

# Eine neue Methode zur Einführung von Schwefel in Eiweißstoffe

Von Prof. Dr. A. SCHÖBERL, Würzburg

## Bedeutung

Allgemein interessierende Fragen der modernen Eiweißforschung, mögen sie biochemischer oder technischer Natur sein, bedürfen zu ihrer Förderung Untersuchungen über die chemische Reaktionsfähigkeit der Proteine. Es gilt dies in gleicher Weise etwa für die Erweiterung unserer Kenntnisse in der Immunitätsforschung – hier vor allem für die Darstellung künstlicher Antigene<sup>1)</sup> – oder für die Verbesserung der Gebrauchswerte textiler Fasern auf Protein-Basis, ein Problem, das sich in den letzten Jahren in den Vordergrund schob<sup>2)</sup>. Untersuchungen dieser Art haben vornehmlich zwei prinzipielle präparative Schwierigkeiten zu berücksichtigen. Proteine sind recht labile Körper und sind nur ausgewählten chemischen Operationen zugänglich.

Als Beitrag zu diesen allgemeinen Zielen der Proteinchemie wird hier zum ersten Mal über einen neuen Reaktionstyp berichtet, über den in den Jahren 1941–45 gemeinsam mit F. Krumey experimentelles Material gesammelt wurde<sup>3)</sup>.

Die Anregung zu den Untersuchungen gab die Aufgabe, Schwefel in Form von Sulfhydryl-(SH), Disulfid-(SS-) Gruppen oder thioäther-artig gebunden in Eiweißstoffe einzuführen. Wir wissen, daß S-haltigen Aminosäuren der Protein-Molekel ernährungsphysiologisch Bedeutung zukommt<sup>4)</sup>. So wurden beispielsweise durch Ernährung mit einem an Cystin unterwertigen Hefe-eiweiß bei jüngeren Ratten schwere Leber- und Nierenschädigungen erzeugt, die sich durch Cystin-Zulage unterbinden ließen<sup>5)</sup>.

Im Hinblick auf die Bedeutung der Disulfid-Bindungen der Woll-Keratine für wichtige Fasereigenschaften bestand ferner ein Interesse daran, in verspinnbaren Proteinen, vor allem Kasein, durch Einführung von Disulfid-Querverbindungen zwischen den Polypeptidketten die strukturellen Voraussetzungen für das Faserbildungsvermögen zu verbessern. Dahinzielende Versuche, Kasein vor dem Verspinnen mit Schwefelkohlenstoff umzusetzen, führten in der Textilindustrie zu keinem klaren Erfolg<sup>6)</sup>. Es fehlt bisher eine eingehende experimentelle Überprüfung der Reaktion zwischen Proteinen und Schwefelkohlenstoff, die nach einer kurzen Mitteilung von Loiseleur<sup>7)</sup> aus dem Jahre 1935 zur Einführung von Dithiocarbaminsäure-Resten geeignet sein soll.

## Methode und Reaktionsweise

Unsere Ergebnisse wurden auf einem ungewöhnlichen Wege erzielt. Es zeigte sich nämlich, daß mit gealterten, nicht aber mit frisch destillierten Thio glykolsäure-Präparaten und Destillationsrückständen dieser Säure in schwach alkalischen Lösungen etwa

Kasein- präpa- rat	Art der Behandlung			S-Gehalt		Zunahme an S		Äquivalent- gew. gegen- über NaOH
	einwirkende S-Verbindung	Reakt. Temp.	End- pH	in %	in m- atom/g	in m- atom/g	in %	
natives Kasein	—	—	—	0,81	0,25	—	—	944
natives Kasein	—	—	—	0,76	0,24	—	—	919
III	Thio glykolsäure gealtert	Siede- hitze	5,8	0,8	0,25	0	0	1032
XIV	Thio glykolsäure frisch dest.	„	8,8	0,84	0,26	0,01	0	1071
VIII	Thio glykolsäure gealtert	„	7,0	1,96	0,61	0,36	144	763
XXVII	Destillationsrück- stand	„	8,8	1,75	0,55	0,30	120	711
XXVI	Polythio glykolid	„	7,6	1,93	0,60	0,35	140	724
1	Dithio glykolid	40°	8,5	2,18	0,68	0,44	183	663
2	Dithio glykolid	60°	11,3	2,12	0,66	0,43	179	686
Eieral- bumin	Dithio glykolid	30°	8,7	2,94	0,92	0,40	77	(964)

