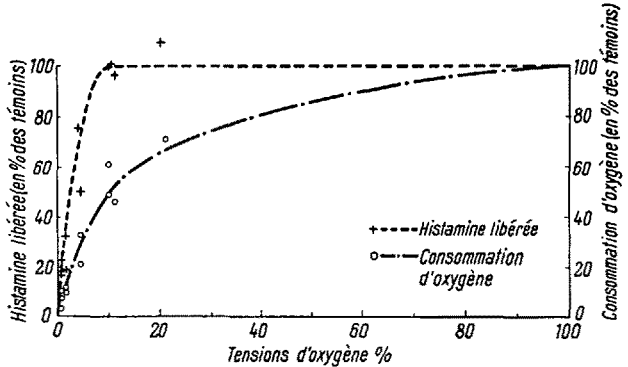
tive⁴, sur la libération d'histamine pendant la réaction anaphylactique *in vitro*. Ces résultats ont montré l'intérêt de vérifier le rôle que pourrait jouer le métabolisme anaérobie dans le mécanisme de libération de l'histamine. PARROT⁵, en 1942, et plus récemment, MONGAR et SCHILD⁶, ont étudié le même problème, le premier n'observant aucune libération d'histamine en anaérobiose, tandis que ces derniers concluaient qu'il y a encore, en atmosphère d'azote, une libération d'histamine d'environ 30% de celle obtenue normalement. Etant donné son importance, nous avons repris cette question, étudiant l'influence de l'anaérobiose et de différentes tensions d'oxygène, sur la libération d'histamine pendant la réaction anaphylactique provoquée dans les cupules de Warburg chez des tranches de poumon de cobaye sensibilisé au sérum de cheval.

Nous avons utilisé l'azote purifié par passage sur du phosphore fondu, et vérifié sa pureté par dosage dans l'appareil d'Orsat. Nous avons contrôlé de la même façon les différentes tensions d'oxygène employées. Les autres conditions expérimentales, la technique de dosage de l'histamine, sont celles qui ont été décrites antérieurement⁴.

Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau I. En anaérobiose complète, l'addition d'antigène au tissu sensibilisé n'est accompagnée d'aucune libération d'histamine. Dans une atmosphère d'azote contenant 0,7% d'oxygène, la libération d'histamine a été d'environ 20% de celle des témoins en atmosphère d'oxygène. En présence de 1,4% d'oxygène, celle-ci s'est maintenue entre 20 et 30%, et en présence de 4,5% d'oxygène, elle s'est élevée à environ 70%. En présence de 10% d'oxygène, bien que la respiration fût encore inhibée à près de 50%, la libération d'histamine a été la même que celle des témoins. On peut voir, d'après la figure, que si la présence d'oxygène est indispensable au mécanisme de la libération d'histamine, celle-ci n'accompagne pas la respiration selon une courbe analogue, la libération d'histamine atteignant

sa valeur maximum à des tensions d'oxygène beaucoup plus basses que celles auxquelles la respiration l'atteint.

Le tissu pulmonaire étant conservé en anaérobiose ou sous de faibles tensions d'oxygène, avant d'additionner l'antigène, pendant un temps qui varie de 15 à 60 min, nous avons vérifié si ce traitement ne provoquerait pas de dommages irréversibles dans la cellule, lésant le système respiratoire ou le mécanisme de libération de l'histamine. Le tableau II montre que lorsque, après avoir été soumis à des conditions d'anaérobiose pendant 45 min, le tissu est replacé en atmosphère d'oxygène, il libère la même quantité d'histamine, ou même des quantités un peu plus élevées que celles libérées par les témoins conservés tout le temps en aérobie.



Ces expériences confirment que le mécanisme de la libération d'histamine dans la réaction anaphylactique est lié fondamentalement aux phénomènes aérobie du métabolisme cellulaire, la libération d'histamine ne pouvant avoir lieu qu'en présence d'oxygène.

H. MOUSSATCHÉ* et A. PROUVOST-DANON*

Division de Physiologie, Institut Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro (Brasil), June 23, 1959.

* Boursiers du Conselho Nacional de Pesquisas.

