

by destroying RNA; by alteration of the protein biosynthesis in ribosomes. These data allow us to presume the changes of the cellular membrane polarization level to be associated with shifts occurring in the course of the protein biosynthesis process<sup>2,3</sup>.

<sup>2</sup> V. V. FROLKIS, in Adaptive Potentialities of an Ageing Organism (Kiev 1968), vol. 11, p. 40.

<sup>3</sup> V. V. FROLKIS, Fiziol. Zh., USSR 16E, 221 (1970).

**ВЫВОДЫ.** Ингибиторы биосинтеза белка (актиномицин Д, пуромицин, рибонуклеаза) предупреждают развитие гиперполяризации одиночных мышечных волокон и нейронов коры головного мозга.

V. V. FROLKIS

Laboratory of Physiology,  
Institute of Gerontology

Academy of Medical Sciences, USSR  
Vyshgorodskaya str. No. 67, Kiev-114 (USSR),  
17 August 1971.

### Sur l'absence de biosynthèse des stérols et du squalène chez un coelenteré (anthozoaire), l'anémone de mer *Calliactis parasitica*

Il est connu que les insectes n'effectuent pas de biosynthèse «ex novo» des stérols à partir de l'acétate<sup>1</sup>; le cholestérol qui leur est indispensable provient soit de leur nourriture, soit de la dégradation de la chaîne latérale des phytostérols<sup>1,2</sup>. Cette situation ne peut cependant être généralisée à tous les invertébrés. Plusieurs mollusques (*Helix pomatia*, *Arion rufus*, *Planorbis corneus*, *Limnea stagnalis*, *Patella coerulea*, etc.) seraient capables de synthétiser le cholestérol<sup>3,4</sup>. Récemment<sup>5</sup>, il a été montré que les gonades et l'hépatopancréas de *Aplysia depilans* synthétisent le cholestérol à partir de l'acétate et peuvent le transformer en corticostéroïdes. Les étoiles de mer *Asterias rubens* et *Solaster papposus* incorporent le mévalonate dans le squalène, le lanostérol et le 5 $\alpha$ -cholestène-7 ol-3 $\beta$ <sup>6</sup>. Dans d'autres cas<sup>3,4</sup>, une biosynthèse du squalène a été observée alors que l'animal ne paraît pas capable de le transformer en cholestérol. Notons que le nombre des espèces étudiées est très restreint et qu'une généralisation en fonction des familles ou des classes n'est pas encore possible. Nous avons précédemment constaté l'absence de synthèse des stérols et du squalène chez l'Holothurie *Stichopus japonicus*<sup>4</sup>; nous reportons ici les résultats d'un travail parallèle effectué avec l'anémone de mer *Calliactis parasitica*. Rappelons que cet animal contient un pigment azoté particulier, la calliactine<sup>7</sup>. L'absence de biosynthèse du cholestérol et du squalène a été établie chez un autre coelenteré mais appartenant à une classe différente, la méduse *Rhizostoma* (scyphozoaire)<sup>8</sup>.

On a injecté 0,1 mC d'acétate-14C dans la colonne de 15 anémones de mer *Calliactis parasitica*<sup>9</sup>; les animaux ont été maintenus en vie pendant 24 h. Les lipides ont été extraits et saponifiés suivant les procédés habituels; les stérols ont été précipités sous forme de digitonides. Après

3 cristallisations dans le méthanol, la radioactivité de la lique de l'insaponifiable (environ 1%). Il n'est toutefois pas possible, comme dans d'autres cas, d'éliminer l'existante d'une biosynthèse des stérols particulièrement lente, ou bien saisonnière, ou bien encore réprimée par leur abondance dans la nourriture.

Les stérols de cette anémone de mer ont été analysés par chromatographie sur couche mince de  $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{AgNO}_3$ , par chromatographie en phase gazeuse (OV 101 1%) et par spectrométrie de masse avant et après propionylation; fraction stérolique devient nulle. Nous reportons dans le Tableau I les radioactivités des principales fractions. On remarque une incorporation importante de la radioactivité

<sup>1</sup> R. B. CLAYTON, J. Lipid Res. 5, 3 (1964).