Tabelle 1  
Schwefel-Einführung in Kasein und Eieralbumin

- <sup>1)</sup> Westphal, diese Ztschr. 57, 57 [1944].  
<sup>2)</sup> Vgl. Franz, Riederle, Fleischmann, Winkler, J. prakt. Chem. 160, 133 [1942]; Schöberl, Krumey, Beiheft 45 zu dieser Ztschr. S. 43 [1942].  
<sup>3)</sup> Vgl. Patentanmeldung Sch. 129015 IVc vom 23. 3. 44.  
<sup>4)</sup> Vgl. Rose u. Mitarb. J. biol. Chemistry 121, 403 [1937]; Brand u. Mitarb. ebenda 109, 69; 110, 3996 [1935]; Du Vigneaud u. Mitarb. ebenda 131, 57 [1937].  
<sup>5)</sup> Hock, Fink, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 279, 187 [1943]; Dobberstein u. Hock, ebenda 280, 21 [1944].  
<sup>6)</sup> Franz u. Mitarb. J. prakt. Chem. 160, 133 [1942].  
<sup>7)</sup> C. R. hebdom. Séances Acad. Sci. 201, 967 [1935].

im pH-Bereich 7–11 beträchtliche Mengen von Schwefel in das schwefel-, besonders cystinarme Kasein eingeführt werden können (Tabelle 1).

Die präparative Verfolgung der dabei wirksamen Substanzen führte dann zur Entdeckung der neuen Substanzklasse der Thio lactide<sup>8)</sup>, wie sie etwa durch Kondensation von Thio glykolsäure unter Wasserabspaltung dargestellt werden können, und die in älteren Thio glykolsäure-Präparaten und Destillationsrückständen anwesend sind. Die ausbaufähige Kondensation, der auch andere α-Sulfhydrylcarbonsäuren unterliegen, läßt sich wie folgt formulieren:

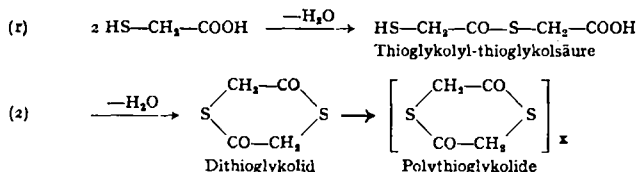
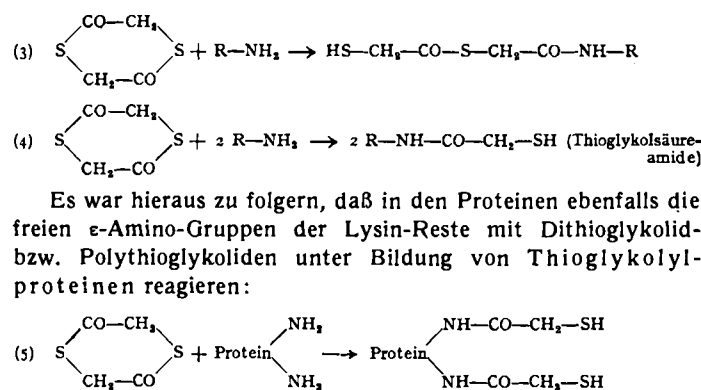


Tabelle I zeigt, daß in der Tat mit dem gut charakterisierten cyclischen Doppelthioester Dithio glykolid und Polythio glykoliden, die bei der erwähnten Kondensation als amorphe, schwerlösliche Substanzen anfallen, unter milden Reaktionsbedingungen und unter guter Ausnutzung der eingesetzten Schwefelmengen Schwefelungen von Eiweißstoffen, beispielsweise von Kasein und Eieralbumin, möglich sind. Mit Kasein beträgt dabei die Zunahme an Schwefel dem Ausgangsmaterial gegenüber bis zu 180%. Die schwefel-reichsten Kaseine besitzen über 2% S.

