

was mit dem über die gegenseitige Stellung der Sulfanilamido- und der Methoxygruppen gesagten übereinstimmt. Der Ersatz des Methoxyls durch die Methylmercaptogruppe übte einen recht ungünstigen Einfluss auf die chemotherapeutische Wirksamkeit aus (I-3064, I-3068, I-3065).

Bei der Synthese der besprochenen Sulfonamide benutzten wir folgende Verfahren:

1. Sulfanilierung der betreffenden 2-Amino- bzw. 4-Amino-alkoxy-pyrimidine durch Einwirkung von *p*-Acetamidobenzensulfochlorid im Pyridin (Methode A).

2. Behandeln von Na-Sulfanilamid mit den entsprechenden Alkoxy-pyrimidyl-4-trimethylammoniumchloriden nach BRETSCHNEIDER und KLÜTZER² (Methode B).

3. Verschmelzen einer Mischung von Sulfanilamid, 4-Chlor-2-methylmercapto-alkoxy-pyrimidin und Pottasche (Methode C).

4. 2-Sulfanilamido-4-hydroxy-5-methoxypyrimidin wurde durch Kondensation von Sulfaguanidin mit dem Na-Enolat des Methoxyformyllessigsäuremethylesters dargestellt (Methode D).

Summary. Some new 2- and 4-sulfanilamido-5-alkoxy-pyrimidines and their hydroxy-, methoxy-, methylmercapto- and methyl-derivatives were prepared. All of the substances described were tested on white mice infected with *Streptococcus pyogenes*.

Z. BUDĚŠÍNSKÝ und V. BYDŽOVSKÝ

Forschungsinstitut für Pharmazie und Biochemie, Praha (Czechoslovakia), 4. November 1960.

cis-Cyclohexane-1,2-Diol in the Beaver Gland

We wish to report the isolation of the title compound from the scent glands of the Canadian beaver. The glands were extracted with alcohol and the 'basic' material, obtained from this extract by a conventional distribution between ether and aqueous sulfuric acid, was subjected to a fractional distillation. A fraction boiling at 80–125° (0.08 mm Hg) proved to be crude *cis*-cyclohexane-1,2-diol, while the following oily fraction was almost pure castoramine (125–135°/0.08 mm Hg)¹. A clean separation of the two compounds could then be achieved by alumina chromatography. The appearance of the diol in the basic extract is due to the fact that its solubilities in ether and water are of a comparable magnitude. Additional amounts could therefore be obtained by a continuous ether extraction of the appropriate aqueous layers (total yield = 0.2% of semi-dried glands).

The diol, purified by distillation, chromatography and crystallization from ether (m.p. 96–97°) proved to be identical in all respects (m.p., mixed m.p., IR, NMR) with a synthetic specimen prepared by oxidation of cyclohexene with sodium chlorate and osmium tetroxide². The identity was further confirmed by the preparation of the crystalline dibenzoate.

cis-Cyclohexane-1,2-diol has not been previously reported as a beaver gland constituent³, and, to our knowledge, this communication describes its first isolation from a natural source. It is tempting to speculate that the diol is produced by the beaver by the reduction of catechol (or its derivative), a compound present in the beaver gland³.

Zusammenfassung. Aus den Biberdrüsen wurde *cis*-Cyclohexan-1,2-diol isoliert und charakterisiert.

Z. VALENTA⁴, A. KHALEQUE, and M. H. RASHID

Department of Chemistry, University of New Brunswick, Fredericton (N.B.), November 21, 1960.

¹ Z. VALENTA and A. KHALEQUE, Tetrahedron Letters 12, 1 (1959).

² J. BÖESEKEN and J. VAN GIFFEN, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas 39, 183 (1920).

³ E. LEDERER, Parfum. essent. Oil Rec. 40, 353 (1949).

⁴ The support of this work by the Colombo Plan administration of Canada is gratefully acknowledged.

Effect of Iproniazid on Pregnancy

From the observations that reserpine influences the vaginal cycle and reduces fertility in rats^{1,2}, it has been concluded that serotonin may interfere with pregnancy³. Thus POULSON et al.³ have shown that serotonin can inhibit implantation and can terminate an established pregnancy in mice; they further demonstrated that implantation can also be prevented by injecting large doses of 5–10 mg of iproniazid per mouse and day over 6 days. It seemed important to know, if this effect of iproniazid on implantation can be considered specific or whether it is a side effect appearing only with high doses. We therefore tried to find inhibition of implantation in mice with smaller doses and with shorter treatment.

