

Unsere Versuche zeigen, dass beim Cu^{2+} -AMP-5'-System die Bande des C(8)-Protons stark verbreitert wird⁶. Analog zu den Befunden am Cu^{2+} -Desoxyadenosinmonophosphat-System⁸ wird aber auch das C(2)-Proton beeinflusst (Figur 3a). Im Falle des Cu^{2+} -AMP-3'-Systems ist die Aussage der Kernresonanz-Spektren (Figur 3b) weniger eindeutig, da die Banden von H(2) und H(8) in gleicher Weise verbreitert werden¹⁹. Jedoch kommt auch hier die Cu^{2+} -Adeninring-Wechselwirkung deutlich zum Ausdruck. Die «zusätzliche» Verbreiterung der Banden von H(2) im Cu^{2+} -AMP-5'-System (Figur 3a) und von H(8) im Cu^{2+} -AMP-3'-System (Figur 3b) rührt möglicherweise von (unter diesen Messbedingungen möglichen) intermolekularen Assoziaten her. Auch besteht die Möglichkeit, dass alle Protonen des Liganden von ein und demselben Metallion je nach Distanz verschieden stark beeinflusst werden können⁶.

Im ganzen gesehen scheint die Cu^{2+} -Adeninring-Wechselwirkung im Cu^{2+} -AMP-5'-Komplex etwas grösser zu sein als im Cu^{2+} -AMP-3'-Komplex, wahrscheinlich weil N(3) durch die Ribose etwas abgeschirmt ist¹⁵. Möglicherweise erklären sich damit die von TAQI KHAN und MARTELL¹³ gefundenen Stabilitätsdifferenzen von ca. 0,1 bis 0,2 log.-Einheiten zwischen den Komplexen von AMP-5' und AMP-3'²⁰.

Summary. By means of UV and NMR spectroscopy evidence is given for direct interaction between metal ion and heteroaromatic groups in both Cu^{2+} -adenosine-5'-monophosphate and Cu^{2+} -adenosine-3'-monophosphate complexes. A comparison with the Cu^{2+} -adenosine system⁷ shows that this interaction is much enhanced in the monophosphate analogues, which points to the existence of a macrocyclic phosphate-metal-adenine chelate.

H. SIGEL

Institut für Anorganische Chemie der Universität Basel (Schweiz), 20. April 1966.

¹⁹ Interessant ist ein Vergleich der Kernresonanz-Spektren der beiden Liganden AMP-5' und AMP-3', da – offenbar bedingt durch den «Platzwechsel» der Phosphatgruppe – eine chemische Verschiebung des C(8)-Protons nach höherer Feldstärke stattfindet. H(8) und H(1') zeigen praktisch keine Verschiebung.

²⁰ Für Anregungen und die Möglichkeit zur Diskussion danke ich Herrn Prof. Dr. H. ERLNMEYER und Herrn Dr. B. PRIJS. Dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung sei für Unterstützung unserer Arbeiten gedankt.

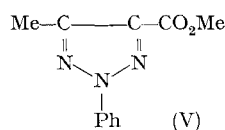
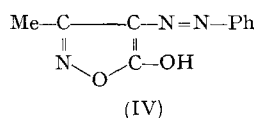
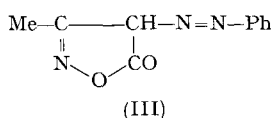
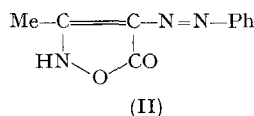
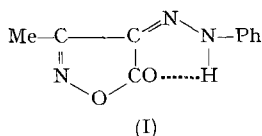
Comment on the Structure of 3-Alkyl-4-arylazoisoxazol-5-ones

Since 3-alkyl-4-arylazoisoxazol-5-ones are of interest as agricultural fungicides¹ we wish to comment on a recent report by CUM, LO VECCHIO and AVERSA² regarding their structure.