Mit konz. Jodwasserstoffsäure kann unter den Bedingungen der Baernsteinschen Methionin-Bestimmung<sup>9)</sup> und in Übereinstimmung mit Reduktionen an einfachen Modellsubstanzen<sup>10)</sup> der eingeführte Schwefel praktisch vollständig als Schwefelwasserstoff wieder abgespalten werden. Wie ferner durch Umfällungs- und Dialyseversuche und mittels der empfindlichen Schubertschen Farb Reaktion auf freie Thio glykolsäure<sup>11)</sup> bewiesen wurde, haften Thiol bzw. Disulfid den Proteinen nicht etwa adsorptiv oder salzartig gebunden an. Thio glykolsäure läßt sich jedoch hydrolytisch aus den geschwefelten Eiweißstoffen, besonders leicht mit Alkalien, wieder absprengen.

Der Chemismus der Schwefelungsreaktion wurde nahegelegt durch den Befund, daß sich Dithio glykolid in wäßriger Lösung mit Aminen wie etwa Anilin in Analogie zum Verhalten der Laktide umzusetzen vermag. Es erfolgt dabei im Sinne der Gleichungen 3 und 4 Anlagerung an die Amino-Gruppen bei gleichzeitiger Öffnung des Ringsystems und Bildung von Thio glykolsäureamiden:



Analoge Umsetzungen treten uns etwa bei der Anlagerung von Isocyanaten<sup>12)</sup> oder von Oxazolonen<sup>13)</sup> an freie Proteinamino-

- <sup>8)</sup> Schöberl, Krumey, Ber. dtsch. chem. Ges. 77, 371 [1944].  
<sup>9)</sup> J. biol. Chemistry 115, 25 [1936]; vgl. Kuhn u. Mitarb. Ber. dtsch. chem. Ges. 72, 407 [1939]; Schöberl u. M. Fischer, Biochem. Z. 302, 310 [1939].  
<sup>10)</sup> Über diese Versuche soll später berichtet werden.  
<sup>11)</sup> Michaelis u. Schubert, J. Amer. chem. Soc. 52, 4418 [1930]; Goddard, Michaelis, J. biol. Chemistry 106, 605 [1934].  
<sup>12)</sup> Hopkins u. Wormall, Biochemic. J. 27, 740 [1933]; 28, 2125 [1934]; Bottomley u. Folley, Nature [London] 145, 304 [1940]; Miller u. Stanley, J. biol. Chemistry 141, 905 [1941]; Creech u. Jones, J. Amer. Chem. Soc. 63, 1670 [1941].  
<sup>13)</sup> Lettré u. Mitarb., Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 266, 31, 37; 267, 108 [1940].

Gruppen entgegen, um nur zwei mit unserem Reaktionstyp besonders gut vergleichbare Substitutionen zu erwähnen.