The results are given in the accompanying Table. It appears that, with the exception of a single series, the iproniazid treated mice showed the same frequency of pregnancies as their controls, irrespective of dose or time of administration of the drug during the critical period of implantation. Also the number of young per litter was the same in treated and in control animals. The table also shows that reduced fertility after 100 mg/kg on day 5 of pregnancy was only observed in one group of animals, but not in a second parallel series of mice.

From our experiments, we conclude that iproniazid does not interfere with implantation in our mice. The discrepancy between our results and those of POULSON et al.³ is difficult to explain. The discrepancy could be accounted for by assuming a metabolic difference in the animals used. Or one can argue that treatment with 200 mg/kg of iproniazid on 6 consecutive days has unfavorably altered the endocrine balance by interference on the level of the hypothalamo-pituitary axis. TUCHMANN-DUPLESSIS' experiments² show that reserpine probably interferes with implantation by acting on the level of the pituitary. Typically, when placentation was complete, the effect of reserpine on fertility diminished, and this is just what happened also in POULSON's et al. experiments with iproniazid³: In the second half of pregnancy the effect of iproniazid was practically nil, while sensitivity to exogenous serotonin was much greater than in the first half of pregnancy. SPECTOR⁴ working with another M.A.O. inhibitor, chronically given to rats and mice with the effect of reduced fertility, also offers as an alternative to specific action at the site of implantation the same explanation, i.e. that M.A.O. inhibitors may well act *via* the central nervous system and the pituitary, and this is made very probable by the recent paper of KHAZAN et al.⁵. Our conclusion is, therefore, that M.A.O. inhibitors may under certain conditions indirectly interfere with implantation, but that this action is not to be considered a specific one.

¹ R. GAUNT, A. A. RENZI, N. ANTONCHAK, G. J. MILLER, and M. GILMAN, Ann. N.Y. Acad. Sci. 59, 22 (1954).

² H. TUCHMANN-DUPLESSIS and L. MERCIER PAROT, C. R. Acad. Sci. (Paris) 243, 410 (1956).

³ E. POULSON, M. BOTROS, and J. M. ROBSON, Science 131, 1101 (1960).

⁴ W. G. SPECTOR, Nature 187, 515 (1960).

⁵ N. KHAZAN, F. G. SULMAN, and H. Z. WINNIK, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 105, 201 (1960).

Iproniazid and implantation in mice.

Days of pregnancy were counted with day 1 as the day on which the vaginal plug was observed. Injections in saline subcutaneously

Iproniazid mg/kg	Day of treatment	Number of successful pregnancies <i>versus</i> number of ♀ with vaginal plugs
2 × 12	6, 7	6/6
2 × 25	6, 7	6/6
2 × 50	6, 7	3/3
2 × 100	6, 7	9/10
2 × 200	6, 7	2/2
0		8/8
100	6	4/4
100	5	3/6
100	5	3/3
0		8/10
100, 50	4, 5	3/4
100	4	2/3
0		2/3
2 × 100	4, 5	12/12
0		14/16

Zusammenfassung. Iproniazid-Behandlung von befruchteten Mäusen soll durch Serotoninanhäufung mit der Implantation interferieren. Unsere gezielteren Versuche ergaben bei mit Iproniazid behandelten Mäusen normale Fruchtbarkeit. Wir schliessen, dass Iproniazid nicht spezifisch mit der Implantation interferieren kann.

E. FLÜCKIGER and R. SALZMANN

Pharmakologische Laboratorien, SANDOZ AG, Basel, December 20, 1960.

Serotoninantagonismus an der Placenta

Serotonin-Injektionen lösen bei Ratte und Maus leicht Infarzierungen verschiedener Organe aus, weshalb vorgeschlagen wurde, diese Erscheinung an der Ratteniere zur Testierung von Serotoninantagonisten zu verwenden¹; die hierfür verwendete intraperitoneale Dosis von Serotonin beträgt 100 mg/kg. Wir haben festgestellt, dass die Placenta in der zweiten Hälfte der Tragzeit bei Maus und Ratte auf bedeutend geringere Mengen subkutan verabreichtes Serotonin anspricht, ohne dass in der Niere oder einem anderen Organ makroskopisch Infarkterscheinungen beobachtet werden. Die vaskuläre Reaktion der Placenta auf Serotonin führt bei geeigneter Dosierung zum Tod der Foeten inners 3–4 h. Dieser Serotonineffekt schien uns dank seiner Eindeutigkeit und Raschheit geeignet, die Wirksamkeit von Serotoninantagonisten miteinander zu vergleichen.

