

hypofunction is distinguished by the following characteristic differences. The initial neutrophils peak was suppressed without any influence on lymphopenia and eosinopenia, and in the same way the lymphocytes and eosinophils increase was inhibited in the subsequent intervals. Therefore the hypofunction of the thyroid seems not to influence the lymphopenic and the eosinopenic phase of the stress. However, it is not possible to draw any definitive conclusion from a small number of animals killed at intervals. But the inhibition of the increase of neutrophils, lymphocytes and eosinophils was proved very definitely.

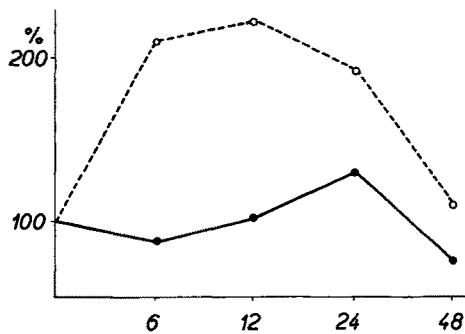


Fig. 3.—The stress changes of neutrophils in the control group (interrupted line) and in the hypothyroid group (full line). The ordinate shows the leucocytes deviation in %, the abscissa indicates the time of examination in hours after the evocation of stress.

The differences were statistically significant. $P < 0.02$ expresses the significance of differences in neutrophils comprising the values of 6th and 12th h; $P < 0.02$ denotes the significant difference of lymphocytes of both groups comprising the values of the 12th and 24th h; $P < 0.01$ denotes the significance of differences of eosinophils at 24th h.

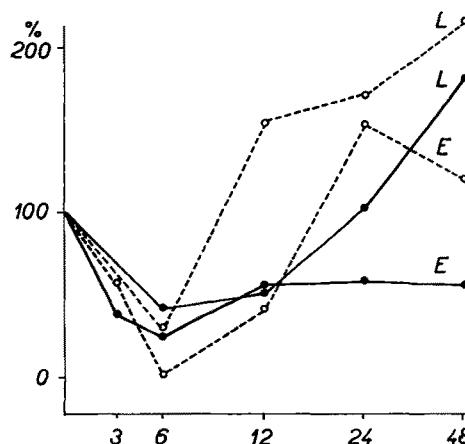


Fig. 4.—The stress changes of lymphocytes (L) and eosinophils (E) in the control group (interrupted line) and in the hypothyroid group (full line), expressed in % of the mean initial value.

There were no differences in the degree of lymphocytes fragmentation between the control and hypothyroid group in the thymus. In the spleen of the control rats, the fragmentation of lymphocytes was followed by the rise of activity in secondary lymph nodules as judged by the characteristics of their light centres². In contrast to this the spleen of hypothyroid rats showed much less intensity

of lymphocytes fragmentation, and the successive rise in the activity of centres was absent. In this connection it is necessary to mention the studies by GYLLENSTEN in which the lymphatic hyperplasia in the guinea pigs was evoked by thyroxine³.

We may conclude that the rats with lowered function of thyroid gland after chronic thyroid feeding show deviation in the stress response of leucocytes. This deviation manifested itself in the prevention of increase of neutrophils, lymphocytes and eosinophils. The rise of activity in secondary nodules of the spleen was also inhibited.

M. POSPIŠIL and M. HILL

Biophysical Institute of the Academy of Sciences and Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, University of Brno (Czechoslovakia), January 30, 1958.

Zusammenfassung

Nach Formalinjektion zeigen mit getrockneter Schilddrüse gefütterte Ratten eine Abweichung der peripheren Leukocytenreaktion. Bei so behandelten Ratten mit Schilddrüsenhypofunktion ist die Vermehrung der Neutrophilen, die Lymphocytose und die Eosinophilie gehemmt. Auch die histologische Kontrolle ergab eine Hemmung der transitorischen Aktivitätssteigerung des lymphoretikulären Milzgewebes.

³ L. GYLLENSTEN, Acta Anatomica 17, Suppl. 18, 1 (1953).

Zur Biogenese pentazyklischer Triterpene in einer höheren Pflanze

Die Gültigkeit der Squalenhypothese bei der Biogenese von Cholesterin und anderen Steroiden (Zymosterin, Ergosterin u.a.), sowie von tetrazyklischen Triterpenen der Lanosteringruppe (Lanosterin und Eburicolsäure) bei Mikroorganismen, Pilzen und höheren Tieren ist durch zahlreiche Arbeiten von BLOCH und anderen Autoren wiederholt bestätigt worden.