Der Reaktionstyp nach Gleichung 5 war eines direkten experimentellen Beweises zugänglich, da sich nach ihm aus den Versuchen ein unmittelbarer Zusammenhang zwischen Abnahme der Zahl freier Amino-Gruppen und Zunahme des Schwefel-Gehaltes ergeben mußte. Da einer solchen Beziehung für die neue Schwefelungsreaktion eine prinzipielle Bedeutung zukommt, haben wir sie an rund 30 Präparaten mit verschiedenem Schwefel-Gehalt überprüft. Von dem umfangreichen Zahlenmaterial legen wir in Tabelle 2 eine Auswahl vor. Analytisch war dabei eine hinreichend genaue Erfassung des nach *van Slyke* bestimmbaren Aminostickstoffes und der Zunahme des Schwefel-Gehaltes durchzuführen. Die in m-Atomen pro g Protein ausgedrückten beiden Größen, die direkt miteinander verglichen werden können, zeigen in der Tat, daß innerhalb der Meßgenauigkeit der Analysenmethoden parallel mit der Zunahme des eingeführten Schwefels eine äquivalente Abnahme des Aminostickstoff-Gehaltes erfolgt. Auf ein Atom Schwefel verschwindet also jeweils eine Amino-Gruppe. Es darf angenommen werden, daß dieser Befund experimentell hinreichend gestützt ist. Die maximale Zunahme an Schwefel beträgt etwa 0,44 m-atom/g, die Einbuße an freien Lysin-amino-Gruppen 0,46 m-atom N/g.

S-Kasein-Präparat	S-Gehalt in %	Zunahme des S-Gehaltes in m-atom/g	Abnahme des NH <sub>2</sub> -N-Gehaltes in m-atom/g
VII	1,14	0,10	0,15
IV	1,20	0,12	0,15
XXII	1,36	0,17	0,24
X	1,37	0,18	0,22
XX	1,42	0,19	0,22
XXIV	1,47	0,21	0,28
XXV	1,51	0,22	0,28
XI	1,58	0,24	0,23
XXVII	1,75	0,29	0,28
IX	1,77	0,30	0,32
VIII	1,96	0,36	0,39
XVIII	1,97	0,36	0,39
2	2,12	0,43	0,45
1	2,18	0,44	0,46
Eieralbumin	2,94	0,40	0,30

Tabelle 2  
Zunahme des S-Gehaltes und Abnahme des NH<sub>2</sub>-N-Gehaltes in geschwefelten Proteinen (Thioglykolyproteine)

Die Umsetzung von Dithioglykolid und Polythioglykoliden an freien NH<sub>2</sub>-Gruppen der Lysin-Reste in Proteinen kann damit als bewiesen angesehen werden. Zugleich ist auch die Grenze des Schwefelungsverfahrens gezeigt. Die Schwefelung muß ihr Ende finden, wenn alle reaktionsfähigen Amino-Gruppen durch Thioglykolsäure-Reste substituiert sind. Bei maximaler Schwefelung des Kaseins stellten wir ein Absinken des NH<sub>2</sub>-Stickstoffes von 0,88% auf 0,23% fest. Unter der Voraussetzung, daß bei den *van Slyke*-Bestimmungen nur die freien Amino-Gruppen des Lysins erfaßt werden, scheint also ein kleiner Teil der Amino-Gruppen durch die Schwefelung nicht blockiert werden zu können. Ob diese Feststellung den Schluß zuläßt, daß in der Reaktionsfähigkeit der Amino-Gruppen so große Unterschiede vorhanden sind, muß dahingestellt bleiben. Auffällig ist aber, daß auch *Nitschmann*<sup>14)</sup> bei der Gerbung des Kaseins einen bestimmten Rest der freien Amino-Gruppen nicht mit Formaldehyd zur Reaktion bringen konnte.

Durch die Substitution der Lysinamino-Gruppen mit Thioglykolsäure-Resten -CO-CH<sub>2</sub>-SH werden wie bei Acylierungen allgemein neue Peptid-Bindungen in die Proteine eingebaut. Zugleich bietet diese Reaktion die Möglichkeit der Einführung der für native Eiweißstoffe so charakteristischen Sulfhydryl-Gruppen. Während der Schwefelung wird Luftsauerstoff möglichst ausgeschlossen. Bei der sich anschließenden Isolierung der Proteine kann aber ein Teil der SH-Gruppen zu Disulfid-Gruppen autoxydiert werden. Dahinzielende Oxydationen unserer Präparate müssen noch studiert werden.

