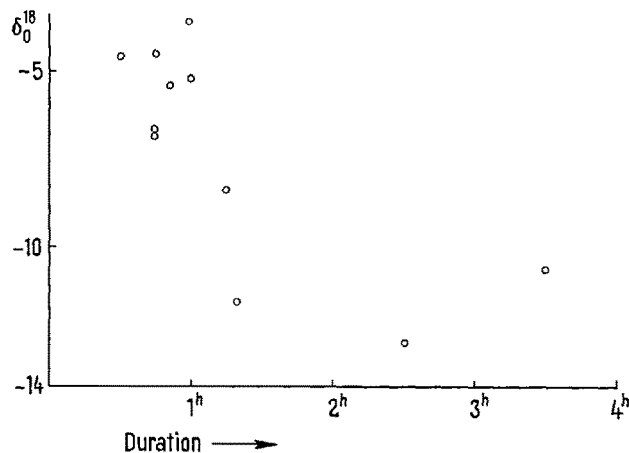


Tab. II. Collecting data and oxygen isotopic composition of rain samples from the North Atlantic

Sample num- bers	Collection date	Local time of com- mencement	Duration	Position	$\delta_{O^{18}}$ (SMOW)
R 1	23 may 1961	11.30 a.m.	10 min	36° 43' N 15° 13' W	— 1.7
R 2	23 may 1961	1.00 p.m.	5 min	36° 44' N 15° 34' W	— 3.3
R 3	23 may 1961	9.00 p.m.	5 min	37° 00' N 16° 50' W	— 2.5
R 4	24 may 1961	0.30 a.m.	10 min	37° 05' N 16° 58' W	— 6.3
R 5	24 may 1961	8.00 a.m.	20 min	37° 23' N 18° 57' W	— 5.9
R 6	25 may 1961	8.30 a.m.	10 min	38° 00' N 22° 14' W	— 4.1
R 7	27 may 1961	4.00 p.m.	30 min	40° 25' N 33° 40' W	— 0.1
R 8	6 june 1961	12.00 a.m.	30 min	51° 46' N 54° 09' W	— 4.6
R 9	6 june 1961	8.30 p.m.	1 h 15 min	51° 43' N 54° 11' W	— 8.4
R 10	6 june 1961	11.30 p.m.	45 min	51° 47' N 54° 07' W	— 6.7
R 11	11 june 1961	5.00 a.m.	2 h 30 min	53° 49' N 54° 01' W	— 12.7
R 12	12 june 1961	11.00 p.m.	1 h 20 min	53° 57' N 54° 07' W	— 11.3
R 13	13 june 1961	6.00 p.m.	45 min	53° 52' N 54° 08' W	— 4.5
R 14	13 june 1961	9.00 p.m.	3 h 30 min	54° 03' N 54° 09' W	— 10.6
R 15	14 june 1961	4.00 a.m.	1 h 00 min	53° 56' N 54° 05' W	— 3.6
R 16	23 june 1961	4.00 p.m.	1 h 00 min	52° 40' N 54° 20' W	— 5.2
R 17	25 june 1961	11.30 p.m.	45 min	51° 26' N 53° 59' W	— 6.8
R 18	30 june 1961	10.30 p.m.	50 min	48° 04' N 51° 36' W	— 5.4



Oxygen isotopic composition and durations of rains during which samples were collected in the North Atlantic (samples R 8–R 18 of Table II)

water as, for instance, vapour which had previously given place to rain. From the comparison of Table I and Table II it is evident that, at the same latitudes, the δ values of rains are always more negative than those of fogs.

The rain samples can be divided into two groups because of the different latitude of collection. While the first seven samples have been collected between 36° 43' N and 40° 25' N, the other ones come from latitudes between 48° 04' N and 54° 03' N. The samples from the first group show a mean O^{18} content which is generally higher than that of the samples of the second group (see ⁴ and ⁵). Generally the rains at latitudes lower than 41° N have been very short ones and had the character of squalls. Also some rains collected at latitudes higher than 48° N have been rather short. Generally (Figure) the O^{18} content of these short rains is higher than that of longer rains. This is in agreement with the observations of EPSTEIN⁴ that normally the O^{18} content of rainwater decreases in time⁶.

Riassunto. È stata determinata la composizione isotopica dell'ossigeno in campioni di nebbia e di pioggia raccolti principalmente nell'Atlantico nord-occidentale. I risultati mostrano che la nebbia deriva, almeno in buona parte dei casi, da condensazioni parziali di vapor d'acqua in equilibrio con l'acqua oceanica. Il contenuto in O^{18} delle piogge misurate varia in relazione alla durata ed alla latitudine.

R. GONFIANTINI and A. LONGINELLI

Contratto EURATOM-ULB-CNEN, Laboratorio di Geologia Nucleare, Pisa (Italy), January 17, 1962.

⁴ S. EPSTEIN, Nat. Acad. Sci., Nucl. Sci. Ser. 19, 20 (1956).

