

Wo immer auch Leben entstand, mußte es sich selbst auf der niedrigsten Stufe gegen seinesgleichen wehren. Darwin nannte es den Kampf ums Dasein. Daß dieser chemisch mit Verbindungen aus den verschiedensten Stoffklassen ausgetragen werden kann, zeigen die folgenden Ausführungen. Heiße Chinone bei den Bombardierkäfern, schwache und starke Carbonsäuren, Phenole, Terpene, Steroide und Alkaloide bei den anderen Raub- oder Gierkäfern, den Adephegen, sind die gefundenen Abwehrsubstanzen.

1. Einleitung

Um sich ihren Lebensraum zu schaffen und zu erhalten, benötigen besonders die Käfer außergewöhnliche Mittel, denn dort, wo sie leben, unter Steinen und in der Erde, im Schmutz und Dung oder in einem Tümpel, sind auch immer die verschiedenartigsten Mikroorganismen zugegen. Dazu müssen sie sich gegen andere Insekten und gegen größere Feinde, wie Vögel, Mäuse und Frösche wehren. Daß die Käfer trotzdem existieren, kaum von Pilzen befallen werden und immer wie geputzt aussehen, verdanken sie zum großen Teil einer ihren Lebensgewohnheiten angepaßten Abwehrchemie.

2. Inhaltsstoffe der Pygidialwehrblasen der Landkäfer

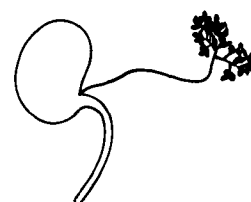
Viele Bakterien lieben wie die Insekten Wärme und Feuchtigkeit, aber auch neutrales oder schwach alkalisches Milieu. Ein Käfer kann sich also am einfachsten gegen Mikroben schützen, wenn er sich entweder mit Säure oder mit stärkerer Base umgibt.

Die in Aasen lebenden Silphiden z. B. sezernieren als Wehrsekret eine 4,5-proz. Ammoniaklösung^[1]. Die Aaskäfer wehren sich so nicht nur gegen den Befall mit Fäulnisbakterien, sondern auch gegen größere Angreifer und lästige Nahrungskonkurrenten.

Es sind nur drei Käferarten – *Oeceptoma thorica* L., *Silpha obscura* L. und *Phosphuga atrata* L. –, bei denen wir eine Base als Abwehrsubstanz gefunden haben. Verbreiteter sind Carbonsäuren^[2]; Isobuttersäure und Isovaleriansäure z. B. kann man elektrophoretisch und gaschromatographisch bei sechs Carabidengrup-

pen nachweisen. Eine sichere Verteidigung in der oft wechselnden Umgebung ist mit diesen schwach wirkenden, niederen Fettsäuren nicht gewährleistet, zumal die Wirkung aller Antiseptika konzentrationsabhängig ist^[3]; eine fortwährende Abwehr räuberischer Insekten mit diesen Carbonsäuren kann man sich ebenfalls nicht vorstellen. Besser geeignet ist die starke Ameisensäure, die auch noch in verdünnter Form als Zellgift wirksam sein kann, besonders wenn ihr das Eindringen in den feindlichen Organismus mit Hilfe von lipophilen Aliphaten erleichtert wird^[4]. Wir fanden bei 25 Käferarten mit einer Ausnahme (*Lebia chlorocephala*) neben Ameisensäure vor allem n-Undecan sowie teilweise n-Decan und n-Tridecan. Käfer der Gattung *Pseudophonus* (9–16 mm) können 70–75-proz. Ameisensäure aus ihren 1,5–2 mm großen, paarigen Pygidialwehrblasen (s. Abb. 1) 20 cm weit in feinen Tröpfchen verspritzen^[5].

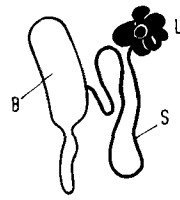
A 730.1



Chlaenius vestitus



Harpalus dimidiatus



Bembidion lampros

Abb. 1. Schematische Darstellung der Carabiden-Wehrorgane; die in den Loben L produzierten und durch die Sammelkanäle S in die Speicherblasen B geleiteten Abwehrstoffe sind z. T. in Tabelle 1 aufgeführt.

Wendet man bei der Suche nach Insekten am Wegrand einen Stein, so nimmt man manchmal einen aromatischen Geruch wahr, noch ehe irgendein Tier zu bemerken ist. Bei näherem Zusehen entdeckt man einen glänzenden Laufkäfer – z. B. *Carabus auratus*, der

[*] Prof. Dr. H. Schildknecht
Organisch-Chemisches Institut der Universität
69 Heidelberg, Tiergartenstraße 2

[**] Nach einem Plenarvortrag vor der 105. Versammlung der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte am 8. Oktober 1968 in Heidelberg.

Arthropoden-Abwehrstoffe, 40. Mitteilung. – 39. Mitteilung: H. Schildknecht u. R. Bühner, Z. Naturforsch. 24b, 532 (1969).

[1] H. Schildknecht u. K. H. Weis, Z. Naturforsch. 17b, 452 (1962).

[2] H. Schildknecht, H. Winkler u. U. Maschwitz, Z. Naturforsch. 23b, 637 (1968).

[3] W. B. Hugo, J. appl. Bacteriol. 30, 17 (1967).

[4] H. Remold, Z. vergleich. Physiol. 45, 636 (1962).

[5] H. Schildknecht u. K. H. Weis, Z. Naturforsch. 16b, 361 (1961).

Goldlaufkäfer –, der auch in Gefangenschaft bei Berührung aromatisch riechende Duftwolken ausstößt. Es ist nahezu reine Methacrylsäure, die der Käfer sezerniert, mit etwa 5% der homologen Tiglinsäure (*trans*-2-Methyl-2-butensäure) verunreinigt (s. Tabelle 1). Diese Säuren sind ebenfalls Zellgifte, und obwohl sie lipophiler als Ameisensäure sind, wurden bei der Hälfte der 16 darauf untersuchten Käferarten auch noch die C₁₀-, C₁₁- und C₁₃-Paraffine nachgewiesen.

Tabelle 1. Carabiden mit den Wehrstoffen Methacrylsäure, Tiglinsäure, n-Undecan, n-Decan und n-Tridecan [2, 7].

Tribus Art	Methacryl- u. Tiglinsäure	n-Undecan neben n-Decan u. n-Tridecan
Carabini		
<i>Carabus auratus</i>	+	
<i>C. granulatus</i>	+	
<i>C. auronitens</i>		
<i>C. problematicus</i>	+	
<i>C. convexus</i>	+	
<i>C. cancellatus</i>	+	
Nebriini		
<i>Leistus ferrugineus</i>	+	
<i>Nebria livida</i>	+	
Pterostichini		
<i>Poecilus cupreus</i>	+	+
<i>Pterostichus niger</i>	+	+
<i>Pt. macei</i>	+	+
<i>Pt. vulgaris</i>	+	+
<i>Pt. melas</i>	+	+
<i>Pt. metallicus</i>	+	+
<i>Abax parallelus</i>	+	
<i>Ab. ovalis</i>	+	
<i>Ab. ater</i>	+	
<i>Molops elatus</i>	+	
Amarini		
<i>Amara similata</i>	+	+
<i>Am. familiaris</i>	+	+

Als Hypothese zur Evolution der Verbindungen, die in den Wehrsekreten vorkommen, kann angenommen werden, daß bei der Entstehung der Käferarten das Herausselektionieren auch eines chemischen Merkmals der Art Vorteile bringt [6]. So gesehen sind die gesättigten Fettsäuren als ursprünglich und die ungesättigten als abgeleitet zu betrachten. Die antibiotisch wirksame ungesättigte Carbonylgruppe kann aber nur aktiv werden, wenn für eine ausreichende Lipophilie gesorgt ist; sei es durch einen aliphatischen Rest im Molekül selbst oder durch Beimischen eines aliphatischen Lösungsvermittlers. Wir haben beide Prinzipien kennengelernt, und man wird ihnen bei der Aufklärung von chemischen Wehrmechanismen sicher noch öfter begegnen.

