

capable de les exciter, mais les contractions rythmiques sont saccadées (L. M. DICKSON¹).

Des observations analogues ont été faites sur des terminaisons sensibles; tant que les fibres nerveuses cutanées, par exemple, ne sont pas totalement reconstituées après leur section, seule la sensibilité protopathique réparaît (J. BOEKE et G. C. HERINGA, 1924, *loc. cit.*).

Dans de nombreux cas d'altérations pathologiques ou expérimentales du système nerveux périphérique, les caractères de la sensibilité algique cutanée sont profondément modifiés. Cela correspond toujours à une disposition anormale des terminaisons de fibres nerveuses; ainsi dans la régénération de ces dernières, la présence à leur extrémité, de cônes de croissance s'accompagne toujours d'un phénomène douloureux insupportable, à la suite d'une légère piqûre par une pointe d'épingle (G. WEDDEL, D. C. SINCLAIR et W. H. FEINDELL²).

De même dans les anastomoses croisées, les synapses formées dans les ganglions de la chaîne sympathique, entre les fibres de nerfs somatiques et les cellules ner-

veuses, ne deviennent fonctionnelles que lorsqu'elles sont capables d'acquiescer leurs aspects normaux (N. Å. HILLARP, 1946, *loc. cit.*).

Par analogie, il est bien permis de supposer que les altérations très vraisemblablement cycliques, groupées en petits îlots et observables dans le noyau thalamique antérieur du Lapin, aussi bien au niveau des synapses péricellulaires que de celles du neuropile, correspondent soit à une modification de l'influx nerveux, soit même à l'interruption de sa transmission.

Summary

In the tissues of animals of normal appearance belonging to very different classes of vertebrates, both fishes and mammals, I have observed destructive phenomena in the finest neural terminations, the metaterminal apparatus. These phenomena are manifested through the production of tiny accumulations of a silver-staining substance, or rather by the formation of a tiny round plaque (rondelle) characteristic of an abortive regeneration.

In the anterior nucleus of the thalamus of the adult rabbit, these processes are localized in minute islets, within which they can be observed equally well on the pericellular terminations and on the terminations of the neuropil.

When these synaptic alterations are at their maximum, the nervous impulses are without, profoundly modified, or even interrupted.

¹ L. M. DICKSON, J. Anatomy, Londres 74, 268 (1939-40).

² G. WEDDEL, D. C. SINCLAIR et W. H. FEINDELL, J. Neurophysiol. 11, 99 (1948).

Brèves communications - Kurze Mitteilungen Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. - Für die kurzen Mitteilungen ist ausschließlich der Autor verantwortlich. - Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. - The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Macrozamin, a Toxic Nitrogen-containing Primeveroside

Macrozamin, the constituent responsible for the toxicity of *Macrozamia spiralis* to sheep, cattle and humans was first isolated by COOPER¹. In work described recently² we have obtained macrozamin from the Western Australian plant *M. RIEDLEI*, and have shown it to have the molecular formula $C_{13}H_{24}O_{11}N_2$. The molecule contains a primeverosyl (6- β -D-xylosido-D-glucosyl) residue, the remaining fragment, $C_2H_5O_2N_2$, being uniquely attached to the glycosidic centre of the glucose unit. Acetylation of macrozamin gives a hexaacetate in which all acetyl groups are attached to the disaccharide component. We wish here to give a preliminary account of some properties of macrozamin which are pertinent to the structure of the hypothetical

aglycone, $C_2H_5O_2N_2$, which must contain a double bond or a cyclic system.

