

hellgelbe Hemmungszonen sichtbar sind. Die rotbraune Farbe rührt von der Reduktion von Triphenyltetrazoliumsalz ins zugehörige Formazan her. 6-Aminopenicillansäure, welche mikrobiologisch unwirksam ist, wurde auf der Platte vor der Sichtbarmachung ins aktive Benzylpenicillin (Penicillin G) verwandelt. Direkt nachweisbar sind: Penicillin V und G, 2, 6-Dimethoxybenzylpenicillin, 6-Aminopenicillansäure, Tetracyclin, Anhydrotetracyclin, Hydroxytetracyclin, Chlorotetracyclin, Demethyltetracyclin, Anhydrodemethyltetracyclin, Desoxytetracyclin, Anhydrochlorotetracyclin und Rifomicin B, O, S und SV.

### A Simple Detection of Fat-Soluble Vitamins on Alumina Thin Layer-Chromatograms

For the detection of fat-soluble vitamins after chromatographic separation on thin alumina layer, 70% perchloric acid and 98% sulfuric acid proved to be useful. Similar reactions have been previously described<sup>1-5</sup> and some have even been used for colorimetric determination. A survey of colours given by individual fat-soluble vitamins (Vitamin and provitamins A, vitamin D<sub>2</sub>, E, K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub>, K<sub>3</sub>) is listed in the Table. The method is advantageous because of the stability of the reaction products and because alumina itself gives no coloration with the agents mentioned. The application of the acids is performed in such a way that the chromatograms after the develop-

Colour reactions of fat-soluble vitamins with some acids

Vitamin	70% perchloric acid	98% sulfuric acid
A	violet	blue violet
D <sub>2</sub>	orange brown	orange red
E	brown	brown
K <sub>1</sub>	yellow brown	yellow brown
K <sub>2</sub>	yellow brown	yellow brown
K <sub>3</sub>	yellow brown	yellow brown
Provitamins A	blue	blue

### Eine einfache Methode zur Gewinnung von Exuvialflüssigkeit bei der Honigbiene (*Apis mellifica* L.)

Die Exuvialflüssigkeit, welche beim Häutungsvorgang der Insekten von den Epidermiszellen in den entstehenden Spaltraum zwischen Matrix und Cuticula abgeschieden wird und durch ihre Fermente (Chitinasen und Proteinasen) die alte Endocuticula von innen her auflöst, ist meines Wissens bis jetzt nur bei der Wanze *Rhodnius prolixus*<sup>1,2</sup>, beim Mehlkäfer (*Tenebrio molitor*)<sup>3</sup>, dem Riesenseidenspinner (*Platysamia cecropia*)<sup>4</sup> und beim Maulbeerspinner (*Bombyx mori*)<sup>5,6</sup> untersucht worden. Der Grund mag wohl der sein, dass die Gewinnung einer genügenden Menge dieses Sekretes für die biochemische Untersuchung im allgemeinen sehr schwierig ist.

Ich bin in der Lage, hier eine einfache Methode zu beschreiben, welche gestattet, bei Arbeiterinnen- und Drohnenlarven der Honigbiene grössere Mengen von Exuvialflüssigkeit zu gewinnen. Das Verfahren beruht auf der Beobachtung, dass die normale Verpuppung der Biene nicht nur von der Tätigkeit der endokrinen Organe, son-

**Summary.** Numerous tetracyclines, penicillins and rifomycins on thin layer chromatograms may be detected by microbiological development with *Sarcina lutea* and *Bacillus subtilis* in the presence of triphenyltetrazolium salts. This technique is exceptionally sensitive (0.01–0.1%), the inhibition zones being much sharper than on paper chromatograms.

B. J. R. NICOLAUS, C. CORONELLI und A. BINAGHI  
*Laboratori di Ricerca della Lepetit S.p.A. Milano (Italien), 22. Juni 1961.*

ment are first air-dried and then the acid is made to soak into the alumina layer in a direction perpendicular to that of the previous development (a technique similar to the proper chromatography). The coloration is visual immediately in the wet state, but its intensity decreases slowly (6 h). This method proved valuable, since no destruction of the alumina layer takes place as in case of the spraying technique.

**Zusammenfassung.** Unter Verwendung von 70prozentiger Perchlorsäure und 98prozentiger Schwefelsäure wurde eine einfache Technik zur Detektion der fettlöslichen Vitamine auf Aluminiumoxyd-Dünnschicht-Chromatogrammen ausgearbeitet.