We have shown^{3,4} that most 3-alkyl-4-arylazoisoxazol-5-ones prefer the phenylhydrazono form (I) of the four possible tautomers (I), (II), (III) and (IV). The Italian group, however, suggest that structure (II) is the predominant one. Some of the arguments used to arrive at this conclusion depend on an interpretation of the spectroscopic properties of a compound of m.p. 54–56°, which is considered to be 2,3-dimethyl-4-phenylazoisoxazol-5-one (II; Me for H). The structure assigned to this compound is incorrect since its melting point is substantially differ-

ent from that of authentic 2,3-dimethyl-4-phenylazoisoxazol-5-one, m.p. 198°, prepared⁴ unambiguously from ethyl α -phenylazoacetate and *N*-methylhydroxylamine, a reaction which has also been utilized by MUSTAFA et al.⁵

We suggest that the compound of m.p. 54–56° is almost certainly the isomeric 4-methoxycarbonyl-5-methyl-2-phenyl-1,2,3-triazole (V), which has not hitherto been reported. This follows from its method of preparation. 3-Methyl-4-phenylazoisoxazol-5-one was treated with diazomethane, from which reaction the compound of m.p. 54–56° was obtained as one product, along with 3-methyl-4-[methyl(phenyl)hydrazono]isoxazol-5-one (I; Me for H) and 5-methoxy-3-methyl-4-phenylazoisoxazole (IV; Me for H). The analogous reaction carried out by us⁴ using 3-methyl-4-(3-chlorophenylazo)isoxazol-5-one as starting material also yielded 3 products, namely, 3-methyl-4-[methyl(3-chlorophenyl)hydrazono]isoxazol-5-one, 5-methoxy-3-methyl-4-(3-chlorophenylazo)isoxazole and 4-methoxycarbonyl-5-methyl-2-(3-chlorophenyl)-1,2,3-triazole, the last compound being formed by a facile isomerization of the 5-methoxy-3-methyl-4-(3-chlorophenylazo)isoxazole. Further support for the triazole formulation comes from the very close similarity between



¹ L. A. SUMMERS, P. F. H. FREEMAN, M. J. A. GEOGHEGAN, and J. A. W. TURNER, Brit. pat. 999,097 (1965). Imperial Chemical Industries Limited, Belgian pat. 617,389 (1962).

² G. CUM, G. LO VECCHIO, and M. C. AVERSA, Gazz. chim. ital. 95, 583 (1965).

³ L. A. SUMMERS and D. J. SHIELDS, Chemy Ind. 1964, 1264.

⁴ L. A. SUMMERS, P. F. H. FREEMAN, and D. J. SHIELDS, J. chem. Soc. 1965, 3312.

⁵ A. MUSTAFA, W. ASKER, A. H. HARHASH, and A. M. FLEIFEL, Tetrahedron 21, 2215 (1965).

the IR- and the nuclear magnetic resonance(NMR)-spectra recorded for the compound of m.p. 54–56° ($\nu_{\text{max}}^{\text{nujol}}$ 1729 cm^{-1} ; δ (in CDCl_3) = 2.6, 3 proton singlet and 3.97 ppm, 3 proton singlet in addition to aromatic signals) and our 2-(3-chlorophenyl)-4-methoxycarbonyl-5-methyl-1,2,3-triazole ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1725 cm^{-1} ; δ (in CDCl_3) = 2.6, 3 proton singlet and 4.02 ppm, 3 proton singlet in addition to aromatic signals).

Because of the incorrect structure assigned to the compound of m.p. 54–56° some of the evidence for considering that 3-methyl-4-phenylazoisoxazol-5-one prefers structure (II) is invalidated. The IR- and NMR-spectra recorded by CUM, LO VECCHIO and AVERSA² for 3-methyl-4-phenylazoisoxazol-5-one are in many respects in agreement, however, with our findings and, taken in conjunc-

tion with the convincing UV-spectral evidence reported by us⁴, verify our view that most 3-alkyl-4-arylazoisoxazol-5-ones exist essentially as structure (I).

Zusammenfassung. Es wird gezeigt, dass die Struktur für die Verbindung mit dem Schmelzpunkt 54–56°, die als 2,3-Dimethyl-4-phenylazoisoxazol-5-one beschrieben wurde, in Wirklichkeit 4-Methoxycarbonyl-5-methyl-2-phenyl-1,2,3-triazole sein dürfte. Damit werden früher gezogene Schlüsse über Tautomeriemöglichkeiten dieser Verbindung hinfällig.

L. A. SUMMERS

University of Newcastle, New South Wales
(Australia), February 21, 1966.

Le fer dans les villosités intestinales du Cobaye en carence protidique

Des travaux physiologiques et cliniques récents¹ ont montré qu'une augmentation de l'absorption du fer et de son dépôt dans l'organisme accompagne toute diminution de l'activité exocrine du pancréas, qu'il s'agisse, expérimentalement, d'une ablation de cette glande, de la ligation de ses canaux excréteurs, d'un traitement par l'éthionine ou, cliniquement, de pancréatite chronique ou de fibrose. On tend ainsi à considérer le pancréas comme un régulateur de l'absorption du fer. L'administration de pancréatine diminue en effet et normalise cette absorption.

