

ANGEWANDTE CHEMIE

FORTSETZUNG DER ZEITSCHRIFT »DIE CHEMIE«

HERAUSGEgeben von der GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

75. JAHRGANG

NR. 6 · SEITE 257–308

21. MÄRZ 1963

Dieses Heft und seine Beiträge sind

ADOLF BUTENANDT

zum 60. Geburtstag am 24. März 1963 gewidmet

Chemie und Biochemie der Insektenhormone

von PROF. DR. P. KARLSON

PHYSIOLOGISCH-CHEMISCHES INSTITUT DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Herrn Prof. Dr. A. Butenandt zum 60. Geburtstag gewidmet

Die Insektenhormone haben verhältnismäßig spät das Interesse der Endokrinologen gefunden. Zum Teil liegt das daran, daß ein Gegenstück der Sexualhormone – der „klassischen“ Hormone der Wirbeltier-Physiologie – bei Insekten unbekannt ist. Kastration hat keine auffallenden Wirkungen auf die sekundären Geschlechtsmerkmale. Die Insektenhormone wirken vor allem auf Entwicklungsprozesse; am besten untersucht ist das Metamorphosehormon Ecdyson. Nach neuesten Ergebnissen besitzt es die Summenformel $C_{27}H_{44}O_6$ und gehört zur Stoffklasse der Steroide. Wahrscheinlich beruht seine Wirkung auf einer Beeinflussung der Chromosomen. Andere hormonähnliche Stoffe, die Pheromone, zeichnen sich durch besonders hohe Aktivität aus; schon wenige Moleküle können die charakteristischen Verhaltensweisen auslösen.

1. Hormonale Kontrolle der Insektenentwicklung

Bekanntlich vollzieht sich die Insektenentwicklung über mehrere Larvenstadien, oftmals auch über ein Puppenstadium (bei den sogenannten holometabolen Insekten) [1,2]. Der Übergang zum nächsten Stadium geschieht jeweils durch eine Häutung, bei der der alte Chitinpanzer abgeworfen und ein neuer gebildet wird.

Die Häutung wird durch mehrere Hormone kontrolliert. Sie wird eingeleitet durch ein Hormon, das in den neurosekretorischen Zellen des Gehirns gebildet wird und auf eine untergeordnete Hormondrüse, die Prothoraxdrüse, einwirkt. Unter der Wirkung des „prothorakotropen Hormons“ wird diese Drüse aktiv und produ-

ziert ihrerseits ein Hormon, das eigentliche Häutungshormon Ecdyson.

Das Ecdyson löst in der Raupe oder Larve die Häutung zum nächsten Stadium aus. Für eine Larvenhäutung, d.h. eine Häutung zum nächsten Larvenstadium, ist außerdem noch das Hormon der Corpora allata erforderlich. In der Abb. 1 sind diese Zusammenhänge schematisch dargestellt.

Man erkennt, daß bereits bei den Insekten – d.h. auf einer ziemlich frühen Stufe der phylogenetischen Entwicklung – ein System hormonaler Drüsen ausgebildet ist, das dem der Wirbeltiere durchaus vergleichbar ist. Es fällt ferner auf, daß für die Raupenhäutung nicht nur das Häutungshormon nötig ist, sondern außerdem noch ein besonderes Juvenilhormon, das den juvenilen Charakter des nächsten Stadiums determiniert. Bei der Um-

[1] H. Weber: Grundriß der Insektenkunde. 3. Aufl., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1953.

[2] O. Pflugfelder: Entwicklungsphysiologie der Insekten. 2. Aufl., Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig 1959.

wandlung von der Raupe zur Puppe hingegen oder von der Puppe zum Schmetterling ist das Juvenilhormon entbehrlich, es wirkt nur das Häutungshormon.

Dieser recht komplizierte Sachverhalt hat die Nomenklatur der Insektenhormone, insbesondere des Prothorakaldrüsenhormons, recht konfus werden lassen. Es ist als „Häutungs-

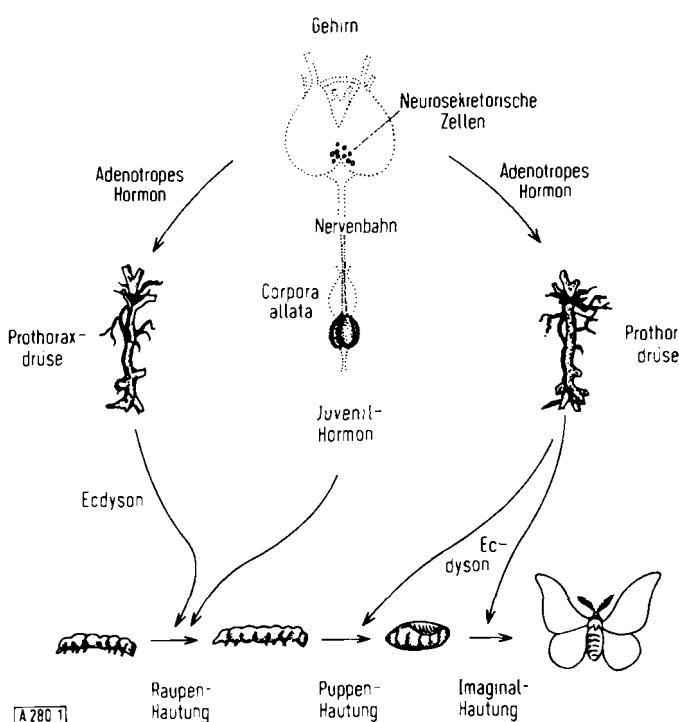


Abb. 1. Wirkung der Insektenhormone. Oben sind die hormonliefernden Drüsen gezeichnet, unten die Häutungsschritte, die von den Hormonen ausgelöst werden [2a].

hormon“, als „Metamorphosehormon“ sowie als „Wachstums- und Differenzierungshormon“ bezeichnet worden. Wir haben den Stoff Ecdyson genannt und werden diese Bezeichnung im folgenden verwenden. – Das Hormon der Corpora allata ist Juvenilhormon oder „Neotenin“ genannt worden; das prothorakotrope Hormon wird meist einfach nach seinem Bildungsort als Gehirnhormon bezeichnet.

Es ist hier nicht der Ort, auf die zahlreichen biologischen Experimente einzugehen, die zu dieser Konzeption geführt haben und das oben gegebene Schema beweisen [3, 4]. Es sei nur an einigen Beispielen gezeigt, welche Methoden verwendet und welche Effekte erzielt wurden. Entfernt man bei jungen Raupen die Corpora allata, dann wird schon die nächste Häutung eine Puppenhäutung oder – bei hemimetabolen Insekten – eine Häutung zum adulten oder adultoiden Tier. Eine Implantation der Drüsen hat umgekehrt zur Folge, daß erwachsene Raupen sich nochmals zu Raupen häuten. Auch Puppen können eine zweite Puppe bilden. – Durch Transplantation von Prothorakaldrüsen kann man Häutungen auslösen; hierzu verwendet man oft Larven, die durch eine Ligatur in Vorder- und Hinterstück getrennt sind. Die abgetrennten Hinterstücke, die längere Zeit überleben, sind sehr günstige Testobjekte. Wir verwenden seit langer Zeit die Hinterstücke von Fliegenmaden zum Test auf Ecdyson (Calliphora-Test). Bei Puppen von Großschmetterlingen (*H. cecropia*), die sich in Winterruhe befinden, lassen sich die isolierten Hinterstücke durch Drüsentransplantation oder Ecdyson-Injektion zur Entwicklung bringen.

[2a] P. Karlson: Kurzes Lehrbuch der Biochemie. 3. Aufl., G. Thieme Verlag, Stuttgart 1962, S. 309.

[3] P. Karlson, Vitamins and Hormons 14, 227 (1956).