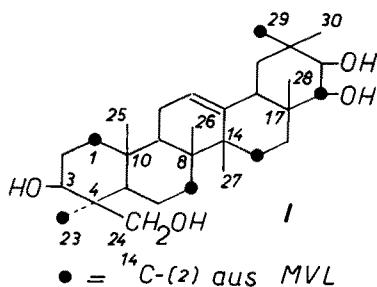
Alle diese tetrazyklischen Verbindungen sind durch einen weitgehend übereinstimmenden räumlichen Bau charakterisiert. Die Squalenhypothese wurde auch herangezogen zur Deutung der Biogenese der anderen, mit Lanosterin stereoisomeren tetrazyklischen Triterpenegruppe (Tirucallol, Euphol u.a.), sowie der zahlreichen pentazyklischen Triterpenverbindungen, für die das Vorkommen im Pflanzenreich besonders charakteristisch ist¹.

Die Übertragung der Squalenhypothese auf diese Verbindungen, die zuerst auf einem Vergleich der verschiedenen Kohlenstoffgerüste beruhte¹ und die man später durch stereoelektronische Betrachtungen stützen konnte², wurde bisher noch nicht einer experimentellen Prüfung unterzogen. In der vorliegenden Mitteilung werden die ersten Ergebnisse einer in dieser Richtung unternommenen Arbeit beschrieben.

¹ L. Ruzicka, A. Eschenmoser und H. Heusser, Exper. 9, 357 (1953).

² A. Eschenmoser, L. Ruzicka, O. Jeger und D. Arigoni, Helv. chim. Acta 38, 1890 (1955). — L. Ruzicka in A. Todd: *Perspectives in organic chemistry* (Interscience Publishers Inc., New York und London 1956), S. 265.

Am Beispiel der Sojabohne wurde die Bildung pentazyklischer Triterpene und von Sitosterin mit Hilfe von ^{14}C -markierten Ausgangsstoffen verfolgt. Zur Untersuchung gelangten fünf Tage alte Keimlinge, denen man die ^{14}C -Substrate in Form einer verdünnten wässrigen Lösung verabreichte. Nach weiterem zehntägigen Wachstum wurde das Pflanzenmaterial (jeweils 20 g) getrocknet, zerrieben und in der üblichen Weise aufgearbeitet.



Dabei erhielt man durch chromatographische Trennung Sitosterin und die bekannten Sojasapogenole. Es sind dies Triterpenverbindungen, die bereits früher in das bekannte Δ^{12} - 3β ,24-Dihydroxy-oleanen übergeführt werden konnten³.

Tabelle I

| Substrate (als Na-Salze) | Sterine | Triterpene |
|---|-----------|------------|
| 0,1 m c $\text{CH}_3\text{-}^{14}\text{COOH}$ | 80 ipm/mg | 78 |
| 0,1 m c $^{14}\text{CH}_3\text{-COOH}$ | 300 | 303 |
| 0,1 m c $2\text{-}^{14}\text{C-MVL}$ | 2500 | 2040 |

Die Ergebnisse von drei solchen Versuchen sind in Tabelle I enthalten. Daraus ist ersichtlich, dass sowohl Methyl- wie Carboxyl-markiertes Azetat am Aufbau des Oleanangerüstes beteiligt ist, wobei die Methylgruppe zu einer wesentlich höheren radioaktiven Ausbeute führt als das Carboxyl, wie schon bei Arbeiten mit Pilzen festgestellt wurde⁴. Die Mevalonsäure (IV) erwies sich noch um fast eine Zehnerpotenz der Methyl-markierten Essigsäure überlegen, in Analogie zu Beobachtungen bei der Cholesterin-Biogenese in Rattenleber-Homogenisaten⁵. Die weitgehende Übereinstimmung der spezifischen Aktivität der Sterin- und der Triterpen-Fraktion in allen drei Versuchen steht im Einklang mit der Hypothese der Entstehung dieser Verbindungen aus einer gemeinsamen Zwischenstufe, dem Squalen. In diesem Zusammenhang ist erwähnenswert, dass Squalen in den unverseifbaren Anteilen verschiedener Pflanzenöle schon vor einiger Zeit nachgewiesen wurde⁶. Die dem Squalen entsprechenden chromatographischen Fraktionen erwiesen sich in den oben beschriebenen Versuchen als radioaktiv, konnten aber bisher wegen der geringen Substanzmengen nicht einwandfrei charakterisiert werden.

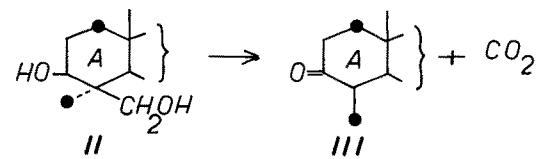
³ A. MEYER, O. JEGER und L. RYZICKA, Helv. chim. Acta 33, 672, 687, 1835 (1950).

⁴ W. G. DAUBEN, Y. BAN und J. H. RICHARDS, J. Amer. chem. Soc. 79, 968 (1957).

