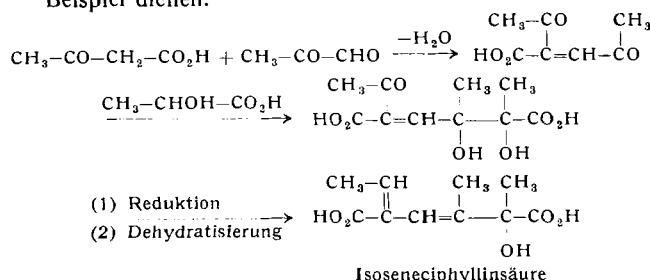
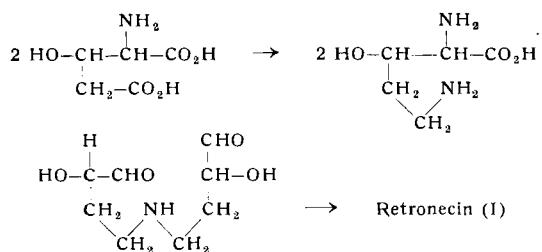


Die Synthese der Isoseneциphyllinsäure möge als Beispiel dienen.



Es ist bemerkenswert, daß Robinson⁵¹⁾ die Bildung des Retronecins aus zwei Molekülen des von der Hydroxy-glutaminsäure abgeleiteten Hydroxy-ornithins nach dem folgenden Schema angenommen hat:



Es wurde nun tatsächlich die Aminosäure D,L- β -Hydroxy-N-methyl-norvalin, die eine dem Hydroxy-ornithin ziemlich nahe verwandte Konstitution besitzt, aus *Crotalaria juncea*³¹⁾ isoliert, was als Stütze für Robinsons Annahme gelten kann.

Zusammenfassung und Ausblick

Die Methoden zur Gewinnung der Pyrrolizidin-Alkaloide haben sich als zufriedenstellend erwiesen. Die Trennung derartiger strukturell nahe verwandter Alkaloide durch

⁵¹⁾ Siehe Anm. ⁴⁶), S. 72.

Verteilungschromatographie gelingt leicht und erlaubt es, Substanzen zu isolieren, die in den Gemischen nur zu wenigen Prozenten enthalten sind. Die Papierchromatographie stellt ein schnelles Hilfsmittel dar um festzustellen, ob ein reines Alkaloid oder ein Gemisch von Alkaloiden vorliegt. Die IR-Spektren dieser Alkaloide zeigen im Gebiet niedriger Wellenzahlen charakteristische Banden, die es erlauben, sie voneinander zu unterscheiden und ihre Anwesenheit nebeneinander festzustellen. Ein reines Alkaloid kann durch das IR-Spektrum identifiziert werden. Mit Hilfe der UV-Spektren gelingt es, die Alkaloide und die aus ihnen erhaltenen Säuren hinsichtlich ihrer Konfiguration an der CC-Doppelbindung zueinander in Beziehung zu bringen.

Man weiß nun genug über die Methoden zum Abbau dieser Alkaloide zu den Säuren und allgemein über die physikalischen und chemischen Eigenschaften der Säuren aus vielen Senecio- und Crotalaria-Alkaloiden, um eine Grundlage für die Untersuchung von irgendwelchen neuen Necinsäuren zu haben, die in der Zukunft gefunden werden mögen.

Die Stereochemie an der oder den CC-Doppelbindungen in den Alkaloiden und in den entsprechenden Säuren verlangt eine weitere Untersuchung und Klärung. Eine genauere Kenntnis der Konfiguration an den asymmetrischen C-Atomen erscheint wünschenswert.

Die Konfigurationsbeziehungen zwischen den asymmetrischen C-Atomen im Retronecin und verwandten Basen sowie deren Derivaten scheint weitgehend geklärt zu sein. Die absolute Konfiguration dieser Basen wäre eine Untersuchung wert.

Die Bearbeitung anderer Senecio-, Crotalaria- und verwandter Alkaloide dürfte sich durch die Verwendung der bereits für die Konstitutionsbestimmung bisher bekannter Alkaloide benutzten Methode sehr erleichtern lassen.

(Übersetzt von Doz. Dr. J. Thesing, Darmstadt)

Eingegangen am 17. August 1956 [A 766]

Über Ommochrome, eine Klasse natürlicher Phenoxazon-Farbstoffe

Von Prof. Dr. A. BUTENANDT

Max-Planck-Institut für Biochemie und Physiologisch-Chemisches Institut der Universität München

Ommochrome sind saure Naturfarbstoffe, die besonders bei Arthropoden verbreitet vorkommen. Zu ihnen gehören die Augenfarbstoffe der Insekten. Man teilt die Ommochrome in die niedrigermolekularen Ommatine und die höhermolekularen Ommine ein. Der bestuntersuchte Vertreter der Ommatine ist der Phenoxazon-Farbstoff Xanthommatin, dessen Konstitutionsermittlung und Synthese den ersten Zugang zur Chemie der Ommochrome eröffnet hat. Die Konstitutionsermittlung der Farbstoffe wurde durch Modellversuche an ihren Vorstufen Tryptophan, Kynurenin und Oxykynurenin wesentlich erleichtert.

Als Ommochrome bezeichnet man nach einem Vorschlag von E. Becker¹⁾ eine Klasse natürlich vorkommender Farbstoffe, die sich aus dem Tryptophan-Stoffwechsel ableiten und sich besonders im Reich der Gliederfüßer (*Arthropoden*) finden. Ihr Vorkommen ist zwar nicht auf diese Tierklasse beschränkt, jedoch dürfen die Ommochrome als eine für Arthropoden, besonders für Insekten, charakteristische Farbstoffklasse angesehen werden. Ihr Vorkommen in den Ommatidien der Insekten-Augen führte zu ihrer Entdeckung und zu ihrem Namen.

Außer in den Augen findet man Ommochrome in der Epidermis und in Hüllen von Organen bei vielen Arthropoden, vor allem bei Maden, Raupen und adulten Formen der Insekten. Auch unter den Flügelfarbstoffen der Schmetterlinge kommen Ommochrome vor, und als ergiebige Quelle für ihre chemische Bearbeitung erwiesen sich die Schlupfsekrete mancher Schmetterlinge und Heuschreckenarten. Bemerkenswert ist das reiche Vorkommen in den Augen und in der Haut der *Cephalopoden*²).

Ommochrome sind saure Farbstoffe von rotem, braunem, gelbem bis violettem Farbton, die in allen neutralen Lö-

¹⁾ E. Becker, Biol. Zbl. 59, 597 [1939]; Naturwissenschaften 48, 237 [1941]; Z. indukt. Abstammungs- u. Vererbungslehre 80, 157 [1942].

²⁾ I. Schwinck, Naturwissenschaften 40, 365 [1953].

sungsmitteln völlig unlöslich sind. In den Geweben liegen sie oft an Eiweiß gebunden als Chromoproteide vor. Viele Ommochrome zeigen ein kennzeichnendes Redoxverhalten, sie sind in reduziertem Zustand rot bis rotviolett, in oxydiertem gelbbraun, was oft zu ihrem Nachweis verwendet werden kann.

Schon E. Becker¹⁾ hat erkannt, daß man die natürlich vorkommenden Ommochrome in zwei Gruppen unterteilen kann: höhermolekulare, nicht dialysable, alkalistabile Ommine sind von den niedrigeren molekularen, dialysablen, alkalilabilen Ommatinen zu unterscheiden. Diese Gruppentrennung wird auch bei der Namensgebung einzelner Ommochrome, (z. B. „Skotommin“, „Xanthommatin“) berücksichtigt.

