

of asymmetry have been preserved. The details of these structure proofs, together with other transformations of the reserpine E ring, will be reported elsewhere.

Pharmacological evaluation of the ethers Id and II and their hydrochloride salts revealed a preponderance of sedative action in mice and dogs without any demonstrable hypotensive effect in dogs. The quieting action of the ethers differed from that caused by reserpine itself in several important respects: The onset of action was within minutes rather than hours. The duration of action was considerably shorter than that of reserpine. Cumulation was not evident upon repeated administration. Oral absorption was rapid and quite complete, since tranquilization of the same degree was achieved in 30 to 60 min following administration by either the oral or intravenous route. In contrast to the experience with reserpine, there was no evidence of drug action on the following day.

There were also distinct differences between the effects of reserpine and those of the ethers upon the gastrointestinal tract of the dog. The latter did not evoke increased motor activity in the small intestine of the dog as recorded from a Thiry-Vella intestinal loop. For this reason undoubtedly diarrhea, which was so common following reserpine in the dog, was not noted following sedative doses of the ethers. Their effect on gastric secretion was less than one-tenth that of reserpine.

A further interesting pharmacological property of the epiethers was the antagonism of the fibrillatory and cardiac depressant actions of aconitine upon the isolated cat heart. The epiethers were considerably more active than the normal ethers of methyl reserpate in this respect.

Zusammenfassung. Durch Umsetzung des Methylreserpates (Ic) mit Diazomethan in Gegenwart von Fluoborsäure wird 18-O-Methylreserpsäure-methylester (Id) gewonnen. Reaktion des 18-O-*p*-Brombenzolsulfonylreserpsäure-methylesters (Ie) mit Methanol und Triäthylamin führt dagegen zum isomeren 18-epi-Methyläther (IIa). Diese Produkte, und besonders ihre wasserlöslichen Hydrochloride, besitzen ausgeprägte sedative Eigenschaften mit schnellem Wirkungseintritt; sie sind aber nicht hypotensiv wirksam.

MICHAEL M. ROBISON, ROBERT A. LUCAS,
H. B. MACPHILLAMY, W. BARRETT,
and A. J. PLUMMER

CIBA Pharmaceutical Products Inc., Summit (N. J.),
November 9, 1960.

Uzarigenin and Desglucouzarin from *Asclepias syriaca* L.

ZECHNER¹ isolated from *Asclepias syriaca* L. of Croatian origin an amorphous glycoside with typical digitaloid effects², which was not chemically characterized in detail. PETRIČIĆ et al.³ showed by paper chromatography the presence in *Asclepias syriaca* L. of five substances which gave a positive Baljet reaction. One of them was isolated in crystalline state; on hydrolysis it yielded rhamnose and glucose but the aglycone was not described.

We have examined *Asclepias syriaca* L. obtained from Western Slovakia. Paper chromatography showed the presence of nine substances, which gave positive reactions with *m*-dinitrobenzene⁴ and with 3, 5-dinitrobenzoic acid⁵.

Ether, chloroform, and chloroform-ethanol (2:1) extracts were prepared in the usual manner from the ethanol extract of the drug, after removal of impurities with lead acetate. From these extracts six substances were obtained

(two in crystalline form) by counter-current separation and chromatography on aluminium oxide.

The first crystalline substance isolated had the formula $C_{23}H_{34}O_4$, m.p. 243–250°C (from diluted ethanol), $[\alpha]_D^{25} = +14.9 \pm 2^\circ$ (ethanol), λ_{max} 218 m μ in ethanol ($\log \epsilon = 4.24$). The aforementioned UV-absorption is typical for an $\alpha\beta$ -unsaturated- γ -lactone. The substance gave a monoacetyl derivative $C_{25}H_{36}O_5$, m.p. 248–256°C (from acetone-ether), $[\alpha]_D^{25} = +3.5 \pm 2^\circ$ (chloroform). The substance was compared with uzarigenin, using as criteria mixed m.p., IR-spectrum, and paper chromatographic behaviour, and was identical.

The second crystalline substance isolated had the formula $C_{23}H_{44}O_9 \cdot H_2O$, m.p. 260–272°C (from diluted ethanol), $[\alpha]_D^{25} = -44.1 \pm 2^\circ$ (pyridine); on acetylation it gave a tetra-acetyl-derivative of the formula $C_{37}H_{58}O_{13}$, m.p. 174–176°C (from acetone-ether); $[\alpha]_D^{25} = -8.85 \pm 3^\circ$ (chloroform); λ_{max} at 217 m μ in ethanol ($\log \epsilon = 4.24$). On hydrolysis with 1% hydrochloric acid in dioxane, it gave uzarigenin and D-glucose. This evidence shows that the isolated substance is a monoglucoside of uzarigenin, viz. desglucouzarin, which has not as yet been obtained from a natural source.

