

- W. S. HOAR, (Univ. Toronto Stud. Biol. No. 59 (1961); Publ. Ont. Fisheries Res. Lab. No. 71, 1 (1961).  
 C. C. HEMMINGS, J. exp. Biol. 45, 449 (1966).  
 W. E. JOHNSON and C. GROOT, J. Fish. Res. Bd. Canada 20, 919 (1963).  
 B. F. JONES, Int. North Pac. Fish. Commun. Ann. Rept. 1960, 108 (1961).  
 Y. KATSUKI, K. YANAGISAWA, A. L. TESTER and J. I. KENDALL, Science 163, 405 (1969).  
 H. KLEEREKOPER and J. A. MOGENSEN, Z. vergl. Physiol. 42, 492 (1959).  
 H. KLEEREKOPER, in *Olfaction in Fishes* (Indiana University Press, Bloomington 1969), chapt. 2.  
 I. KONISHI and Y. ZOTTERMANN, in *Olfaction and Taste* (Ed. Y. ZOTTERMANN; Macmillan, New York 1963), p. 215.  
 W. D. KÜHME, Z. Tierpsychol. 20, 688 (1963).  
 W. D. KÜHME, Naturwissenschaften 51, 120 (1964).  
 M. LEINER, J. morph. ökol. Tiere 16, 499 (1930).  
 K. LIERMANN, Z. Anat. 100, 1 (1933).  
 G. S. LOSEY JR., Science 163, 181 (1969).  
 R. M. LOVE, in *The Physiology of Fishes* (Ed. M. BROWN; Academic Press, New York 1957), vol. 2, p. 401.  
 D. MAINARDI and A. C. ROSSI, Ist. lomb. Rend. Sc. 102, 23 (1968).  
 P. MARLER, J. theor. Biol. 7, 295 (1961).  
 P. MARLER, Science 157, 769 (1967).  
 F. NEAVE, J. Fish. Res. Bd. Canada 21, 1227 (1964).  
 K. NELSON, Univ. of Calif. Publ. Zool. 75, 59 (1964).  
 G. K. NOBLE and B. CURTIS, Am. Mus. nat. Hist. 76, 1 (1939).  
 K. OSHIMA and A. GORBMANN, J. Endocr. 40, 409 (1968).  
 A. R. PICCIOLIO, Ecol. Monogr. 34, 53 (1964).  
 P. A. RAPPOPORT and H. F. DAGINAWALA, J. Neurochem. 15, 991 (1968).  
 A. C. ROSSI, Monit. Zool. ital. (N.S.) 3, 225 (1969).  
 L. ROULE, *Les Poissons et le monde vivant des Eaux* (Librairie Delagrave, Paris 1931), vol. 4, p. 63.  
 F. K. SANDERS, J. exp. Biol. 17, 416 (1940).  
 D. M. STEVEN, J. exp. Biol. 36, 261 (1959).  
 T. SHIBUYA, Jap. J. Physiol. 10, 317 (1960).  
 H. TATEDA, Nature, Lond. 192, 343 (1961).  
 W. N. TAVOLGA, Zoologica 41, 49 (1956).  
 H. TEICHMANN, Z. Morph. Ökol. Tiere 43, 171 (1954).  
 H. TEICHMANN, Naturwissenschaften 44, 242 (1957).  
 F. W. TESCH, Marine Biol. 1, 2 (1957).  
 F. W. TESCH, Marine Biol. 6, 148 (1970).  
 J. H. TODD, Scient. Am. 224, 98 (1971).  
 J. J. VAN IERSEL, Behavior Suppl. III (1953).  
 T. J. WALKER and A. D. HASLER, Physiol. Zool. 22, 45 (1949).  
 R. A. WESTERMAN and J. A. F. WILSON, Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. 97, 186 (1968).  
 M. WHITEAR, Nature, Lond. 208, 703 (1965).  
 J. A. F. WILSON and R. A. WESTERMAN, Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. 83, 196 (1967).  
 W. L. WREDE, Z. vergl. Physiol. 17, 510 (1932).  
 H. ZIPPEL and W. BREIPOHL, *Olfaction and Taste*, Proc. 5th International Symposium (Eds. D. A. DENTON and J. P. GOGHAN; Academic Press, New York 1975), vol. 5, p. 163.