[4] V. A. Novak: Insektenhormone. Verlag der Akademie der Wissenschaften, Prag 1959.

2. Das Gehirnhormon

Die Rolle des Gehirns als Hormondrüse ist schon relativ früh erkannt worden: Kopeč hat 1922 über entsprechende biologische Versuche berichtet [5]. Dennoch hat es lange gedauert, bis man die ersten wirksamen Extrakte herstellen konnte.

Zur Zeit finden sich in der Literatur sehr widersprechende Berichte über die chemischen Eigenschaften des Gehirnhormons. Von Kobayashi war eine gewisse Wirksamkeit in Ätherextrakten von *Bombyx*-Gehirnen gefunden worden [6]. In weiterer Verfolgung haben Kobayashi und Mitarbeiter neuerdings über die Isolierung eines Kristallisates berichtet, das aktiv sein soll und das sie als Cholesterin identifiziert haben [7, 8]. Man wird hier jedoch eine Bestätigung von dritter Seite abwarten müssen. Cholesterin wurde früher schon aus Seidenspinnern isoliert [9], und nach unseren eigenen Erfahrungen ist es in verhältnismäßig großer Menge in *Bombyx*-Puppen enthalten. Die hohe Konzentration spricht dagegen, daß es sich beim Cholesterin um ein Hormon im üblichen Sinne handelt. Wenn Kobayashi nicht einem experimentellen Irrtum zum Opfer gefallen ist, d.h. wenn das von ihm isolierte Cholesterin nicht eine kleine Menge eines hochwirksamen Hormons als Verunreinigung enthielt, so ist die physiologische Wirkung vielleicht so zu erklären, daß das Cholesterin in einen anderen Wirkstoff (z.B. in Ecdyson) umgewandelt wird [10].

Gegen die Hormon-Natur des Cholesterins spricht auch, daß Cholesterin oder andere Steroide regelmäßig in der Nahrung der Insekten vorkommen, und daß sie essentielle Nahrungsbestandteile sind. Insekten sind nämlich nicht in der Lage, Cholesterin oder Steroide aufzubauen; die Biosynthesekette ist auf der Stufe des Squalens unterbrochen. Hormone als Regulationsstoffe müssen aber vom Organismus selbst gebildet werden können.

Unabhängig von Kobayashi hat Schneiderman [11] eine Gehirnhormon-Aktivität in Lipoidextrakten aus Insekten Gewebe gefunden. Sie war von Juvenilhormon-Aktivität (siehe unten) begleitet. Eine Anreicherung ist nicht versucht worden.

Im Gegensatz zu Kobayashi und Schneiderman fand Ichikawa [12] die Aktivität nicht im lipoidlöslichen, sondern im wasserlöslichen Anteil des Extrakttes. Er hat auch über erste Anreicherungsschritte berichtet, ist aber noch nicht zu reinen Präparaten gelangt. – Nach Angaben von Gersch [13] besitzt das von ihm isolierte, wasserlösliche Neurohormon D₁ die Aktivität des Gehirnhormons. Seine Testmethode weicht allerdings erheblich von der der japanischen Autoren ab. Gersch und Mitarbeiter haben ein Kristallisat mit der Wirkung von Neurohormon D₁ erhalten [14]; allerdings liegen

[5] S. Kopeč, Biol. Bull. 42, 323 (1922).

[6] M. Kobayashi u. I. Kirimura, Nature (London) 181, 1217 (1958).

[7] I. Kirimura, M. Saito u. M. Kobayashi, Nature (London) 195, 515 (1962).

[8] I. Kirimura, M. Saito u. M. Kobayashi, Nature (London) 195, 729 (1962).

[9] W. Bergman, J. biol. Chemistry 107, 527 (1934).

[10] L. J. Gilbert, persönliche Mitteilung.

[11] L. J. Gilbert u. H. S. Schneiderman, Nature (London) 184, 171 (1959).

[12] M. Ichikawa u. H. Ishizaki, Nature (London) 191, 933 (1961).

[13] M. Gersch, Gen. Compar. Endocrinol. Suppl. 1, 322 (1962).

[14] M. Gersch, F. Fischer, H. Unger u. H. Koch, Z. Naturforsch. 17b, 319 (1962).

über die chemische Natur und über die Einheitlichkeit des Stoffes noch keine Angaben vor. Man wird abwarten müssen, bis größere Mengen des Materials eine genaue Untersuchung gestatten.

Die biologische Wirkung des Gehirnhormons besteht in einer Stimulierung der Prothoraxdrüsen. Ob sich darüber hinaus noch bestimmte Effekte finden werden, läßt sich heute noch nicht entscheiden. Es gibt zwar einige Hinweise aus biologischen Versuchen, sie bedürfen aber noch der Bestätigung durch Experimente mit aktiven Extrakten.

3. Zur Chemie des Ecdysons

Die Prothorakaldrüsen (auch Prothoraxdrüsen genannt) bestehen bei den meisten Insekten aus weit verzweigten Strängen relativ lose aneinandergefügter Zellen. Man hat sie verhältnismäßig spät als hormonliefernde Drüsen erkannt. Ihre Extirpation ist nur bei ganz wenigen Arten möglich. Daher kann man ihre Wirkung meist nur im Transplantationsexperiment studieren.

Eine Extraktion und Anreicherung dieses Hormons haben zuerst *Becker* und *Plagge* [15] versucht. Sie haben – auf einem Befund von *Fraenkel* aufbauend – einen Test entwickelt, der von uns später verbessert und quantitativ auswertbar gemacht wurde [16]. Dieser „*Calliphora*-Test“ ist in Abb. 2 schematisch dargestellt. Unter Verwendung dieser biologischen Auswertungsmethode haben wir 1954 das Hormon der Prothorakaldrüsen in reiner, kristallisierter Form isoliert [17]. Es bedurfte der

Extraktion großer Mengen von Insektenmaterial, um zum reinen Stoff zu gelangen. Insgesamt war eine rund 20-106-fache Anreicherung nötig; wir erhielten 25 mg kristallisiertes Hormon aus 500 kg Seidenspinnerpuppen.

Zur Aufarbeitung werden die Insekten zunächst mit Methanol extrahiert und das methanolösliche Material zwischen Wasser und Butanol verteilt. Die Butanolösung wird mit Säure und Sodalösung gewaschen und eingedampft; sie ist bereits ein Konzentrat, das durch verschiedene Verteilungsverfahren sowie durch Chromatographie an Aluminiumoxyd weiter gereinigt werden kann. Eine genaue Beschreibung der Aufarbeitung ist an anderer Stelle [18] gegeben.

Die Konstitutionsaufklärung des Ecdysons war schwierig und langwierig, da nur sehr geringe Mengen des Hormons zur Verfügung standen. Wir hatten deshalb die Absicht, das Problem mit Hilfe der Röntgenstrukturanalyse anzugehen.

Bei dem damaligen Stand der Röntgen-Methode war eine eindeutige Strukturbestimmung nur mit Hilfe der Methode des schweren Atoms möglich: In das zu untersuchende Molekül muß ein schweres Atom eingeführt werden, welches in den Reflexen leicht wiederzuerkennen ist und gewissermaßen als Ausgangspunkt für die weiteren Berechnungen (insbesondere der Phasen) dient [19]. Leider hat sich dieser Weg nicht als gangbar erwiesen, da es nicht gelang, ein gut kristallisierendes Derivat des Ecdysons zu erhalten. Zum Teil ist das sicher der Tatsache zuzuschreiben, daß wir nur wenig Substanz für die Herstellung der Derivate zur Verfügung hatten.

Gemeinsam mit *W. Hoppe* [*] wurden daher Untersuchungen am Ecdyson selbst durchgeführt. Die Vermessung der Elementarzelle (und die Dichtemessung) erlaubten zunächst eine Aussage über das Molekulargewicht. Es ergab sich $M = 462$, ein Wert, der anderthalbmal so groß war wie das bis dahin von uns angenommene Molekulargewicht von 310.