From *Asclepias curassavica* L., a botanically differentiated species⁶ of *Asclepias*, TSCHESCHE et al.^{7,8} were able to isolate uzarigenin besides six other digitaloid genins⁹.

Zusammenfassung. In *Asclepias syriaca* L. wurden neun Cardenolide nachgewiesen. Zwei Substanzen konnten in kristallisiertem Zustand isoliert und eine davon mit Uzarigenin identifiziert werden. Das zweite kristallisierte Produkt war das β -D-Glucosid von Uzarigenin.

Š. BAUER, L. MASLER, O. BAUEROVÁ,
and D. ŠIKL

Department of Chemistry of Natural Products, Slovak Academy of Science, Bratislava (CSR), September 19, 1960.

¹ L. ZECHNER, Sci. pharm. 22, 254 (1954). — Chem. Abstr. 49, 6548 (1955).

² I. IVANČEVIĆ and L. ZECHNER, Lijenčički Vijesnik 63, 255 (1941).

³ J. PETRIČIĆ, M. PORGES, and V. PETRIČIĆ, Naturwissenschaften 46, 448 (1959).

⁴ W. D. RAYMOND, Analyst 63, 478 (1938).

⁵ D. L. KEDDE, Dissertation Leiden (1946).

⁶ A. A. BULLOCK, Kew Bull. 1952, 405.

⁷ R. TSCHESCHE, D. FORSTMANN, and V. K. MOHAN RAO, Chem. Ber. 91, 1204 (1958).

⁸ R. TSCHESCHE, G. SNATZKE, and G. GRIMMER, Naturwissenschaften 46, 263 (1959).

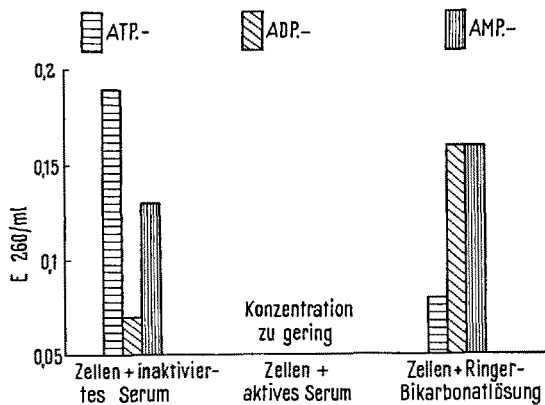
⁹ We thank Prof. R. TSCHESCHE, Hamburg, who kindly supplied us with a sample of uzarigenin. The UV spectra were measured in this Department by J. SUCHÝ.

Zum Mechanismus der Immuncytolyse durch heterologe Antikörper und Komplement

Die Glykolyse von Zellen des Ehrlich-Aszitestumors (EAT) wird durch heterologe Antikörper und Komplement vollständig gehemmt¹. Dabei ist es unklar, ob die zu beobachtende Cytolyse die Ursache oder die Folge der Glykolysehemmung ist. Die Stoffwechseluntersuchungen und die Ergebnisse der Elektronenmikroskopie² gaben Hinweise, dass der Effekt auf die Glykolyse die Folge einer Störung im Stoffwechsel der Adenosintriphosphorsäure (ATP) ist.

¹ CHR. LANDSCHÜTZ, unveröffentlichte Versuche, Tübingen (1957).

² H. J. LÖBLICH und CHR. LANDSCHÜTZ, Z. Krebsforsch. 63, 335 (1960).



Einfluss von heterologem Aszitestumor-Antiserum und Komplement auf ATP, ADP und AMP von EAT-Zellen. Die erhaltenen Extinktionswerte lagen nicht mehr im Gültigkeitsbereich der Methode. Kontrollen: Bei 56°C 30 min erhitztes Antiserum und Ringer-Bikarbonatlösung. Reaktionsdauer 1 min bei 37°C. Auf der Ordinate ist die UV-Absorption bei 260 mμ, der auf der Abszisse aufgetragenen Nukleotidfraktionen angegeben.

Es wurde daher das Verhalten der ATP der EAT-Zelle in Gegenwart von heterologem Antiserum und Komplement untersucht.

Material und Methoden. Alter des EAT, aktives und inaktives Immunserum wie bei ². Bestimmung der Nukleotide: Papierchromatographische Trennung der Adenosin-triphosphorsäure, Adenosindiphosphorsäure (ADP) und Adenosinmonophosphorsäure (AMP), Photoprintverfahren, Elution der Flecken mit $n/10$ M HCl und Messung der relativen Nukleotidkonzentrationen im Beckman-Spektrophotometer. Zu jedem Experiment mit komplementhaltigem Serum wurden zwei Kontrollen angesetzt, eine mit Serum, dessen Komplementaktivität bei 56°C in 30 min zerstört wurde, und eine Kontrolle in Ringer-Bikarbonatlösung. Ansatz: 3,5 ml aktives Serum, inaktiviertes Serum bzw. Ringer-Bikarbonatlösung + 0,5 ml Zellsuspension des EAT 1 min bei 37°C geschüttelt, Medien wurden auf 37°C vorgewärmt. Zentrifugation in auf -10°C gekühlten Zentrifugeneinsätzen in der Kälte, Sedimente mit kalter Trichloressigsäure versetzt.