## SPECIALIA

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces brèves communications. – Für die Kurzmitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed in the authors' brief reports. – Ответственность за короткие сообщения несёт исключительно автор. – Solo los autores son responsables de las opiniones expresadas en estas comunicaciones breves.

### Etude photophysique de la ptérobiline

### Photophysical Study on Pterobilin

R. GAUTRON<sup>1</sup>, P. JARDON<sup>1</sup>, C. PÉTRIER<sup>1</sup>, M. CHOUESSY<sup>2</sup>, M. BARBIER<sup>2</sup> et M. VUILLAUME<sup>3,4</sup>

*Laboratoire de Photochimie de l'Université Scientifique et Médicale, Boîte postale 53, Centre de Tri, F-38041 Grenoble Cedex (France); Institut de Chimie des Substances Naturelles CNRS, F-91190 Gif-sur-Yvette (France); et Laboratoire de Zoologie, Ecole Normale Supérieure, F-75005 Paris (France), 29 mars 1976.*

**Summary.** The first results of a photophysical study on pterobilin (biliverdin IX  $\gamma$ , a Lepidopter blue bile pigment) are presented. From the absorption and fluorescence spectra, it is deduced that the low yield of fluorescence indicates a desactivation of the excited singlet state occurring mainly by a non-radiative process. Analyses of the chemical compounds formed after irradiation of pterobilin in methanol show that it is rearranged into a series of new blue pigments among which phorcabilin and sarpedobilin (the two neobiliverdins IX  $\gamma$  isolated from Lepidopters) have been identified.

De la cuticule et de l'hémolymphé des larves ainsi que de la membrane alaire des imagos d'un certain nombre de Lépidoptères, ont été isolés des pigments biliaires bleu-vert de la série IX  $\gamma$ : la ptérobiline (ou biliverdine IX  $\gamma$ ), la phorcabiline et la sarpedobiline. Cette dernière dont la structure complète n'est pas encore connue, n'a pu être étudiée que dans les ailes d'imagos<sup>5-10</sup>. Ces pigments sont biosynthétisés par les Lépidoptères et proviennent de l'ouverture de la protoporphyrine IX au niveau du pont  $\gamma$ <sup>11</sup>.

La biliverdine IX  $\alpha$  a été trouvée dans la cuticule et l'hémolymphé de divers Insectes Orthoptères<sup>12,13</sup>. McDONAGH<sup>14</sup> met en évidence un rôle d'inhibiteur de l'oxy-

gène singulet pour cette substance et pense qu'elle peut agir efficacement pour protéger les Insectes contre les photoxydations néfastes. Une telle possibilité avait été suggérée par VUILLAUME<sup>15,16</sup>.

L'analyse de l'action de la lumière sur la ptérobiline se fera sur plusieurs plans. L'étude photophysique dont nous présentons ici les premiers résultats, doit permettre de déterminer les caractéristiques des états photoexcités de ce pigment et de mettre en évidence certains modes de désactivation de la molécule. L'étude photochimique est orientée vers la détermination des produits formés après irradiation et du comportement éventuel de la ptérobiline vis-à-vis d'autres réactions photochimiques. Enfin, la

démonstration d'une signification biologique de la ptérobiline s'appuiera sur l'ensemble des résultats obtenus ainsi que sur des observations biologiques.

**Méthodes.** La préparation des pigments tétrapyrroliques sous forme d'esters diméthyliques et leur purification par chromatographie sur couche mince (CCM) ont déjà été décrites<sup>17</sup>. Toutes les opérations sont réalisées en lumière atténuee et des lavages par le cyclohexane sont effectués juste avant les mesures des spectres.

Pour les études photochimiques, on irradie par 2 lampes Philips de 300 Watts situées symétriquement à 8 cm de la solution méthanolique du pigment, maintenue à 20 °C. Les produits obtenus sont analysés par CCM. Les maléimides sont révélés par Cl<sub>2</sub>/benzidine et les propentdyopents par le dithionite/NaOH. Les absorptions ont été mesurées avec un spectrophotomètre Beckman DKU et les fluorescences à l'aide d'un spectrofluorimètre Jobin-Yvon type Béarn, muni d'un détecteur R446.