Wegen ihrer extremen Unlöslichkeit in neutralen Lösungsmitteln, der großen Schwierigkeit, die sich ihrer Isolierung entgegenstellt, und wegen des Fehlens einfacher Reinheitskriterien würden die Ommochrome bisher wenig bearbeitet. In der älteren Literatur²⁾ sind sie als Melanine, Gallenfarbstoffe und selbst als Anthocyane angesprochen worden. Den ersten sicheren Hinweis auf ihre wahre Natur brachte die chemische Genetik durch das Studium der Augenfarbstoffe beim Schmetterling *Ephestia Kühniella* (Mehlmotte) und bei der Taufliege *Drosophila melanogaster* als Phäne, die nur bei Anwesenheit bestimmter Erbfaktoren im Genom realisiert werden. Untersuchungen über die Wirkung dieser Erbfaktoren⁴⁾ führten zu der Erkenntnis, daß die Ommochrome aus Tryptophan gebildet werden. Ihre Synthese im Organismus verläuft in mehreren Reaktionsschritten, die jeweils von einzelnen Genen über die Bereitstellung spezifisch wirkender Enzyme gesteuert werden. In Bild 1 ist das Wesen dieser „Genwirkkette“ wiedergegeben. Aus der Aminosäure Tryptophan (I) wird unter der Wirkung eines Gens (v^+ -Gens) das Kynurenin (II), unter der Wirkung eines zweiten Gens (cn^+ -Gens) das Oxykynurenin (III) gebildet. Kynurenin und Oxykynurenin sind Vorstufen (Chromogene) der Ommochrome, die in einem Sauerstoff benötigenden Prozeß aus Oxykynurenin synthetisiert werden.

Die aus Oxykynurenin entstehenden Pigmente sind nicht einheitlich; z. B. werden in verschiedenen Zellen des *Ephestia*-Auges verschiedene Ommochrome gebildet: in den Retinula-Zellen und den Nebenpigmentzellen ein dunkelbraunes, in den Cornea-Pigmentzellen ein gelbes. In der Epidermis der *Ephestia*-Raupen findet sich außerdem ein rotes Ommochrom. Diese „chemische Polyphänie“ kommt dadurch zustande, daß in den verschiedenen Zellen

später Abschnitte der Pigmentsynthese aus gleicher Vorstufe in verschiedene Richtungen gelenkt werden.

Auf Grund dieser Erkenntnis enthält die Frage nach der chemischen Natur der Ommochrome zugleich die nach dem weiteren Schicksal des Oxykynurenins im Organismus bei seinem Übergang in diese Farbstoffe. Die Konstitutionsermittlung der Ommochrome konnte somit auf zwei Wegen erfolgen: a) in der üblichen Weise durch Charakterisierung und Abbau reiner, natürlich vorkommender Pigmente oder b) durch Versuche zur Abwandlung des Oxykynurenins *in vitro*. Beide Wege wurden beschritten.

Modellversuche zur Konstitution der Ommochrome

R. Danneel⁵⁾ hatte schon 1941 gezeigt, daß die Pigmentbildung in überlebenden isolierten *Drosophila*-Köpfen auf Oxydationsprozessen beruht, da sie durch Sauerstoffentzug oder durch Zusatz von Cyanid zu unterbinden ist. Daraus wurde die Vorstellung hergeleitet, daß Oxykynurenin oxydativ in die Ommochrome übergeht.

Oxykynurenin ist ein o-Aminophenol. Es ist bekannt⁶⁾, daß o-Aminophenole durch Oxydation mit Luft, Quecksilberoxyd oder Kaliumferricyanid in schwach alkalischer bzw. alkoholischer Lösung je nach den vorhandenen Substituenten und dem Oxydationsmittel Phenyl-chinon-imine oder Phenoaxone liefern. Darauf fußend hat J. Keck 1953 damit begonnen, in systematischen Versuchen eine Reihe verschieden substituierter o-Aminophenole der Oxydation zu unterwerfen, die entstehenden Farbstoffe zu charakterisieren und in ihren Eigenschaften mit den Ommochromen zu vergleichen. Diese Versuche wurden später von E. Biekert und G. Neubert fortgesetzt. In der Tat zeigte sich, daß viele der dargestellten Modellfarbstoffe den natürlichen Insektenpigmenten sehr nahe stehen. Aus diesen Untersuchungen haben wir den später voll bestätigten Schluß gezogen, daß unter den natürlichen Ommochromen sich Derivate des Phenoazon-Systems befinden müssen. Es seien im folgenden einige wichtige Beobachtungen dieser Versuchsreihen ange deutet:

Oxydiert man z. B. 3-Oxyanthranilsäure (IV) mit Luft bei p_H 9–11, so entsteht der rotviolette Phenylchinon-diimin-Farbstoff V, der ein kennzeichnendes Redoxverhalten zeigt und unter Aufnahme von 1 Mol Wasserstoff (reversibel) in die gelbe Hydrochinonstufe VI übergeht⁷⁾. Von besonderem Interesse für die Chemie der Ommochrome erwies sich sein Verhalten gegenüber verdünnter Lauge: Unter Decarboxylierung, Oxydation

³⁾ A. Butenandt, U. Schiedt, E. Biekert u. P. Kornmann, Liebigs Ann. Chem. 586, 217 [1954]; dort ältere Literatur zitiert.
⁴⁾ A. Kühn, Nachr. Akad. Wiss. Göttingen 1947, 231; Naturwissenschaften 43, 25 [1956]; A. Butenandt, ebenda 40, 91 [1953]; P. Karlson, Ergebn. Enzymforsch. 13, 85 [1954].

⁵⁾ R. Danneel, Biol. Zbl. 1941, 61.
⁶⁾ K. v. Auwers, Fortschr. Chem., Physik, physik. Chem. 18, 2 [1928]; Chem. Zbl. 1924, II, 2265.
⁷⁾ A. Butenandt, J. Keck u. G. Neubert, Über Ommochrome, VIII. Mittig., Liebigs Ann. Chem., im Druck.

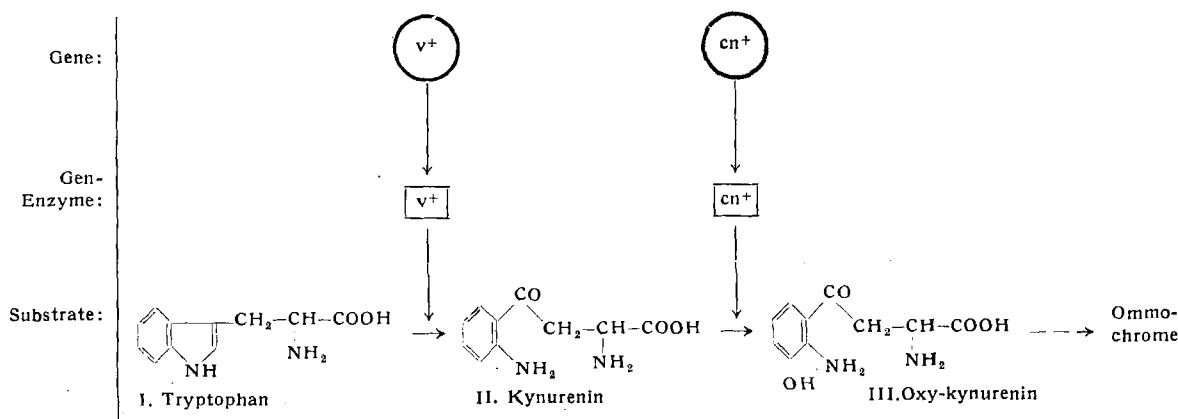
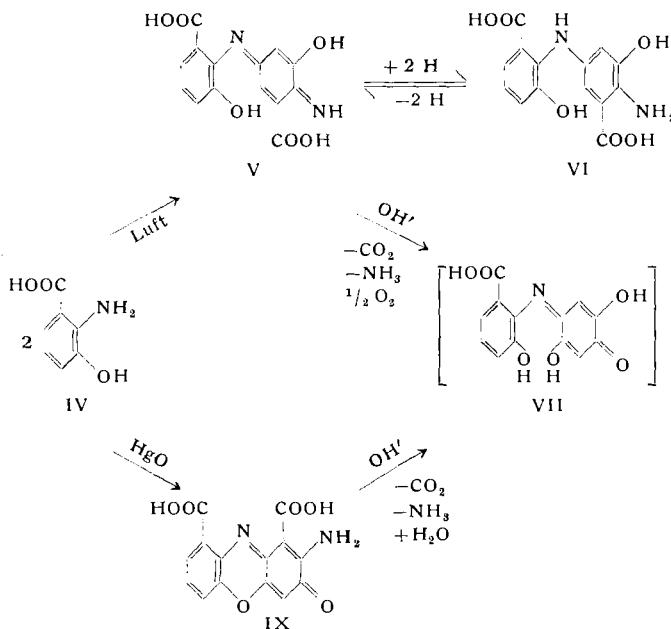
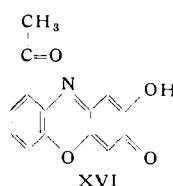
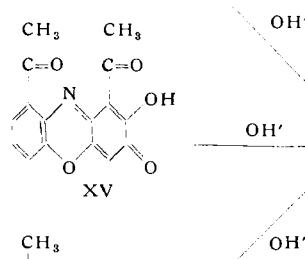
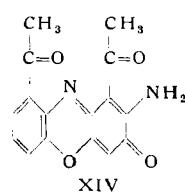