Macrozamin shows no specific absorption in the ultraviolet above 2200 Å, is devoid of markedly acidic or basic functions, and is not affected by nitrous acid or by 5% hydrogen peroxide. Its hexaacetate is unaffected by treatment with ethereal diazomethane, bromine in chloroform, or methyl iodide. The glycosidic link in macrozamin is broken, and the sugar component set free under relatively mild conditions by three classes of reagent; aqueous acids and alkalis, and certain reducing agents. It has not been possible to isolate the aglycone portion intact by the use of any of these reagents; although macrozamin itself is stable at 100° alone and in neutral aqueous solution, its aglycone is an unstable entity, which breaks down into small fragments immediately on liberation. Nor have any reagents so far been found which are capable of modifying the structure of the aglycone without causing its separation from the sugar residue and subsequent decomposition; the

¹ J. M. COOPER, Proc. Roy. Soc. New South Wales 74, 450 (1941).

² B. LYTGOE and N. V. RIGGS, J. Chem. Soc., in the press.

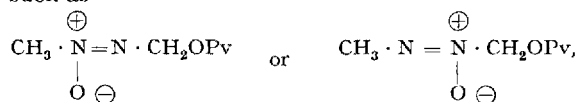
chemical behaviour of macrozamin therefore provides only a limited amount of structural information.

The hydrolysis of macrozamin with hot *N* hydrochloric acid takes place stoichiometrically, the primeverose appearing as glucose and xylose, and the two carbon atoms of the aglycone as methanol and formaldehyde. The nitrogen atoms appear quantitatively as nitrogen gas. A formation of elementary nitrogen on hydrolysis of a plant product has not previously been observed, and we consider it to indicate that the two nitrogen atoms of macrozamin are linked directly to each other.

Macrozamin is very labile to aqueous alkalis, even 2 *N* aqueous ammonia causing a rapid decomposition in which the primeverose is liberated intact. The reaction with hot dilute sodium hydroxide has been followed quantitatively; the principal nitrogenous products are cyanide ion (0.5–0.7 mol) and elementary nitrogen (0.5 mol), together with small amounts (c. 0.09 mol each) of methylamine and ammonia.

Macrozamin absorbs no hydrogen in the presence of Adams' palladous oxide in aqueous alcohol. In aqueous acetic acid with zinc dust the glycosidic link is broken and primeverose liberated, although macrozamin is stable to aqueous acetic acid alone. Use of the hexa-acetyl derivative in purified ethyl acetate with Adams' platonic oxide and hydrogen gave variable results; in some experiments no reduction took place; in others some hydrogen was absorbed, but afterwards only unchanged starting material, together with a nitrogen-free substance could be isolated; the latter gave hepta-acetyl primeverose on acetylation and is probably heptaacetyl primeverose. Using the same catalyst, macrozamin in 0.2 *N* hydrochloric acid absorbs 4 mols hydrogen at room temperature, giving 2 mols of a volatile base, identified as methylamine by conversion to its chloroplatinate; significant amounts of dimethylamine or ammonia were absent. Similar reduction in *N* hydrochloric acid causes absorption of only 3.3 mols hydrogen; 2 mols of base are formed, but this must contain ammonia as well as methylamine, since 0.4 mols formaldehyde were also present in the products of reduction.

This behaviour excludes most of the known types of nitrogen structure for the macrozamin molecule. That open to least objection is an aliphatic azoxy structure, such as



where Pv represents the primeverosyl radical, $\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_4$, $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$, and the synthesis of aliphatic azoxy compounds for comparison purposes is being undertaken in this laboratory. The above experiments will be described and discussed in greater detail elsewhere.

B. LYTHGOE and N. V. RIGGS

University Chemical Laboratory, Cambridge, England, August, 30, 1949.

