

Observations et conclusions. Fécondité des 6 mâles non traités: (Groupe I) 18% des 10316 œufs pondus ont été fécondés. L'injection de 150 U.I. de Physex (LH) a provoqué la pigmentation sur les bras ainsi que l'amplexus, mais le nombre de spermatozoïdes libérés a été insuffisant.

Photopériodicité: Par une prolongation de l'éclairage journalier (de 2 h environ), la fécondité a été augmentée de 10–11% dans les groupes II et IV, sans ou avec Antex. Cette augmentation est statistiquement significative et pourrait indiquer que le déclin saisonnier de la fécondité a une origine photopériodique. Il est intéressant de noter que l'exposition à un éclairage prolongé stimule les caractères sexuels secondaires, avant que les gonades n'aient produit suffisamment de sperme (cf. groupe II).

Action de l'Antex: Indépendamment de l'effet du jour long, le traitement avec l'Antex riche en FSH a beaucoup amélioré la fécondité des mâles. L'effet folliculo-stimulant de cette hormone s'est exprimé déjà 3 semaines après la première injection. Au cours du traitement les caractères sexuels secondaires se sont très fortement développés. La dose minimum nécessaire pour une activation suffisante de la gamétogenèse est encore à déterminer.

La qualité des œufs: Si l'on suppose que les mâles du groupe IV ont fourni suffisamment de spermatozoïdes pour féconder tous les œufs capables de développement, les femelles ont pondu 71% d'œufs fécondables, 29% des œufs étant hypermatures. Cette valeur correspond aux observations de K. MIKAMO (communication personnelle). Aussi, parmi les œufs non développés aucun ne présentait le faux-clivage (ORTOLANI et VANDERHAEGHE¹).

Summary. Under the conditions prevailing at the Station de Zoologie expérimentale (University of Geneva), the fertility of males of *Xenopus laevis* decreases every year in the autumn (Figure). 'Long-day' treatment significantly increases the fertility and leads to the conclusion that the decrease is due to photoperiodic influences. Treatment with Antex (Leo) (i.e. a follicle-ripening hormone) for 3 weeks highly activates spermatogenesis at a time when the gonads normally remain inactive.

VERENA UEHLINGER²
avec la collaboration technique de
KARIN DUCRET

Station de Zoologie expérimentale, Université de Genève
(Suisse), 17 février 1966.

² Remerciements: Je dois ma reconnaissance à Mlle K. PONSE, Professeur d'endocrinologie, pour ses conseils et les discussions sur l'effet des différentes hormones gonadotropes; au Professeur A. LINDER, Professeur de statistique mathématique, qui a bien voulu faire l'analyse statistique des croisements; et à mes collègues Mme F. VANDERHAEGHE, Dr ès sc., et Mlle A. DROIN, Dr ès sc., pour leurs observations et discussions. Le travail technique a été effectué avec l'appui du Fonds National Suisse pour la Recherche Scientifique N° 2551.

Über ein Zwischenprodukt bei der Darstellung von Rhodamin B-Isothiocyanat

Zur Markierung von Antikörpern bei immunchemischen Untersuchungen werden in der Hauptsache Fluorescein-isothiocyanat, Rhodamin B-Isothiocyanat (I), Rosamin-isothiocyanat, Dimethylaminonaphthalinsulfochlorid und Hydroxypyrentrisulfosäure verwandt. I wird nach einer Vorschrift von RIGGS et al.¹ auf folgendem Wege gewonnen: Nitrophthalsäure wird mit m-Diäthylaminophenol zu Nitrorhodamin (II) kondensiert, aus dem man durch katalytische Hydrierung Aminorhodamin erhält. Letzteres lässt sich mit Thiophosgen zu I umsetzen. Eine andere Darstellungsmöglichkeit für II ist folgende: Man setzt Nitrofluorescein² nach der Vorschrift von BOREK³ mit Phosphorpentachlorid in Phosphoroxychlorid (als Fließmittel) zu 3,6-Dichlornitrofluoran (III) um. III kann analog⁴ mit Diäthylaminhydrochlorid und Natriumacetat in Dimethylformamid bei 200–220°C im Bombenrohr in II umgewandelt werden. Die weitere Verarbeitung erfolgt dann wie bei¹. Die Methode hat den Vorteil, dass sich aus einem Ausgangsprodukt, nämlich Nitrofluorescein, das leicht in grösserer Menge hergestellt werden kann, verschiedene fluoreszierende Farbstoffe (FITC, Rhodamin B-ITC, Tetramethylrhodamin-ITC) gewinnen lassen.

Arbeitsvorschrift. 3 g Diäthylaminhydrochlorid, 3 g Natriumacetat, 2 g Dichlornitrofluorescein und 6 ml Dimethylformamid werden miteinander vermischt und im Bombenrohr 24 h auf 200–220°C erhitzt. Nach dem Erkalten und Öffnen wird das Rohr mit wenig Chloroform

ausgespült. Die Lösungsmittel werden im Vakuum entfernt. Der feste Rückstand wird zweimal mit je 15 ml Chloroform extrahiert. Dabei bleiben die anorganischen Substanzen ungelöst. Der Farbstoff kann mit Benzin (Kp. 60–80°) aus der Chloroformlösung ausgefällt werden. Falls er in öligem Form ausfällt, empfiehlt es sich, die Lösung vor dem Fällen mit etwas Tierkohle zu behandeln. Die Umkristallisation erfolgt aus i-Propanol.

Summary. The synthesis of nitrorhodamin via nitrofluorescein and 3,6-dichloronitrofluoran is described. Nitrorhodamin is an intermediate for the preparation of rhodamin B-isothiocyanate and tetramethylrhodamin-isothiocyanate. Starting from nitrofluorescein, both FITC and rhodamin-ITC can be prepared.

O. KÜHNEMUND und W. OZEGOWSKI

Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin,
Institut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie,
69 Jena (DDR), 1. März 1966.

¹ J. L. RIGGS, R. J. SEIWALD, J. H. BURCKHALTER, C. M. DOWNS und T. G. METCALF, *Am. J. Pathol.* 34, 1081 (1958).

² A. H. COONS und M. H. KAPLAN, *J. exp. Med.* 91, 1 (1950).

³ F. BOREK, *J. org. Chem.* 26, 1292 (1961).

⁴ DRP 48367, P. FRIEDLÄNDER, *Fortschritte der Teerfarbenfabrikation*, Zweiter Teil (1887–1890), Springer-Verlag, Berlin 1891), p. 79.