Bild 1. Genwirkkette der Pigment-(Ommochrom)-Bildung bei Insekten

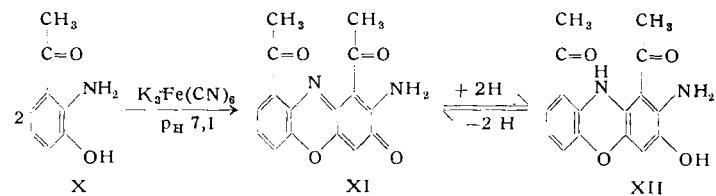
und hydrolytischer Desaminierung entsteht leicht die 3-Oxy-phenoxazon-(2)-carbonsäure-(5) (VIII). Oxydert man 3-Oxy-antranilsäure (statt mit Luft) mit Quecksilberoxyd in schwach ammoniakalischer Lösung, so erhält man unmittelbar die Amino-phenoxazon-dicarbonsäure IX, die unter Einwirkung von Lauge Ammoniak und Kohlendioxyd abspaltet und nach dem Ansäuern ebenfalls die 3-Oxy-phenoxazon-(2)-carbonsäure-(5) (VIII) liefert. Durch spektroskopische und kinetische Messungen konnte gezeigt werden, daß in beiden Fällen – bei der Einwirkung von Alkali auf den Farbstoff V sowohl wie auf den Farbstoff IX – das Phenylchinonimin-Derivat VII als Zwischenprodukt anzunehmen ist, mit dem die Phenoxazoncarbonsäure VIII in einem pH-abhängigen reversiblen Gleichgewicht steht.



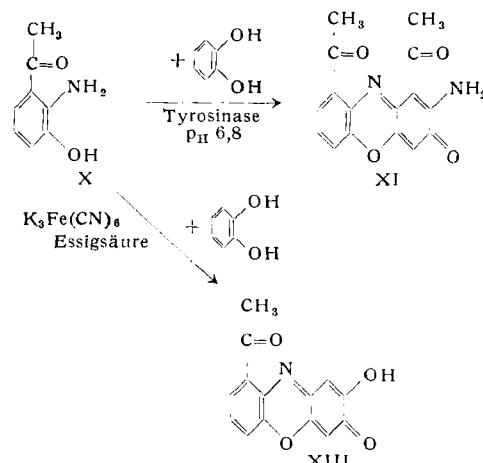
Oxydert man 2-Amino-3-oxy-acetophenon (X) mit Kaliumferricyanid in Phosphatpuffer ($p_{\text{H}} 7,1$), so entsteht schon bei Zimmertemperatur fast augenblicklich das 3-Amino-4,5-diacetyl-phenoxazon (XI)⁹. Das gelborange farbige Phenoxazon zeigt dasselbe charakteristische



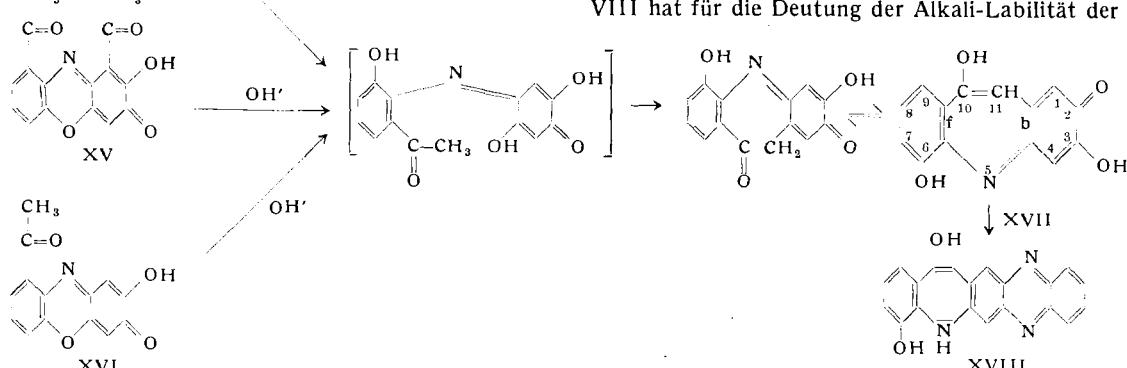
Redoxverhalten wie die Ommatine; bei katalytischer Hydrierung oder durch Reduktion mit Natriumdithionit oder schwefliger Säure geht es in einen intensiv roten Farbstoff über, der beim Stehen an der Luft wieder zum ursprünglichen Phenoxazon oxydiert wird. Es handelt sich um den reversiblen Übergang des Chinons XI in das Hydrochinon XII.



Dasselbe 3-Amino-4,5-diacetyl-phenoxazon (XI) kann man durch Einwirkung von Tyrosinase auf 2-Amino-3-oxy-acetophenon (X) in Gegenwart von etwas Brenzcatechin bei $p_{\text{H}} 6,8$ erhalten, ein Befund, der physiologisches Interesse beansprucht, da o-Aminophenole von Tyrosinase allein nicht angegriffen werden. Im essigsauren Bereich läßt sich bei Verwendung der gleichen Reaktionspartner die Tyrosinase durch Kaliumeisen(III)-cyanid ersetzen, doch entsteht unter diesen Bedingungen das 3-Oxy-5-acetyl-phenoxazon - (2) (XIII), weil nach dem Prinzip einer „oxydativen Mischkondensation“ das aus Brenzcatechin primär entstehende o-Chinon mit dem o-Aminophenol zusammentritt⁹). Diese interessante Reaktion ist ein Beispiel für ein neues Verfahren, geeignet substituierte Phenoxazone zu gewinnen.