Das neue Molekulargewicht, das später durch massenspektroskopische Untersuchung bestätigt werden konnte, machte eine Revision der Summenformel erforderlich. Statt $C_{18}H_{30}O_4$ war das 1,5-fache dessen, also $C_{27}H_{44}O_6$, als richtige Formel anzusehen. Berücksichtigt man die Tatsache, daß eine Ketogruppe und in Konjugation dazu eine Doppelbindung im Molekül vorhanden sein müssen, so errechnet sich die Zusammensetzung des gesättigten Grundkörpers zu $C_{27}H_{48}$. Damit lag der Verdacht nahe, daß dem Molekül des Ecdysons ein Steroidgerüst zugrunde liegt, denn dieselbe Formel hat das Cholestan. Dieser Verdacht wurde gestützt durch weitere Röntgenmessungen. Mit der neuartigen Methode der „diffusen Streuung“ [20] erhielten wir Aufschluß über die Molekülgestalt; danach war ein ebenes, verhältnismäßig großes Ringsystem wie das des Sterans oder auch das des Perhydroanthracens anzunehmen [21].

[*] Abteilung für Röntgenstrukturforschung, Max-Planck-Institut für Eiweiß- und Ledersforschung, München.

[18] *P. Karlson, H. Hoffmeister, W. Hoppe u. F. Huber*, Liebigs Ann. Chem., im Druck.

[19] *W. Hoppe*, Angew. Chem. 69, 659 (1957); *G. Habermehl*, ibid. 75, 78 (1963).

[20] *W. Hoppe*, Z. Kristallogr., Kristallgeometr., Kristallphysik, Kristalchemie 107, 406 (1956); vgl. auch *W. Hoppe*: Fortschritte der Strukturforschung. Vieweg-Verlag, Braunschweig, Bd. 1, im Druck.

[21] *F. Huber*, Dissertation, Technische Hochschule München, 1961.

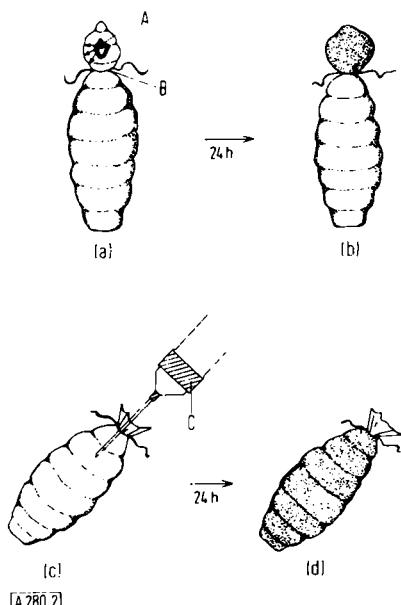


Abb. 2. Test auf Ecdyson an der Schmeißfliege *Calliphora erythrocephala* („*Calliphora*-Test“). Die Larven werden abgeschnürt (a). Dadurch kann das im Vorderkörper gebildete Hormon nicht in das Hinterstück diffundieren, nur das Vorderstück bildet ein Puparium (b). Durch Hormoninjektion (c) kann auch das Hinterstück zur Pupariumsbildung gebracht werden, was sich durch die Bräunung und Verhärtung zu erkennen gibt (d).

A = hormonbildende Drüse

B = Schnürung

C = Injektionsspritze mit Hormonlösung

[15] *E. Becker u. E. Plagge*, Biol. Zbl. 59, 326 (1939).

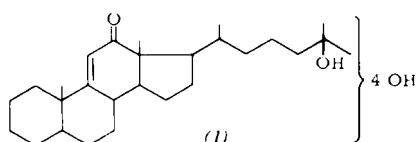
[16] Zur historischen Entwicklung dieser Arbeiten vgl. *P. Karlson*, Bollet. Zool. Agrar. Bachicolt. 22, 65 (1957).

[17] *A. Butenandt u. P. Karlson*, Z. Naturforsch. 9b, 389 (1954).

Im Herbst 1960 bekamen wir durch eine neue Aufarbeitung erstmals etwas größere Mengen Ecdyson (insgesamt über 200 mg) in die Hand. Damit war es möglich, das Problem der Struktur mit chemischen Methoden anzugehen [21a].

Allgemein wird bei neu isolierten Naturstoffen die Dehydrierung zu Cyclopentanophenanthren-Derivaten als beweisend für die Zugehörigkeit zur Klasse der Steroide angesehen. Leider verlaufen solche Dehydrierungen unübersichtlich und liefern nur sehr geringe Ausbeuten; meist werden Mengen von 1 bis 5 g Naturstoff eingesetzt, um wägbare Mengen der Kohlenwasserstoffe zu isolieren [22]. Obwohl wir nur 30 mg Ecdyson einsetzen konnten, haben wir den Versuch gewagt, und es gelang uns schließlich, eine Fraktion von aromatischen Kohlenwasserstoffen zu erhalten. Sie wurde durch Dünnschichtchromatographie getrennt. Neben Substanzen, die dem UV-Spektrum nach Naphthalin-Derivate sein mußten, konnte eine Fraktion mit einem Phenanthren-Spektrum isoliert werden. Durch papierchromatographischen Vergleich mit authentischen Präparaten wurden in dieser Fraktion Methyl-cyclopentanophenanthren und 3,3-Dimethyl-cyclopentanophenanthren nachgewiesen [18]. Damit war auch auf klassisch-chemische Weise die Steroidnatur des Ecdysons gesichert worden.

An funktionellen Gruppen enthält das Ecdyson eine Ketogruppe in Konjugation zu einer Doppelbindung sowie fünf Hydroxylgruppen. Aus den UV-, IR- und Protonenresonanzspektren läßt sich mit einiger Wahrscheinlichkeit schließen, daß sich die Ketogruppe in Position 12 und die Doppelbindung zwischen C-9 und C-11 befindet. Eine Hydroxylgruppe befindet sich wahrscheinlich in der Seitenkette an C-25. Damit ergibt sich als vorläufige Teilformel für das Ecdyson die Struktur (1).



Über die Stellung der anderen Hydroxylgruppen können wir noch keine Aussagen machen, wie überhaupt die Formel (1) noch weiter gesichert werden muß. Wir hoffen jedoch, in absehbarer Zeit die Struktur durch eine Partialsynthese endgültig beweisen zu können.

Es mutet wie eine seltsame Laune des Schicksals an, daß das von *Butenandt* und *Karlson* [17] isolierte Insektenhormon wieder zur Gruppe der Steroide gehört. Bekanntlich ist *Butenandt* Schüler von *Windaus*; er hat aber am Windausschen Institut nicht über Sterine gearbeitet, sondern zunächst über Rotenon und später über die Sexualhormone, deren chemische Natur damals vollständig unbekannt war. Die Konstitutionsermittlung der Sexualhormone hat ihn schließlich doch auf das Steroidgebiet geführt. In der Dahlemer Zeit hat *Butenandt* dann bewußt andere Probleme (biochemische Genetik, In-

[21a] Arbeiten mit *H. Hoffmeister*.

[22] *M. S. Bharda, G. Hesse, H. Jäger, E. Weiss u. T. Reichstein*, Helv. chim. Acta 45, 93 (1961); *M. S. Bharda, E. Weiss u. T. Reichstein*, Helv. chim. Acta 45, 103 (1961).

sektenhormone) in Angriff genommen. Nun münden die 1943 begonnenen Arbeiten über das Hormon Ecdyson wiederum in die Steroidchemie.

