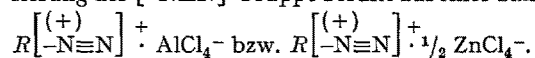


als das wirksamere Nachinkubationsmittel. Die Stabilisierung der  $\left[ \begin{matrix} (+) \\ -N \equiv N \end{matrix} \right]$ -Gruppe beruht auf einer Salzbildung:



Die Anwendung der von uns vorgeschlagenen Methodik hat sich auch am hämatologischen Ausstrich und am Tupfpräparat, wo nach der Eindeckung mit Glycerin-gelatine die Blasenbildung ( $N_2$ ) die Beurteilung des gesamten Ausstrichs unmöglich machen kann, ausgezeichnet bewährt.

Fasst man zusammen, so ergibt sich folgendes Bild: Die Nachinkubation von histochemisch entwickelten Diazoniumsalz-Farbreaktionen mit 1%iger essigsaurer Sulfanilsäurelösung, 5-10%igem Kalialaun, 0,5 molarer salzsaurer  $AlCl_3$ - oder  $ZnCl_2$ -Lösung vermag in einem histologischen oder hämatologischen Ausstrich den Artefakt einer  $N_2$ -Bildung durch Zersetzung von Diazoniumsalz nach dem Eindecken zu verhindern. Die Zeitspanne der Nachinku-

bation sollte je nach Material und Diazoniumsalz empirisch ermittelt werden.

**Summary.** A post-incubation with 1% sulfanilic acid solution in 10%  $CH_3COOH$  (approx. 2-10 min) or 5-10% potash alum or 0.5 mol  $AlCl_3$  in 0,1 *N* HCl—after the histochemical reaction with diazonium salt—prevents  $N_2$  formation. This gas originates from decomposition of tissue adsorbed diazonium salt which occurs after mounting in glycerin jelly. The inhibition of diazo-group disintegration depends, in the case of sulfanilic acid, on the formation of a diazoamino compound or double salt production with aluminium ions in the case of  $AlCl_3$ .

W. MEIER-RUGE und ELISABETH MEIER

Abteilung für experimentelle Pathologie und Histochemie der Sandoz AG, Basel (Schweiz), 1. März 1963.

### Examination of Cannabis Resin by Means of Ferric Chloride Test

Several methods for the characterization of cannabis resin worked out in this Institute have been described in previous papers<sup>1-5</sup>. The present communication deals with the possibilities for characterising the resin by means of a reaction with  $FeCl_3$ .

The technique applied was based on a modified  $FeCl_3$  reaction on cannabis originally described by FULTON<sup>6</sup>. To 10 ml of a 0.05% solution of the resin (i.e. of a dry petrol ether extract of cannabis) in absolute methanol, 0.1 ml of a freshly prepared 1%  $FeCl_3$  solution in absolute methanol is added and the colour developed (A) is recorded. Thereafter, the liquid is divided into two equal parts. To the first part, 1 ml of water is added and the colour (B) observed. To the second part, 1 ml of a 1% ammonium acetate solution in absolute methanol is added at once, quickly mixed up and the colour (C) observed immediately. Corresponding numerical values for the three colours developed are recorded according to the scheme attached. The total sum of the three values is called 'FeCl<sub>3</sub> value'.

Altogether 96 samples of cannabis originating from 17 countries have been examined by means of the above test.  $FeCl_3$  values in various samples have ranged from 0 to 9. The lowest values (0 to 2) have been found in samples from tropical countries which have been classified in previous work<sup>1-5</sup> as belonging to the 'ripe' and 'overripe' type. In addition, decomposed, altered and old samples from other regions also exhibited a low  $FeCl_3$  value. The

highest values (6 to 9) were found in samples which have been classified as 'unripe' by means of other methods<sup>1-5</sup>. Values from 3 to 6 were mostly obtained for the 'intermediate' type of the resin. Detailed results will be tabulated in a document of the United Nations ST/SOA/SER.S series.

Among the constants of cannabis resin which have been studied earlier<sup>3-5</sup>, both the ratio  $E_{300}/E_{310}$ , as obtained by the method of direct ultraviolet spectrophotometry<sup>4</sup>, and the antibiotic potency expressed in penicillin units equivalent to 60 mg of resin<sup>5</sup>, have been found to be closely correlated with  $FeCl_3$  value. As previously explained<sup>4,5</sup>, both constants are connected with the content of cannabidiolic acid in the resin examined.