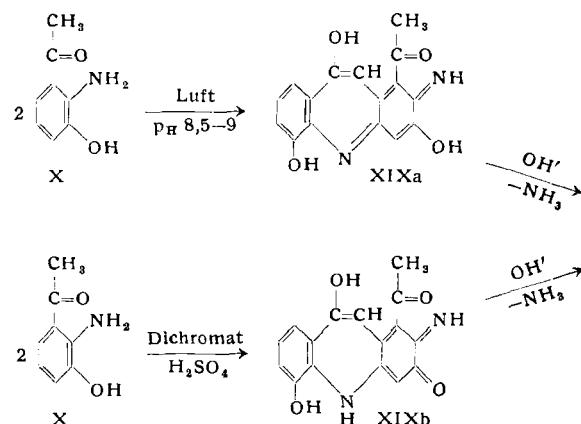
Der reversible Übergang des Phenoxazon-Systems in das Phenylchinonimin-System nach Art des Schemas VII \rightleftharpoons VIII hat für die Deutung der Alkali-Labilität der Ommo-



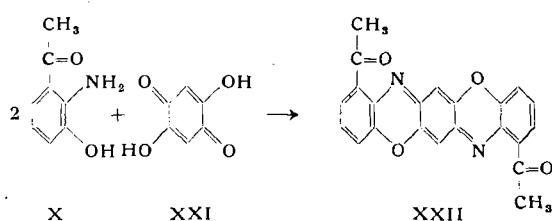
⁹⁾ A. Butenandt, E. Biekert u. G. Neubert, Über Ommochrome, IX. Mittig., Liebigs Ann. Chem., im Druck.

chrome besonderes Interesse. Sein näheres Studium am Beispiel einiger 5-Acetyl-phenoxyazone hat zu einem überraschenden Befund geführt: 3-Amino-4,5-diacetyl-phenoxyazon-(2) (XIV), 3-Oxy-4,5-diacetyl-phenoxyazon-(2) (XV) und 3-Oxy-5-acetyl-phenoxyazon-(2) (XVI) liefern sämtlich unter der Einwirkung von verd. Alkali ein und dasselbe Stickstoff-haltige heterocyclische Siebenringssystem, das 3,6,10-Trioxo-5-dibenz(b,f)-azepinchinonimin-(2,5) (XVII), das u. a. durch sein Chinoxalin-Derivat XVIII gekennzeichnet wurde; in ihm liegt ein dem Pyrrol vinyloges aromatisches System vor, das unter Einbeziehung des Elektronenpaars am Stickstoff 8 π-Elektronen aufweist¹⁰⁾.

Die Bildungstendenz des Azepin-Systems ist groß. Wir haben gefunden, daß man 5-Dibenz(b,f)-azepinchinonimine auch durch direkte Oxydation von 2-Amino-3-oxyacetophenon (X) gewinnen kann. Durch Oxydation mit Luft in Ammoniak-Ammonchloridpuffer (p_{H} 8,5–9) oder mit Dichromat in stark mineralsaurer Lösung erhält man den in 2 tautomeren Formen (a und b) existierenden Dibenz-azepin-chinonimin-Farbstoff XIX, der unter der Einwirkung von Alkali zum Farbstoff XX desaminiert wird¹⁰⁾. Somit wurden bereits Vertreter dieser interessanten neuen Farbstoffklasse bekannt.



Es soll noch erwähnt werden, daß man durch Kondensation von 2 Mol 2-Amino-3-oxy-acetophenon (X) mit 1 Mol 2,5-Dioxy-benzochinon (XXI) in 80 proz. Essigsäure oder in Butanol als Hauptprodukt der Reaktion das 1,6-Diacetyl-triphendioxazin (XXII) erhält⁹⁾. Das Verhalten dieses unlöslichen, dunkelvioletten Farbstoffs erinnert in mancher Hinsicht an das der Ommine.



Die Modellversuche zur Konstitution der Ommochrome, von denen vorstehend nur einige Beispiele erwähnt wurden, haben — wie im folgenden zu zeigen ist — wesentliche Dienste bei der Bearbeitung der Naturfarbstoffe geleistet. Wahrscheinlich werden sie auch zum Verständnis der Variationsbreite beitragen, die man im Gebiet der Ommochrome, der Ommatine und Ommine, findet.

¹⁰⁾ A. Butenandt, E. Biekert u. G. Neubert, Über Ommochrome, X. Mittgl., ebenda, im Druck.

Reindarstellung und Kennzeichnung natürlich vorkommender Ommatine

Als Ausgangsmaterial für die Untersuchung der Naturfarbstoffe diente zunächst das Schlupfsekret des Schmetterlings *Vanessa urticae* („Kleiner Fuchs“). Sein Ommochrom-Reichtum veranlaßte schon Becker¹⁾ zu einer näheren Untersuchung, jedoch gelang es ihm nicht, einheitliche Farbstoffe zu gewinnen. Dieses Ziel wurde nach mühsamen systematischen Versuchen erst von U. Schiedt und E. Biekert erreicht, denen die größten Verdienste in der erfolgreichen Bearbeitung der Ommochrome zukommen.

Zur erstmaligen Isolierung reiner Ommochrome wurde das Schlupfsekret von 5000 Faltern eigener Zucht auf Filterpapier aufgefangen; es enthält die Farbstoffe als Salze, die mit Wasser eluierbar sind. Die rotbraune wäßrige Lösung verdankt ihre Farbe der Anwesenheit mehrerer Ommatine, die durch ihre unterschiedliche Löslichkeit bei verschiedenem p_{H} und ihr Verhalten bei papierchromatographischer Trennung (z. B. bei Verwendung von Collidin/0,5 m Kaliumdihydrogenphosphat als Lösungsmittelsystem) von einander getrennt werden konnten. Es wurden zunächst drei reine Ommatine erhalten: das kristallisierte Xanthommatin und die papierchromatographisch einheitlichen Farbstoffe Rhodommatin und Ommatin C³). In einer späteren Aufarbeitung von *Vanessa*-Exkreten wurde als vierter Vertreter noch das Ommatin D gewonnen⁷⁾.

Da streng genommen die „Ommochrom-Natur“, d. h. die Genese aus Tryptophan, nur für die in den Augen von *Ephesia* und *Drosophila* vorkommenden Pigmente durch die chemische Genetik gesichert war, während die Zugehörigkeit der Schlupfsekret-Farbstoffe von *Vanessa* zu den Ommochromen lediglich aus dem ähnlichen physikalisch-chemischen Verhalten geschlossen wurde¹⁾, war zu beweisen, daß die aus dem Schlupfsekret isolierten Farbstoffe wirklich aus Tryptophan über Kynurenin und Oxykyne urenin gebildet werden und als Vertreter der Ommochrome gelten können. Der Beweis wurde dadurch geführt, daß mit ¹⁴C markiertes Tryptophan bzw. mit ¹⁴C markiertes Kynurenin¹¹⁾ in Raupen von *Vanessa urticae* injiziert und die im Schlupfsekret der Falter enthaltenen Farbstoffe auf ihren Gehalt an radioaktiven ¹⁴C untersucht wurden. 1–2 Tage vor der zu erwartenden Verpuppung wurden 135–200 γ markiertes Tryptophan bzw. 100–150 γ markiertes Kynurenin (10–15 mm³ einer 1 proz. Lösung) in die *Vanessa*-Raupen injiziert; das auf Filterpapier gesammelte Schlupfsekret der Falter wurde papierchromatographisch aufgetrennt; die Radioaktivität befand sich erwartungsgemäß in den oben genannten Farbstoffen¹²⁾.

Die damit auf Grund ihrer Biogenese erwiesene „Ommochrom-Natur“ der Schlupfsekret-Farbstoffe wurde noch dadurch erhärtet, daß aus 7800 Köpfen der Schmeißfliege *Calliphora* 19 mg reines kristallisiertes Xanthommatin gewonnen werden konnte¹³⁾, das den Augen der Fliege entstammt. Das Schlupfsekret-Pigment Xanthommatin ist also identisch mit dem Augenfarbstoff der Schmeißfliege; im Xanthommatin liegt der erste kristallisierte Augenfarbstoff aus dem Insektenreich vor. Injiziert man *Calliphora*-Puppen 2 mm³ einer Lösung von radioaktivem ¹⁴C enthaltendem Tryptophan, so erweist sich das

¹¹⁾ A. Butenandt u. R. Beckmann: Biochemistry of Nitrogen, S. 275 (A. I. Virtanen homage volume), Helsinki 1955.

¹²⁾ A. Butenandt u. R. Beckmann, Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. 301, 115 [1955].