4. Zur Biogenese des Ecdysons

Über die Biogenese des Ecdysons ist noch nichts bekannt. Sehr wahrscheinlich wird es aus Cholesterin gebildet, denn eine Totalsynthese des Steringerüstes ist den Insekten nicht möglich [23]. Versuche, die Umwandlung von Cholesterin in Ecdyson direkt zu beweisen, sind im Gange.

Aus der Tatsache, daß Sterine für Insekten essentielle Nahrungs faktoren sind, haben wir oben ein Argument gegen die Identität des Cholesterins mit dem „Gehirnhormon“ abgeleitet. Für ein abgewandeltes Cholesterin gilt dieses Argument natürlich nicht; schließlich sind auch die Wirbeltierhormone Adrenalin und Thyroxin Umwandlungsprodukte der aromatischen Aminosäuren Tyrosin und Phenylalanin, die dem Organismus zugeführt werden müssen (Phenylalanin gehört zu den essentiellen Aminosäuren, Tyrosin kann aus Phenylalanin gebildet werden). Man muß sich vorstellen, daß nur ein kleiner Teil des aufgenommenen Cholesterins in Ecdyson umgewandelt wird, während die Hauptmenge in den Zellen die gleichen Funktionen erfüllt wie in Wirbeltierzellen (u.a. als Membranbestandteil). Ähnliche Gedanken sind bereits von *Clayton* und *Bloch* [24] geäußert worden, als diese Autoren feststellten, daß beim Käfer *Dermestes vulpinus* Cholesterin zu 95% durch Sitosterin ersetzt werden kann, daß aber eine gewisse Minimalmenge an Cholesterin essentiell ist und nicht durch Sitosterin oder ähnliche Steroide vertreten werden kann.

Auch das Gehirnhormon ist als biologische Vorstufe des Ecdysons angesehen worden; einige biologische Experimente lassen eine solche Interpretation zu. In diesem Sinne wäre vielleicht eine biologische Wirkung injizierten Cholesterins als „Gehirnhormon“, wie sie *Kobayashi* beschreibt, zu verstehen; allerdings würde man einen solchen Stoff nicht als Hormon bezeichnen [*].

Manche Insektenarten sind übrigens in der Lage, Sitosterin und Stigmaterin in Cholesterin umzuwandeln. Diese Tatsache ist aus Bilanzversuchen an *Dermestes maculatus* erschlossen worden [23]. Chemisch erscheint die Abspaltung einzelner Methyl- oder Äthylgruppen viel weniger verständlich als die Einführung der Hydroxylgruppen in das Steroidmolekül. Für diese Reaktion sind bereits zahlreiche Beispiele bekannt, nicht nur bei der Biogenese der Wirbeltierhormone, insbesondere in der Nebennierenrinde, sondern auch bei den mikrobiologischen Umwandlungen der Steroide, die ja in erheblichem Umsange technisch genutzt werden.

[23] *Z. H. Levinson*: Proceedings XIth international Congress Entomology, Wien 1960. Verlag Istituto Entomologia Universitatis, Pavia 1960, Bd. III, S. 145; *J. Insect Physiol.* 8, 191 (1962).

[24] *R. B. Clayton*, *J. biol. Chemistry* 235, 3421 (1960); *A. J. Clark* u. *K. Bloch*, *J. biol. Chemistry* 234, 2583 (1959).

[*] Als Analogie hierzu kann man den Effekt von Glucagon auf den Blutzucker ansehen. Glucagon mobilisiert die Zuckervesen, steigert die Zuckerausschüttung ins Blut und damit den Blutzuckerspiegel. Derselbe Effekt – Steigerung des Blutzuckers – kann durch Glucose-Injektion erreicht werden. Dennoch ist Glucose kein Hormon; die Injektion hat nur eine Wirkungskette kurzgeschlossen.

5. Der Einfluß des Ecdysons auf die Chromosomen

Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus des Ecdysons [25] haben zu interessanten Ergebnissen geführt, die wahrscheinlich über den Spezialfall hinaus Gültigkeit haben. Es hat sich nämlich gezeigt, daß das Ecdyon einen direkten Einfluß auf das genetische Material hat, es aktiviert bestimmte Genorte. Aus diesem Befund ist eine allgemeine Hypothese über die Wirkungsweise der Hormone abgeleitet worden [26]. Die Entdeckung dieser Zusammenhänge war möglich durch den Umstand, daß bestimmte Insekten die bekannten Riesenchromosomen besitzen. Eine genaue Untersuchung des Querscheibenmusters der Riesenchromosomen hat gezeigt, daß sich der Funktionszustand der einzelnen Querscheiben schon mikroskopisch erkennen läßt. Aktive Querscheiben erscheinen aufgebläht. Man bezeichnet sie als „puffs“ (engl. to puff = aufblasen) [27]. Durch Radioautographie konnte nachgewiesen werden, daß in den aufgeblähten Zonen Ribonucleinsäure synthetisiert wird.

Wir haben nun gefunden, daß das Ecdyon bei einem bestimmten Genlocus das „Puffing“-Phänomen auslöst [28]. Die Wirkung tritt sehr schnell auf, schon 15 bis 30 Minuten nach der Injektion kann man in Speicheldrüsenträgerpräparaten die Veränderungen am Genlocus mit dem Mikroskop erkennen. Außerdem ist die Reaktion sehr empfindlich [29], es genügen kleine Mengen Ecdyon ($1/1000$ Calliphora-Einheit und weniger, entsprechend 10^{-5} µg). Beide Tatsachen sprechen dafür, daß es sich hierbei um eine direkte Wirkung des Ecdysons handelt und nicht um einen Sekundäreffekt im Gefolge der Metamorphose.

Welche Bedeutung ist diesem Effekt zuzumessen? Biologisch gesehen, stellt er das verbindende Glied zwischen funktioneller Genetik und Entwicklungsphysiologie dar. Es ist bekannt, daß die meisten Merkmale der Organismen genetisch festgelegt sind. Dazu gehören bei Insekten die Farb- und Formmerkmale der Larven, der Raupen und der Adulttiere, in vielen Fällen die Zahl der Häutungen und anderes mehr. Die Information über diese Merkmale liegt in den Chromosomen; gebraucht wird sie nur in einer ganz bestimmten Phase der Entwicklung. Es erscheint nun äußerst sinnvoll, daß ein Hormon, welches einen bestimmten Entwicklungsschritt einleitet, gleichzeitig die genetische Information gewissermaßen abrupt, die zu diesem Zeitpunkt benötigt wird.

Auch biochemisch läßt sich die Wirkung der Hormone über den Zellkern gut verstehen. Wir wissen heute, daß die Desoxyribonucleinsäure (DNS) – das genetische Material – bei der Biosynthese der Proteine eine wich-

tige Funktion erfüllt. Sie trägt die Information über die Aminosäuresequenz der Proteine, was inzwischen an vielen Beispielen belegt wurde. An der Kette der DNS wird eine spezifische Ribonucleinsäure (RNS) gebildet, die sogenannte Informations- oder Matrizen-RNS (engl. messenger-RNA), die sich mit den Ribosomen verbindet und dort die Proteinsynthese steuert.

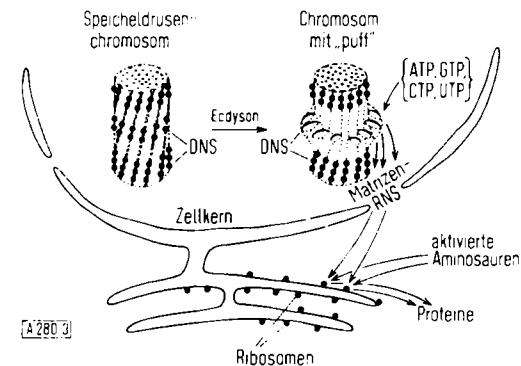


Abb. 3. Schema der Hormonwirkung. Ecdyon stimuliert in einigen Querscheiben des Chromosoms die Synthese von Ribonucleinsäure (RNS). Äußerlich erscheinen diese Querscheiben aufgebläht („puffs“). Es wird angenommen, daß die synthetisierte RNS als Matrizen-RNS aus dem Zellkern ins Cytoplasma wandert und an den Ribosomen die Synthese von Proteinen steuert [30].