<sup>2</sup> F. J. RITTER et W. H. J. M. WIENTJENS, T.N.O. Nieuws 22, 381 (1967).

<sup>3</sup> J. AUSTIN, Advances in Steroids biochemistry and pharmacology (Ed. M. H. BRIGGS; Academic Press, London 1970), vol. 1, p. 73.

<sup>4</sup> T. NOMURA, Y. TSUCHIYA, D. ANDRÉ et M. BARBIER, Bull. Jap. Soc. Sci. Fisheries 35, 299 (1969).

<sup>5</sup> C. L. DI PRISCO, F. DESSI, M. TOMMASUCCI et C. BASILE, Communication au 6ème Congrès Européen d'Endocrinologie Comparée, Montpellier 1971, p. 129.

<sup>6</sup> A. G. SMITH et L. J. GOAD, Biochem. J. 123, 671 (1971).

<sup>7</sup> E. LEDERER, G. TEISSIER et C. HUTTRER, Bull. Soc. chim. fr. 7, 5ème série, 603 (1950).

<sup>8</sup> H. E. VAN AAREM, H. J. VONK et D. I. ZANDEE, Arch. int. Physiol. Biochem. 72, 606 (1964).

<sup>9</sup> Nous remercions le CEA, pour des subventions ayant facilité l'achat du matériel radioactif. Les radioactivités ont été mesurées sur un appareil à scintillation Nuclear Chicago de rendement 85% pour 14C.

Tableau I. Résultats de l'incorporation d'acétate de sodium 1-14C (0, 1mC)<sup>9</sup>

Fractions	Poids (g)	Radioactivités (dpm/mg)	Radioactivités totales (dpm)
Insaponifiable	1,10	2320	$2,55 \times 10^6$
Acides	2,20	3550	$7,80 \times 10^6$
Stérols bruts	0,270	130	$3,50 \times 10^4$
Stérols:			
1ère cristallisation	0,211	5	$1,05 \times 10^3$
2ème cristallisation	0,188	3	564
3ème cristallisation	0,156	2	312

Tableau II. Analyse des stérols de *Calliactis parasitica*<sup>17</sup>

Stérols	Temps relatifs de rétention en chromatographie gaz-liquide	Spectrométrie* de masse <sup>15</sup> Stérols <i>m/e</i>	Propionates <i>m/e</i>	Relatifs approximatifs (%)
Cholestérol	1	386	368	87
Cholestanol	1	388	444	3
Déhydrocholestérol <sup>a</sup>	0,89	384	366	2
Méthylène-24 cholestérol	1,28	398	380	4
Brassicastérol (ou picstérol)	1,12	398	380	2
C <sub>28</sub>	0,68		352	1,5

\* Rappelons que les stérols  $\Delta_5$  fournissent un ion moléculaire alors que leurs propionates montrent un ion à M-74; en absence d'insaturation en 5, les propionates donnent l'ion moléculaire. Les fragmentations ultérieures ont été utilisées pour la détermination des chaînes latérales. La seconde insaturation du déhydrocholestérol est située dans la chaîne latérale, mais par suite des faibles quantités desubstance, nous n'avons pu préciser.

dans les acides (environ 3%) et dans la partie non stéroïles résultats obtenus sont résumés au Tableau II. La présence du cholestérol en quantité abondante avait été signalée par SALAQUE<sup>10</sup>. Nous avons pu mettre en évidence une quantité non négligeable de stérols à 26 atomes de carbone (environ 1,5% des stérols)<sup>12-14</sup> provenant vraisemblablement du phytoplancton par la chaîne alimentaire<sup>13</sup>.

La partie de l'insaponifiable non précipitée par la digitonine a été chromatographiée sur colonne d'acide silicique et on a recherché le squalène par chromatographies sur couches minces et gaz-liquide; n'ayant pu le trouver par ces procédés, nous avons repris l'isolement après addition de 20 mg de squalène authentique purifié. Le produit isolé par chromatographie préparative sur couche mince d'acide silicique (développement par l'heptane, Rf 0,35) possède une radioactivité totale de 600 dpm devenant nulle après préparation et cristallisation de l'hexachlorure de squalène<sup>11</sup>.