In den Pygidialwehrblasen des *Asaphidion flavipes* und des *Bembidion quadriguttatum* findet man z.B. neben Salicylaldehyd n-Valeriansäure mit Paraffinen vermischt; aus *Idiochroma dorsalis* (Abb. 2) isolierten wir nicht nur den lipophileren Salicylsäuremethylester, sondern auch neben 12% Ameisensäure und etwas n-Decan als Hauptkomponente n-Undecan [8]. Die phenolische Wirkgruppe, die in den Wehrsubstanzen Salicylaldehyd und Salicylsäure auftritt, ist besonders bei den Schwimmkäfern weit verbreitet.

[6] H. Schildknecht, U. Maschwitz u. H. Winkler, Naturwissenschaften 55, 112 (1968).

[7] H. Schildknecht u. K. H. Weis, Z. Naturforsch. 17b, 439 (1962).

[8] H. Schildknecht, H. Winkler, D. Krauß u. U. Maschwitz, Z. Naturforsch. 23b, 46 (1968).

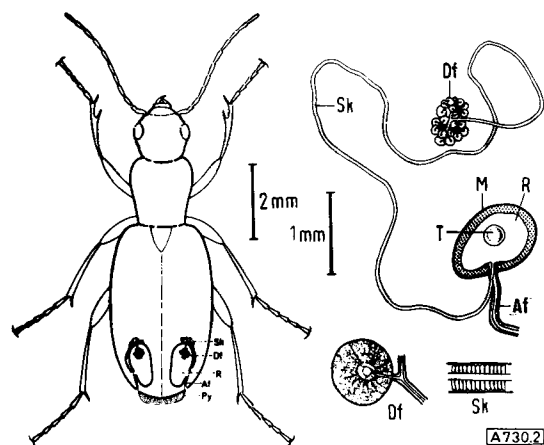


Abb. 2. *Idiochroma dorsalis* und sein Pygidialwehrrüdensystem; Sk = Sammelkanal, Df = Drüsenfollikel, Af = Ausführkanal, Py = Pygidium, R = Reservoir, M = Muskulatur, T = „öliges“ Tröpfchen.

Auch für die drei Chlaeniusarten *Ch. tristis*, *Ch. crysocephalus* und *Ch. bipunctatus* war es sehr wahrscheinlich ein Fortschritt, das besonders wirksame Desinfektionsmittel *m*-Kresol zu besitzen [2,9]. Damit verglichen sind die Hydrochinone weniger wirksam, da ihnen die Alkylgruppe fehlt. Wir finden sie deswegen nur als Vorstufen der bakteriziden und fungiziden *p*-Benzochinone [10], die als Abwehrstoffe der Käfer so charakteristisch sind, daß wir schon früher eine ganze Gruppe als „Chinonkäfer“ bezeichneten [11].

Doch weder die Käferfamilie der Tenebrionidae [12–14] noch die der Carabidentriben Scaritini und Chlaeniini mit ihren Wehrstoffen *p*-Benzochinon, Toluchinon, Äthylchinon und 2-Methyl-3-methoxy-*p*-benzochinon (bei *Clivina fossor*) erreichen den Effekt und die Eleganz der Abwehr der Brachyniden (Bombardierkäfer).

3. Abwehrchemie der Bombardierkäfer

Die Brachyniden speichern in 1 mg schweren Blasen nicht die zersetzlichen und mit Eiweiß reagierenden Chinone, sondern die aromatisch stabilisierten Hydrochinone in einer manchmal bis zu 28-proz. Hydroperoxidlösung [15]. Erst beim hörbaren Schuß wird ein heißes Giftgas aus Benzochinon und Toluchinon sowie aus nicht umgesetztem Hydrochinon und Wasserstoffperoxid von einem Überdruck an Sauerstoff ausgestoßen (Abb. 3).

Das waren unsere ersten Ergebnisse [15,16] über diesen im ganzen Tierreich einmaligen Abwehrmechanismus.

[9] T. Eisner, Ann. Entomol. Soc. Am. 57, 44 (1964).

[10] H. Schildknecht u. H. Krämer, Z. Naturforsch. 17b, 701 (1962).

[11] H. Schildknecht et al., Angew. Chem. 75, 762 (1963); Angew. Chem. internat. Edit. 3, 73 (1964).

[12] H. Schildknecht u. K. H. Weis, Z. Naturforsch. 15b, 757 (1960).

[13] J. D. Lacont u. L. M. Roth, Ann. Entomol. Soc. Am. 46, 281 (1953).

[14] T. Eisner, J. Insect. Physiol. 8, 175 (1962).

[15] H. Schildknecht, Angew. Chem. 69, 62 (1957).

[16] H. Schildknecht u. K. Holoubek, Angew. Chem. 73, 1 (1961).

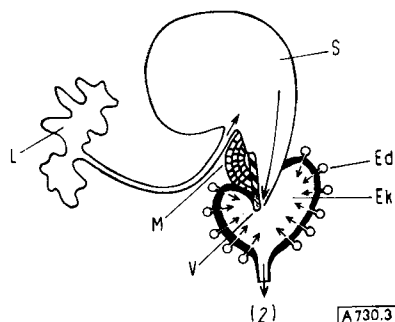


Abb. 3. Pygidialwehldrüsen-System des Bombardierkäfers; L = Loben, S = Sammelblase, M = Öffnungsmuskel, V = Ventil, Ed = Enzymdrüsen, Ek = Explosionskammer. In der Sammelblase S befinden sich (1) und H_2O_2 .

Was in Ergänzung hierzu nun mitgeteilt werden soll, stammt aus Versuchen, die durch die Frage eingeleitet wurden, welcher Art die Katalysatoren sind, die den explosionsartigen Umsatz des Pygidialwehldrüsensekretes in den Brennkammern bewirken^[17]. In diese innen stark bedornten und 200 bis 300 μm großen Chitinkapseln münden aus erhöhten Siebplatten die