⁵ W. DANSGAARD, Medd. om Grønland 165, 1 (1961).

⁶ Our thanks are due to Prof. TONGIORGI for helpful discussions and to the officers and crew of the M/S Genepesca I for their invaluable help.

samples are not much more negative in comparison with oceanic water.

If the condensation process goes on, the O^{18} content of the liquid phase becomes lower and lower tending as a limit to the initial value of the atmospheric water vapour. One can explain in such a way the most negative values measured, e.g. those of the samples F 5 and F 11.

In addition, in this investigation there are two pairs of samples (F 4–F 5, F 7–F 8) in which the second one has been collected only a few hours later than the first one, in the same area, under the same atmospheric conditions. In both cases the first sample has been collected in the afternoon and the second one in the night at a lower temperature; in both cases, the second sample shows an O^{18} content lower than the first one.

From that, one can conclude that, during the period in which samples have been collected, fog was very likely formed by atmospheric water vapour in equilibrium with oceanic water; it is rather improbable that atmospheric water vapour should not be in equilibrium with oceanic

Über die Ausscheidung von 3 β -Hydroxy-17-Ketosteroiden im Harn von Meerschweinchen

PERON und DORFMAN¹ konnten im Harn von männlichen Meerschweinchen 9 verschiedene 17-Ketosteroide

(17-KS) nachweisen, isolieren und identifizieren; es handelte sich dabei ausschliesslich um 3 α -Hydroxy-17-KS.

¹ F. G. PERON und R. I. DORFMAN, J. biol. Chem. 223, 877 (1956); Endocrinology 62, 1 (1958).

In einer vorläufigen Mitteilung² berichteten wir über den Nachweis eines 3 β -Hydroxy-17-KS im Harn von weiblichen Meerschweinchen. Dieser Befund wurde auch kurze Zeit später von Brooks et al.³ bestätigt. Auf Grund verschiedener Analysen glaubten wir damals, dass es sich bei dem nicht kristallinen β -Steroid um Epiandrosteron handelte. Brooks et al.³ erwähnten aber, dass das IR-Spektrum ihrer β -Fraktion geringe Abweichungen gegenüber dem von reinem Epiandrosteron aufwies.

In Fortsetzung unserer Untersuchungen über die Ausscheidung von 17-KS-Konjugaten im Meerschweinchenharn beobachteten wir später, dass durch heisse Säurehydrolyse wesentlich mehr β -Steroid freigesetzt wird, als durch die angewandte schonende Hydrolysekombination: β -Glucuronidase- und kalte Säurehydrolyse. Daraufhin lag die Vermutung nahe, dass es sich bei der von uns als Epiandrosteron bezeichneten Fraktion auch um einen Artefakt eines höher oxygenierten β -Steroids handeln könnte.

Zunächst versuchten wir, das höher oxygenierte 3 β -Hydroxy-17-KS aus 11 l Harn von weiblichen Meerschweinchen nach kontinuierlicher Ätherextraktion bei pH 7 darzustellen. Es gelang uns tatsächlich, in der Fraktion VII einer Gradienten-Elutions-Chromatographie an Aluminiumoxyd (Benzol-Äthanol) ein mit Digitonin fällbares 17-KS nachzuweisen und auf chromatographischem Wege (Papierchromatographie: Propylenglykol-Ligroin, 120 h absteigend; Celite-Säulenchromatographie mit Bush-BI-System⁴) zu reinigen. Auf Grund verschiedener mikrochemischer Umsetzungen (zum Beispiel Acetylierung und Chromoxyd-Oxydation) und dem papierchromatographischen Verhalten der daraus resultierenden Substanzen nahmen wir an, dass VII- β ein 3 β -Hydroxy-17-KS ist, das am C-11 eine weitere Hydroxylgruppe besitzt. Diese Vermutung wurde dann durch das IR-Spektrum von kristallinem VII- β bestätigt. Es war identisch mit dem Spektrum von kristallinem 11 β -Hydroxy-Epiandrosteron (freundlicherweise von Herrn Dr. KLYNE, London, zur Verfügung gestellt), das unter den gleichen Bedingungen hergestellt worden war. Auch der Schmelzpunkt von VII- β (235–239°C) stimmte mit dem Schmelzpunkt von reinem 11 β -Hydroxy-Epiandrosteron (234–235°C, siehe auch⁵) überein.