DNS = Desoxyribonucleinsäure

ATP = Adenosintriphosphat

GTP = Guanosintriphosphat

CTP = Cytosintriphosphat

UTP = Uridintriphosphat

Nun ist von vielen Hormonen bekannt, daß sie die Synthese bestimmter Proteine (auch Enzymproteine) stimulieren. Es lassen sich mehrere Möglichkeiten denken, wie ein Hormon in den Mechanismus der Proteinsynthese eingreifen kann. Wenn es jedoch die Synthese eines bestimmten Proteins stimulieren soll, dann muß es an einer der Stellen wirksam werden, an denen die Information weitergegeben wird. Die einfachste Annahme ist die, daß das Hormon die Synthese spezifischer RNS steuert; und gerade das haben wir bei der Puffbildung beobachtet.

6. Ecdyon und der Tyrosinstoffwechsel der Insekten

Zu den Hormonen, die bestimmte Enzymaktivitäten stimulieren, gehört auch das Ecdyon. Wir können das am Beispiel unseres Testtiers, der Schmeißfliege *Calliphora erythrocephala*, demonstrieren.

Der *Calliphora*-Test beruht darauf, daß das Hormon das isolierte Hinterstück der Fliegenmade zur Pupariumbildung bringt. Unter „Puparium“ versteht man die verhärtete, dunkelbraun pigmentierte Larvencuticula, die dem Tier während der Puppenruhe Schutz gewährt. Diese Hülle geht aus der letzten Larvencuticula durch einen chemischen Prozeß hervor, der der Chinongerbung bei der Lederherstellung weitgehend entspricht. Unter der Wirkung einer Phenoloxidase entstehen o-Chinone, welche die Proteine der Cuticula vernetzen. Die Gesamtheit der Prozesse wird auch Sklerotisierung genannt.

[25] P. Karlson: 8. Symposium der Gesellschaft für Endokrinologie. Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962, S. 90.

[26] P. Karlson, Dtsch. med. Wschr. 86, 668 (1961).

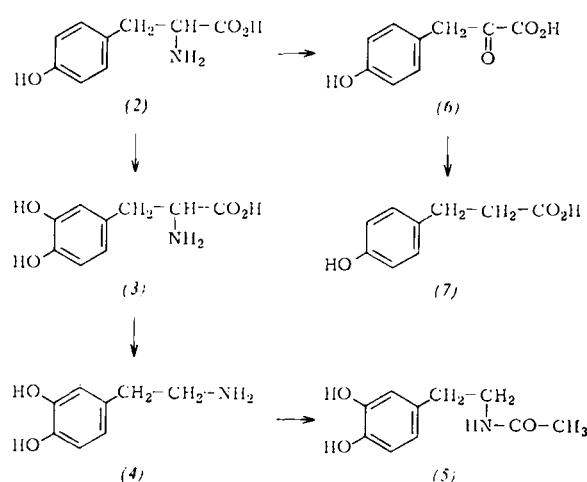
[27] W. Beermann: 13. Colloquium der deutschen Gesellschaft für physiologische Chemie. Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1963, S. 64.

[28] U. Clever u. P. Karlson, Exp. Cell Res. 20, 625 (1960).

[29] U. Clever: Wissenschaftliche Konferenz der Gesellschaft deutscher Naturforscher und Ärzte. Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1963, S. 30.

Uns schien dieser Prozeß der Sklerotisierung ein verhältnismäßig einfaches und deshalb biochemisch faßbares Beispiel für eine hormonale bedingte morphogene Reaktion zu sein. Wir haben uns daher mit den ihr zugrundeliegenden chemischen Vorgängen beschäftigt. Zunächst konnten wir zeigen, daß in die Cuticula Metabolite des Tyrosins eingelagert werden. Wir haben uns dazu der Methode der ^{14}C -Markierung bedient. So-wohl generell markiertes Tyrosin als auch Dihydroxyphenylalanin (Dopa) erwiesen sich als Vorläufer der Sklerotisierungschinone, während Hydrochinon nicht eingebaut wurde [31].

Als eigentliche Sklerotisierungssubstanz ist das N-Acetyltyrosin anzusehen; die Gründe dafür sind an anderer Stelle [32] ausführlich dargelegt. Der Stoffwechselweg, der zum N-Acetyltyrosin führt, wurde gemeinsam mit *C. E. Sekeris* aufgeklärt [33].



Tyrosin (2) wird zunächst hydroxyliert. Hierfür ist ein besonderes Enzymsystem verantwortlich, das wahrscheinlich reduziertes Triphosphopyridinucleotid (TPNH) als Cofaktor benötigt. Es handelt sich jedenfalls nicht um die „Tyrosinase“, die bei der Melaninbildung die entscheidende Rolle spielt. Dopa (3) wird dann decarboxyliert; die Dopa-Decarboxylase konnte kürzlich in hochgereinigter Form isoliert werden [34]. Sie benötigt Pyridoxalphosphat als Cofaktor sowie Eisen-Ionen. Dopamin (4) läßt sich nur unter bestimmten Bedingungen nachweisen, es wird sehr schnell acetyliert, wobei Acetyl-Coenzym A als Acetyldonator fungiert [35]. Damit ist das N-Acetyltyrosin (5) entstanden; es kann schließlich in der Cuticula oxydiert werden zum Chinon, welches in noch ungeklärter Weise mit den Proteinen reagiert. Ein Teil des N-Acetyltyrosins wird dieser Reaktion anscheinend durch die Um-

[31] P. Karlson, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 318, 194 (1960).

[32] P. Karlson u. C. E. Sekeris, Nature (London) 195, 183 (1962).

[33] C. E. Sekeris u. P. Karlson, Biochim. Biophysica Acta 62, 103 (1962).

[34] C. E. Sekeris, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem., im Druck.

[35] P. Karlson u. H. Ammon, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem., im Druck.

[36] P. Karlson, C. E. Sekeris u. K. E. Sekeri, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 327, 86 (1962).

wandlung zum Glykosid entzogen [36]. Insekten sind nämlich (im Gegensatz zu Wirbeltieren) durchaus in der Lage, Phenole u.a. in die Glykoside zu verwandeln. Parallelen wurden von *Brunet* und *Kent* [37] bei der *Protopocatechusäure* sowie von *Butenandt* et al. [38] bei den Ommochromen beobachtet.

Es gibt noch einen anderen Stoffwechselweg des Tyrosins, der über *p*-Hydroxyphenyl-brenztraubensäure (6) zur *p*-Hydroxyphenyl-propionsäure (7) führt. Es handelt sich dabei um eine Transaminierung, gefolgt von einer wahrscheinlich komplizierten Umwandlung der Seitenkette; zu diskutieren wäre z.B. die Reduktion zur Milchsäure, dann Wasserabspaltung und Reduktion zum Phenylpropionsäure-Derivat. (Die letzte Reaktion findet ihre Analogie in der Fettsäure-Synthese.)

Für die Wirkungsweise des Ecdysons ist nun folgender Befund wichtig: Wird Ecdyson injiziert, so kann man eine Erhöhung der Decarboxylase-Aktivität beobachten (Abb. 4). Wir haben Hinweise dafür, daß sich dabei

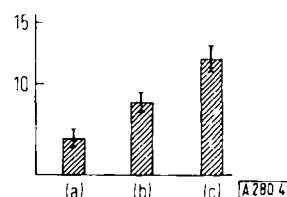


Abb. 4. Steigerung der Dopa-Decarboxylase-Aktivität von *Calliphora*-Larven durch Injektion von (b) 2 und (c) 4 *Calliphora*-Einheiten Ecdyson; (a) Kontrolle. Als Maß für die Enzymaktivität diente die Menge des in Dopamin umgewandelten Dihydroxyphenylalanins [% der Ausgangsmenge].