**Summary.** Sodium acetate I-<sup>14</sup>C has been injected to the sea anemone *Calliactis parasitica* (coelenterate, anthozoa).

Sterols and squalene were found unlabelled in this experiment. An analysis of the sterol mixture is reported.

J. P. FEREZOU, M. DEVYS et M. BARBIER<sup>15, 16, 17</sup>

*Institut de Chimie des Substances Naturelles, C.N.R.S., F-91 Gif-sur-Yvette (France), 16 septembre 1971.*

<sup>10</sup> A. SALAQUE, Thèse de Doctorat d'Université, Paris 1967.

<sup>11</sup> I. M. HEILBRON, E. D. KAMM et W. M. OWEN, J. chem. Soc. 1926, 1631.

<sup>12</sup> D. R. IDLER, P. M. WISEMAN et L. F. SAFE, Steroids 16, 451 (1970).

<sup>13</sup> J. L. BOUTRY, A. ALCAIDE et M. BARBIER, C.r. Acad. Sci., Paris, 272, série D, 1022 (1971).

<sup>14</sup> A. ALCAIDE, J. VIALA, F. PINTE, M. BARBIER, M. ITOH et T. NOMURA, sous presse.

<sup>15</sup> Nous remercions MM. COSSON, BARDEY et VARENNE qui ont effectué les mesures de spectrométrie de masse sur un appareil AEI MS9, sous la direction du Dr B. C. DAS.

<sup>16</sup> Nous remercions le Professeur E. LEDERER pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail.

<sup>17</sup> Nous remercions la Station Biologique de Roscoff pour l'expédition de ces animaux.

## Activity of a Dipeptidyl Carboxypeptidase (Angiotensin Converting Enzyme) in Lungs of Different Animal Species

VANE et al.<sup>1</sup> have shown that the conversion of circulating angiotensin I to angiotensin II (as measured by bioassay) in the dog occurs mainly in the lungs<sup>2</sup>. Using a chemical assay with a synthetic substrate, we recently determined the converting enzyme in different tissues of the rat and also found the highest concentrations to occur in the lungs<sup>3</sup>. The purpose of the present investigation was to compare the enzyme content in lungs of different animal species in order to find a convenient starting material for future preparative work on the enzyme.

**Material and methods.** The dipeptidyl carboxypeptidase was assayed with the method previously described<sup>4</sup>, except that the apparatus was an Aminco Fluoro-microphotometer. The method is based on the fluorimetric determination of histidyl-leucine released from the substrate, Z-Phe-His-Leu.

**Enzyme preparations from different animal species.** Depending on the size of the animal, either a single lung or both lungs were used as the starting material. Rat lungs were pooled from 15 and mice lungs from 70 animals.

Healthy fragments of human lungs were obtained from 2 individuals after autopsy and pooled.

The intact organs were kept at 4°C for a time which was uniformly set at 48 h, after which they were hashed with a kitchen machine or scissors. The minced tissue was mixed and 2 aliquots were taken to provide duplicate samples. These were homogenized with a high speed blade homogenizer after addition of 3 parts (w/w) of water; the homogenates were centrifuged for 30 min at 107,000  $\times$  g. The supernatant was carefully decanted and replaced by an equal volume of water in which the centrifuged material

<sup>1</sup> K. K. F. Ng and J. R. VANE, Nature, Lond. 218, 144 (1968).

<sup>2</sup> Y. S. BACKLE, Nature, Lond. 220, 919 (1968).

<sup>3</sup> M. ROTH, A. F. WEITZMAN and Y. PIQUILLOUD, Experientia 25, 1247 (1969).

<sup>4</sup> Y. PIQUILLOUD, A. REINHARZ and M. ROTH, Biochim. biophys. Acta 206, 136 (1970).