Au cours de recherches histologiques et histochimiques pratiquées sur des cobayes soumis à un régime déficient en protides, nous avons fait des observations qui viennent à l'appui de cette conception et y apportent certaines précisions.

ASCHKENAZY² étudiant l'incorporation du fer marqué dans les hématies chez des rats carencés en protides, a observé l'accumulation de ce fer dans le foie.

Nous nous sommes surtout attachés à l'étude de la muqueuse intestinale. Comme nous y avons insisté précédemment³, on observe chez les animaux soumis à un régime hypoprotidique, une régression des acini pancréatiques avec dégranulation de leurs cellules et disparition progressive des activités lipasique et ali-estérasiq dans ces cellules. Ces images histologiques témoignent de la réduction ou même de la suppression de la sécrétion externe du pancréas. En même temps, nous avons observé, dans la muqueuse de l'intestin grêle, des faits qui nous ont paru mériter d'être décrits.

D'une part, nous avons retrouvé, dans cette muqueuse, la charge en fer caractéristique du ralentissement de l'activité exocrine du pancréas dans les conditions rapportées plus haut et, d'autre part, nous avons observé des modifications de la répartition de l'activité phosphatasique alcaline dans les entérocytes, le long des villosités.

1. *Présence du fer dans la muqueuse intestinale:* Le fer se montre sous forme d'une combinaison protéique où il est facilement mis en évidence par la réaction classique du bleu de Prusse. Sans réaction, on observe des granulations brun-jaunâtre, de tailles variées. Ces granulations, donnant la réaction du fer, sont visibles dans les entérocytes et dans l'axe conjonctif des villosités. (a) *Entérocytes.* On observe, dans la zone apicale, entre le noyau et

le plateau strié, des grains bleus dont les dimensions sont inférieures au micron. Ils sont surtout abondants directement dessous du plateau strié. Les entérocytes présentant ces grains sont localisés au sommet des villosités. (b) *Axe conjonctif des villosités.* La réaction du fer est positive à l'intérieur de macrophages. Leur cytoplasme contient un nombre variable de grains donnant la réaction et peut en être absolument bourré à tel point que ces grains se réunissent en mottes volumineuses. Ces macrophages sont localisés au tiers supérieur des villosités.

2. *Répartition de l'activité phosphatasique alcaline:* Normalement, dans l'intestin grêle (Mme HÉBERT⁴) la réaction de la phosphatase alcaline est positive sur toute la hauteur des villosités dans le plateau strié des entérocytes et dans la zone de Golgi située au dessus du noyau.

Le fait caractéristique, chez nos cobayes soumis à un régime hypoprotidique, est la disparition de l'activité phosphatasique alcaline dans les entérocytes qui occupent le sommet des villosités, précisément dans la région où se produisent les dépôts du composé ferrique.

La réaction phosphatasique est positive dans les entérocytes de toutes les autres parties des villosités, jusque dans les orifices des glandes de Lieberkühn. On l'observe dans les plateaux striés mais pas dans la zone de Golgi. Par comparaison, la réaction des ali-estérases a la même valeur dans les entérocytes de toute la hauteur des villosités. Elle est, comme chez l'animal normal, positive dans le cytoplasme, plus spécialement dans la région supra-nucléaire. Dans les parties inférieures des villosités, au voisinage de l'orifice des glandes de Lieberkühn, la réaction des ali-estérases est positive dans le plateau strié des entérocytes alors qu'elle y est normalement négative.

Il est intéressant de signaler chez ces cobayes, dans les îlots de Langerhans du pancréas, la diminution de l'activité des cellules A et la disparition totale dans leur cytoplasme, du tryptophane dont la présence les caractérise normalement.

¹ A. E. DAVIS et J. BADENOCH, *Lancet* 2, 6 (1962). – E. B. BROWN et M. L. ROTHER, *J. Lab. clin. Med.* 62, 357 et 804 (1963). – T. D. KINNEY, N. KAUFMAN et J. KLAVINS, *J. exper. Med.* 102, 5 (1955). – R. S. SMITH, *Brit. med. J.* 1, 608 (1964).

² A. ASCHKENAZY, *C. r. Soc. Biol.* 156, 1786 (1962).

³ J. VERNE et S. HÉBERT, *C. r. Acad. Sci. Paris* 236, 2170 (1953); *Archs. Biol. méd. Paris*, B 122 P (1956).

⁴ S. HÉBERT, *Archs. Biol. Liège* 61, 235 (1950).