From various cannabinolic compounds, only cannabidiolic acid exhibited a positive  $FeCl_3$  test. This constituent may be considered as being predominant in fresh cannabis and in samples exhibiting a high  $FeCl_3$  value. The constant is obviously decreased by the progress of gradual conversion of cannabinoids.

Consequently, in addition to previous methods for characterizing cannabis resin,  $FeCl_3$  test may be used as a rough indication of cannabidiolic acid content as well as

<sup>1</sup> L.J. GRLIĆ and A. ANDREC, *Exper.* 17, 325 (1961).

<sup>2</sup> L.J. GRLIĆ, *J. Pharm. Pharmacol.* 13, 637 (1961).

<sup>3</sup> L.J. GRLIĆ, *Acta Pharm. Jugosl.* 11, 123 (1961).

<sup>4</sup> L.J. GRLIĆ, *Farm. Glas.* 17, 424 (1961).

<sup>5</sup> A. RADOŠEVIĆ, M. KUPINIĆ, and L.J. GRLIĆ; *Nature* 195, 1007 (1962).

<sup>6</sup> C. C. FULTON, *Ind. Eng. Chem.* 14, 407 (1942).

Scheme for numerical classification of colours obtained with  $FeCl_3$  test

Colour A	Colour B	Colour C	Value
Violet or blue	Clearly violet, indigo or blue	Purplish red	3
Clearly green or bluish green	Weakly blue or weakly indigo	Transient red	2
Greyish green	Greyish indigo	Transient brownish red	1
Yellowish green	Yellow or brown to green	Immediately brown or yellow	0

an indication of the progress of the 'ripening' process in the resin examined<sup>7</sup>.

<sup>7</sup> *Acknowledgment.* For the supply of cannabis samples the authors are indebted to Division of Narcotic Drugs of the United Nations, Geneva, Dr. C. FARMILLO, Food and Drug Directorate, Ottawa, Professor D. PARREIRAS, Medical Faculty, Rio de Janeiro, and Mr. H. L. GIORDANO, Bureau of Narcotics, Washington.

*Résumé.* Les auteurs ont étudié les colorations obtenues par la résine de chanvre avec le chlorure ferrique et les ont exprimées numériquement en 'indices de FeCl<sub>3</sub>' permettant de caractériser certains types de chanvre; l'indice s'accroît avec la teneur en acide canabidiolique.

LJ. GRLIĆ and N. TOMIĆ

*Institute for the Control of Drugs, Zagreb (Yugoslavia),  
December 27, 1962.*

## STUDIORUM PROGRESSUS

### Paléotempératures indiquées par l'analyse isotopique de fossiles du crétacé inférieur des Hautes-Alpes (France)

#### 1. Situation géographique et rappels stratigraphiques

La région du Dévoluy (département des Hautes-Alpes) offre la possibilité d'effectuer de bonnes coupes des niveaux du Néocomien. Les faciès sont caractéristiques de la zone dauphinoise alpine. Au dessus de la corniche du Tithonique (Kiméridgien supérieur, Portlandien) se présente la puissante série calcaro-marneuse de Néocomien sensu lato. La stratigraphie est bien connue depuis les travaux de LORV<sup>1</sup> repris par FONTES<sup>2</sup>.

De bas en haut se succèdent :

*Le Berriasien*: 50 m de calcaires marneux clairs. Durs à la base, ils deviennent plus marneux au sommet. Ils sont bien datés par de nombreuses Ammonites (*Berriasella chocueracensis* Toucas, *Berriasella oppeli* Kilian, *Berriasella richteri* Quenst., *Berriasella ciliata* Schu.) et une riche microfaune de Calpionelles.

*Le Valanginien*: 200 m de marnes grises ou bleuâtre qui contiennent à leur base une remarquable faune d'Ammonites pyriteuses (*Bochianites neocomiensis* d'Orb., *Neolissoceras grasianum* d'Orb., *Protetragonites quadrisulcatum* d'Orb.) associées à des Lamellibranches et des Gastropodes pyriteux, des Aptychus et des Bélemnites calcitiques (*Duvalia lata* Blainv.).