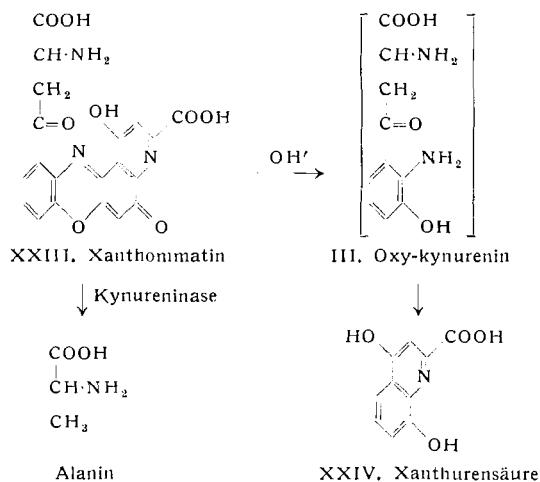
aus den Augen der geschlüpften Fliegen isolierte Xanthommatin als hoch radioaktiv, wie es von ihm als Tryptophan-Derivat zu erwarten ist^{13).}

Die Konstitutionsermittlung des Xanthommatins

Das in allen neutralen Lösungsmitteln unlösliche Xanthommatin $C_{20}H_{15}O_9N_3$ ist eine Säure, die mit Basen Salze bildet. Xanthommatin zeigt ein charakteristisches Redoxverhalten: die gelbbraune Farbe der oxydierten Stufe schlägt unter der Einwirkung von schwefliger Säure oder Natriumdithionit in ein leuchtendes Rot um. Das rote „Hydroxanthommatin“ wird vom Sauerstoff der Luft reoxydiert; 1 Mol Hydroxanthommatin $C_{20}H_{17}O_9N_3$ verbraucht bei dieser Oxydation 1 Atom Sauerstoff (2 Oxydationsäquivalente). Xanthommatin ist in verd. Salzsäure löslicher als Hydroxanthommatin; zur Reinigung macht man von diesem Verhalten Gebrauch: aus einer salzauren Lösung von Xanthommatin fällt beim Einleiten von Schwefeldioxyd rotes Hydroxanthommatin aus^{3).}

Die Konstitution des Xanthommatins konnte eindeutig als die eines Phenoxazon-Farbstoffes der Struktur XXIII ermittelt werden^{14).}

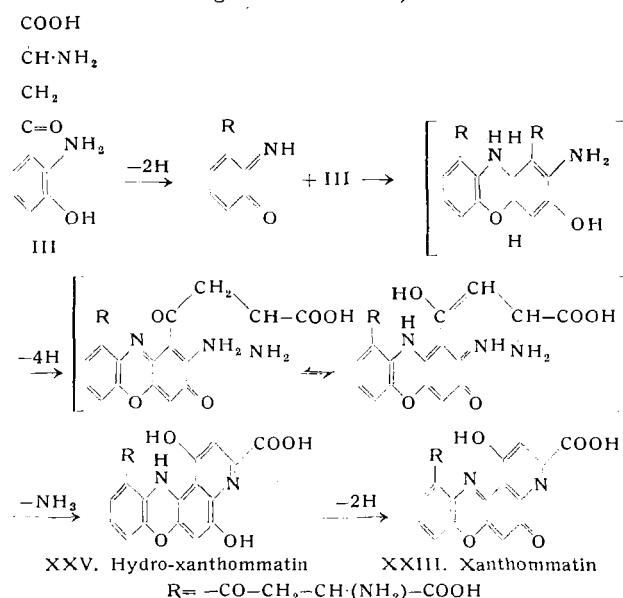
Den ersten Einblick in den Bau des Xanthommatins gewährte der alkalische Abbau. Zweistündiges Erwärmen in 0,5-n-Natronlauge bei 90 °C liefert nach dem Ansäuern neben weiteren, in Butanol löslichen Abwandlungsprodukten die 4,8-Dioxychinolin-carbonsäure-(2) (Xanthurensäure) (XXIV). Da unter den gleichen Bedingungen auch



3-Oxykynurein selbst in Xanthurensäure übergeht, war zu diskutieren, ob bei der alkalischen Spaltung des Xanthommatins primär Oxykynurein frei wird, das erst sekundär in Xanthurensäure abgewandelt wird. In Übereinstimmung mit solcher Auffassung steht der Befund, daß das Enzym Kynureinase¹⁵⁾ aus Xanthommatin Alanin abspaltet; durch diese enzymatische Reaktion ist die Gegenwart einer freien α -Amino- γ -oxo-carbonsäure-Seitenkette (wie sie im Oxykynurein vorliegt) nachgewiesen. Die zusammenfassende Deutung der Befunde macht wahrscheinlich, daß wenigstens 1 Moleköl des Chromogens Oxykynurein so in die Xanthommatin-Moleköl eingebaut ist, daß sie unter den Bedingungen der alkalischen Hydrolyse in Freiheit gesetzt werden kann. In gleichem Sinne ist der Befund zu deuten, daß außer Xanthurensäure noch 2-Amino-3-oxy-acetophenon (X) bei der alkalischen Spaltung des Xanthommatins entsteht.

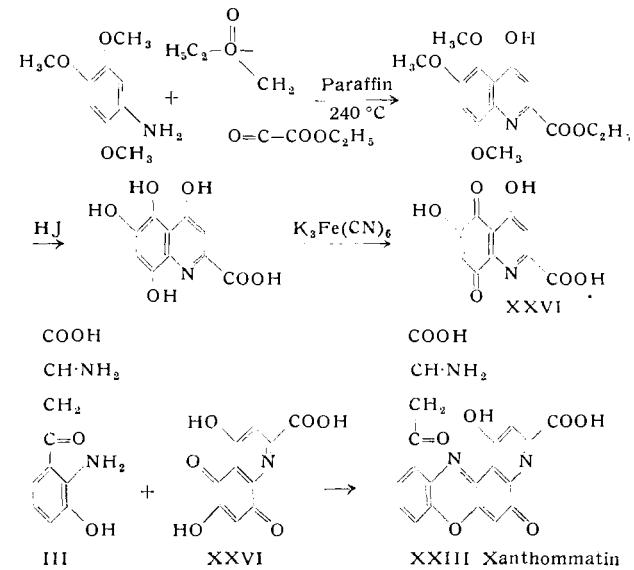
¹³⁾ A. Butenandt u. G. Neubert, Z. physiol. Chem. 301, 109 [1955].
¹⁴⁾ A. Butenandt, U. Schiedt, E. Bickert u. R. J. T. Cromartie, Liebigs Ann. Chem. 590, 75 [1954].
¹⁵⁾ O. Wiss, Z. Naturforsch. 7b, 133 [1952]; Z. physiol. Chem. 293, 106, [1953]; W. D. Jacoby u. D. M. Bonner, J. biol. Chemistry 205, 699 [1953].