#### Nachweis und Eigenschaften

Bei den geschwefelten Proteinen ist der Nitroprussidnatrium-Test mit und ohne Kaliumcyanid-Zusatz stark positiv. In Farbanalysen, wie sie zur Bestimmung von Cystein benutzt werden<sup>15)</sup>,

<sup>14)</sup> *Nitschmann u. Hadorn*, *Helv. Chim. Acta* 27, 299 [1944]  
<sup>15)</sup> *Schöberl, Rambacher*, *Biochem. Z.* 295, 377 [1938].

reduzieren ferner die Protein-SH-Gruppen Phosphorwolframsäure. Ihre quantitative Erfassung gestattet das Studium der Entfärbung von 2,6-Dichlorphenol-indophenol in einem Phosphatpuffer von p<sub>H</sub> = 7 in *Thunberg*-Rohren. Diese Methode wurde bekanntlich im Zusammenhang mit der Aufklärung des Denaturierungsprozesses zur Bestimmung von SH-Gruppen in nativen und denaturierten Eiweißstoffen entwickelt<sup>16)</sup>. Wie Tabelle 3 zeigt, ließ sich so in den isolierten Präparaten ein großer Teil des neu eingeführten Schwefels, und zwar bis zu ¾, in der Sulfhydryl-Form erfassen.

S-Kasein Nr.	XVIII	1	2	1	VIII	S-Albumin Nr. 2
cm <sup>3</sup> Farbstofflösung/10 mg Protein.....	0,58	0,75	0,85	1,07	0,92	0,50
%-SH-Schwefel.....	0,49	0,64	0,72	0,85	0,87	0,51
SH-S in % des eingeführten Schwefels ..	41,5	45,5	53	66	75,5	48

Tabelle 3  
Bestimmung von SH-Gruppen in Thioglykolyproteinen mit 2,6-Dichlorphenol-indophenol

Es war ferner möglich, diese SH-Gruppen auf niedermolekulare Disulfide, z. B. Cystin zu übertragen. Wir haben dabei die von *Anson und Mirsky*<sup>17)</sup> in der Eiweißchemie zuerst angewandte Methode in ihrer Brauchbarkeit für unsere Substanzen überprüft und etwas variiert. Sulfhydryl-Gruppen sind mithin in Thioglykolyproteinen qualitativ und quantitativ bestimmbar.

Die Thioglykolyproteine besitzen gegenüber dem Ausgangsmaterial veränderte Eigenschaften, wie es vor allem in einer Abnahme der Löslichkeit zum Ausdruck kommt. Infolge der Blockierung basischer Gruppen ist ihr saurer Charakter verstärkt und sie zeigen daher Basen gegenüber ein wesentlich kleineres Äquivalentgewicht (Tabelle 1 und 4). Man findet hier die gleichen Verhältnisse wie bei den durch Ketenisierung erhaltenen Acetylkaseinen, bei denen Parallelität zwischen Acetyl-Gehalt und Äquivalentgewicht besteht<sup>18)</sup>.

S-Kasein Nr.	S-Gehalt in %	isoelektrischer Punkt p <sub>H</sub>	Äquivalentgewicht gegenüber NaOH
XVI	1,01	4,25	936
XXI	1,37	4,00	842
XXVI	1,93	3,60	724
1	2,10	3,45	660
XVIII	1,97	4,00	723
XVIIIa	1,94	3,80	752
XVIIIb	1,93	3,80	851
2	2,12	4,00	686
1	2,18	4,15	663