J. BLATTNÁ and J. DAVÍDEK

*Central Research Institute of Food Industry, Prague, and Department of Chemistry and Control of Food Institute of Chemical Technology, Prague (Czechoslovakia), March 21, 1961.*

- A. E. PACINI and M. H. TARAS, J. Amer. pharm. Assoc. 26, 721 (1937).
- P. FLESH, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 84, 148 (1953).
- F. ČUTA and J. ČELIKOVSKÝ, Chem. Listy 48, 1346 (1954).
- S. UENO, Ind. Eng. Chem. 7, 596 (1915).
- E. D. ROBIN, Science 102, 17 (1945).

dern auch vom Vorhandensein des Larvengespinstes (Kokon) abhängig ist<sup>7-10</sup>. Ohne dieses Gespinst oder eine Unterlage von gleichwertiger Oberflächenbeschaffenheit tritt die letzte Larvenhäutung, das heisst die Häutung der Larve zur Puppe entweder gar nicht ein oder verläuft regelwidrig, so dass höchstens mehr oder weniger verkrüppelte und lebensunfähige Imagines entstehen. Man kann sich davon leicht überzeugen, wenn man ausgewachsene

- V. B. WIGGLESWORTH, Quart. J. micr. Sci. 76, 270 (1933).
- V. B. WIGGLESWORTH, The Principle of Insect Physiology (Methuen & Co. Ltd., London 1950), p. 32.
- CH. JEUNIAUX, Arch. int. Physiol. Biochim. 63, 114 (1955).
- J. V. PASSONNEAU und C. M. WILLIAMS, J. exp. Biol. Med. 30, 545 (1953).
- Y. HAMAMURA, S. JIDA und M. OTSUKA, Bull. agric. Chem. Soc. Japan 16 (1940).
- CH. JEUNIAUX und M. AMANIEU, Arch. int. Physiol. Biochim. 63, 94 (1955); Exper. 11, 195 (1955).
- A. V. VELICH, Z. wiss. Zool. 136, 210 (1930).
- W. FYG, Mitt. Schweiz. entomol. Ges. 29, 317 (1956).
- W. FYG, Insectes sociaux 4, 327 (1957).
- W. FYG, Schweiz. Bztg. 81, 387 (1958).

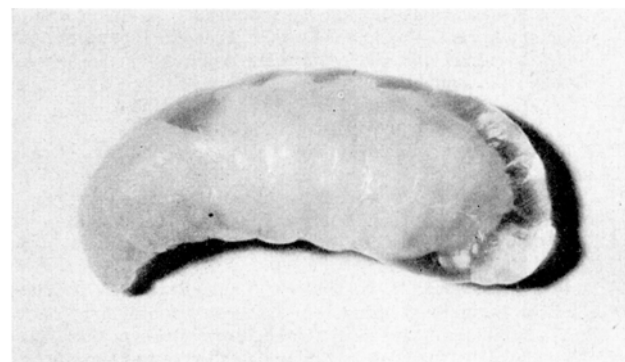
Bienenlarven kurz nach der Beendigung des Spinnens als junge Streckmaden vorsichtig aus den bedeckelten Wabenzellen und damit aus ihrem Kokon nimmt und sie im Brutschrank bei einer Temperatur von 34,5–35° C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 40–60% in flachen Glasschalen aufzieht. Bei allen Streckmaden beginnt in diesem Fall nach 12–24 h ganz normal eine Abscheidung von Exuvialflüssigkeit unter der sich allmählich abheben der Cuticula. Parallel mit der nun einsetzenden Gliederung des Larvenkörpers nimmt sie rasch zu und erfolgt bei vielen Tieren so überaus reichlich, dass der Körper, vor allem am analen Ende, bald einmal von einem abnorm grossen transparenten Flüssigkeitssack umhüllt wird (Figur). Die Larvenexuvie wird aber häufig nicht abgestreift und die Entwicklung bleibt dann auf diesem Stadium der Metamorphose stehen. Durchsticht man jetzt die dünne, durchsichtige Larvenhaut auf der Dorsalseite zwischen Thorax und Abdomen oder terminal mit einer

feinen Glaspipette, so lässt sich die klare, farblose Häutungsflüssigkeit ohne Schwierigkeit vollkommen rein absaugen. Eine Arbeiterinnenlarve liefert etwa 0,2–0,3 ccm, eine Drohnenlarve 0,4–0,5 ccm Sekret. Allzulange darf man mit der Gewinnung der Exuvialflüssigkeit jedoch nicht zuwarten, da sich die Larvenhaut nach 2–3 Tagen in der Regel zu bräunen und das Sekret sich zu trüben beginnt. Die Trübung ist vorwiegend auf das Eindringen von Fettkörperzellen in die Häutungsflüssigkeit zurückzuführen. Ich vermute, dass die Fermente der aufgestauten Exuvialflüssigkeit besonders auf der Ventralseite des Abdomens die neugebildete Cuticula auflösen und so die Infiltration bewirken.