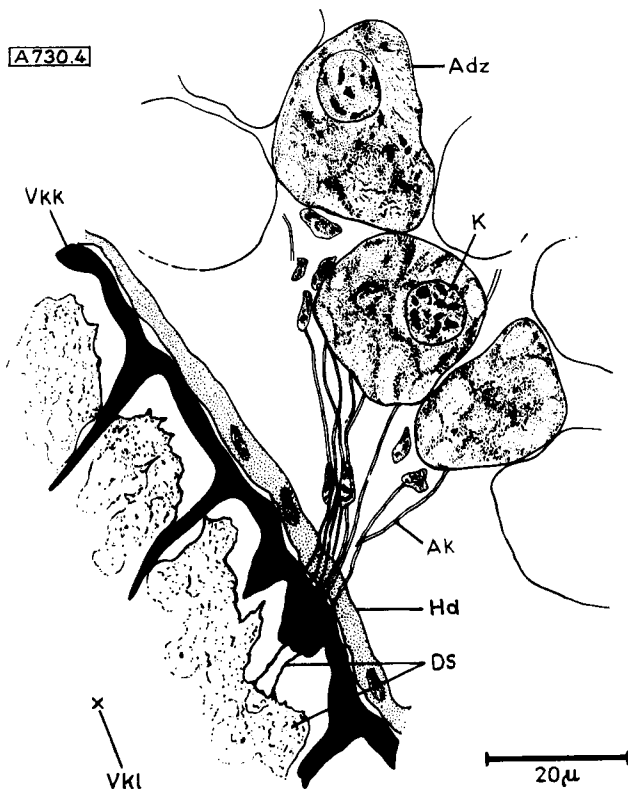
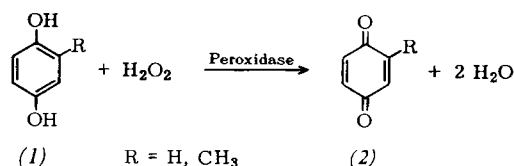
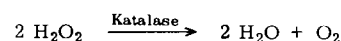


Abb. 4. Querschnitt durch die Pygidialwehrröhren-Vorkammer und die Annexdrüsen (Adz) des Bombardierkäfers (Ausschnitt). Ak = Ausführgänge, K = Kern, Hd = Hypodermis, Vkk = Vorkammerlumen, Ds = Drüsensekret, VKI = Vorkammerlumen.

zu Bündeln vereinigten Ausführgänge zahlreicher, einzelliger Annexdrüsen, deren Enzymsekret man mit Glaskapillaren als tiefbraune Flüssigkeit abpipettieren kann. Einheimische Bombardierkäfer wie *Br. explosans* liefern 0.01 bis 0.03 μl und der etwas größere *Br. crepitans* 0.02 bis 0.1 μl einer 40- bis 60-proz. Eiweißlösung, die auch im Reagenzglas eine Hydrochinon/Hydroperoxid-Lösung explosionsartig zu Benzo-

[17] H. Schildknecht, E. Maschwitz u. U. Maschwitz, Z. Naturforsch. 23b, 1213 (1968).

chinon und Sauerstoff zersetzt. Diese doppelte Umsetzung des Pygidialdrüsensekrets erfordert zwei Enzyme: Für die Zerlegung des Hydroperoxids zu Wasser und Sauerstoff Katalase und für die Oxidation von Hydrochinon Peroxidase, wenn man von der geringen peroxidatischen Wirksamkeit der Katalasen absieht.



Beide Enzyme wiesen wir, nach einer Mikrozonenelektrophorese der Brennkammerflüssigkeit, auf der Celluloseacetatfolie durch Besprühen mit einem künstlichen Pygidialwehldrüsensekret nach. Wir beobachteten bei sieben *Brachynus*-Arten (*Br. crepitans*, *explosans*, *immaculicornis*, *plagiatus*, *sclopeta*, *ganglbaueri*, *exhalans*) einen Fleck mit starker Gasentwicklung und darüber einen weiteren, der sich nur braun färbte. Lediglich bei *Br. ganglbaueri* lief die Katalase weiter als die Peroxidase. Das so gewonnene Enzymmuster ist reproduzierbar und artcharakteristisch, sowohl was die Wanderungsgeschwindigkeit der Proteine als auch die Intensität der Flecken betrifft.

Die mikropräparative Isolierung und die daran anschließende Charakterisierung^[18] dieser Insektenkatalasen und -peroxidasen wurde durch die ungewöhnlich hohe Konzentration, in der diese Enzyme bei den Brachyniden vorliegen, erleichtert; sie ist nämlich bis zu 10000-mal größer als in der Leber von Säugetieren.

Durch Gelfiltration mit Sephadex G-200 konnte das Annexdrüsensekret in drei Fraktionen aufgeteilt werden (s. Abb. 5). Die erste hochmolekulare Frak-

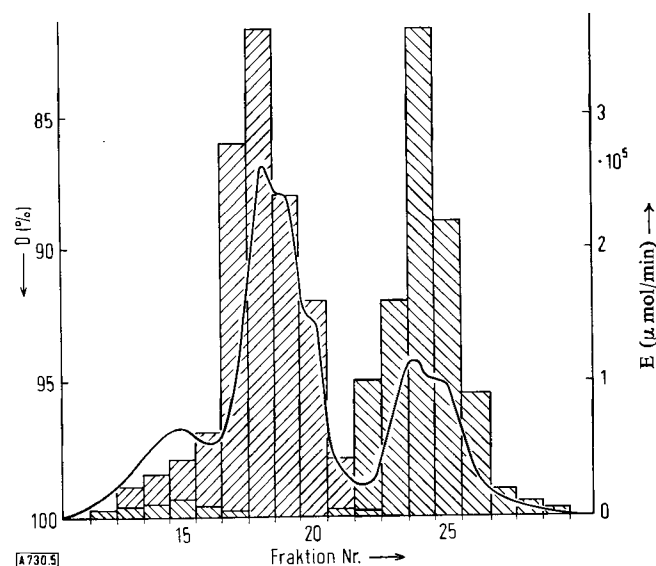


Abb. 5. Fraktionierung der Brennkammer-Proteine aus *Br. crepitans* durch Gelfiltration; D = Durchlässigkeit bei 280 nm (%) [ausgezogene Kurve], E = Enzymaktivität ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ -Umsatz/min) [schraffierte Rechtecke; nach links geneigte Schraffur = Peroxidase, nach rechts geneigte Schraffur = Katalase].

[18] H. Schildknecht, E. Maschwitz u. U. Maschwitz, J. Insect Physiol., im Druck.

tion war peroxidatisch und katalatisch wirksam, die zweite nur katalatisch und die dritte nur peroxidatisch. Durch eine Kombination Mikrozonenelektrophorese/Gelfiltration gelang es, von den drei Käferperoxidasen eine als diselektrophoretisch einheitlich zu isolieren. Von zwei Katalasefraktionen war eine nahezu einheitlich, die andere setzte sich jedoch aus drei katalatisch wirksamen Proteinanteilen zusammen. Das Molekulargewicht der einheitlichen Crepitanskatalase von 225 000 ist dem der pflanzlichen und tierischen Katalasen sehr ähnlich; das Molekulargewicht der einen Käferperoxidase entspricht dem der Rinderschilddrüsen-, Cytochrom-c- und Lactoperoxidasen. Auch die für die bekannten Katalasen und Peroxidasen typische prosthetische Gruppe, das Protohaematin IX, konnte bei den Käferenzymen gefunden werden.