⁵ P. A. TAVORMINA, M. H. GIBBS und J. W. HUFF, J. Amer. chem. Soc. 78, 4498 (1956).

⁶ W. DICKHART, Amer. J. Pharm. 127, 359 (1955).

Was die Verteilung der Radioaktivität anbelangt, soll vorläufig nur über die mit 2- ^{14}C -markierter Mevalonsäure erzielten Resultate berichtet werden. Die erhaltenen Sapogenole wurden nach KUHN-ROTH zu Essigsäure oxydiert und letztere nach SCHMIDT zu Kohlendioxyd und Methylamin abgebaut. Letzteres oxydierte man mit Permanganat zu Kohlendioxyd. Die in der Tabelle II zusammengestellten Werte zeigen, dass die C-Atome 4, 8, 10,



14, 17 und 20 (insofern sie durch die Abbaumethode gefasst werden) praktisch frei von Radioaktivität sind. Der Wert für die Aktivität der Methylgruppe in der erhaltenen Essigsäure ist in Übereinstimmung mit demjenigen, den man – unter Zugrundelegung der Squalenhypothese und Beachtung des im Falle von Squalen und Cholesterin von anderen Autoren nachgewiesenen Kondensationsschemas der Mevalonsäure⁷ – für die Anwesenheit zweier markierter C-Atome in Stellung 23 und 29 (bzw. 30) berechnen kann⁸.

Tabelle II

| | Gefunden* ipm/mgC | Ber. nach Squalen- hypothese |
|--|---------------------------------|------------------------------------|
| Sojasapogenol A CH ₃ 23 25 26 27 28 29 COOH 4 10 8 14 17 20 | 73,5 ± 3 83,5 ± 6 6,7 ± 6 | — 91,5 0 |

Von besonderem Interesse ist der Befund, dass das axial angeordnete C(24) keine Aktivität trägt (vg. Tabelle III, sowie die Formeln II und III) und somit der ursprünglichen Methylgruppe der Mevalonsäure entspre-

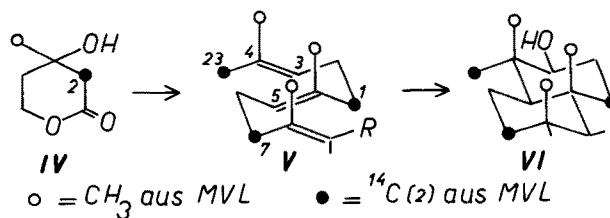
Tabelle III

| | Gefunden ipm/mgC | Berechnet |
|-------------------------------------|---------------------|------------|
| Sojasapogenol D | 73,5 ± 3 | — |
| Nor-Keton | 76,5 ± 3 | 76 |
| CO ₂ aus C(24) | 12,5 ± 6 | 0 bzw. 183 |

⁷ J. W. CORNFORTH, R. M. CORNFORTH, G. POPJAK und J. YOUNOTSKY-GORE, Biochem. J. 66, 108 (1957). – B. H. AMDUR, H. RILING und K. BLOCH, J. Amer. chem. Soc. 79, 2646 (1957). – A. DITURI, S. GURIN und J. L. RABINOWITZ, J. Amer. chem. Soc. 79, 2650 (1957). – O. ISLER, R. RUEGG, J. WURSCH, K. F. GEY und A. PLETSCHER, Chimia 11, 167 (1957). – E. C. GROB, Chimia 11, 338 (1957). – A. J. BIRCH, R. J. ENGLISH, R. A. MASSY-WESTROPP und H. SMITH, Proc. chem. Soc. 1957, 273.

⁸ Vgl. Formel I, worin die Lage der 1,2-Glykolgruppierung noch genauer überprüft werden muss. Die anderen vier C-Atome (1, 7, 15 und 22), die nach dem erwähnten Kondensationsschema aus Mevalonsäure radioaktiv sein müssen, werden beim Abbau nach KUHN-ROTH nicht erfasst.

* Gemessen als CO₂ im Proportional-Zählrohr.



chen muss. Dieses Resultat, welches nicht *a priori* vorausgesagt werden konnte, lässt an und für sich verschiedene Deutungen zu. Im Rahmen der biogenetischen Isoprenregel muss man aber daraus schliessen, dass beim Übergang von Mevalonsäure in Squalen die Decarboxylierung und Wasserabspaltung sterisch streng kontrolliert sind, und dass dadurch in den beiden endständigen Isopreneinheiten des Squalens lediglich eine Methylgruppe markiert ist, nämlich diejenige, die *cis*-ständig zum Wasserstoff am C(3) der Doppelbindung (Formel V) steht. Daraus folgt ferner, dass die Zyklisation zum Ring A ebenfalls streng stereospezifisch und in Sesselfaltung stattfinden muss (vgl. Schema V → VI).