Meßwerte aus [39].

Ordinate: Enzymaktivität 10 Std. nach der Injektion.

neues Enzymprotein bildet [39,40]. Als Ursache der Enzymproduktion nehmen wir eine Wirkung des Ecdysons auf den entsprechenden Genlocus an (siehe oben). Jedenfalls dürfte die Vermehrung der Enzymaktivität dazu führen, daß bevorzugt der zweite Weg des Tyrosin-abbaus beschritten wird, was man an den Stoffwechselprodukten feststellen kann.

Es gibt noch ein zweites Enzym des Tyrosinstoffwechsels, das vom Ecdyson kontrolliert wird: das aktivierende Enzym des Phenoloxidase-Komplexes. *Horowitz* und *Fling* [41] haben gezeigt, daß die Phenoloxidase der Fliegen zunächst in inaktiver Form als Proenzym vorliegt; erst durch die Tätigkeit eines Aktivator-Enzyms, das in Homogenaten gleichfalls enthalten ist, wird das Proenzym in aktive Phenoloxidase umgewandelt.

Wir haben diese Reaktion näher studiert und gefunden, daß auch einige Proteasen das Proenzym aktivieren [42]. Versuche zur Anreicherung des Aktivators und des Proenzymes sind im Gange; bisher haben wir nur die aktive Phenolox-

[37] P. C. I. Brunet u. P. W. Kent, Proc. Roy. Soc. (London), Ser. B 144, 259 (1955).

[38] A. Butenandt u. W. Schäfer: Venkataraman Festschrift. Academic Press, New York, London, 1962; H. Kübler, Dissertation, Universität Tübingen, 1960.

[39] P. Karlson u. C. E. Sekeris, Biochim. Biophysica Acta 63, 489 (1962).

[40] C. E. Sekeris, unveröffentlicht.

[41] N. H. Horowitz u. M. Fling in: W. D. McElroy u. B. Glass: Amino Acid Metabolism. John Hopkins University Press, Baltimore 1955, S. 219.

[42] A. Schweiger u. P. Karlson, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 329, 210 (1962).

dase rein darstellen und kristallisieren können [43]. Sie ist ihrer Spezifität nach als Diphenoloxidase zu bezeichnen; als die besten Substrate haben sich Dopamin, N-Acetyl-dopamin und Dopa erwiesen. Dadurch wird unser Befund, daß N-Acetyl-dopamin die Vorstufe des Sklerotins ist, erneut gestützt.

Im Hinblick auf die Wirkung des Ecdysons bei der Sklerotisierung haben wir den Einfluß des Hormons auf das Phenoloxidase-System untersucht. Es ergab sich, daß das Aktivator-Enzym vom Hormon kontrolliert wird. Wenn die Ringdrüse (das hormonliefernde Organ) zerstört wird, nimmt die Aktivität ab; wird Ecdyson injiziert, dann steigt die Kurve wieder steil an [44]. Wir haben auch diesen Effekt als Neubildung von Enzymprotein aufgefaßt und als Ursache einen Einfluß des Hormons auf bestimmte Gene angenommen.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Pupariumbildung von *Calliphora*-Larven ein gut untersuchtes Beispiel einer biochemischen Hormonwirkung ist. Sie besteht in der Umsteuerung des Tyrosinstoffwechsels: Als neues Reaktionsprodukt tritt N-Acetyl-dopamin auf, das in der Cuticula (oder in den Epidermiszellen) zum Chinon oxydiert wird; dieses reagiert sofort mit den Cuticula-Proteinen im Sinne einer Chinongerbung. Die Umsteuerung des Stoffwechsels läßt sich auf die Neusynthese einiger Enzyme zurückführen; sehr wahrscheinlich bewirkt das Ecdyson die Aktivierung bestimmter Genloci, wodurch die Proteinsynthese in Gang gesetzt wird.

7. Das Juvenilhormon

Biologische Versuche hatten schon 1936 bis 1940 [45,46] die endokrine Funktion der Corpora allata bewiesen. Es hat in der Folgezeit nicht an Versuchen gefehlt, wirksame Extrakte des Hormons zu bereiten. Alle diese Versuche sind lange Zeit ohne Erfolg gewesen, vermutlich deshalb, weil erstens kein empfindlicher Test zur Verfügung stand, zweitens weil die Drüse, die zumeist als Ausgangsmaterial verwendet wurde, nur wenig Juvenilhormon enthält. Ausgehend von ganz anderen Beobachtungen, fand Williams eine ergiebige Quelle für das Juvenilhormon im Hinterleib von *Cecropia*-Faltern (Männchen) und einen brauchbaren Testorganismus, die Diapausepuppe von *Cecropia*.

Es hat sich dann gezeigt, daß eine Wirkung auf die Puppe (Abwandlung der Imaginalhäutung zu einer zweiten Puppenhäutung) mit Extraktten viel leichter zu erreichen ist als eine Wirkung auf die Raupe (Abwandlung der Puppenhäutung in Richtung auf die Larvenhäutung), die in den frühen Transplantationsexperimenten [47] beobachtet wurde. Wir haben daher bei dem von uns entwickelten *Tenebrio*-Test [48] gleichfalls die lokale Ausbildung der Puppenhaut im Käfer als biologische Testreaktion verwendet (vgl. Abb. 5).

[43] P. Karlson u. H. Liebau, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 326, 135 (1961).

[44] P. Karlson u. A. Schweiger, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 322, 199 (1961).

[45] V. B. Wigglesworth, Quart. J. microscop. Sci. 79, 91 (1936).

[46] J. J. Bounhiol, Bull. biol. France Belgique Suppl. 24, 1 (1938).

[47] H. Piepho, Roux' Archiv Entwicklungsmechan. Organismen 141, 500 (1942).

[48] P. Karlson u. M. Nachtigall, J. Insect Physiol. 7, 210 (1961).

Auf die erste erfolgreiche Extraktion des Juvenilhormons folgten bald Versuche zur Anreicherung und Isolierung [49,50]. Es ist zwar verschiedentlich erwähnt worden [49,50], daß hoch angereicherte Extrakte erhalten wurden, aber eine Veröffentlichung über den Weg der Auf-



Abb. 5. Wirkung des Juvenilhormons im *Tenebrio*-Test. Zu diesem Test werden junge (24 bis 48 Std. alte) Puppen des Mehlkäfers *Tenebrio molitor* verwendet. Sie erhalten eine Injektion von 0,5 µl der öigen Lösung des zu prüfenden Stoffes in das Abdomen. 8 bis 10 Tage nach der Injektion schlüpfen die Käfer. Wenn die Substanz wirksam war, weisen sie innerhalb der dunkelbraunen Käfercuticula eine Stelle heller Puppencuticula auf. Das Testergebnis wird als Prozentsatz positiver Tiere (bei 30 bis 40 Käfern je Versuch) ausgedrückt (vgl. Tabelle 1).

arbeitung mit genauen Zahlenangaben existiert noch nicht. Das Juvenilhormon soll sehr empfindlich sein, wenn durch Reinigung Begleitstoffe (vielleicht Antioxydantien?) entfernt worden sind.