Ungewöhnlich ist jedoch, daß die Brachynuskatalase erst zwischen 70 und 80 °C optimal arbeitet (Abb. 6)

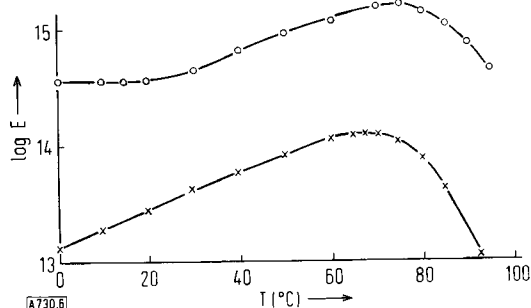


Abb. 6. Temperatur-Aktivitäts-Diagramm der Brachynus-Katalase (O-O-O-O) und der Brachynus-Peroxidase (X-X-X-X); E = Enzymaktivität ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ -Umsatz/min \cdot mol Porphyrin).

und sogar noch nach kurzem Aufkochen eine beachtliche Aktivität aufweist. Die vergleichsweise mitunter suchte Rinderleberkatalase hat ihr Wirkungsoptimum bei 52 °C und ist bereits bei 62 °C völlig inaktiviert. Der optimale Temperaturbereich für die Brachynusperoxidase liegt zwischen 65 und 75 °C, womit sie jedoch keine Sonderstellung einnimmt, da sich unter den Peroxidasen die temperaturstabilsten Enzyme befinden. Aus dem Rahmen fällt aber ihre Substratstabilität und Donor-Spezifität: Sie ist gegen Wasserstoffperoxid bedeutend stabiler als andere Peroxidasen und setzt sich nicht wie üblich mit Benzidin oder *p*-Phenylendiamin um, sondern bevorzugt als Wasserstoffdonor Hydrochinon oder Brenzcatechin.

Ein Lebewesen, das mit körpereigenen Stoffen eine Explosionsreaktion beabsichtigt, kann praktisch nur dieses System wählen, da es für Katalasen besonders charakteristisch ist, daß ihre Aktivität unbegrenzt mit der Konzentration des Substrates zunimmt [19].

Die Art des Enzyms, die hohe Konzentration des Wasserstoffperoxids und die für biochemische Prozesse ungewöhnlich hoch liegende Reaktionstemperatur in der Chitinkapsel ermöglichen eine so extrem schnelle Gasentwicklung, daß es zu einer Explosion kommt und zudem der denaturierende Einfluß des Wasserstoffperoxids auf die Enzyme kaum zum Zuge kommt. Das in der Explosionskammer durch viele

[19] B. Chance: Technique of Organic Chemistry. Bd. VIII, Teil II, S. 1314–1360, Interscience, New York 1963.

Chitinborsten (s. Abb. 4) zurückgehaltene Sekret der Annexdrüsen bleibt damit nach jeder Abwehrreaktion durch einen heißen Schuß [*] weiterhin so aktiv, daß es auch noch die letzte von einem Dutzend Treibstoffladungen zünden kann.

4. Abwehrstoffe der Schwimmkäfer (Dytiscinae)

4.1. Wirkstoffe der Pygidialwehrrüsen

Die Dytisciden gehören mit zu den besten Schwimmern unter den wirbellosen Süßwassertieren; weder Dornen noch irgendwelche Vorsprünge hindern die kahnförmig gebauten Käfer, das Wasser mit geringster Reibung zu durchgleiten. Nur wenn sie längere Zeit im Wasser zubringen müssen, überziehen sich ihre Flügeldecken mit einem Mikrobenschleim, und die Käferoberfläche verliert ihre wasserabstoßende Eigenschaft. Ein hydrophiler Körper aber durchschwimmt das Wasser schlechter und so helfen sich die Käfer, indem sie von Zeit zu Zeit die lästigen Schmarotzer beseitigen; sie beschmieren sich mit einer desinfizierenden Paste, die sie auf einem Grashalm sitzend aus ihren Pygidialwehrrüsen drücken. Die Paste enthält als Hauptkomponenten neben Benzoesäure Phenole, die ohne Ausnahme antiseptisch wirksam sind [20]. Tabelle 2 zeigt, daß der *p*-Hydroxybenzoesäuremethylester (PHB) als Antiseptikum bei den Schwimmkäfern besonders verbreitet ist. Vielleicht hängt dies mit dem Befund von Beveridge und Hugo [21] zusammen, daß keiner der von ihnen getesteten neun Bakterienstämme *p*-Hydroxybenzoesäuremethylester im Gegensatz zu den anderen untersuchten aromatischen Verbindungen zu zersetzen vermochte und daß trotz der Millionen Jahre langen Anwendung dieses Esters durch die Schwimmkäfer die Mikroorganismen offensichtlich nicht resistent wurden.

Der Gelbrandkäfer (*Dytiscus marginalis*) verwendet eine desinfizierende Paste, die sich in seinen Abwehrblasen aus *p*-Hydroxybenzoesäuremethylester, Benzoesäure und einem Glykoprotein bildet, das mit dem in hoher Konzentration ebenfalls vorliegenden *p*-Hydroxybenzaldehyd und der ϵ -Aminogruppe des Lysins vernetzt wird. Beim Säuberungsakt [22] an der Luft bilden sich daraus auf den Flügeldecken kompakte, oft auch filmartige Depots, in denen die Antiseptika eingebettet sind. Dafür spricht das elektronenmikroskopische Bild, die Unlöslichkeit und der hohe Cystein/Cystinanteil von 17.25 % des hochmole-

[*] Das Manuskript zu dieser Veröffentlichung des Vortrages vom 8. Oktober 1968 war bereits fertiggestellt, als unsere Annahme, daß auch die Wärmeentwicklung zur Abwehrreaktion gehört, durch eine genaue Temperaturmessung des „Pulverdampfes“ von D. J. Aneshansley et al. bestätigt wurde; vgl. [17] und Science (Washington) 165, 61 (1969).

[20] H. Schildknecht, D. Hotz, H. Neumaier, W. Körnig, H. Birringer, H. Tachei, S. K. Sharma u. U. Maschwitz, noch unveröffentlicht.

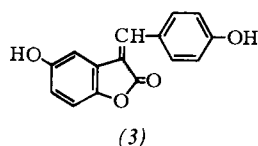
[21] E. G. Beveridge u. W. B. Hugo, J. appl. Bacteriol. 27, 304 (1954).

[22] U. Maschwitz, Naturwissenschaften 54, 649 (1967).

Tabelle 2. Inhaltsstoffe der Pygidialwehrblasen der Dytiscinae und Colymbetinae.

	Benzoe-säure	p-Hydroxy-benzoesäure	p-Hydroxy-benzoesäure-methylester	p-Hydroxy-benzaldehyd	3,4-Dihydroxybenzoesäuremethylester	3,4-Dihydroxybenzoesäureäthylester	Hydrochinon	1,4-Dihydroxyphenyl-essigsäure-methylester
Dytiscinae								
<i>Dytiscus marginalis</i>	+		+	+				+
<i>Cybister lateralimarginalis</i>	+		+	+	+	+		
<i>Cybister tripunctatus?</i>	+		+	+				
<i>Acilius sulcatus</i>	+		+	+				
<i>Graphoderes cinereus</i>	+	+	+	+	+			
Colymbetinae								
<i>Rhantus exoletus</i>	+	+	+	+			+	
<i>Colymbetes fuscus</i>	+	+	+	+	+		+	
<i>Copelatus ruficollis</i>			+	+				
<i>Agabus sturmi</i>	+		+	+				
<i>Agabus bipustulatus</i>			+	+	+			
<i>Ilybius fenestratus</i>	+	+	+	+			+	

kularen Glykoproteids^[23]. Dieses wird sich bei der Rückkehr ins Wasser wegen des hydrophilen Zuckeranteils von selbst ablösen, so daß der Käfer seine hydrophobe Oberfläche zurückgewinnt. Ob auch das in den Pygidialwehrblasen des Gelbrandkäfers *Dytiscus marginalis* vorkommende Marginalin (3-(p-Hydroxyphenylmethylen)-5-hydroxybenzo[b]furan-2-on)(3)^[24] für den Käfer nützliche Eigenschaften besitzt, wissen wir noch nicht, da dieses Lacton wie alle Derivate des Benzyliden-isocoumaranons bislang in der Natur nicht



gefunden wurde und man eine Beziehung zwischen Struktur und antibakterieller Wirkung bei ungesättigten Lactonen noch nicht kennt^[25].