Serotonin in 0,9% NaCl wurde subkutan 17–19 Tage trächtigen Mäusen 30 min nach Vorbehandlung injiziert. Die Vorbehandlung bestand in subkutaner Injektion von 0,3–0,5 cm³ 0,9% NaCl mit oder ohne Antagonist. 4 h nach der Serotonininjektion wurden die Tiere im Äther-rausch dekapitiert und geöffnet: In den eröffneten Uteri wurde die Zahl der toten und lebenden Foeten gezählt und der Zustand der Placenta notiert. Als Kriterium für den Serotoninantagonismus wurde also das Überleben von Foeten nach einer sicher tötenden Serotoninindosis verwendet. Im Bereich der ED₅₀ wurden pro Dosis minimal 5 Weibchen bzw. 50 Foeten zur Beurteilung der Schutzwirkung verwendet. Die ED₅₀ der Serotonin-Antagonisten wurde nach der Probit-Methode graphisch ermittelt.

Folgende Stoffe wurden verglichen: 1. D-Lysergsäure-diaethylamid (LSD-25, Delysid®). 2. 1-Methyl-D-Lysergsäure-propanolamid (PML-946). 3. 1-Methyl-D-Lysergsäure-butanolamid (UML-491, Deseril®).

Resultate. Nach Vorversuchen wurden als Serotonindosis 15 mg/kg und eine Wartefrist von 4 h gewählt: bei insgesamt 26 Kontrolltieren wurden so 144 von 152 Foeten getötet.

Die drei untersuchten Serotoninantagonisten erwiesen sich auch in dieser Versuchsanordnung als stark aktiv: Ihre Dosis-Wirkungskurven verlaufen im mittleren Wirkungsbereich parallel zueinander, so dass ein direkter Vergleich ihrer ED₅₀ zulässig ist.

Für LSD wurde eine ED₅₀ von ca. 30 µg/kg ermittelt. PML erzielte eine ED₅₀ von 9 µg/kg, und für UML wurde bei 3,7 µg/kg Maus noch eine 50%ige Schutzwirkung gefunden. UML (Deseril®) erwies sich somit als rund 8mal wirksamer als LSD und ca. 2,5mal wirksamer als sein Propanolanalogen PML.

Am Serotoninödem der Rattenpfote wurde ein Aktivitätsverhältnis LSD:PML:UML von 1:2,6:4,4 gefunden² und am isolierten Rattenuterus ist UML 4mal stärker serotoninhemmend als LSD³. An der Placenta kann sich, wie die vorliegenden Versuche ergaben, der die Serotoninhemmung steigernde Effekt der 1-Methylierung der D-Lysergsäure noch stärker entfalten; dies wird besonders deutlich beim Vergleich der verwendeten Dosen von Agonist und Antagonist, die im Falle von UML (Deseril®) bei 50% Hemmwirkung an der Placenta sich wie 1:4000 verhalten.

Es dürfte deshalb von Interesse sein, den Wirkungsmechanismus, der diesem Antagonismus an der Placenta zugrunde liegt, näher zu untersuchen.

Summary. The placentae of 17 to 19 days pregnant mice respond to subcutaneous serotonin (15 mg/kg) with vascular changes which lead to the death of the fetuses in 3–4 h. Pretreatment of the females with D-lysergic acid derivatives preserves the life of the young. Thus, LSD showed an ED₅₀ of only 30 µg/kg, while UML (Deseril®) gave an ED₅₀ of 3.7 µg/kg. PML takes an intermediate position. At a 50% efficiency level, UML (Deseril®) antagonises the effect of a 4000 times higher dose of serotonin.

E. FLÜCKIGER und R. SALZMANN

Pharmakologische Laboratorien der SANDOZ AG., Basel, 29. Dezember 1960.

¹ G. JASMIN und P. BOIS, Labor. Investig. 9, 503 (1960).

² W. DOEPFNER und A. CERLETTI, Int. Arch. Allergy 12, 89 (1958).

³ A. FANCHAMPS, W. DOEPFNER, H. WEIDMANN und A. CERLETTI, Schweiz. med. Wschr. 90, 1040 (1960).

PRO EXPERIMENTIS

The First Axenic Cultivation of a Rotifer Species¹

The cultivation, in the absence of living organisms (and living cells) of other species, for long periods and with repeated subculturing—in other words, the sustained *axenic* cultivation—of members of the aschelminth Class Rotifera has not been claimed heretofore². Two groups of

¹ The early part of this work was done at the Laboratory of Comparative Biology, Kaiser Foundation Research Institute, Richmond (California) and was supported, in part, by Grants G-6018 and G-13138 from the National Science Foundation.

² Except in a brief abstract: E. C. DOUGHERTY, B. SOLBERG, and D. JOANNE FERRAL, Anat. Rec. 138, 344 (1960).