Tableau II

Action de l'incubation préalable en anaérobiose sur la respiration et la libération d'histamine par des tranches de poumon de cobaye sensibilisé pendant la réaction anaphylactique *in vitro*

Atmosphère	Temps d'incubation ^a min	Consommation d'oxygène ^b	Histamine libérée ^c			% Consommation d'oxygène	
			Sans antigène (a)	Avec antigène (b)	(b-a)	d'oxygène	Histamine libérée
Oxygène	75	5,73 ± 0,25 (3) ^d	1,8 (1)	19,2 ± 3,5 (3)	17,4	100	100
Azote	45	0,16 ± 0,10 (2)		2,0 ± 0,1 (2) ^f	0,7	3	4
Oxygène (après 45 min. d'incubation en atm. d'azote)	30	5,17 ± 0,08 (3)	1,3 (1)	26,0 ± 1,4 (3) ^e	24,7	90	142
Oxygène	75	5,70 ± 0,33 (3)	0,8 (1)	11,7 ± 0,31 (3)	10,9	100	100
Azote	45	0,40 ± 0,01 (2)		1,5 ± 0,0 (2) ^f	0,7	7	6
Oxygène (après 45 min d'incubation en atm. d'azote)	30	5,06 ± 0,42 (3)	0,8 (1)	13,7 ± 0,56 (2) ^e	12,9	89	118
Oxygène	75	7,00 ± 0,11 (3)	1,7 (1)	8,8 ± 0,07 (3)	7,1	100	100
Oxygène (après 45 min d'incubation en atm. d'azote)	30	6,16 ± 0,15 (4)	1,8 (1)	11,4 ± 0,75 (4) ^f	9,6	88	135

^a Temps d'incubation avant l'addition de l'antigène.
^b Consommation d'oxygène pendant les 30 min suivant l'addition d'antigène, et calculée en $\dot{V}O_2$.
^c En μ g de bichlorhydrate d'histamine/g tissu humide.

^d Moyenne et déviation standard. Entre parenthèses nombre de cupules de Warburg.
^e Différence significative ($P < 0,05$).
^f Différence hautement significative ($P < 0,01$).

Summary

The influence of anaerobiose and of varied oxygen tensions upon respiration and histamine release during anaphylactic reaction in guineapig lung slices *in vitro* was studied.

No histamine was liberated in the absence of oxygen. With increasing oxygen tensions, increasing histamine quantities were released; these quantities reached the control values when the atmosphere contained 10% oxygen.

These results indicate that the mechanism of histamine release in the anaphylactic reaction is linked with the aerobic metabolism of the cell.

Effect

of Reserpine Analogues on Tissue Serotonin

In a recent note, it was reported that a differential effect was exerted on brain serotonin by reserpine and its analogues: carbethoxysyringoyl methyl reserpate (SU 3118 or syrosingopine) and methyl-18-O(3-N,N-dimethylaminobenzoyl) reserpate (SU 5171). Reserpine and SU 5171 release brain serotonin and induce sedation, while SU 3118, an hypotensive agent without sedative effect, is unable to release brain serotonin¹⁻³.

Since a poor penetration of SU 3118 into the brain might account for the lack of brain serotonin depletion, the effect of SU 3118, in comparison with SU 5171 and reserpine, on serotonin content of other organs has been investigated.

The method used was the following: Sprague-Dawley rats of the average weight of 200 g were injected intraperitoneally with different concentrations of reserpine (kindly supplied by Dr. V. Ghetti, CIBA, S.p.A., Milano) or SU 3118, or SU 5171 (received through the courtesy of Dr. A. J. PLUMMER, CIBA Labs., Summit, N. J.). 4 h after the administration, the animals were killed by decapitation and the serotonin content of brain, intestine, kidney, lung, and spleen was determined by the method of BOGDANSKI *et al.*⁴ employing a Farrand spectrophotofluorimeter.

The results obtained are reported in a Table.

¹ R. A. MAXWELL, H. POVALSKI, and A. J. PLUMMER, *J. Pharmacol. exper. Therap.* 125, 178 (1959).

² K. F. FINGER, F. B. HUGHES, and B. B. BRODIE, *Fed. Proc.* 18, 388 (1959).