**Résultats.** L'étude photochimique de la ptérobiline et de la phorcabiline a mis en évidence l'extrême sensibilité à la lumière de ces substances<sup>18</sup>. L'étude photophysique de la ptérobiline confirme cette observation. L'obtention d'un spectre de fluorescence correct a nécessité une purification sous lumière jaune atténuee. La Figure 1a montre les spectres mesurés avec un échantillon d'ester diméthylique de la ptérobiline préparé sans précaution particulière. La Figure 1b montre les spectres obtenus avec un pigment préparé sous lumière atténuee et lavé par le cyclohexane. Sur la Figure 1a, on note pour le spectre d'absorption, 2 maxima à 375 et 650 nm et pour le spectre d'émission de fluorescence, des maximums d'émission à 400 et 500 nm ainsi qu'à 680 et 720 nm (bandes plus fines). Après une meilleure purification, les spectres se simplifient (Figure 1b). La fluorescence vers 400 et 500 nm étant fortement diminuée ou ayant disparue, était donc liée à des impuretés non séparées par les CCM répétées.

Ces impuretés possèdent une absorption intense et un rendement de fluorescence élevé. Ces résultats sont à rapprocher de ceux publiés par LIGHTNER et al.<sup>19</sup> concernant la biliverdine IX  $\alpha$ . Il y a concordance des spectres d'absorption mais les spectres de fluorescence présentent les mêmes anomalies que ceux de la Figure 1a. Dans ce cas comme dans le nôtre, on peut supposer que ce phénomène est dû à des impuretés.

Des spectres de la Figure 1b on peut tirer les résultats quantitatifs reportés Figure 2. Nous retiendrons pour l'absorptivité ( $\epsilon$ ) à 685 nm, la valeur de 12.000. L'absorption et l'émission observées correspondent bien au premier état singulet excité dont on peut fixer avec précision l'énergie à 1,75 eV (40,3 Kcal/mole). Le rendement

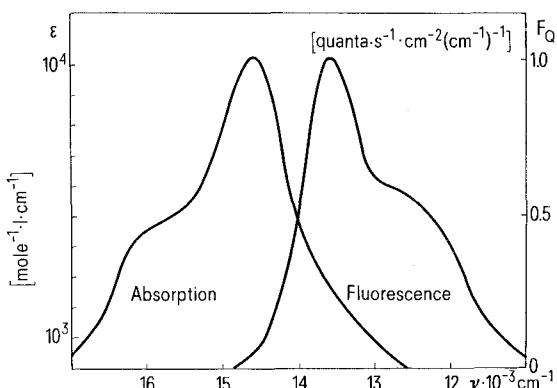


Fig. 2. Spectres d'absorption et de fluorescence corrigée de l'ester diméthylique de la ptérobiline (solvant: méthanol). L'échelle de l'intensité de fluorescence a été choisie afin de faire apparaître la symétrie.

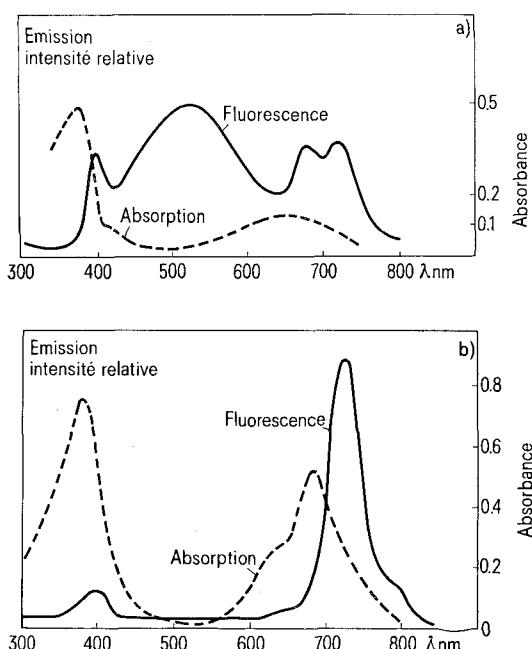


Fig. 1. a) Spectres d'absorption et de fluorescence de l'ester diméthylique de la ptérobiline (solvant: méthanol, excitation de la fluorescence à 375 nm). b) Spectres d'absorption et de fluorescence de l'ester diméthylique de la ptérobiline après purification (solvant: méthanol, excitation de la fluorescence à 375 nm).

<sup>1</sup> Laboratoire de Photochimie de L'Université Scientifique et Médicale, BP. 53, Centre de Tri, F-38041 Grenoble Cedex, France.