Die mitgeteilten Resultate können als eine erste experimentelle Stütze der biogenetischen Isoprenregel bei pflanzlichen Triterpenen bewertet werden.

Über weitere experimentelle Einzelheiten wird an anderer Stelle ausführlich berichtet werden.

Diese Arbeit wurde durch den Schweizerischen Nationalfonds unterstützt. Ich danke PD Dr. H. KERN und Obergärtner HUMM (Botanisches Institut der ETH) für ihre wertvolle Hilfe bei den Keimungsversuchen, ferner Dr. W. KÜNG für die Ausführung radioaktiver Messungen und schliesslich Prof. L. Ruzicka für die Anregung zu diesen Versuchen. Dr. O. ISLER verdanke ich die verwendete Mevalonsäure.

D. ARIGONI

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidgenössischen Technischen Hochschule, Zürich, 10. März 1958.

Summary

The biosynthesis of pentacyclic triterpenes has been followed in germinating soja-beans with the aid of isotopic tracers.

PRO LABORATORIO

Un dispositif sensible pour la mesure rapide d'attractions et de répulsions tropistiques chez des animaux grégaires

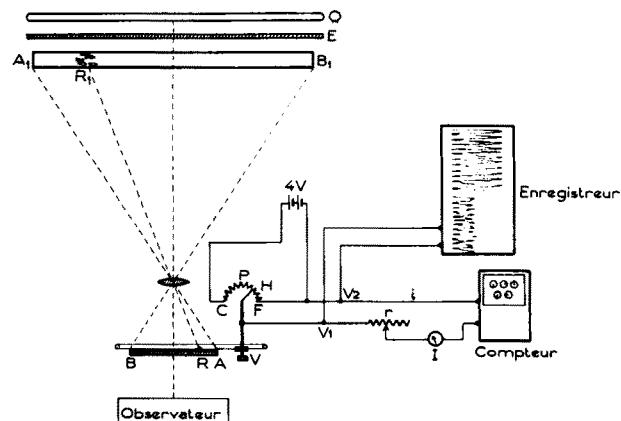
Pour mesurer des attractions et des répulsions tropistiques (phototropisme, chimiotropisme) VIAUD¹ a indiqué une méthode basée sur la mesure des déplacements du centre de gravité (C.G.) de groupes d'animaux. En plaçant un certain nombre d'animaux d'une espèce donnée au milieu d'un long tube cylindrique, il a constaté que la position du C.G. de la population, malgré les déplacements en tous sens des individus, ne change presque pas

¹ G. VIAUD, *Recherches expérimentales sur les Phototropisme des Daphnies* (Thèse, Strasbourg 1938); *Behaviour* 2, 163 (1950).

au cours du temps et se trouve au milieu du tube. Sous l'influence d'un stimulus agissant par un bout du tube, le C.G. momentané se déplace et oscille autour d'une nouvelle position et la distance entre cette nouvelle position et le milieu du tube mesure l'action attractive ou répulsive du stimulus.

Dans la pratique cette méthode consiste à prendre à des intervalles de temps réguliers des photographies instantanées de la position des animaux dans le tube, de déterminer sur chaque cliché le C.G. momentané, puis de calculer la moyenne des positions du C.G. pour chaque condition de stimulation.

Cette méthode de VIAUD s'applique aussi bien à des groupes d'animaux grégaires qu'à des animaux non grégaires. Dans le premier cas on peut cependant simplifier la méthode et la rendre beaucoup plus rapide en substituant aux nombreuses photographies un intégrateur électrique donnant automatiquement le déplacement moyen du C.G. Il nous a été ainsi possible de réaliser un nouveau dispositif que nous allons décrire et qui nous a servi surtout pour la mesure d'attractions et de répulsions tropistiques de poissons grégaires (*Rhodeus amarus* B.).



Dispositif pour la mesure d'attractions et de répulsions tropistiques.
Coupe horizontale.

Une cuve en verre A₁ B₁ (v. Figure) de longueur (70 cm) très grande par rapport aux autres dimensions (7 et 7 cm) contenant un groupe de 5 poissons grégaires, est éclairée uniformément par un écran diffuseur E à l'aide d'une lampe en tube Q. Au moyen d'une lentille L on projette l'image de la cuve sur un écran semi-transparent AB. Le long de cet écran on peut glisser un index mobile vertical R à l'aide d'un bouton tournant V. L'observateur suivra toujours les déplacements apparents de la position du C.G. (R₁) en manœuvrant cet index. Cette opération est très aisée puisque les poissons forment un groupe qui occupe toujours un petit espace dans la cuve, de façon qu'on peut facilement localiser visuellement le C.G. du groupe.