Der weitere Einblick in den Bau des Xanthommatins erfolgte auf Grund der Erfahrungen, die das Studium der Modellverbindungen geliefert hatte. Analog der Oxydation von 2-Amino-3-oxy-acetophenon (X) wurde Oxykynurein (III), das natürliche Chromogen der Ommochrome, der Oxydation mit Kaliumferricyanid unterworfen. Aus dem Ansatz konnte Xanthommatin (XXIII) isoliert werden, das sich in allen seinen Eigenschaften, auch im UV- und IR-Spektrum, als mit dem natürlichen Farbstoff identisch erwies. Da für den Reaktionsablauf 8 Äquivalente Sauerstoff verbraucht werden und 1 Mol Ammoniak frei wird, ist der Vorgang im Sinne des Formelschemas 1 deutet, nach welchem dem Xanthommatin die Strukturformel XXIII und dem Hydroxanthommatin die Strukturformel XXV zugeordnet werden^{8).}



Formelschema 1. Bildung von Xanthommatin aus 3-Oxy-kynurein *in vitro*

Die Strukturformel XXIII wurde endgültig durch eine übersichtliche Totalsynthese gesichert, die (unter Benützung einer von Kehrmann¹⁶⁾ angegebenen Methode zur Synthese von Phenoxazonen) den im Formelschema 2 wiedergegebenen Weg der Kondensation von 3-Oxykynurein (III) mit 4,6-Dioxy-chinolinchinon-(5,8)-carbonsäure-(2) (XXVI) einschlägt^{14).}



Formelschema 2. Totalsynthese des Xanthommatins

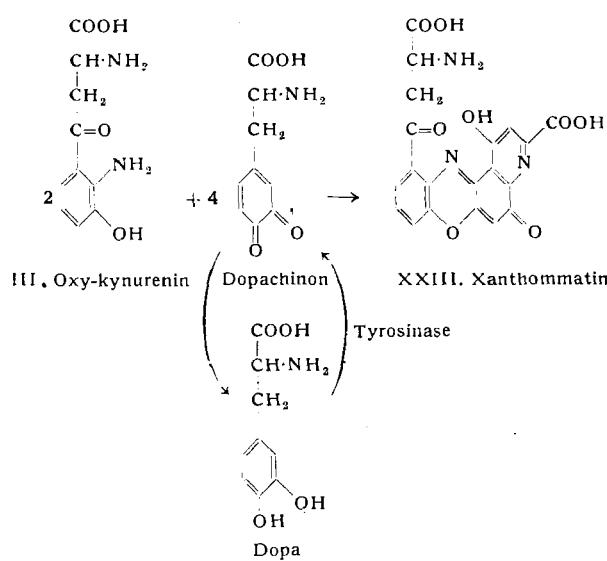
¹⁶⁾ F. Kehrmann u. G. Barche, Ber. dtsch. chem. Ges. 33, 3067 [1900].

Danach ist die Struktur des Xanthommatins eindeutig gesichert und gezeigt, daß in dem ersten aus Schlupfsekret von *Vanessa* und den Augen von *Calliphora* rein dargestellten Ommatin ein Phenoxazon-Farbstoff vorliegt.

Die Natur verwendet sowohl das gelbbraune Xanthommatin (XXIII) als auch sein leuchtend rotes Dihydro-Derivat, das Hydro-xanthommatin (XXV), als Farbstoffe. Als schönes Beispiel sei die Färbung der Raupe des Gabelschwanzes (*Cerura vinula*) angeführt: Die dunkle Rautenzeichnung auf dem Rücken der Raupe besteht aus Xanthommatin, die auffallende Umfärbung nach einem leuchtenden Rot, die kurz vor der Verpuppung unter der Wirkung des Metamorphosehormons Ecdyson zu beobachten ist¹⁷⁾, wird durch eine Reduktion des Xanthommatins zu Hydroxanthommatin erreicht.

Zur Entstehung von Xanthommatin aus Oxykynurenin in vivo

Es darf angenommen werden, daß Xanthommatin auch in vivo durch die oxydative Kondensation von zwei Molekülen 3-Oxy-kynurenin unter Ausbildung der Phenoxazon-Struktur und einem nachfolgenden Chinolin-Ringschluß aus einer der beiden Seitenketten entsteht. Bisher ist kein Enzym aufgefunden worden, das die Oxydation des Oxykynurenins spezifisch vollziehen kann; Tyrosinase zeigt praktisch keine Wirkung in diesem Sinne. Bemerkenswerterweise kann die Tyrosinase jedoch — in Analogie zu oben mitgeteilten Modellsversuchen — Oxykynurenin dann in Xanthommatin überführen, wenn kleine Mengen Dioxyphenylalanin zugegen sind, die als „Vermittler“ der enzymatischen Reaktion fungieren. Offenbar wirkt nach dem Prinzip des Formelschemas 3 ein intermediär entstehendes Orthochinon (wie Dopachinon oder Dopachrom) dehydrierend auf das Oxykynurenin und wird dabei selbst wieder in das als Substrat für Tyrosinase dienende Hydrochinon zurückverwandelt.



Formelschema 3. Enzymatische Bildung von Xanthommatin aus Oxykynurenin durch Tyrosinase unter Vermittlung von Dopa

Nach diesem Befund¹⁸⁾ erscheint es durchaus denkbar, daß das Dopachinon in vivo eine gleiche Funktion ausübt wie das Kaliumferricyanid bei der Xanthommatin-Synthese in vitro.

¹⁷⁾ P. Karlson u. D. Bückmann, Naturwissenschaften 43, 44 [1956]; A. Butenandt, Nova Acta Leopoldina N. F. 17, 445 [1955].

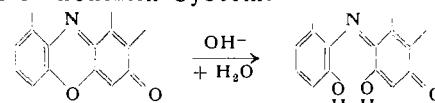
¹⁸⁾ A. Butenandt, E. Biekert u. B. Linzen, Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. 305, 284 [1956].

Xanthommatin als Prototyp natürlicher Phenoxazon-Farbstoffe

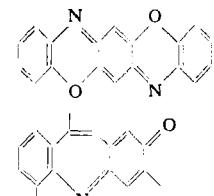
Das Xanthommatin darf in seinem Bau als Prototyp der natürlichen Phenoxazon-Farbstoffe der Gruppe der Ommochrome gelten. Farbstoffe dieser Bauart sind im Laboratorium und in der Technik seit 60 Jahren bekannt, in der Natur wurden sie erst als Phänomene der chemischen Genetik aufgefunden.

Vom Grundtypus lassen sich arbeitshypothetisch leicht verschiedene Vertreter der natürlichen Ommochrome herleiten, und zwar

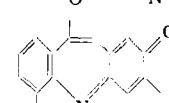
- a) durch Variation der Seitenketten,
- b) durch Übergang des Phenoxazon-Systems in ein Phenyl-chinonimin-System:



- c) durch Erweiterung des Phenoxazon-Systems zu einem Triphen-dioxazin-System:



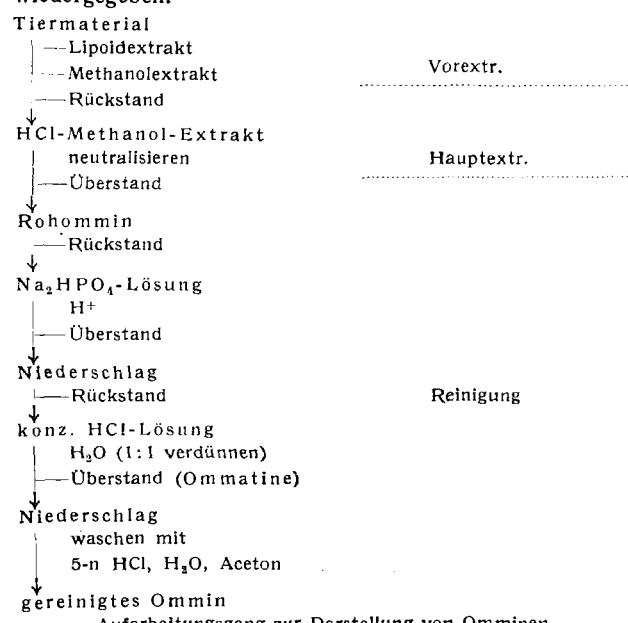
- d) bei geeigneter Substitution auch durch Ausbildung eines Dibenz-azepin-chinonimin-Systems:



Es ist wahrscheinlich, daß sich Rhodommatin und Ommatin D vom Xanthommatin nur durch andere Seitenketten an demselben tetracyclischen Heterocyclus unterscheiden. Ommatin C ist vermutlich ein Kunstprodukt, das in seinem spektralen Verhalten den Phenyl-chinonimin-Farbstoffen nahesteht. Triphen-dioxazin-Farbstoffe sind bisher wenig untersucht; es ist nicht ausgeschlossen, daß die Ommine diesen Typen nahestehen, doch ist das noch nicht experimentell bewiesen.