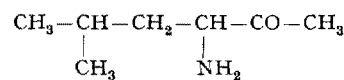
Zusammenfassung

Macrozamin, der toxische Bestandteil der australischen Pflanze *Macrozamia Riedlei*, besitzt die Formel $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{O}_{11}\text{N}_2$ und enthält eine Primverosylgruppe, glykosidisch mit einem Rest $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2\text{N}_2$ verbunden. Dieser Rest zerfällt sofort quantitativ in Methanol, Formaldehyd und elementaren Stickstoff, wenn er durch verdünnte Säure in Freiheit gesetzt wird. Auch durch kalte verdünnte Alkalien wird die glykosidische Bindung ge-

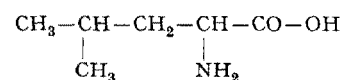
spalten. Es entstehen dann als stickstoffhaltige Hauptprodukte Stickstoffgas und Blausäure. In neutraler Lösung wird Macrozamin durch Wasserstoff und Palladium nicht reduziert, wohl aber in verdünnter Säure mittels eines Platinkatalysators. Dabei werden 4 Moleküle Wasserstoff aufgenommen unter Abspaltung des Zuckerrestes und Bildung von 2 Molekülen Methylamin. Die angeführten Tatsachen weisen auf keine eindeutige Struktur hin. Sie sind aber am besten mit einer aliphatischen Azoxyformel vereinbar.

Regenerationshemmende Wirkung einer leucin-ähnlichen Verbindung, des 2-Methyl-4-amino-hexanon-(5)

Im folgenden berichten wir über einige biologische Effekte¹ des 2-Methyl-4-amino-hexanon-(5) (I), einer Verbindung, die sich als strukturähnlich² mit dem Leucin (II) formulieren läßt.



(I)



(II)

Angaben über die von H. KÜHNE durchgeführte Darstellung und die chemischen Eigenschaften dieser Verbindung erfolgen an anderer Stelle. Das Hydrochlorid des 2-Methyl-4-amino-hexanon-(5) schmilzt bei 154° und ist in Wasser gut löslich. Die Verbindung geht in alkalischen Lösungen in Gegenwart von Oxydationsmitteln in das entsprechende Pyrazinderivat über, ist aber in saurer Lösung beständig.

Die Substanz wurde in destilliertem Wasser gelöst und auf ihre biologische Wirkung im Regenerationstest an der Larve des Krallenfrosches *Xenopus laevis* geprüft³. Die Länge der regenerierenden Schwanzspitze war bei den behandelten Tieren gegenüber der Kontrolle (Regenerationslänge = 100%) im 10-Tage-Versuch wesentlich reduziert. Sie betrug bei einer Serie junger Larven von ca. 2,5 cm Länge in der Konzentration 1:10000 0,3%, in 1:20000 8%, in 1:30000 14%, in 1:50000 33%, in 1:100000 47%, in 1:200000 53% und in 1:500000 83%. Bei älteren Tieren von ca. 3 cm Länge war der Effekt etwas geringer, er lag immerhin für die gleichen Konzentrationen zwischen 43% und 83%. Damit gibt die Substanz einen regenerationshemmenden Effekt bei großer Wirkungsbreite und geringer Toxizität, wie er bei zahlreichen anderen, als wachstumshemmend bekannten Substanzen in diesem Ausmaße von uns bisher nicht gefunden wurde⁴. Der Effekt wird durch Zusatz von *l*-Leucin nicht beeinflusst. Das histologische Bild der gehemmten Regenerate zeigt wenige, aber normale Mitosen, dagegen sind die histologischen Umwandlungen im Regenerationsbereich des Schwanzes schon nach 36 Stunden gegenüber den gleich alten Kontrollen deutlich verzögert und vor allem in der

¹ Über die Eigenschaften des entsprechenden, mit Tyrosin isosteren Aminoketons s. H. ERLÉNMEYER und H. KÜHNE, *Helv. chim. acta* 32, 370 (1949).

² Siehe H. ERLÉNMEYER, *Bull. Soc. Chim. biol.* 30, 792 (1948).

³ F. E. LEHMANN, W. BERNHARD, H. HADORN und M. LÜSCHER, *Exper.* 1, 232 (1945); M. LÜSCHER, *Helv. physiol. acta* 4, 465 (1946).

⁴ F. E. LEHMANN, *Exper.* 3, 223 (1947) und unpublizierte Befunde.