³ S. GARATTINI, A. MORTARI, A. VALSECCHI, and L. VALZELLI, *Nature* 183, 1273 (1959).

⁴ D. F. BOGDANSKI, A. PLETSCHE, B. B. BRODIE and S. UDEN-FRIEND, *J. Pharmacol. exper. Therap.* 117, 82 (1956).

While reserpine and SU 5171 deplete serotonin in all the organs tested (except kidney in the case of SU 5171) SU 3118, at a concentration of 20 mg/kg lowers only lung and spleen serotonin. 20 mg/kg of SU3118 are less effective than 5 mg/kg of reserpine in releasing intestinal serotonin.

These results suggest that lung and spleen are more sensitive than other organs to the action of SU 3118. Under the action of SU 3118, the cerebral, intestinal, and renal serotonin behave similarly. Therefore, the hypothesis of a resistance of the blood-brain barrier to SU 3118 seems unlikely.

S. GARATTINI, R. KATO, and L. VALZELLI

Istituto di Farmacologia e di Terapia, Università degli Studi, Via A. Del Sarto 21, Milano, July 11, 1959.

Riassunto

La differenza di comportamento dimostrata, nel ridurre il tasso di serotonina di diversi organi, da due derivati reserpinici (SU 3118-SU 5171) non sembra potersi ricondurre solo ad una differente capacità di attraversamento della barriera ematoencefalica da parte delle due molecole in istudio.

The Stereochemistry of some Naturally Occurring Guaianolides and Isophotosantonin Lactone

Recent work on the stereochemistry of cycloheptanes^{1,2} has pointed out the general similarity of these systems to the more widely studied cyclohexane compounds. The application of the principles discussed by these workers, namely that a substituent group in a cycloheptane prefers the *quasi*-equatorial conformation, and that elimination reactions proceed *via* the same *trans-anti*-parallel route as in cyclohexanes, coupled with the logical extension from the cyclohexane field that a *cis* fused γ -lactone is more stable than the corresponding *trans* isomer, permits the deduction of provisional stereochemical relationships in several sesquiterpenic lactones. BARTON³ has already assigned structure I to geigerin on the basis of rotatory dispersion data⁴, and an assumption regarding the nature of the lactone ring similar to that which we have made.

¹ J. W. HUFFMAN and J. E. ENGLE, *J. org. Chem.*, in press.

² N. L. ALLINGER, *J. Amer. chem. Soc.* 81, 231 (1959).

³ D. H. R. BARTON and J. E. D. LEVISALES, *J. chem. Soc.*, 1958, 4518.

⁴ C. DJERASSI, J. OSIECKI, and W. HERZ, *J. org. chem.* 22, 1361 (1957).

Treatment	Dose mg/kg i. p.	Serotonin content (μ g $\pm$ S. E.)				
		Brain	Intestine	Kidney	Lung	Spleen
Controls	—	0.43 $\pm$ 0.08	4.76 $\pm$ 0.24	0.34 $\pm$ 0.03	2.86 $\pm$ 0.16	3.51 $\pm$ 0.24
Reserpine	2.5	0.17 $\pm$ 0.005	2.95 $\pm$ 0.15	0.19 $\pm$ 0.02	1.6 $\pm$ 0.23	1.09 $\pm$ 0.24
Reserpine	5	0.12 $\pm$ 0.006	2.04 $\pm$ 0.12	—	—	—
SU 3118	20	0.46 $\pm$ 0.005	3.37 $\pm$ 0.36	0.29 $\pm$ 0.03	1.64 $\pm$ 0.27	1.04 $\pm$ 0.09
SU 3118	50	0.13 $\pm$ 0.011	2.64 $\pm$ 0.05	—	—	—
SU 5171	5	0.25 $\pm$ 0.009	3.98 $\pm$ 0.24	0.49 $\pm$ 0.07	1.84 $\pm$ 0.28	2.23 $\pm$ 0.73
SU 5171	7.5	0.12 $\pm$ 0.005	2.73 $\pm$ 0.21	0.28 $\pm$ 0.02	1.21 $\pm$ 0.07	0.59 $\pm$ 0.03

Each value represents the average of at least 8 determinations.