4.2. Wirkstoffe der Prothorakalwehrrüsen

Nimmt man für die eben beschriebenen Untersuchungen einen Gelbrandkäfer aus dem Aquarium, so kann man erleben, daß er den stinkenden Inhalt seiner Rektalampulle in dickem Strahl aus dem After spritzt. Oft gleichzeitig drückt er aus zwei im Prothorax liegenden Sammelblasen eine weißliche Flüssigkeit aus, mit der man nach *Frisch*^[26] Fische und Amphibien vergiften kann. *Blunck*^[27] vermutete ein spezifisches Verteidigungsmittel des Käfers gegen seine großen Feinde unter den Wirbeltieren: ein Nervengift, das den Herz-

schlag und die Atmung beeinflußt. Die reine kristalline Wirksubstanz konnten wir aufgrund der spektroskopischen Daten als 11-Desoxycorticosteron (Cortexon) identifizieren^[28].

Dieses Steroid ruft beim Hecht oder bei der Forelle, per os gegeben, die gleiche Betäubung wie das natürliche Sekret hervor. Auf den Käfer selbst hat Cortexon – als artfremdes Hormon – keine Wirkung. Deshalb kommt es auch bei anderen Schwimmkäfern in ihren Prothorakalwehrblasen (s. Abb. 7) vor, z. B. bei *Agabus*

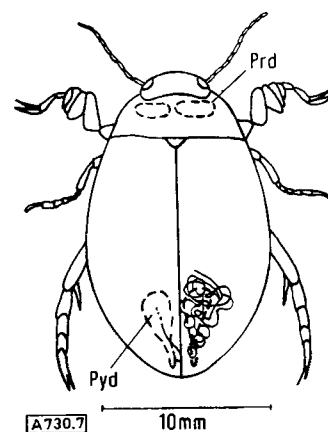


Abb. 7. *Acilius sulcatus* mit Prothorakal- (Prd) und Pygidialwehrblasen (Pyd).

bipustulatus und *Acilius sulcatus* (19 µg/Käfer)^[29], wie überhaupt dieser Furchenschwimmer eine wahre Fundgrube für α,β-ungesättigte und α,β-γ,δ-zweifach ungesättigte C₂₁-Ketosteroide ist. Als Naturstoff war 6,7-Dehydrocortexon, das in den *Acilius*-Blasen als Hauptkomponente mit 56 µg vorkommt, bisher unbekannt; daneben kann man 1 µg 20α-Hydroxy-4-pregnen-3-on nachweisen, 6 µg 4,6-Pregnadien-3,20-dion und 7 µg des zuerst bei *Cybister lateralimarginalis*^[30], dem Gaukler, entdeckte Cybisteron (20α-Hydroxy-4,6-pregnadien-3-on). Bei dieser Cybisterart findet man auch als interessantes Nebensteroid

[23] H. Schildknecht u. R. Bühner, Z. Naturforsch. 23b, 1209 (1968).

[24] H. Schildknecht, W. Körnig, R. Siewerdt u. D. Krauß, Liebigs Ann. Chem. 1970, im Druck.

[25] W. A. Sexton: Chemische Konstitution und biologische Wirkung. Verlag Chemie, Weinheim 1958, S. 217.

[26] J. L. Frisch: Beschreibung von allerley Insecten in Teutschland, nebst nützlichen Anmerkungen und nöthigen Abbildungen von diesem kriechenden und fliegenden inländischen Gewürme, zur Bestätigung und Fortsetzung der gründlichen Entdeckung, so einige von der Natur dieser Creaturen herausgegeben, und zur Ergänzung und Verbesserung der andern. 4. Auflage, Teil 2, Nicolai, Berlin 1721.

[27] H. Blunck, Z. wiss. Zool. 117, 205 (1917).

[28] H. Schildknecht, R. Siewerdt u. U. Maschwitz, Angew. Chem. 78, 392 (1966); Angew. Chem. internat. Edit. 5, 421 (1966).

[29] H. Schildknecht, D. Hotz u. U. Maschwitz, Z. Naturforsch. 22b, 938 (1967).

[30] H. Schildknecht, R. Siewerdt u. U. Maschwitz, Liebigs Ann. Chem. 703, 182 (1967).

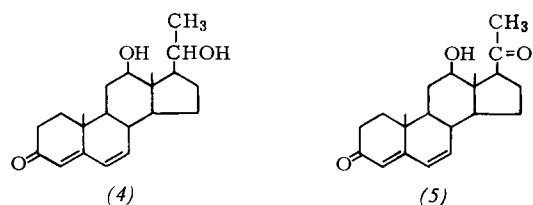
Tabelle 3. α,β -ungesättigte C_{21} -Ketosteroide aus den Prothorakalwehrrüsen der Schwimmkäfer.

R	Steroid	Käfer
	21-Hydroxy-4-pregnen-3,20-dion (Cortexon)	<i>Dytiscus marginalis</i> <i>Acilius sulcatus</i> <i>Agabus bipustulatus</i>
	20 α -Hydroxy-4-pregnen-3-on	<i>D. marginalis</i> <i>Ac. sulcatus</i>
	20 β -Hydroxy-4-pregnen-3-on	<i>Ilybius fenestratus</i>

Tabelle 4. $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -zweifach ungesättigte C_{21} -Ketosteroide aus den Prothorakalwehrrüsen der Schwimmkäfer.

R	Steroid	Käfer
	21-Hydroxy-4,6-pregnadien-3,20-dion	<i>Ac. sulcatus</i> <i>Cybister laterali-marginalis</i>
	20 α -Hydroxy-4,6-pregnadien-3-on (Cybisteron)	<i>C. laterali-marginalis</i> <i>D. marginalis</i> <i>Ac. sulcatus</i>
	4,6-Pregnadien-3,20-dion	<i>Ac. sulcatus</i>

12 β ,20 β -Dihydroxy-4,6-pregnadien-3-on (4), das an C-20 dehydriert als 12-Hydroxy-4,6-pregnadien-3,20-



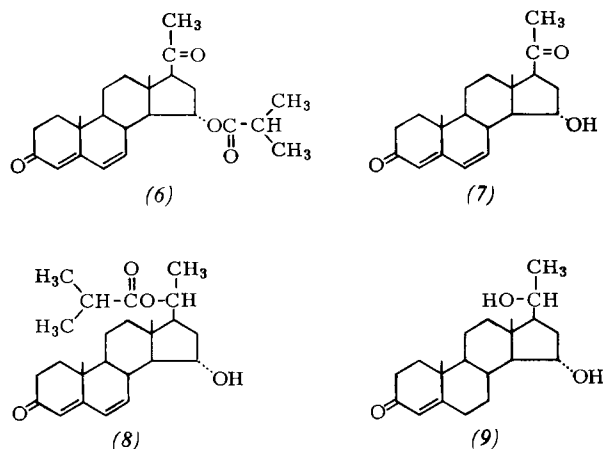
dion (5) in einer mexikanischen *Cybister*art (*C. tripunctatus*?) zum Hauptsteroid wird. Der mexikanische *Cybister*, den ich in einem idealen Biotop für Wasserkäfer, in den Wassergräben der schwimmenden Gärten von Xochimilco (Mexico City) fing, hält über 1 mg dieses Steroids für seine Abwehr bereit [32].