Das Juvenilhormon scheint weit verbreitet zu sein. Aktive Extrakte sind aus verschiedenen Species erhalten worden. Zahlreiche Schmetterlingsraupen und Falter, sogar Puppenextrakte, besitzen eine geringe Aktivität, auch andere Insektenordnungen, ja sogar Mikroorganismen, haben aktive Extrakte geliefert [51]. Überraschend war, daß auch Sägetierorgane Juvenilhormon zu enthalten scheinen. Besonders aktiv waren Nebennierenrinden und Thymusdrüse, während andere Organe keine aktiven Extrakte lieferten [52]. Es schien sich hier ein neuer Zugang zur experimentellen Bearbeitung des immer noch umstrittenen Thymusdrüsenhormons zu eröffnen. Indessen deutet das nahezu ubiquitäre Vorkommen aktiver Stoffe sowie die Aktivität von einigen verbreiteten, verhältnismäßig einfachen Substanzen (siehe unten) an, daß wahrscheinlich ein unspezifischer Effekt vorliegt.

Über die chemische Natur des Juvenilhormons läßt sich noch nichts aussagen. Dagegen sind neuerdings definierte Verbindungen bekannt geworden, die dieselbe Wirkung besitzen. Ausgehend von dem Befund, daß *Tenebrio*-Kot Juvenilhormon enthält [53], hat Schmialek in diesen Extrakten Farnesol und Farnesal gefunden [54], die eine gewisse Juvenilhormonwirkung besitzen. Wir haben dann noch einige andere Verbindungen geprüft (vgl. Tabelle 1). Farnesylphosphat wirkt nur schwach, das Pyrophosphat ist völlig unwirksam. Interessant ist, daß der Methyläther des Farnesols und das

[49] C. M. Williams, Nature (London) 178, 212 (1956).

[50] L. I. Gilbert u. H. A. Schneiderman, Science (Washington) 128, 844 (1958).

[51] L. I. Gilbert u. H. A. Schneiderman, Amer. Zool. 1, 11 (1961).

[52] C. M. Williams, L. V. Moorhead u. J. F. Pulis, Nature (London) 183, 405 (1959).

[53] P. Karlson u. P. Schmialek, Z. Naturforsch. 14b, 12 (1959).

[54] P. Schmialek, Z. Naturforsch. 16b, 461 (1961).

Tabelle 1. Wirkung einiger Substanzen im *Tenebrio*-Test [55].

| Substanz | Dosis [μ g/Tier] | Wirksam- keit bei <i>Tenebrio</i> [%] [*] | TE/mg [**] |
|--|--------------------------|--|------------|
| Cecropia Rohöl | 15 | 40 | 66 |
| Farnesol | 10 | 22 | 50 |
| Farnesylphosphat (ölige Suspension) | 50 | 66 (40) | |
| Farnesylpyrophosphat (ölige Suspension) | 50 | 0 | 0 |
| (wäßrige Suspension) | 50 | 0 | 0 |
| Nerolidol | 10 | 22 | 50 |
| | 50 | 73 | |
| Squalen | 50 | 3 | 1,5 |
| Phytol | 50 | 19 | 10 |
| Citronellol | 50 | 6 | 3 |
| Geraniol | 50 | 23 | 12 |
| β -Jonon | 50 | 4 | 2 |
| Citral | 50 | 0 | 0 |
| Farnesyl-methyläther | 0,1 | 40 | 10000 |
| Farnesyl-diäthylamin | 0,5 | 46 | 2300 |

[*] Zahl der Tiere [% der insgesamt behandelten], die lokal eine Puppenhaut bilden.

[**] 40 % positive Tiere = 1 TE (Tenebrio-einheit).

Farnesyl-diäthylamin besonders wirksam sind [56]. Ob das daran liegt, daß Farnesol im Organismus schnell abgebaut oder umgewandelt wird, während die Derivate stabiler sind und länger wirken können, ist noch nicht geklärt.

Damit erhebt sich die Frage, ob das natürliche Juvenilhormon mit dem Farnesol oder dessen Derivaten identisch ist. Für das Farnesol kann man die Frage verneinen; die Wirksamkeit ist zu gering, außerdem scheinen die physikalischen Eigenschaften des Juvenilhormons von denen des Farnesols verschieden zu sein. Für den Methyläther kann diese Frage heute noch nicht endgültig beantwortet werden. Es spricht aber manches dafür, daß die Sesquiterpene gewissermaßen Nachschlüssel sind, die zufällig die gleiche biologische Wirkung besitzen. In der Reihe der Östrogene gibt es sehr viele solcher „Nachschlüssel“; am bekanntesten ist das Diäthylstilbostrol.

Für die Wirkungsweise des Juvenilhormons hat man sehr bald nach Bekanntwerden der Ergebnisse von *Clever* und *Karlson* [28] ähnliche Hypothesen aufgestellt [57]. Irgendwelche Experimente liegen jedoch nicht vor.

8. Weitere Insektenhormone

Es gibt noch einige weitere hormonale Regulationen im Insektenorganismus. Die hierher gehörenden Hormone werden von neurosekretorischen Zellen gebildet und haben hauptsächlich unter diesem Aspekt Interesse gefunden.

Verhältnismäßig gut untersucht, wenn auch noch nicht in reiner Form isoliert, ist das Diapausehormon des Seidenspinners [58]. Die ersten wirksamen Extrakte erhielt 1953 *Hasegawa* [59]. Über eine Reindarstellung ist noch nicht berichtet worden.

[55] *P. Karlson* u. *H. Ehmke*, unveröffentlicht; vgl. auch *P. Schmialek*, DAS 1140394 (29. Nov. 1962), sowie *P. Karlson*: 13. Colloquium der deutschen Gesellschaft für physiologische Chemie. Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1963, S. 101.

[56] *V. B. Wigglesworth*, J. Insect Physiol. 9, 105 (1963).

[57] *C. M. Williams*, Science (Washington) 133, 1370 (1960).

[58] *S. Fukuda*, Proc. Japan Acad. 27, 672 (1951); 29, 389 (1953).

[59] *K. Hasegawa*, Nature (London) 179, 1300 (1957).

Die biologische Funktion des Diapausehormons besteht darin, die Entwicklung des Embryos im Ei zu determinieren. Die erste Sommergegeneration des Seidenspinners legt Eier, die sich sofort entwickeln und aus denen schon nach wenigen Wochen die jungen Larven schlüpfen. Sie wachsen zu einer zweiten Generation heran, deren Eier überwintern; in einem bestimmten Stadium hört die Embryonalentwicklung auf (Diapause), um erst nach mehreren Monaten wieder einzusetzen. Bestimmend für den Charakter der Eier sind Temperatur und Tageslänge, die während der Larvenentwicklung der weiblichen Falter herrschen. Die Regulation der Diapause wird durch ein Hormon vermittelt, das in bestimmten Nervenzentren, nämlich im Unterschlundganglion, gebildet wird. Aus diesen Zellen kann man Extrakte herstellen, die weibliche Falter zur Ablage von überwinternden Eiern veranlassen.

Noch erstaunlicher als dieser komplizierte, aber biologisch sinnvolle Mechanismus muten Befunde an, nach denen auch die endogene Rhythmus stofflich bedingt und übertragbar sein soll [60]. Versuchstiere waren Küchenschaben, die einen Tag-Nacht-Rhythmus besitzen; bei Tage sind sie unbeweglich und bleiben in ihren Schlupflöchern, nachts laufen sie umher. Der Rhythmus bleibt auch erhalten, wenn die Tageslänge (= Belichtungszeit) geändert wird. Durch Transplantation von Nervengewebe kann man den Versuchstieren einen neuen Rhythmus aufprägen; das gleiche gelingt durch die Injektion von Extraktten.

Andere Wirkstoffe aktivieren die Bewegungen bestimmter Organe (Darm, Malpighische Gefäße, Herzschlauch). Es handelt sich meist um eine Beeinflussung glatter Muskulatur. Auch diese Stoffe werden in bestimmten Nervengeweben gebildet. *Cameron* [61] hat einen Stoff mit den Eigenschaften eines Aminophenols nachgewiesen; möglicherweise ist es ein Catecholamin oder ein Serotonin-Derivat. Ein ähnlicher Stoff wurde im Nervengewebe bestimmter Krebse gefunden [62]. Die Substanz ließ sich inzwischen durch Synthese als 5,6-Dihydroxytryptamin identifizieren [63].

