

the IR- and the nuclear magnetic resonance(NMR)-spectra recorded for the compound of m.p. 54–56° ( $\nu_{max}^{nujol}$  1729 cm<sup>-1</sup>;  $\delta$  (in CDCl<sub>3</sub>) = 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 ( $\nu_{max}^{KBr}$  1725 cm<sup>-1</sup>;  $\delta$  (in CDCl<sub>3</sub>) = 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 AVERSA<sup>2</sup> 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 us<sup>4</sup>, 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 récents<sup>1</sup> 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 ligature 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 histoquímiques 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.

ASCHKENAZY<sup>2</sup> 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 précédemment<sup>3</sup>, 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-estérasique 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 boursillé 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 HÉBERT<sup>4</sup>) la réaction de la phosphatasé 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.

<sup>1</sup> 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).

<sup>2</sup> A. ASCHKENAZY, C. r. Soc. Biol. 156, 1786 (1962).  
<sup>3</sup> J. VERNE et S. HEBERT, C. r. Acad. Sci. Paris 236, 2170 (1953); Archs. Biol. méd. Paris, B 122 P (1956).

<sup>4</sup> S. HEBERT, Archs. Biol. Liège 61, 235 (1950).

**Conclusion.** Au cours de régimes pauvres en protides, entraînant la régression du pancréas exocrine, on observe une surcharge en fer de l'extrémité supérieure des villosités intestinales, visible sous forme de fines granulations donnant la réaction du bleu de Prusse dans le pôle apical des entérocytes et de grosses granulations à l'intérieur de macrophages dans l'axe conjonctivo-vasculaire.

La réaction phosphatasique alcaline se montre négative dans le plateau strié des entérocytes du sommet des villosités.

Les cellules A des îlots de Langerhans présentent une diminution de leur activité se traduisant par la disparition à leur niveau de la réaction du tryptophane.

**Summary.** During the regression of exocrine pancreas caused by a diet poor in protides, an organic iron compound accumulates at the end of intestinal villi: small granules in the upper part of enterocytes, larger particles in macrophages of the connective axis. Alkaline phosphatase activity disappears from the striated border of the enterocytes concerned.

J. VERNE et S. HEBERT

*Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Faculté de Médecine de Paris (France), le 24 mars 1966.*

### Relative Velocity of the Division Cycle in Sister Cells

Observation shows that a meristem consists of a number of cells developing, whether they are in process of division or in interphase, to all appearances in a completely unsynchronized fashion. There seems to be no plan regulating the successive divisions that take place in the several layers of cells as they approach the tip. In spite of this, a certain sequence was observable in the duration of the division cycle in sister cells, of which we gave some account in a recent study of the division cycle by means of labelling with caffeine<sup>1</sup>, which we have followed up with a further study, using the centrifugation of the roots so as to mark the position of each cell in relation to the tip, and so elucidate the problem by checking whether or not there is any sequence in the divisions taking place.

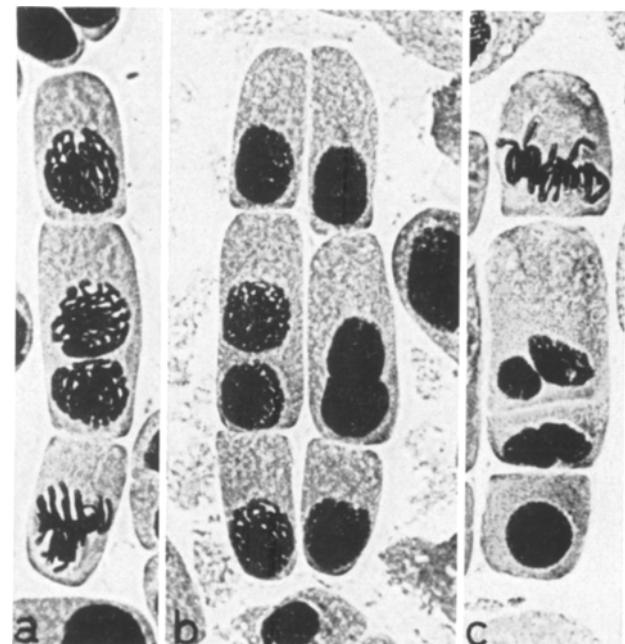
**Method.** Labelling with caffeine gives us a population of binucleate cells (binucleates of the first order) whose development gives rise to a population that is in the course of bimitosis (of the first order)<sup>1,2</sup>. The results of the first-order bimitoses is that we have 2 lateral diploid cells and 1 binucleate in the centre (second-order binucleate cell). After squashing, these 3 sister cells, formed at the same time, remain together and form a block ( $2n; 2n + 2n; 2n$ ). Their further development gives rise to a normal mitosis in each outside cell and a bimitosis (of the second order) in the middle cell.

Onion bulbs (*Allium cepa*) were grown in the dark at a temperature of  $25^\circ \pm 0.5^\circ\text{C}$  in cylindrical glass receptacles of about  $70\text{ cm}^3$  capacity, with tap-water renewed every 24 h and continually aerated by bubbling at the rate of  $10-15\text{ cm}^3\text{ air/min}$ .

The roots were 1.5–2 cm long at the beginning of the experiment. They were put in without separating them from the bulbs and were immersed in a 0.1% caffeine solution for 12–15 h, after which they were washed and reimmersed in tap-water, thereby obtaining an initial proportion of 40–60% of binucleate cells. About 30 h after the end of the treatment, a great deal of second-order bimitosis was observed. Then, in order to be able to spot the relative positions of these 3 cells in the meristem, we resorted to centrifugation of the onion bulb with its roots intact, with the meristems pointing towards the centrifugal pole. Treatment of  $1500\text{ g}$  for 30 min was sufficient to direct the nuclei towards the centrifugal pole, and the position of the cells in the block in relation to the root tip is thus discernible after squashing. After centrifuging, the

preparations are fixed and stained according to the squash technique of TJIO and LEVAN<sup>3</sup>.

**Results and discussion.** Development of the mononucleate cells of the block  $2n; 2n + 2n; 2n$ . If we call the outside mononucleate Cells  $E_1$  and  $E_2$ ,  $E_1$  being the one nearer to



Blocks ( $2n; 2n + 2n; 2n$ ) originated from coaxial bimitoses of first order. After centrifuging, the position of the nuclei indicates the orientation of the blocks in the root in regard with the tip. The bottom cells were the nearest to the apex. (a) and (b): In these cases the nearest mononucleate cells to the apex were the fastest ( $E_1, E_2$ ). In the middle binucleate cells the nuclei are at biphasic, early biphasic and interphase, respectively. (c) In this case the mononucleate cell farthest away from the tip was the fastest ( $E_1, E_2$ ). In the middle cell a parallel telophase can be observed.

<sup>1</sup> A. GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, J. F. LÓPEZ-SÁEZ, and G. GIMÉNEZ-MARTÍN, *Exp. Cell Res.* (1966), to be published.

<sup>2</sup> G. GIMÉNEZ-MARTÍN, A. GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, and J. F. LÓPEZ-SÁEZ, *J. Cell Biol.* 26, 305 (1965).

<sup>3</sup> J. H. TJIO and A. LEVAN, *Ann. estac. Exp. Aula Dei* 2, 21 (1950).