Noch stärker durch die Stellung der OH-Gruppen variiert sind die Steroide (6), (7) und (8) von *Agabus sturmi*; es handelt sich um die für die Dytisciden typischen hydroxylierten Pregnadienone, von denen bisher nur ein Vertreter bekannt geworden ist [33] und die hier auch mit Isobuttersäure verestert vorliegen können [31]. Ebenfalls an C-15 hydroxyliert ist das Steroid (9) des 7 bis 8 mm großen *Platambus maculatus*; aus

[31] H. Schildknecht u. D. Hotz, unveröffentlicht.

[32] H. Schildknecht u. W. Körnig, Angew. Chem. 80, 45 (1968); Angew. Chem. internat. Edit. 7, 62 (1968).

[33] P. Potier, C. Kan u. J. Lemen, Tetrahedron Letters 1964, 1673.



dem milchigen Sekret von 100 Käfern können 0.7 mg isoliert werden [34].

Von den aufgeführten Insektensteroiden haben wir einige in guten Ausbeuten darstellbare auf ihre Wirksamkeit gegen wechselwarme Tiere getestet. Bei einer Konzentration von 2 mg Steroid/Liter Wasser waren z. B. an den Testfischen nach 15 bis 30 Minuten erhebliche Veränderungen im Verhalten zu beobachten. Sie konnten auf die Seite gedreht werden und richteten sich nur mühsam wieder auf. Bei einer Steroidkonzentration von 10 mg/l lagen die Fische nach einer halben Stunde regungslos am Boden, erholten sich aber wieder völlig, wenn sie in frisches Wasser zurückgebracht wurden. Besonders aufschlußreich waren Versuche, bei denen wir den Schlammchwimmer *Ilybius fenestratus* (Abb. 8) an Kröten und Frösche verfütterten.

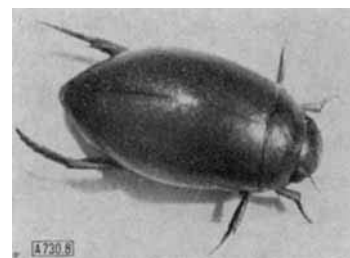


Abb. 8. Der Schlammchwimmer *Ilybius fenestratus* (12 mm).

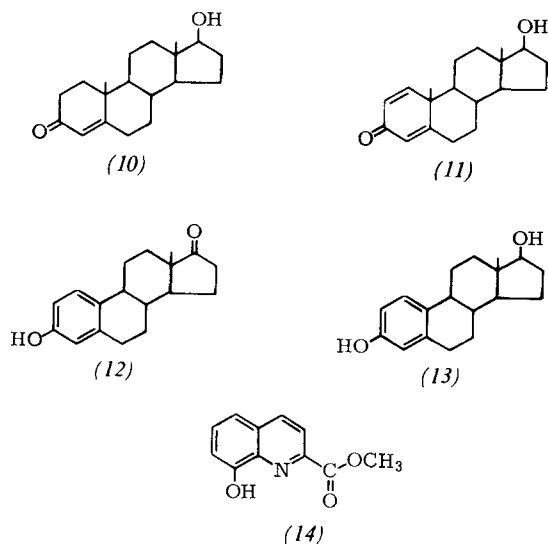
Bereits nach 20 Minuten erbrach eine Erdkröte die vier Käfer, die sie innerhalb von fünf Minuten gegessen hatte. Die Käfer sind, wenn sie wieder ausgespuckt werden, oft noch lebendig; sind sie tot, so haben sie sich für den Fortbestand ihrer ganzen Sippe geopfert, denn nach ein- bis zweimaliger Fütterung mit *Ilybius* nehmen die Kröten trotz großen Hungers keine Käfer mehr an.

Das Sekret enthält neben einer sehr kleinen Menge eines C_{21} -Steroids (s. Tabelle 3) die C_{19} - und C_{18} -Steroide (10) (28 μ g) [35], 1,2-Dehydrotosteron (11) (16 μ g), Östron (12) (2 μ g) und 17 β -Östradiol (13) (19 μ g) [36] sowie zu unserer großen Verwunderung in

[34] H. Schildknecht, H. Tachei u. U. Maschwitz, Naturwissenschaften 56, 37 (1969).

[35] H. Schildknecht, H. Birringer u. U. Maschwitz, Angew. Chem. 79, 579 (1967); Angew. Chem. internat. Edit. 6, 558 (1967).

[36] H. Schildknecht u. H. Birringer, Z. Naturforsch. 24b, 1529 (1969).



der Hauptsache den 8-Hydroxychinolin-2-carbonsäuremethylester (14) (350 µg) [37].

Vielleicht verhindert der Schlammchwimmer mit diesem starken Antiseptikum das Eindringen von Mikroorganismen in seine groß angelegten Abwehrorgane und damit eine Totalinfektion seines Körpers, für dessen äußerliche Desinfektion er wieder auf die Pygidialwehrblasenstoffe *p*-Hydroxybenzaldehyd, *p*-Hydroxybenzoesäure und deren Methylester zurückgreifen kann.

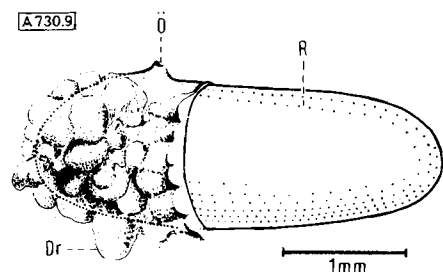


Abb. 9. Prothorakalwehrblase des *Dytiscus marginalis* mit aufliegenden Sekretzellen; R = Reservoir, Dr = Drüsen und Ö = Öffnung.

Die Biosynthese der Insektensteroiden läßt sich gut mit ^{14}C -markierten Vorstufen studieren. Die Käfer eignen sich für solche Versuche hervorragend, da die produzierten Steroide nicht mehr weiter metabolisiert werden, sondern wie beschrieben in gut isolierbaren Sekretbehältern vorliegen; vgl. Abb. 9. Zudem ist – wie bei *Acilius sulcatus* – das Regenerationsvermögen auch der im Laboratorium gehaltenen Tiere beachtlich.

Insekten benötigen für die Bildung von Steroiden Cholesterin, Sitosterin oder ähnlich gebaute Ausgangsmaterialien [38]. Je ähnlicher ein Sterin dem Cholesterin ist, desto besser kann es verwertet werden; häufig wird Cholesterin so abgebaut, daß entweder die gesamte Seitenkette an C-17 entfernt wird oder ein Teil davon an C-20 unter Bildung von Pregnenolon, woraus dann Progesteron entsteht.

Bei unseren Versuchen [39] haben wir 25 bis 30 Schwimmkäfern $[2\text{-}^{14}\text{C}]$ -Mevalolacton, $[4\text{-}^{14}\text{C}]$ -

Cholesterin oder $[4\text{-}^{14}\text{C}]$ -Progesteron injiziert und nach einer sechs Wochen langen Regenerationszeit die Konzentrationen und Aktivitäten der Acilius-Steroide bestimmt. Die Steroide der mit Mevalolacton behandelten Tiere haben, wie erwartet, keine Aktivität; Cholesterin und Progesteron dagegen wurden eingebaut. Auch die Schwimmkäfer müssen also für ihren Steroidbedarf Cholesterin oder ähnlich gebaute Steroide mit der Nahrung aufnehmen.