Tabelle 4  
Isoelektrischer Punkt und S-Gehalt von Thioglykolyproteinen

Diesen Ergebnissen entsprechend verschiebt sich auch der isoelektrische Punkt nach der sauren Seite. Durch eine größere Zahl von Bestimmungen wurde der direkte Zusammenhang zwischen variierbarem Schwefelgehalt, Äquivalentgewicht und isoelektrischem Punkt festgestellt. In Tabelle 4 sind einige der gefundenen Zahlen niedergelegt<sup>19)</sup>. Da der isoelektrische Punkt von unverändertem Kasein bei p<sub>H</sub> = 4,6 liegt, tritt durch die Schwefelung eine Verschiebung dieses Proteins charakterisierenden Fixpunktes nach der sauren Seite um mindestens 0,5–0,6 p<sub>H</sub>-Einheiten ein (Präp. XVIII), die sich anscheinend durch Umfällung noch etwas verstärken läßt (Präp. XVIIIa). Eine Dialyse verändert dann die Lage des isoelektrischen Punktes nicht mehr (Präp. XVIIIb). Unklar ist noch, inwieweit Reaktionsbedingungen der Schwefelung das Ausmaß der Erniedrigung beeinflussen. Präparate, bei denen die Substitution in der Siedehitze durchgeführt wurde (XXI, XXVI, 1), sind etwas saurer als solche, die mit reinem Dithioglykolid bei tieferen Temperaturen erhalten wurden (Präp. 1 und 2)<sup>20)</sup>.

<sup>16)</sup> *Todrick u. Walker*, *Biochemic. J.* 31, 292 [1937]; *Kuhn u. Desnuelle*, *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* 251, 14 [1938].

<sup>17)</sup> *J. gen. Physiol.* 19, 427 [1936].

<sup>18)</sup> Unveröffentlichte Versuche; vgl. *Schöberl u. Krumey*, Beiheft 45 dieser Ztschr. S. 43 [1942].

<sup>19)</sup> Zur Bestimmung des isoelektrischen Punktes wurde das Verfahren v. *Michaelis u. Pechstein* benutzt, *Biochem. Z.* 47, 260 [1912]; vgl. auch *Michaelis u. v. Szent Györgyi*, *ebenda* 103, 178 [1920].

<sup>20)</sup> Die Umsetzung zwischen Thioglykoliden und Proteinen bedarf keiner höheren Temperatur. Das anfängliche Arbeiten in der Siedehitze entstammt theoretischen Vorstellungen, die wir uns über die Thioglykolsäure-Behandlung von Eiweißstoffen gemacht hatten.

## Umsetzung geschwefelter Kaseine mit Formaldehyd

Zur weiteren Bekräftigung über den Ort des Angriffes an den Proteinmolekeln zogen wir schließlich noch die Formaldehyd-Behandlung geschwefelter Kaseine heran. Bekanntlich spielt die Formaldehyd-Gerbung in der Kasein verarbeitenden Industrie eine bedeutsame Rolle. Bei der Deutung der Gerbwirkung handelt es sich gleichfalls um die Aufklärung der dabei reagierenden funktionellen Gruppen. Die Thioglykolylkaseine mußten wie Desaminokasein und Acetylkasein<sup>21)</sup> geeignete Substanzen darstellen, um die Angriffsstellen für Formaldehyd zu studieren.

Auch geschwefelte Kaseine setzen sich bei gewöhnlicher und höherer Temperatur mit Formaldehyd um. Jedoch liegt gegenüber unverändertem Kasein eine Verringerung der Umsatzfähigkeit vor<sup>22)</sup>. Aus Präparaten, die bei Zimmertemperatur bzw. 70° erhalten wurden, ließen sich 0,38 m-Mole (1,15%) bzw. 0,92 m-Mole (2,76%) Formaldehyd pro g abspalten. Wichtig dabei ist, daß die Gerbung keine Abspaltung des eingeführten Schwefels bewirkt.

Die Versuche zeigen, daß Formaldehyd auch nicht bei tiefer Temperatur nur mit den freien Lysin-amino-Gruppen im Protein reagiert, da in Thioglykolylkaseinen der größte Teil dieser Gruppen bereits besetzt ist. Erinnert man sich an die kürzlich von

<sup>21)</sup> Nitschmann u. Lauener, Helv. Chim. Acta 29, 184 [1946].