In die gleiche Gruppe gehören die Neurohormone, die *Gersch* und Mitarbeiter im Nervengewebe einiger Insekten fanden [14]. Sie haben gleichfalls eine myotrope Wirkung, außerdem beeinflussen sie die Chromatophoren. Jüngst wurde über die Kristallisation einiger dieser Stoffe berichtet [65], aber über ihre chemische Natur ist noch nichts bekannt. Auch die Reinheitskriterien vermögen den Chemiker noch nicht zu befriedigen, wenn gleich zugegeben werden muß, daß es schwierig ist, mit so geringen Substanzmengen (50 bis 100 μ g) einwandfreie Reinheitskriterien zu erbringen.

9. Pheromone

Als Pheromone haben *Karlson* und *Lüscher* [64] diejenigen Wirkstoffe klassifiziert, die eine stoffliche Kommunikation zwischen Individuen einer Species vermitteln. Mit der Wahl dieses Namens sollte diese Stoffklasse deutlich von den Hormonen abgegrenzt und einer unzweckmäßigen Ausweitung des Hormonbegriffs ent-

[60] *J. Harker*, Ann. Rev. Entomol. 6, 131 (1961).

[61] *M. L. Cameron*, Nature (London) 172, 349 (1953).

[62] *D. B. Carlisle*, Biochem. J. 63, 328 (1956).

[63] *H. G. Schloßberger* u. *H. Kuch*, Chem. Ber. 93, 1318 (1960).

[64] *P. Karlson* u. *M. Lüscher*, Naturwissenschaften 46, 63 (1959).

gegengewirkt werden [65]. Eigentlich gehören die Pheromone nicht zu unserem Thema, da sie nicht zu den Hormonen zu rechnen sind. Weil aber gerade die Pheromone der Insekten gut untersucht sind, sollen sie hier kurz erwähnt werden. Bezuglich der Einzelheiten muß auf die gleichzeitig erscheinende Zusammenfassung von Stamm [66] verwiesen werden.

Die bekanntesten Beispiele für Pheromone sind die Sexuallockstoffe der Schmetterlinge, die von den Weibchen in bestimmten Drüsen produziert werden und die Männchen anlocken, oft über weite Entfernung hinweg.

Der erste Lockstoff dieser Art und damit das erste Pheromon, das in chemisch reiner Form erhalten wurde, ist das von Butenandt und Mitarbeitern [67] isolierte Bombykol, der Sexuallockstoff des Seidenspinners. Über 500000 Duftdrüsen mußten verarbeitet werden, um nach langwierigen Reinigungsoperationen rund 10 mg eines Derivates des Lockstoffs in kristallisierter Form zu erhalten.

Eine eigens dazu ausgearbeitete Mikromethode der oxydativen Spaltung [68] führte zur Formel eines Hexa-

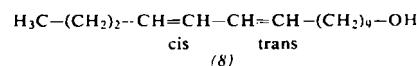
[65] A. Berthe, Naturwissenschaften 20, 177 (1932).

[66] D. Stamm, Dtsch. med. Wschr., im Druck.

[67] A. Butenandt, R. Beckmann, D. Stamm u. E. Hecker, Z. Naturforsch. 14b, 283 (1959).

[68] A. Butenandt, D. Stamm u. E. Hecker, Chem. Ber. 94, 1931 (1961).

decadienols, die dann durch Synthese bewiesen wurde. Der Lockstoff, der den Namen Bombykol [69] erhielt, ist das 10-trans-12-cis-Hexadecadien-1-ol (8).



Bombykol gehört zu den am höchsten wirksamen Stoffen. Wird ein Glasstab mit einer Lösung von $10^{-12} \mu\text{g}/\text{ml}$ befeuchtet, so zeigt er noch Lockwirkung. Man kann ausrechnen, daß von der Antenne des Männchens noch wenige Moleküle wahrgenommen werden und die Reizwirkung auslösen können.

Außer den Sexuallockstoffen rechnen zu den Pheromonen die Königinsubstanz der Bienen, die kürzlich als Δ^2 -9-Oxo-decen-1-säure erkannt wurde [70], sowie die Spur-Markierungsstoffe der Ameisen, Termiten [71] und Bienen. Über die Chemie und Biologie dieser Stoffe haben wir an anderer Stelle [72,73] zusammenfassend berichtet (vgl. auch [66]).

Eingegangen am 14. Januar 1963 [A 280]

[69] A. Butenandt u. E. Hecker, Angew. Chem. 73, 349 (1961).

[70] C. G. Butler, R. K. Callow u. N. C. Johnston, Nature (London) 184, 1871 (1959); M. Barbier, E. Lederer, T. Reichstein u. O. Schindler, Helv. chim. Acta 43, 1682 (1960).

[71] M. Lüscher, Ann. N. Y. Acad. Sci. 89, 549 (1960).

[72] P. Karlson, Ergebn. Biol. 22, 212 (1960).

[73] P. Karlson u. A. Butenandt, Ann. Rev. Entomol. 4, 39 (1959).

Die Biosynthese von Alkaloiden I [*]

von PROF. DR. K. MOTHES UND DOZENT DR. H. R. SCHÜTTE
DEUTSCHE AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN ZU BERLIN,
INSTITUT FÜR BIOCHEMIE DER PFLANZEN, HALLE/SAALE

Herrn Professor Dr. Adolf Butenandt aus Anlaß der 60. Wiederkehr seines Geburtstages gewidmet

1. Einleitung
2. Tropanalkaloide und ihre Verwandten
 - a) Hyoscyamin
 - b) Hygrin, Cuskygrin und Cocain
 - c) Stachydrin
 - d) Scopolamin
 - e) Tropasäure
 - f) Beteiligung des C₁-Stoffwechsels
 - g) Bildungsorte in der Pflanze
3. Pyridin- und Piperidinalkaloide
 - a) Der Pyrrolidinring des Nicotins
 - b) Der Piperidinring des Anabasins

- c) Der Pyridinring des Nicotins und Anabasins
- d) Die Methylgruppe des Nicotins
- e) Ricinin
- f) Isopelletierin, Methylisopelletierin, Pseudopelletierin
- g) Coniin
- h) Lobelin, Lobelanidin, Lobelanin
4. Pyrrolizidin- und Chinolizidinalkaloide
 - a) Pyrrolizidinalkaloide vom Laburnin-Typ
 - b) Retronecin- und Platynecinbasen
 - c) Necinsäuren
 - d) Lupinenalkaloide

weist der Organismen, in anderen aber fügt es sich in alte, längst vor der modernen Entwicklung der Biochemie begründete Ideen ein und bestätigt diese.

Im Bereich der Alkaloide war es vor allem Trier [1], der 1912 die Bildung der komplizierteren N-haltigen Basen

[*] Teil II dieser Übersicht erscheint demnächst in dieser Zeitschrift.

[1] G. Trier: Über einfache Pflanzenbasen und ihre Beziehungen zum Aufbau der Eiweißstoffe und Lecithine. Verlag Gebr. Bornträger, Berlin 1912, S. 117.

1. Einleitung

Die schnelle Entwicklung unserer Vorstellungen über die Mechanismen der Biosynthese sekundärer Pflanzenstoffe wird bald einen großen Teil der bestehenden, zweifellos oft geistreichen Hypothesen vergessen lassen, da das sich häufende experimentelle Material konkrete Entscheidungen gestattet. Dieses zwingt in verschiedenen Gebieten zu prinzipiell neuen Theorien über die Arbeits-