Tabelle 5. Spezifischer Einbau und spezifische Aktivitäten nach Injektion von $[4\text{-}^{14}\text{C}]$ -Cholesterin und $[4\text{-}^{14}\text{C}]$ -Progesteron.

	Cholesterin (%) (µCi/mmol)	Progesteron (%) (µCi/mmol)
6,7-Dehydrocortexon	0.73 [310]	0.01 [3.4]
Cortexon	0.51 [230]	0.14 [50]
Cybisteron	1.13 [480]	0.03 [10]
6,7-Dihydrocybisteron	1.20 [510]	2.46 [881]
6,7-Dehydroprogesteron	0.85 [360]	0.007 [2.4]

Bei unseren hier nur kurz angeführten Biosyntheseversuchen konnten wir feststellen, daß nach Injektion von $[4\text{-}^{14}\text{C}]$ -Cholesterin die Einbausraten für die Enone und Dienone etwa größenordnungsmäßig gleich sind, während nach Injektion von $[4\text{-}^{14}\text{C}]$ -Progesteron die Dienone wesentlich geringer markiert waren als die Enone (s. Tabelle 5). Wir vermuten, daß sich der Biosyntheseweg dieser Steroidgruppen schon vor der Stufe des Progesterons teilt. Eine Stütze für diese Hypothese sehen wir darin, daß mit $[^{14}\text{C}]$ -4,6-Cholestadien-3-on als Vorstufe die Einbausraten der Dienone höher lagen als die der Enone. Keine Aktivität zeigte das Dehydroprogesteron, das demnach auf einem ganz anderen Weg als die sonstigen Dienone gebildet wird. Man kann vorläufig daraus schließen, daß das in den Wehrblasen der Schwimmkäfer bis jetzt nicht gefundene Progesteron in den Loben zu Cortexon und Dihydrocybisteron metabolisiert wird, nicht aber Dehydroprogesteron zu Dehydrocortexon und Cybisteron.

5. Der Spreitungsschwimmer

Stenus bipunctatus ist ein kleiner, schwarzer Staphylinide, der als Landkäfer in der Uferzone lebt, aber sich auch auf dem Wasser gut bewegen kann. Wird der durchschnittlich 1.5 mg schwere und etwa 5 mm lange Käfer auf dem Wasser von einem Vogel gejagt, so eilt

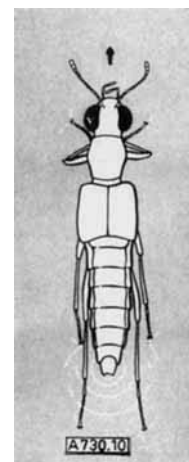


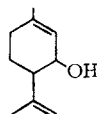
Abb. 10. Spreitungsschwimmer *Stenus bipunctatus* in Bewegung. Zeichnung T. Hölldobler.

er pfeilschnell dem rettenden Ufer zu, ohne seine Beine zu gebrauchen^[40]. Er benützt für diese elegante Fortbewegung nur seine Hinterleibsspitze, die er ins Wasser taucht und dabei aus zwei ausgestülpten Säckchen – den von den Laufkäfern her bekannten Pygidialwehrblasen – Substanzen abgibt, die ihn vorantreiben, wie der Campher das Spielzeugschiffchen. Es ist der Spreitungsdruck, der beim Übertritt der oberflächenaktiven Substanzen den Käfern den für die Fortbewegung nötigen Rückstoß verleiht.

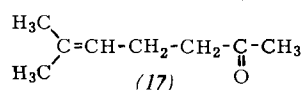
Den Vorproben entsprechend, die auf ein komplexes Sekret schließen ließen^[41], fand Maschwitz bei der Präparation der Spreitungsschwimmer zwei Paar Pygidialwehrblasen; die größeren rochen beim Zerdücken nach Amin und die kleineren pfefferminzartig. Zur präparativen Gewinnung des Pygidialdrüsensekrets haben wir 1000 Tiere im Vakuum erhitzt, das Destillat mit Benzol extrahiert und den Extrakt durch Eiszonenschmelzen angereichert. Das



(15)



(16)



(17)

Konzentrat wurde durch Gaschromatographie in drei Fraktionen zerlegt; die Hauptkomponente war 1,8-Cineol^[*] (15), weiter waren vorhanden Isopiperitenol^[**] (16) sowie Methylheptenon^[*] (17). Alle diese Terpene sind oberflächenaktiv und können auch im Versuch einen „Papierkäfer“ in der beschriebenen Weise, auf Wasser gesetzt, antreiben. Ob die *N*-halti-

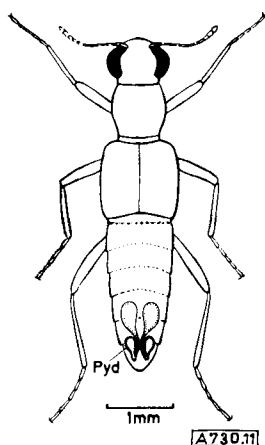


Abb. 11. *Stenus bipunctatus* mit Pygidialwehrblasen.

[40] V. B. Wigglesworth: The Life of Insects. Weidenfeld and Nicolson, London 1964, S. 35–36.

[41] D. Berger, Dissertation, Universität Heidelberg 1968.

[*] Für die Überlassung von Substanzproben danken wir besonders Herrn Dr. Klein, Holzminden.

[**] Ob *cis*- oder *trans*-Isopiperitenol konnte nicht geklärt werden.

gen Heterocyclen der großen Blase diesen Effekt noch unterstützen oder andere Funktionen haben, kann erst nach Synthese der Verbindungen entschieden werden.

6. Ausblick

Die funktionelle Zuordnung der Pygidialwehrdrüsen der Adephegen aufgrund der chemischen Befunde ist zwingend. Trotzdem kann man auch noch an andere Feinde als an Mikroorganismen denken, die mit den erwähnten Substanzen bekämpft werden sollen. Dafür sprechen z. B. die Versuche von Eisner^[42,43].

Die antimikrobielle Aktivität muß immer unter dem Gesichtspunkt einer Homologie zwischen den Hautdrüsen und den komplexen Wehrdrüsen gesehen werden. Die darin gespeicherten Gifte sollten vielleicht ursprünglich den Befall des gesamten Körpers durch Mikroorganismen verhindern; d. h. die durch Zusammenfassung der Hautdrüsen entstandenen Pygidialwehrdrüsen sezernieren weiter antiseptische Substanzen, jedoch mit einem erweiterten Wirkungsspektrum. Könnte das nicht bereits auf der Stufe der Hautdrüsen vorgelegen haben? Gerade durch die Haut ist die Berührung mit der feindlichen Umgebung bevorzugt gegeben. Primitive Gifteinrichtungen, die für Feinde aus fremden Arten bestimmt sind, finden sich vorwiegend in der Haut und sind aus ihr hervorgegangen.

Wir werden also erst klar sehen, wenn die Chemie der Hautdrüsen erforscht sein wird; wurde doch die Funktion der Pygidialdrüsen der echten Schwimmkäfer erst dann richtig aufgezeigt, als man die Inhaltsstoffe der entsprechenden Speicherorgane identifiziert hatte. Danach genügen den Dytisciden für ihre Körperhygiene die Substanzen der Hautdrüsen allein nicht.