<sup>22)</sup> Die Formaldehyd-Behandlungen führten wir an den Lösungen der Kaseinpräparate, nicht an den festen Substanzen durch. Vergleichsweise wurde unter diesen Bedingungen auch die Gerbung von unverändertem Kasein eingehender studiert.

Nitschmann bei der Formaldehyd-Einwirkung auf Desaminokasein erzielten Ergebnisse, so ist es fraglich, ob auch hier eine eigentliche Gerbwirkung, d. h. eine hauptvalenzmäßige Verknüpfung von Peptid-Ketten durch Methylen-Brücken vorliegt.

Jedoch braucht man nicht anzunehmen, daß unsere geschwefelten Kaseine garnicht mit Formaldehyd reagieren dürften. Nach Nitschmann sollen sich u. a. auch substituierte, z. B. acetylierte Amino-Gruppen und die NH-Gruppen der Peptid-Ketten mit Formaldehyd umsetzen können. Außerdem besteht bei den Thioglykolylkaseinen noch die Möglichkeit, daß ihre SH-Gruppen mit dem Formaldehyd in Reaktion treten. Versuche an Cystein machen dies wahrscheinlich<sup>23)</sup>.

Die vorgelegten Untersuchungen bedürfen in Bezug auf den neuen Reaktionstyp und die Eigenschaften der neuen Protein-Derivate der Ergänzung und Erweiterung. Dabei werden sich dann auch die Beziehungen zu den eingangs erwähnten speziellen Problemstellungen der Eiweißchemie ergeben. Abgesehen von der mit dem neuen Reaktionstyp gegebenen Möglichkeit der Schwefel-Einführung in schwefel-arme Proteine kann man bei all den Fragen Anknüpfungspunkte erwarten, bei denen die immer noch beschränkten Reaktionsmöglichkeiten der Eiweißstoffe Fortschritte unserer Erkenntnisse erhoffen lassen<sup>24)</sup>.

Eingeg. am 1. Oktober 1947. [A 76].

<sup>23)</sup> Ratner u. Clark, J. Amer. Chem. Soc. 59, 200 [1937].

<sup>24)</sup> Die experimentellen Einzelheiten unserer Untersuchungsreihe werden an anderer Stelle mitgeteilt. Bei der Niederschrift dieser Zusammenfassung half Frl. Dipl.-Chem. Annemarie Wagner.

## Derris- und Pyrethrum-Inhaltsstoffe

### Übersicht über Versuche zur Synthese von Rotenoiden und Pyrethrinen

Dr. rer. nat. habil. H. A. OFFE, Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem, jetzt Tübingen

#### Vorkommen und Verwendung

Das Rotenon wird aus Wurzeln und Rinden einer Anzahl tropischer Pflanzen isoliert, die vornehmlich der Familie der Papilionaceen angehören. Unter diesen sind es besonders Arten der Gattung Derris, die zur Rotenon-Gewinnung in Südostasien angebaut werden. Aus ihren Wurzeln, den Tubawurzeln, wird entweder Rotenon extrahiert und als solches angewendet, oder aber die Wurzeln werden gemahlen und als Derris, Derrismehl und unter ähnlichen Bezeichnungen in den Handel gebracht.

Neben den Derrisarten sind es noch Angehörige einer Reihe weiterer Papilionaceen, die Rotenon enthalten (Tab. I). Nachdem man zuerst geglaubt hatte, das Rotenon sei der einzige wirksame Stoff aus Derriswurzeln, fand man bald, daß die bei der Darstellung des Rotenons hinterbleibenden Harze noch eine gewisse fisch- und insektentötende Wirkung besaßen. Bei eingehender Untersuchung lieferten sie noch eine Reihe von Stoffen, die dem Rotenon sowohl hinsichtlich seiner Wirkung wie auch seiner Konstitution nahestehen. Solchen Stoffen ist man wiederum auch bei der Untersuchung weiterer tropischer Papilionaceen-Gattungen begegnet<sup>1)</sup>.