<sup>2</sup> Institut de Chimie des Substances Naturelles CNRS, F-91190 Gif-sur-Yvette, France.

<sup>3</sup> Laboratoire de Zoologie, Ecole Normale Supérieure, F-75005 Paris, France.

<sup>4</sup> Remerciements. Nous remercions le Professeur J. BERGERARD pour son intérêt. Ces recherches ont été réalisées dans le cadre de l'ATP CNRS No. 4699-10.

<sup>5</sup> H. WIELAND et A. TARTTER, Justus Liebigs Annln Chem. 545, 197 (1940).

<sup>6</sup> W. RÜDIGER, W. KLOSE, M. VUILLAUME et M. BARBIER, Experientia 24, 1000 (1968).

<sup>7</sup> W. RÜDIGER, W. KLOSE, M. VUILLAUME et M. BARBIER, Experientia 25, 487 (1969).

<sup>8</sup> M. VUILLAUME et M. BARBIER, C. r. Acad. Sci., Paris 163, 591 (1969).

<sup>9</sup> M. VUILLAUME, M. CHOUPPY et M. BARBIER, Bull. Soc. zool. Fr. 95, 19 (1970).

<sup>10</sup> M. CHOUPPY et M. BARBIER, Helv. chim. Acta 58, 2651 (1975).

<sup>11</sup> M. CHOUPPY, M. BARBIER et M. VUILLAUME, Biochimie 57, 369 (1975).

<sup>12</sup> M. VUILLAUME et M. BARBIER, C. r. Acad. Sci., Paris 263, 924 (1966).

<sup>13</sup> W. RÜDIGER, W. KLOSE, M. VUILLAUME et M. BARBIER, Bull. Soc. Chim. biol. 51, 559 (1969).

<sup>14</sup> A. F. McDONAGH, Biophys. Res. Commun. 48, 408 (1972).

<sup>15</sup> M. VUILLAUME, Bull. Biol. 102, 147 (1968).

<sup>16</sup> M. VUILLAUME, Thèse de Doctorat d'Etat, Paris 1967.

<sup>17</sup> M. CHOUPPY et M. BARBIER, Biochem. Systematics 1, 199 (1973).

<sup>18</sup> M. CHOUPPY et M. BARBIER, C. r. Acad. Sci., Paris, 272 Ser. C, (1976) sous presse.

<sup>19</sup> P. S. SONG, Q. CHAE et D. A. LIGHTNER, J. Am. chem. Soc. 95, 78 (1973).

de fluorescence est de  $0,07 \pm 0,003$ . Il indique que la désactivation de l'état singulet excité se fait principalement par voie non radioactive, éventuellement par passage à l'état triplet (travaux en cours).

Les mesures d'extinction de fluorescence par l'iodure d'éthyle<sup>20</sup> ont permis de mesurer la durée de vie du premier état singulet excité<sup>1</sup>  $\tau = 3,03 \cdot 10^{-9}$  s. A partir des spectres d'absorption on peut calculer<sup>21</sup>  $1\tau = 4,6 \cdot 10^{-9}$  s que l'on considérera comme étant en accord avec la valeur précédente. La règle de LEWSCHIN<sup>22</sup> est respectée (symétrie de l'absorption et de l'émission, Figure 2), ce qui milite en faveur de l'existence majoritaire d'une seule configuration en milieu méthanolique. On en déduit également que l'hypothèse la plus probable est que la configuration moléculaire de l'état singulet excité est très peu modifiée par rapport à celle de l'état fondamental.

Quelques-unes des photoréactions de la ptérobiline en lumière visible viennent d'être décrites<sup>18</sup>. Dans un milieu protique polaire, l'irradiation de l'ester diméthylique de la ptérobiline, en absence de tout autre sensibilisateur,

provoque rapidement des réarrangements chimiques de la molécule qui conduisent à la formation de nouveaux pigments bleus. Parmi ceux-ci, la phorcabiline et la sarpédrobiline ont été identifiées; également instable à la lumière, la phorcabiline est en partie photoisomérisée en sarpédrobiline<sup>18</sup>. Une irradiation prolongée conduit à des dérivés d'oxydation parmi lesquels des propentdyopents et des maléimides.