Die Frage nach der Wirkung der bislang unbekannten Inhaltsstoffe der bekannten Pygidialwehrdrüsen wurde demnach bei den Schwimmkäfern umgekehrt gestellt. Bekannt war, daß die Schwimmkäfer sich mit ihrem Sekret aus den Pygidialblasen periodisch einschmieren^[44]. Wozu? Das hat die Chemie beantwortet! Dagegen kannte man von den Prothorakaldrüsen einiger Arten des Dytiscini-Tribus wenigstens schon die Giftwirkung^[27]. Dafür war die Aufklärung der Naturstoffe nicht leicht.

Für die Colymbetes-Arten ist weder die Funktion der Prothorakaldrüsen noch die Art und die Wirkung ihrer chemischen Produkte völlig geklärt, das gleiche gilt für die Pygidialdrüsen der Taumelkäfer. *Colymbetes fuscus* lebt amphibisch. Er benötigt im Wasser und auf dem Wasser keinen besonderen Schutz gegenüber räuberischen Fischen und Fröschen, denn er ist flink und fliegt gerne. Im Erdreich aber ist er unbeweglich und könnte vielleicht von Klein-Säugetern angegriffen werden. So kann man verstehen, daß die Substanzen seiner Prothorakaldrüsen für Ratten sehr

[42] T. Eisner, J. Insect Physiol. 2, 215 (1958).

[43] T. Eisner u. J. Meinwald, Science (Washington) 153, 1341 (1966).

[44] H. Naumann: Der Gelbrandkäfer. A. Ziemsen-Verlag, Wittenberg Lutherstadt 1955, S. 21.

giftig sind: Von dem auf Sephadex fraktionierten Rohsekret zeigte eine Fraktion eine Blutdrucksenkung bis zu 30%^[45]. Man kann hier einen Zusammenhang mit der Giftwirkung der Hauptkomponente des Ilybiusgiftes aus den Prothorakalwehrrüsen des Schlammschwimmers *Ilybius fenestratus* sehen, das bei Mäusen klonische Krämpfe hervorruft^[46]. Die giftige Substanz, ist der 8-Hydroxychinolin-2-carbonsäuremethylester (14).

Bei einer hervorragend guten Zusammenarbeit mit meinen Doktoranden, Assistenten und Angestellten habe ich es besonders schätzen gelernt, daß sie die trotz

[45] H. Tacheci, Dissertation, Universität Heidelberg, voraussichtlich 1970. Wir danken Prof. Bieckert, Dr. Steiole und Dr. Zimmermann, Ludwigshafen, für Hilfe bei der Ausführung der physiologischen Tests.

[46] Wir danken den Herren Dr. Schraufstetter und Dr. Weichhöfer, Elberfeld, für die Ausführung der entsprechenden Tests.

großer Begeisterung aufgetretenen Schwierigkeiten, sich gegenseitig helfend, immer wieder gemeistert haben. Anerkennung und Dank möchte ich deswegen folgenden Damen und Herren aussprechen: Fräulein Dr. D. Krauß, Frau E. Maschwitz, U. Jehle, B. Breidi, Fräulein R. Schumann und Frau H. Stern, den Herren Dr. R. Siewerdt, Dr. K. Maas, Dr. U. Maschwitz, Dr. W. Wenneis, Dr. H. Winkler, Dr. D. Hotz, Dr. W. Körnig, Dr. H. Birringer, Dr. D. Berger, Dipl.-Chem. H. Neumaier, Dipl.-Chem. H. Tacheci und Herrn H. Spieß. Wir danken alle für die Sachbeihilfen der Deutschen Forschungsgemeinschaft, die es uns ermöglichten, auch zunächst aussichtslose Analysen erfolgreich durchzuführen, für die allgemeine Unterstützung des Fonds der Chemischen Industrie und dafür, daß uns manche Exkursion geglückt ist, der Otto-Röhm-Gedächtnisstiftung.

Eingegangen am 12. September 1969 [A 730]

Organische Farbstoffe in der Lasertechnik

Von F. P. Schäfer^[*]

Die Lasertechnik hat seit 1960 einen außerordentlich hohen Stand erreicht; dabei sind bedeutende Fortschritte erst durch Verwendung organischer Farbstoffe möglich geworden. Seit 1964 werden organische Farbstoffe als optische Schalter zur Erzeugung von Riesenimpulsen benutzt. 1966 konnten erstmals ultrakurze Impulse im Pikosekundenbereich erzeugt werden; ihre Messung ließ sich durch Anwendung organischer Farbstoffe wesentlich vereinfachen. Der wohl wichtigste Fortschritt der letzten Zeit auf dem Lasergebiet dürften die 1966 zuerst beschriebenen Farbstofflaser sein, in denen Lösungen organischer Farbstoffe das aktive Medium des Lasers bilden.

1. Organische Farbstoffe als optische Schalter

Um die Anwendung organischer Farbstoffe als optische Schalter zu verstehen, sei zunächst das allgemeine Laserprinzip am Beispiel eines einfachen Rubinlasers erörtert. Ein Rubinstab befindet sich, wie in Abbildung 1a dargestellt, zwischen zwei Spiegeln und werde von einer Blitzlampe gepumpt^[**]. Lichtquanten, die beispielsweise vom Punkt x ausgehend längs der optischen Achse des Laserresonators nach links fliegen, am Spiegel Sp_2 reflektiert werden, wieder durch den Rubinstab fliegen, am Spiegel Sp_1 reflektiert werden und schließlich wieder zum Punkt x zurückgelangen, erfahren auf diesem Weg durch den Laserresonator sowohl Verstärkungen als auch Abschwächungen. Die Verstärkung beim einmaligen Durchlaufen des Rubinstabs sei V ; die Abschwächung bei der unvollständigen Reflexion an den Spiegeln Sp_1 und Sp_2 sei durch die Reflexionsfaktoren R_1 bzw. R_2 , und die sonstigen Ver-

luste, z.B. durch Streuung, Beugung, Absorption usw., seien durch einen Abschwächungsfaktor A zusammengefaßt. Damit ergibt sich bei einem Umlauf eine Gesamtverstärkung $V^2 \cdot R_1 \cdot R_2 \cdot A^2$.

Ist die Gesamtverstärkung kleiner als 1, so wird die Zahl der Quanten abnehmen. Ist sie gleich 1, so wird der Quantenstrom konstant bleiben; ist sie dagegen größer als 1, so wird die Zahl der Quanten zunehmen, die Intensität des Lichtstrahls wird sich immer mehr zu hohen Werten hin aufschaukeln, d.h. es setzt eine Laseremission ein. Bei hohen Werten des Verlustfaktors A ist das nur zu erreichen, wenn die Verstärkung V genügend groß ist, während bei kleinen Verlusten schon eine kleine Verstärkung zum Einsetzen der Oszillation ausreicht, wenn die Reflexionsfaktoren durch vollständige Verspiegelung nahe bei eins liegen.

Besonders interessant ist der Fall zeitabhängiger Verluste $A(t)$ ^[1]. Dieser Fall läßt sich beispielsweise so realisieren, daß man eine Kerrzelle und einen Polarisator in den Laserresonator einfügt, wie in Abbil-

[*] Prof. Dr. F. P. Schäfer
Physikalisch-Chemisches Institut der Universität
355 Marburg, Biegenstraße 12

[**] Es hat sich allgemein eingebürgert, den Vorgang der Anregung des Lasermediums als „Pumpen“ zu bezeichnen.

[1] R. W. Hellwarth: Control of Fluorescent Pulsations. Advances in Quantum Electronics. Columbia University Press, New York 1961, S. 334.