Ergebnisse. Die Figur zeigt, dass unter den Bedingungen der Immuncytolyse Zellen des EAT eine schnelle und relativ starke Reduktion ihres ATP-, ADP- und AMP-Gehaltes erfahren. Der Effekt ist an die Gegenwart von Komplement gebunden.

Es ist wahrscheinlich, dass der früher beschriebene Strukturverlust der Zelle nach kurzfristigem Einwirken von heterologem Antiserum und Komplement durch den Verlust der ATP bedingt ist ². Ferner erklärt der Schwund der ATP die Hemmung der Glykolyse, da ATP zur Phosphorylierung der Glukose notwendig ist. Der Verlust der Nukleotide kann auf zwei Wegen erfolgen, entweder durch Abbau oder durch Hemmung der Synthese von ATP, jedoch spricht der rapide Schwund der ATP für den ersteren Mechanismus. Es ist nicht ausgeschlossen, dass durch die Antigen-Antikörperreaktion in Gegenwart von Komplement eine fermentative Reaktion an der Zellmembran ausgelöst wird, die in Richtung auf das Innere der Zelle den ATP-Abbau bewirkt. Wie schon früher erläutert wurde ², erfasst der kurzfristige Versuch mit verdünnten Antiseren Vorgänge an der Zelle, die später infolge Austritts von Zellinhalt durch die aufgelockerte Zellmembran nicht mehr zu untersuchen sind ^{2,3}. Die Experimente machen es wahrscheinlich, dass die Ursache der Immuncytolyse ein ungewöhnlich schnelles Verschwinden von energiereichem Phosphat (ATP) aus der Zelle ist.

Summary. Heterologous antibodies of the Ehrlich ascites tumor, in the presence of complement, cause a rapid drop of the ATP in the cells of this tumor. Probably there is a relation between this effect and the immune cytolysis.

CHR. LANDSCHÜTZ ⁴

Lilienstrasse 7, Landstuhl/Pfalz (Deutschland), 28. September 1960.

³ B. GOLDBERG and H. GREEN, J. exp. Med. 109, 505 (1959). – H. GREEN, R. A. FLEISCHER, and B. GOLDBERG, J. exp. Med. 109, 511 (1959).

⁴ Fräulein MARIANNE KAESTNER und Frau CHRISTA DUBA danke ich für ihre gewissenhafte Mitarbeit. Die Untersuchungen wurden 1957–1959 am Max-Planck-Institut für Virusforschung in Tübingen und am Pathologischen Institut der Universität München, zum Teil mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft, durchgeführt.

Molecular Ontogenesis and Molecular Genetics in the Crosses of Toads

An investigation was carried out in order to study the appearance of antigens during the embryonic development of two toad species (*Bufo bufo* L. and *B. viridis* Laur.) and of their reciprocal crosses. It is well known that the *B. bufo* ♀ × *B. viridis* ♂ cross is viable, while the *B. viridis* ♀ × *B. bufo* ♂ cross is lethal: the latter hybrid dies during neurulation and only a few specimens (about 10%) survive and reach a more advanced stage of development.

Rabbits were immunized with powder of the lyophilized total body of *B. bufo* or of *B. viridis*. Bodies of adult male animals without testicles were used as 'total body'. The methods of preparation of the antisera and for testing the antigens in test tubes are described in the references ^{1,2}. We call here anti-bufo the rabbit antiserum prepared against *B. bufo*, and anti-viridis the antiserum prepared against *B. viridis*.

The egg extract does not precipitate with the antisera: the first precipitine reaction appears during the cleavage. Such a reaction is specific for the antigens of the same species. The precipitation in the hybrids is produced by the antisera of both the species. These results mean that substances are synthesized during cleavage under the influence of both paternal and maternal genes. The present experiments were not designed to test whether these substances are in the nucleus, the cytoplasm or both.

But the antigens of the crosses can also be studied to recognize some aspects of the action of genes on the developing molecules.

In the parental species, one antigen (or group of antigens) precipitating from a solution in Weber and Edsall fluid, at a concentration of ammonium sulphate between 30 and 50% of saturation, is species-specific at the early gastrula stage and, at the tail bud stage, it is also precipitated by the antiserum against the other species of *Bufo*.

When it is possible to precipitate the extracted proteins with the antisera prepared against the two species of toads, we tested the same sample first with one antiserum

¹ S. RANZI, P. CITTERIO, and C. SAMUELLI, Ist. Lombardo (Rend. Sci.) [B] 92, 468 (1958).

² S. RANZI, P. CITTERIO, and C. SAMUELLI, Acta embryol. morph. exp. 3, 65 (1960).