Bekanntlich wurde man auf die Derriswurzel zuerst aufmerksam, als man erfuhr, daß ein Extrakt aus ihr von den Einwohnern des Malaiischen Archipels zum Fischfangen benutzt wurde. Es zeigte sich bald, daß die Derrisextraktivstoffe und unter ihnen besonders das Rotenon nicht nur auf Fische, sondern auch auf Insekten sehr stark giftig wirken, während es für warmblütige Tiere solange relativ ungefährlich bleibt, als es nicht in die Blutbahn gelangt. Dieser Umstand ließ solche Stoffe als besonders beachtliche Insekticide erscheinen. Rotenon ist z. B. für Seidenraupen als Fraßgift 30mal so giftig wie Bleiarsenat, für Bohnenläuse als Kontaktgift 15mal so giftig wie Nikotin und für den Goldfisch 25mal so giftig wie KCN.

#### Struktur der Rotoide

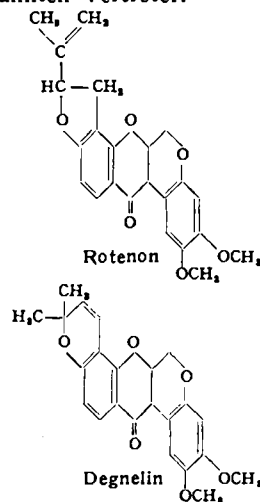
Nachdem im Jahre 1902 Nagai<sup>2)</sup> als erster das Rotenon rein dargestellt hatte, wurde es in Deutschland, Japan, Amerika und England eingehend untersucht; 1932 wurde von Butenandt<sup>3)</sup> die heute allgemein anerkannte Konstitutionsformel vorgeschlagen. Bei der gleichzeitigen und anschließenden Untersuchung der Begleitstoffe fand man, daß sie eine weitgehende Verwandtschaft im Bau der Molekeln aufwiesen. Man hat daher den Vorschlag gemacht, diese ganze Gruppe ähnlicher Stoffe als Rotoide zu bezeichnen. Tab. II zeigt die bis jetzt in ihrer Konstitution näher bekannten Vertreter.

Vorkommen der Rotoide							
Spezies	Heimat	Rotenon	Deguelin	Tephrosin	Toxicarol	Malaccol	Sumathol
Derris elliptica (Wurzel)	Trop. Asien, Java, Philippinen	+	+	+	+		
Derris uliginosa (Rinde)	Philippinen	+	+	+	+		
Millettia taiwaniana (Wurzel)	Formosa	+	+	+	+		
Lonchocarpus nicou (Wurzel)	Brit. Guyana, Südamerika	+	+	+	+		
Tephrosia toxicaria (Wurzel)	Brit. Guyana, Südamerika	+	+	+	+		+
Tephrosia vogelii (Blätter)	Afrika, Java, Sumatra	+	+	+	+		
Tephrosia piscatoria (Cubé-Gifte)	Peru	+	+	+	+		
Tephrosia virginiana (Cracca)	USA	+	+	+	+		
Derris malaccensis	SO-Asien	+	+	+	+	+	+
Pachyrrhizus erosus	USA	+	+	+	+	+	+

Tab. I

<sup>1)</sup> Butenandt u. Hilgetag, Liebigs Ann. Chem., 495, 172 [1932]. Vgl. auch: Wehmer: Die Pflanzenstoffe I, 554, 1309. 2. Aufl. Jena 1929—Erg. Band 71, 200. Jena 1935.

<sup>2)</sup> Nagai u. Hansberry, J. Amer. Chem. Soc. 67, 1609 [1945].



Tab. II

<sup>3)</sup> Nagai, J. Chem. Soc. Japan, 23, 740 [1902]. <sup>4)</sup> Butenandt u. Mc Cartney, Liebigs Ann. Chem. 494, 17 [1932]; vgl. Robertson J. Chem. Soc. [London] 1932, 1380; La Forge, Haller, J. Amer. Chem. Soc. 54, 810 [1932].