Untersuchungen über Ommine¹⁹⁾

Die Reindarstellung eines Ommins erwies sich als besonders schwer. Kürzlich wurde ein Verfahren ausgearbeitet, mit dessen Hilfe Ommine aus Tiermaterial darzustellen und eindeutig zu kennzeichnen sind. Nachstehend ist das Schema eines allgemein anwendbaren Aufarbeitungsganges wiedergegeben.



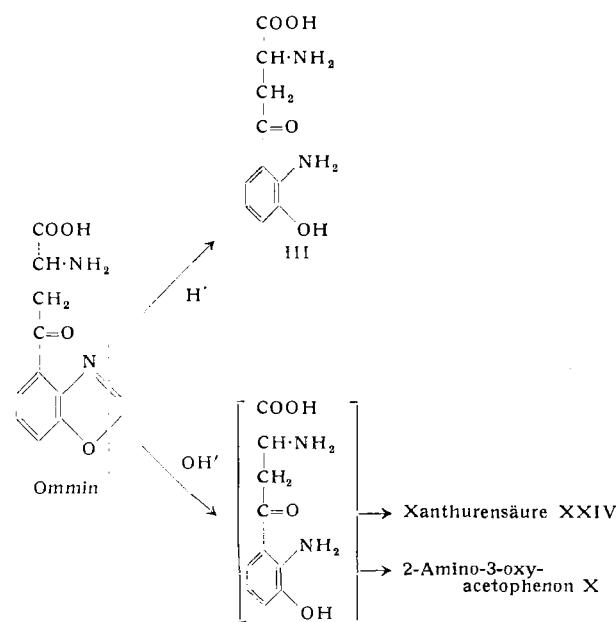
¹⁹⁾ Vorgetragen von E. Biekert, Ges. physiol. Chemie, Hamburg, 27. Sept. 1956.

Auf diesem Weg hat U. Baumann aus 180000 Seidenspinnerköpfen (*Bombyx mori*) 400 mg *Bombyx*-Ommmin dargestellt. Seine Einheitlichkeit läßt sich durch Papierchromatographie im System Ameisensäure-Methanol-10 n-Salzsäure (15:3:1) nachweisen, das sich auf Grund vielseitiger Versuche als bisher einzige brauchbares erwies. Das UV-Spektrum des reinsten Ommmins zeigt eine charakteristische Bande bei 520 m μ mit einem α -Wert von 10,5. Dieser Wert ändert sich bei weiteren Reinigungsoperationen nicht mehr. Der Farbstoff schmilzt nicht bis 380 °C und ist in allen neutralen Lösungsmitteln unlöslich; er ist leicht in Ameisensäure und in methanolischer Salzsäure zu lösen.

Auch das Ommin zeigt ein charakteristisches Redoxverhalten: die rotviolette Lösung in salzaurem Methanol wird beim Stehen an der Luft in 14 Tagen gelb; mit Natriumnitrit oder Wasserstoffperoxyd verläuft diese Oxydation in wenigen Minuten. Beim Erhitzen mit schwefliger Säure wird der Farbstoff wieder zur rotvioletten Ausgangsstufe reduziert.

Die Elementaranalysen lassen vermuten, daß mehrere Oxykynurenin-Moleküle oxydativ zu einem phenoxyazonenähnlichen chromophoren System zusammengetreten sind. Es wurde oben schon angedeutet, daß das Verhalten des Ommins an das der Triphen-dioxazin-Farbstoffe erinnert; die Untersuchungen werden in dieser Richtung fortgeführt. Ob die im *Bombyx*-Ommin nachgewiesenen 5% Schwefel der Ommin-Moleköl zuzuordnen sind, bedarf der Sicherung.

Um einen ersten Einblick in den Bau des Ommins zu gewinnen und Oxykynurenin als Baustein zu sichern, hat B. Linzen den alkalischen Abbau systematisch bearbeitet und dabei die gleichen Spaltprodukte isolieren können wie aus Xanthomatin: Die Xanthurensäure (XXIV) und das 2-Amino-3-oxy-acetophenon (X). Bei energetischer Hydrolyse mit Säure wurde zudem Oxykynurenin (III) selbst gefaßt. Danach ist das Oxykynurenin als Baustein in ähnlicher Weise in das chromophore System der Ommin-Moleköl eingebaut wie bei den Ommatinen:



Unter Verwendung des gleichen Aufarbeitungsschemas, wie es für *Bombyx*-Ommin verwendet wurde, hat B. Linzen versucht, Ommine aus anderen Tieren zu isolieren, um Vorkommen und Verbreitung systematisch zu sichern. Es gelang ihm die Darstellung der Ommine aus zahlreichen Arthropoden und Mollusken. Ihre Charakterisierung erfolgte nicht nur papierchromatographisch, sondern die

isolierten Farbstoffe wurden durch ihr UV- und IR-Spektrum sowie durch den alkalischen und sauren Abbau zu Xanthurensäure, Amino-oxy-acetophenon bzw. Oxykynurenin gekennzeichnet.

Arthropoda

Crustacea *Squilla* (A, H);
Crangon (A, H), *Leander* (A),
Lysmata (A), *Penaeus* (A),
Palaeomon (A);
Palinurus (A);
Carcinus (A), *Portunas* (A).
Argiope (A).

Arachnoida

Insecta *Sympetrum* (A?, H);

Hemiptera: *Rhodnius*
Coleoptera: *Cicindela* (A);
Lepidoptera: *Vanessa* (A), *Bombyx* (A),
Hymenoptera: *Ephestia* (A);
Diptera: *Apis* (A);
Mollusca *Rhyphus* (A), *Tipula* (A).

Cephalopoda

Eledone (A, H);
Sepia (A), *Loligo* (A),
Ommastrephes (A).

Verbreitung von Ommin (A = Augen, H = Haut)

Vorstehend ist eine Übersicht wiedergegeben, bei welchen Tierarten Ommine gefunden wurden und bei welchen ihr Vorkommen wahrscheinlich gemacht worden ist. Die gesperrt gedruckten Arten wurden von uns untersucht und aus ihnen das Ommin isoliert und in seinem Wesen gesichert, bei den übrigen Arten wurde das Vorkommen von Ommin den Angaben der Literatur entnommen, es ist durch weitere Untersuchungen zu sichern.

Mit den bisher verwendeten Methoden der Charakterisierung ist kein Unterschied zwischen den Omminen der verschiedenen Tierarten nachgewiesen worden. Damit erhebt sich die Frage, ob es nur ein Ommin gibt oder ob — wie bisher angenommen — den bisher bekannten Ommatinen auch mehrere Ommine entsprechen. Die Frage ist noch nicht endgültig zu beantworten, da kleine Unterschiede, die nicht im chromophoren System, sondern z. B. in Seitenketten vorhanden sind, mit den bisher verwendeten Methoden zur Charakterisierung möglicherweise nicht erfaßt werden.