*L'Hauterivien et le Barrémien pro parte*: 250 m de complexe calcaro-marneux bien délimité à la base par des bancs gréseux qui ont fourni *Crioceras duwali* Lev., espèce hauterivienne caractéristique. Au dessus fait suite une alternance de bancs marneux et de bancs calcaires d'égale épaisseur (70 cm). Dans leurs niveaux inférieurs ces calcaires marneux livrent *Crioceras duwali* Lev., *Phylloceras infundibulum* d'Orb., *Olcostephanus irregularis* Wegner. Une soixantaine de mètres sous le sommet le passage entre l'Hauterivien et le Barrémien est marqué par la présence dans la même couche de *Crioceras villerisianum* d'Orb., espèce qui ne monte guère dans le Barrémien et de *Macroscaphites yvanti* d'Orb., espèce strictement barrémienne. On recueille ensuite une faune pyriteuse à *Barrémites* sp. Enfin ce faciès se termine dans le Barrémien supérieur avec une association faunique à *Pseudothurmannia simionescui* Sark, *Costidiscus recticostatus* d'Orb., *Hamulina subcylindrica* d'Orb. L'ensemble de cette série est surmonté par la seconde corniche calcaire du paysage que l'on peut comparer à la barre urgonienne du Vercors. Mais ici l'absence des Rudistes caractéristiques et la faible épaisseur de cette formation la font qualifier de suburgonienne dans la littérature. La région envisagée se situe à la limite nord de la fosse vocontienne où la sédimentation

reste marneuse pendant tout le Barrémien. Ceci explique les grandes variations d'épaisseur de ce niveau qui passe de 90 m à quelques lentilles en l'espace de 6 km. Les résultats de l'étude de la microfaune semblent indiquer que ce faciès ne se prolonge pas dans l'Aptien (présence de *Orbitolinopsis* cf. *Kilianii* Prev. espèce connue seulement du Barrémien, 50 cm sous le sommet).

Au dessus, une épaisse série marneuse noire est traditionnellement attribuée à l'Aptien-Albien. En fait, aucune macrofaune ou microfaune typiquement aptienne n'a pu être mise en évidence. Seules des considérations d'affinité faunistique ont permis provisoirement de fixer la limite Aptien-Albien quelques 7 ou 8 m au dessus de la barre suburgonienne. La base de ces marnes noires revêt un faciès extrêmement polymorphe (grés glauconieux grossiers, marnes noires, conglomérats à gros éléments, calcaires marneux). Ces variations de faciès et la présence en un point d'un conglomérat à gros éléments ont permis de poser le problème «d'émersions partielles» à la fin du Barrémien dans cette région (FONTES<sup>2</sup>).

#### 2. Collecte des échantillons et problèmes envisagés

Les échantillons destinés à l'analyse isotopique ont été recueillis aux environs immédiats du village de La Cluse en Dévoluy. Les niveaux décrits sont là plus épais et plus fossilifères que dans le reste du Dévoluy. Nous avons effectué plusieurs coupes sérieuses en prélevant sensiblement tous les deux mètres les fossiles calcitiques (Bélemnites, Aptychus et «Becs de Nautilus»). Nous avons ainsi prélevé plus de 400 échantillons. Nous ne présentons ici que les résultats essentiels, c'est à dire: (a) une esquisse de l'évolution des paléotempératures au Crétacé inférieur dans cette région, (b) la possibilité d'utiliser comme matériel d'analyse les Aptychus et les becs de Nautilus au même titre que les Bélemnites, (c) l'appartenance probable à l'Albien des niveaux qui reposent sur la barre suburgonienne, (d) le bon accord général des résultats obtenus avec les données déjà connues dans d'autres régions pour l'intervalle de temps considéré.

#### 3. Analyse et résultats

Les déterminations des paléotempératures furent conduites en utilisant les techniques établies pour l'analyse isotopique de l'oxygène. Elles ont porté sur 20 spécimens de Bélemnites, pour définir une échelle locale de base, et 5 spécimens d'Aptychus pour étudier les corrélations des températures indiquées avec celles de l'échelle de base. Les échantillons présentant des traces d'échanges (calcite secondaire, silice, ou pyrite) ont été soigneusement éliminés.

On a utilisé pour les analyses un spectromètre de masse Atlas-Werke M86 à double collecteur de type Nier. Le

<sup>1</sup> P. LORV, Bull. Soc. Géol. Fr. 3, 26, 335 (1898).

<sup>2</sup> J. C. FONTES, Diplôme d'Etudes Supérieures Paris (1961).