La sensibilité à la lumière des pigments tétrapyrrroliques de la série **IX**  $\gamma$  rend possible une éventuelle signification biologique de ces substances. Des essais qui seront effectués dans un proche avenir devraient permettre de préciser ce rôle d'un point de vue strictement photophysique (étude des transferts d'énergie).

- <sup>20</sup> J. M. BONNIER et P. JARDON, *J. Chim. phys.* 67, 1385 (1970).  
<sup>21</sup> J. B. BIRKS, *Photophysics of Aromatic Molecules* (Wiley Interscience, Lond. 1970), p. 88.  
<sup>22</sup> W. L. LEWSCHIN, *Z. Physik* 72, 368 (1931).

## Lago di Tremorgio (Canton Ticino) – a Meteorite Impact Crater in the Swiss Alps?

K. BÄCHTIGER \*

*Institut für Kristallographie und Petrographie der Eidgenössischen Technischen Hochschule, Sonneggstrasse 5, CH-8092 Zürich (Switzerland), 4 May 1976.*

The investigation of meteorites and their craters has, in the epoch of space trips and of possible nuclear war, attained considerable importance for several reasons. In the first place the study and the testing of space suits in terrestrial meteor craters like Barringer Crater (Arizona) or Noerdlinger Ries (Bavaria) gave the astronauts an approximate idea of the topographical and

geological surroundings to be expected on the moon. Secondly the stony meteorites were thought to supply some evidence of the possible composition of the moon's surface, although in fact completely different rock types were found. A third reason is that, as atmospherical and subterrestrial nuclear explosions are not only used for strategic purposes but also for gigantic civil construction

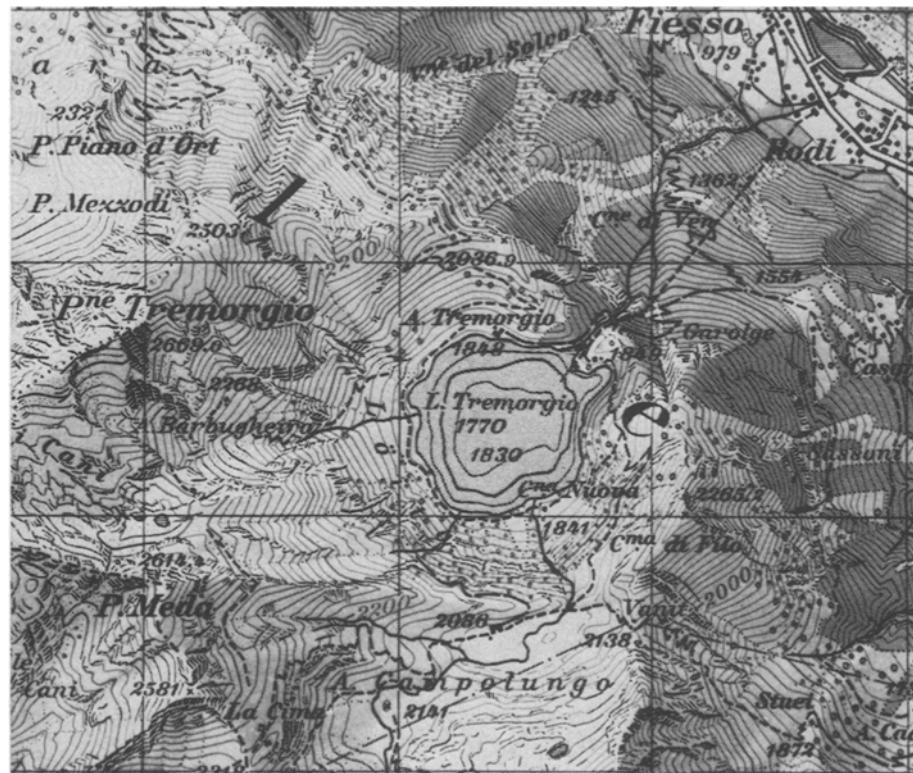


Fig. 1. Topographical map of the Lago di Tremorgio basin, ca. 10 km SE of Airolo (Valle Leventina, Canton Ticino). N-S- and W-E-diameter of the basin at the level of 2040 m about 1360 m (Grid square has 1 km sides). Section of Landeskarte der Schweiz, 1:50000, sheet 266: Valle Leventina, 1961. Published with permission of Eidg. Landestopographie Wabern-Bern, given 7th April 1976.