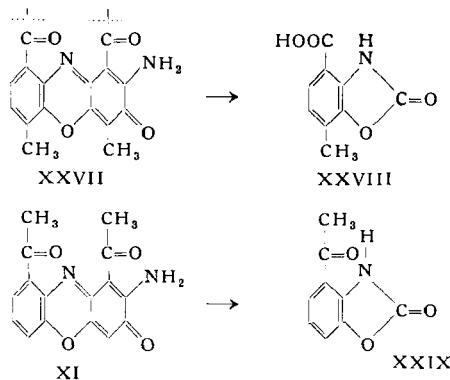
Natürliche Phenoxyazone-Farbstoffe

Bemerkenswerterweise lieferte die Entdeckung natürlich vorkommender Phenoxyazone-Farbstoffe im Tierreich zugleich den Schlüssel zur Strukturaufklärung der chromophoren Systeme der Actinomycine, antibiotisch wirksamer Stoffwechselprodukte einiger Actinomyceten der Streptomyces-Gruppe. Nach den Arbeiten von H. Brockmann²⁰⁾ handelt es sich beim Actinomycin C um das Chromophore System XXVII. Längere Zeit waren andere Strukturformeln dafür erörtert worden, insbesondere auf Grund eines Befundes von Johnson²¹⁾, der das Benzoxazolon-Derivat XXVIII durch oxydative Abbau aus dem Chromophor des Actinomycins isolierte. Wir haben schon vor längerer Zeit gefunden, daß auch aus 3-Amino-4,5-diacetyl-phenoxyazone(2) (XI) bei der Oxydation mit Kaliumdichromat in Eisessig in guter Ausbeute ein Benzoxazolon, das 4-Acetyl-benz-oxazolon (XXIX) entsteht²²⁾. Dieser Befund klärt die vorliegenden Diskrepanzen und sichert zusätzlich die Auffassung, daß auch im Reich der Mikroorganismen natürliche Phenoxyazone-Farbstoffe vorkommen.

²⁰⁾ H. Brockmann u. H. Muxfeldt, diese Ztschr. 68, 69 [1956].

²¹⁾ S. I. Anygal, E. Bullock, W. H. Hanger u. A. W. Johnson, Chem. and Ind. 1955, 1295.

²²⁾ A. Butenandt, E. Biekert u. U. Baumann, Über Ommochrome, XI. Mittgl. (in Vorbereitung).



Damit ist eine weite Verbreitung eines bisher in der Natur nicht vermuteten Farbstofftypes aufgewiesen. Neben die Frage nach der Konstitution der hierher gehörenden

Vertreter tritt die nach ihrer physiologischen Bedeutung, über die wir noch nichts Gesichertes wissen. Das geordnete Vorkommen in den Augen von *Arthropoden* und *Cephalopoden* läßt daran denken, daß den Farbstoffen eine Bedeutung beim Sehvorgang zukommen könnte.

Die Konstitutionsermittlung der Ommochrome ist einen nicht alltäglichen Weg gegangen: Vor der Kenntnis ihres Baues lag das Wissen um ihre Genese; die Ergebnisse der chemischen Genetik haben den sonst üblichen Weg des Naturstoffchemikers umkehren lassen: während man üblicherweise auf Grund der zunächst ermittelten Struktur eines Naturstoffes nach seiner Genese im Organismus fragt, waren im vorliegenden Fall die Bausteine bekannt, bevor man die Struktur der Farbstoffe ahnte, die letzten Endes aus dem chemischen Verhalten der Chromogene erschlossen wurde.

Eingegangen am 10. Oktober 1956 [A 777]

Aminozucker

Von Prof. Dr. RICHARD KUHN

nach Untersuchungen mit H. H. BAER, WALTRAUT BISTER, R. BROSSMER, A. GAUHE, H. J. HAAS, F. HABER, GERD KRÜGER, H. TIEDEMANN und D. WEISER

Aus dem Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung, Institut für Chemie, Heidelberg*)

Die einleitenden Abschnitte handeln von der Entdeckung des Glucosamins, von der Verbreitung der Aminozucker in der Natur und von Einblicken, die man in die Biosynthese dieser Verbindungen gewonnen hat. Am Beispiel der Blutgruppensubstanzen wird auf die Bedeutung für Fragen der Genetik hingewiesen. Im Anschluß daran wird über eigene Untersuchungen berichtet: Synthese von D-Glucosamin, D-Galaktosamin, N-Acetyl-lactosamin und von weiteren 2-Desoxy-2-aminozuckern durch katalytische Halbhydrierung von Aminonitrilen; Isolierung und Konstitutionsaufklärung von N-haltigen Oligosacchariden der Frauenmilch; Darstellung von D-Isoglucosamin durch katalytische Hydrierung von Amadori-Verbindungen; Isolierung der O-Acetyl-lactaminsäure-lactose aus Milch (Colostrum) und deren Hydrolyse durch Influenza-Virus sowie durch ein Enzym aus Cholera-Vibionen; Abbau der D(-)-Lactaminsäure zu N-Acetyl-D-glucosamin; Bildung von 3-Acetaminofuran und verwandter Verbindungen aus 2-Aacetaminozuckern.

1. Die Entdeckung

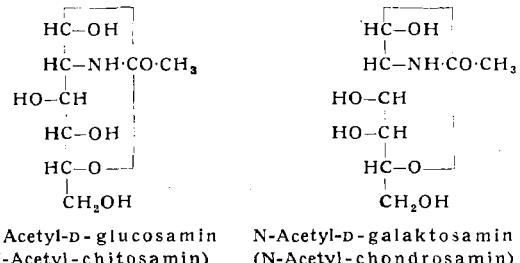
Im Sommersemester des Jahres 1875 ist ein junger Mediziner, der in Göttingen im Institut von Prof. Friedrich Wöhler gearbeitet hat, von seinem Onkel zum Essen eingeladen worden. Von dieser Mahlzeit hat er die Überreste eines Hummers mit ins Laboratorium genommen und festgestellt, daß sich die Scheren bzw. der Panzer in heißer konz. Salzsäure lösen. Beim Eindampfen solcher Lösungen beobachtete er die Bildung glitzernder Kristalle. Bald darauf ist der junge Mediziner, sein Name war Georg Ledderhose, an die Universität Straßburg im Elsaß gezogen, wo ihm Prof. F. Hoppe-Seyler, das war nämlich sein Onkel, Gelegenheit gab, seine Beobachtung weiter zu verfolgen. Und so ist im darauffolgenden Jahr 1876, d. h. vor 80 Jahren, der erste Aminozucker in der Literatur beschrieben worden: das D-Glucosamin-hydrochlorid, wie wir es heute nennen**). Seither hat sich die Kenntnis dieser Körperklasse gewaltig verbreitert und vertieft.

*) Vortrag auf der 99. Versammlung der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte in Hamburg am 25. September 1956.

**) Als Assistent von F. Hoppe-Seyler, der die Zeitschrift für Physiologische Chemie gegründet und herausgegeben hat, war damals in Straßburg H. Thierfelder tätig. Nach der Überlieferung die H. Thierfelder an seinen Schüler K. Thomas weitergegeben hat, soll F. Hoppe-Seyler während des Essens zu seinem Neffen gesagt haben: „Koch sie mal mit Salzsäure und enge ein, dann soll ein Kristallbrei von Glykokoll-chlorhydrat in der Schale zurückbleiben.“ G. Ledderhose, der kein Glykokoll fand, ist später Psychiater und Direktor einer Heil- und Pflegeanstalt geworden. Thierfelder blieb sein Leben lang mit ihm befreundet. Herrn Prof. Dr. K. Thomas, Göttingen, habe ich für diese Angaben aufrichtig zu danken.

2. Verbreitung in der Natur

Die wichtigsten Aminozucker, die im Tierreich sowie im menschlichen Organismus vorkommen, sind das D-Glucosamin und das D-Galaktosamin. Beide findet man, praktisch ausschließlich, als N-Acetyl-Verbindungen:



N-Acetyl-D-glucosamin N-Acetyl-D-galaktosamin
(N-Acetyl-chitosamin) (N-Acetyl-chondrosamin)

Aber auch diese am N-Atom acetylierten Aminozucker sind in der Natur kaum als solche, d. h. in freiem Zustand, zu finden, sondern fast nur als Bausteine von hochmolekularen Stoffen.

Das hochmolekulare Chitin, das man im Panzer des Hummers und bei Insekten sowie im Steinpilz gefunden hat, ist ausschließlich aus N-Acetyl-D-glucosamin-Resten aufgebaut. Diese sind β-glykosidisch durch 1,4-Brücken verknüpft.

Sehr viel größer ist die Zahl physiologisch interessanter höhermolekularer und hochmolekularer Naturstoffe, in denen die Aminozucker nur einen Teil der Bausteine