Da man im Frühling und Sommer jedem normalen Bienenvolk ohne Mühe geeignete Arbeiterinnen- und Drohnenlarven in grosser Zahl entnehmen kann, dürfte es nunmehr leicht sein, auf diese Weise eine genügende Menge Exuvialflüssigkeit für die biochemische Untersuchung zu gewinnen.

**Summary.** A simple method is described for obtaining the ecdysial fluid of the honeybee. For this purpose, full-grown worker and drone larvae are taken out of the cells and their cocoons as young prepupae shortly after termination of spinning. They are raised at a temperature of 34.5° to 35° C. The secretion of the moulting fluid begins 12 to 24 h later in all larvae which are ready to pupate. In larvae without a cocoon, the casting of the old cuticle does often not occur, or is incomplete. The secretion gathers abundantly in the body region under the larval skin and can be sucked off without difficulty with fine glass pipettes in a completely pure state for the biochemical analysis.

W. FYG



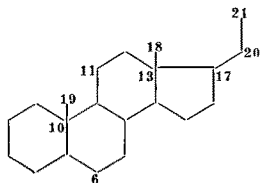
In Verwandlung begriffene Drohnenlarve mit grossem Exuvialflüssigkeitssack.

*Bienenabteilung der Eidg. milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt Liebefeld, Bern (Schweiz), 5. Juli 1961.*

## STUDIORUM PROGRESSUS

### Neue Substitutionsreaktionen bei Steroiden<sup>1,2</sup>

Die Einführung von funktionellen Gruppen und insbesondere von Sauerstofffunktionen in der Seitenkette und an den sekundären und tertiären Kohlenstoffatomen des Ringgerüsts von Steroiden bietet im allgemeinen keine grossen Schwierigkeiten. Sie kann in allen Fällen über



aktivierende Nachbargruppen wie Ketone, Doppelbindungen und dgl. erreicht werden. Anders liegen die Verhältnisse bei den angulären Methylgruppen C-18 und C-19, wo dieser Angriffsweg durch die quartäre Natur der Haftstellen C-10 und C-13 verschlossen ist. Gerade die 18- und 19-oxygenierten Steroide haben aber, einerseits im Zusammenhang mit der Partialsynthese von Aldosteron<sup>3</sup>, andererseits als Ausgangsstoffe für die Herstellung von 19-Nor-steroiden vermehrtes Interesse gewonnen. Reak-

tionen, die zur Substitution dieser nicht aktivierten Methylgruppen führen, sind insbesondere im organisch-chemischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule<sup>4</sup>, aber auch an andern Orten bearbeitet worden. So konnten 18- bzw. 19-substituierte Steroide, zum Beispiel durch Zersetzung von N-Chlor-20-aminosteroiden oder 21-Diazoverbindungen, durch Bestrahlung von 20-Ketonen, durch Spaltung von 6 $\beta$ -<sup>5</sup> oder 20-Bleialkoholaten<sup>4,6</sup> und durch die von BARTON<sup>7</sup> untersuchte photochemische Zersetzung von 6 $\beta$ -, 11 $\beta$ - und 20-Nitritestern hergestellt werden.

<sup>1</sup> Vorgetragen von CH. MEYSTRE am 23. 9. 61 anlässlich der Sommerversammlung der Schweiz. Chem. Gesellschaft in Biel (vgl. *Chimia* 15, (1961), im Druck).

<sup>2</sup> Über Steroide 180. Mitteilung. 179. Mitt. vgl. A. WETTSTEIN, *Exper.* 17, 329 (1961).

<sup>3</sup> Vgl. K. HEUSLER, J. KALVODA, CH. MEYSTRE, P. WIELAND, G. ANNER, A. WETTSTEIN, G. CAINELLI, D. ARIGONI und O. JEGGER, *Helv. chim. Acta* 44, 502 (1961) und frühere Literatur daselbst.

<sup>4</sup> K. SCHAFFNER, D. ARIGONI und O. JEGGER, *Exper.* 16, 169 (1960).

<sup>5</sup> A. BOWERS, L. C. IBANEZ, E. CABEZAS und H. J. RINGOLD, *Chem. and Ind.* 1960, 1299.

<sup>6</sup> Vgl. G. CAINELLI, B. KAMBER, J. KELLER, M. L. J. MIHAJLOVIC, D. ARIGONI und O. JEGGER, *Helv. chim. Acta* 44, 518 (1961).

<sup>7</sup> (a) D. H. R. BARTON, J. M. BEATON, L. E. GELLER und M. M. PECHET, *J. Amer. chem. Soc.* 82, 2640 (1960). – (b) D. H. R. BARTON und J. M. BEATON, *J. Amer. chem. Soc.* 82, 2641 (1960). – (c) A. L. NUSSBAUM, F. E. CARLON, E. P. OLIVETO, E. TOWNLEY, P. KARASAKALIAN und D. H. R. BARTON, *J. Amer. chem. Soc.* 82, 2973 (1960).