Nachdem es uns gelungen war, das höher oxygenierte β -Steroid als 11 β -Hydroxy-Epiandrosteron zu identifizieren, lag die Vermutung nahe, dass es sich bei dem oben erwähnten Artefakt dann um Δ 9(11)-Epiandrosteron handeln konnte, denn bekanntlich entstehen durch Säurehydrolysen aus 11 β -Hydroxy-17-KS deren Δ 9(11)-Artefakte. So versuchten wir nun, den Artefakt aus 2 l Harn von weiblichen Meerschweinchen nach kalter und heisser Säurehydrolyse darzustellen. Hierzu reichte aber die früher verwendete Chromatographie an Aluminiumoxyd und in Propylenglykol-Ligroin nicht aus. Deshalb wurde die Fraktion II- β an einer Celite-Säule mit Bush-System A⁴ weiter gereinigt, wodurch wir einen semikristallinen Rückstand erhielten. Mit Hilfe der PNCUS-⁶ und ZIMMERMANN-Reaktion⁷ gelang es uns nachzuweisen, dass II- β zu 100% aus einem ungesättigten 17-KS besteht. Dieses ungesättigte Steroid verhielt sich papierchromatographisch ähn-

lich wie Epiandrosteron, wies aber im IR-Spektrum Abweichungen gegenüber reinem Epiandrosteron auf. Auch der Schmelzpunkt von II- β mit 170,5°C stimmte nicht mit dem Schmelzpunkt von reinem Epiandrosteron (177°C) überein. Dagegen fanden wir eine gute Übereinstimmung mit dem Schmelzpunkt von Δ 9(11)-Epiandrosteron, der in der Literatur mit 171°C angegeben wird⁵. Das Kurvenbild des IR-Spektrums von II- β (in KBr) stimmte weitgehend mit dem Kurvenbild von Δ 9(11)-Epiandrosteron im Steroid-Atlas von ROBERTS et al.⁸ überein. Trotz weitgehender Übereinstimmung der IR-Spektren möchten wir bei unserer II- β -Fraktion nicht von einer eindeutigen Identifizierung sprechen; leider konnten wir kein Vergleichsspektrum unter unseren Bedingungen anfertigen, weil uns die Referenzsubstanz « Δ 9(11)-Epiandrosteron» nicht zur Verfügung stand.

Eine weitere Stütze unserer Annahme, dass es sich bei II- β um Δ 9(11)-Epiandrosteron handelt, brachte ein weiterer Versuch, bei dem wir die gereinigte und als 11 β -Hydroxy-Epiandrosteron identifizierte Substanz VII- β durch heisse Säurehydrolyse in II- β überführen konnten. Das IR-Spektrum der gereinigten Fraktion stimmte im ganzen Bereich von 2–15 μ mit der aus weiblichem Meerschweinchenharn isolierten Substanz II- β überein.

Kürzlich berichteten Brooks⁹ und unabhängig davon auch SCHUBERT¹⁰, dass sie im Harn von Meerschweinchen 11 β -Hydroxy-Epiandrosteron und den Artefakt Δ 9(11)-Epiandrosteron isoliert und identifiziert haben. Unsere Versuche wurden unabhängig von den beiden Autoren in der Zeit von Oktober 1960 bis April 1961 durchgeführt.

Summary. 11 β -hydroxy-epiandrosterone was isolated and identified from urine of normal untreated female guinea pigs. After cold and hot acid hydrolysis of the urine, we found another 3 β -hydroxy-17-oxosteroid. Its character was investigated by several methods and we suppose this steroid is Δ 9(11)-epiandrosterone, an artificial product of 11 β -hydroxy-epiandrosterone.

W. STAIB und K. DÖNGES

Physiologisch-chemisches Institut der Medizinischen Akademie, Düsseldorf (Deutschland), 15. Februar 1962.

² W. STAIB, W. TELLER und W. SCHMIDT, *Exper.* 15, 188 (1959).

³ R. V. BROOKS, B. E. CLAYTON und J. E. HAMMANT, *J. Endocrinology* 20, 24 (1960).

⁴ I. E. BUSH, *Biochem. J.* 50, 370 (1952).

⁵ R. REUBER und J. SCHMIDT-THOME in HOPPE-SEYLER-THIERFELDER, *Handbuch der physiologischen und pathologischen chemischen Analyse* (Springer Verlag, Heidelberg 1955), Bd. III/2, p. 1451 und p. 1550.

⁶ G. PINCUS, *Endocrinology* 32, 176 (1943).

⁷ W. ZIMMERMANN, H. U. ANTON und D. PONTIUS, *Hoppe-Seylers Z.* 289, 91 (1952).

⁸ G. ROBERTS, R. S. GALLAGHER und R. N. JONES, *Infrared Absorption Spectroscopy of Steroids, an Atlas* (New York und London 1958), vol. II, Spektrum 433.

⁹ R. V. BROOKS, *Biochem. J.* 79, 33p (1961).

¹⁰ K. SCHUBERT und K. WEHRBERGER, *Hoppe-Seylers Z.* 326, 242 (1961).

Lesions in Folic Acid Metabolism Induced by Primidone¹

In review of the haematological complications of anticonvulsant therapy with hydantoin derivatives^{2–4}, a

¹ This work was aided by grants from the National Vitamin Foundation, National Association for Mental Health, American Cancer Society, and U.S. Public Health Service. We thank Dr. TH. ROBITCHER, Ayerst Laboratories, New York, for aid and gifts of primidone and Dr. E. PATTERSON of the American Cyanamid Co., Pearl River, New York, for the gifts of unconjugated pteridine.