

Schluß

Die Eigenschaften der Kaolinit-Einlagerungsverbindungen, die sich beim Mauken bilden, lassen also das Geheimnis des Eierschalenporzellans verstehen. Die Tatsache, daß die keramischen Eigenschaften aber nur dann

nennenswert verbessert werden, wenn der frisch gemaukte, nicht mit Wasser verdünnte oder ausgewaschene Kaolin verrieben wird, liefert zugleich eine Erklärung dafür, daß dieses Verfahren so leicht vergessen oder verlernt werden konnte und damit zum Geheimnis wurde.

Eingegangen am 17. Juli 1963

[A 320]

Abwehrstoffe der Arthropoden, ihre Isolierung und Aufklärung

VON PRIV.-DOZ. DR. H. SCHILDKNECHT

NACH ARBEITEN MIT DR. K. HOLOUBEK, DR. K. H. WEIS, DR. H. VETTER
UND DIPL.-CHEM. H. KRÄMER

INSTITUT FÜR ORGANISCHE CHEMIE DER UNIVERSITÄT ERLANGEN-NÜRNBERG

Bei zahlreichen Ordnungen der Arthropoden (Gliederfüßler) findet man Organe, die Wehrstoffe produzieren und speichern. Näheres über die chemische Zusammensetzung der Wehrsekrete zu erfahren, war das Ziel dieser Arbeit. Hierbei mußte man von vornherein auf viele Möglichkeiten der klassischen, organisch-chemischen Analyse verzichten, da die Tiere teilweise schwer erhältlich waren und ein Operieren mit größeren Substanzmengen sich von selbst verbot. Mit modernen chemischen und physikalischen Analysenverfahren und mit eigens für diesen Zweck entwickelten Trenn-, Reinigungs- und Anreicherungsverfahren konnten jedoch die Wehrstoffe verschiedener Familien der Gliederfüßler charakterisiert werden.

1. Einleitung

An einem Winternachmittag, am 10. Januar 1789, starb in Den Haag (Holland) *Pierre Lyonet*. Er hatte wie *Swammerdam* [1] als genialer Meister der Lupe und mit selbstgebaute Mikroskopen den inneren Feinbau von Insekten erforscht [2]. Noch keine 10 Jahre nach seinem Tod verlangte der Entomologe *Wilhelm* nach einem „Neuen

von Laufkäfern [4–8] nicht mehr erlebt. Er wäre vielleicht auch enttäuscht gewesen; denn nach einer hervorragenden Arbeit über die Pygidialblasen des Gelbrandkäfers [9] kam *Dierckx* zu dem Schluß, daß erst bei

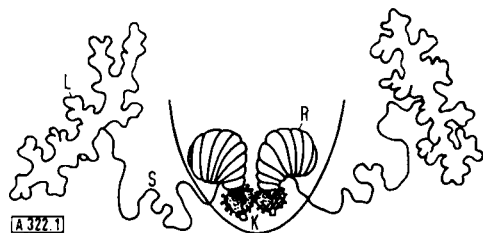


Abb. 1. Pygidialblasen vom Bombardierkäfer mit Reservoir R, Explosionskammern K, Loben L und Sammelkanal S (S und L sind aus dem Abdomen herausgezeichnet worden). Nach [10].

Lyonet“, von dem er sich auch für die Brachyniden eine „Mikrographie“ erhoffte, durch die das Rätsel des Bombardierkäfers zu lösen wäre [3]. Er hat die wichtigsten anatomischen Studien über die Abdominalorgane

[1] *J. Swammerdam*: Bibel der Natur. Utrecht 1669.

[2] Vgl. *W. H. Van Seters*: *Pierre Lyonet – 1706–1789, Sa Vie – Ses collections de coquillages et de tableaux – Ses recherches entomologiques*. Martinus Nijhoff, Den Haag 1962.

[3] Unterhaltungen aus der Naturgeschichte der Insecten, erster Theil. Mart-Engelbrechtische Buchhandlung, Augsburg 1796.

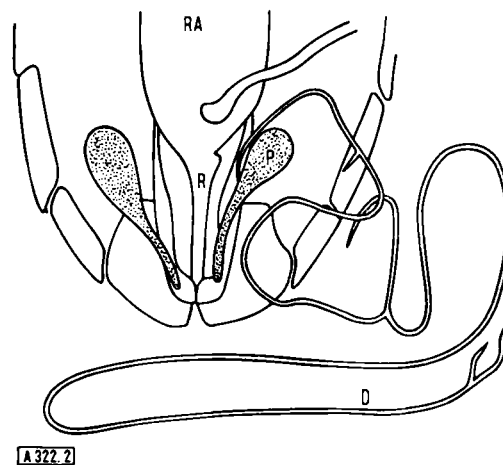


Abb. 2. Pygidialblasen P des Gelbrandkäfers (Wasserkäfer) mit Rektalampulle RA, Rectum R und einem Drüsenschlauch D (D aus dem Abdomen herausgezeichnet). Nach [72].

[4] *L. Dufour*, Ann. Sci. natur. 1826, Pl. 19, 20.

[5] *H. Meckel*, Müllers Archiv 1846, 1.

[6] *Fr. Stein*: Vergleichende Anatomie und Physiologie der Insekten. Duncker u. Humblot, Berlin 1847, S. 84.

[7] *H. Karsten*, Müllers Archiv 1848, 367.

[8] *F. Leydig*, Müllers Archiv 1859, 33.

[9] *Fr. Dierckx*, La Cellule 16, 61 (1899).

[10] *K. Holoubek*, Dissertation, Universität Erlangen, 1959.

Kenntnis der Chemie dieser Organe, ihr Sinn und ihre Funktion erklärt werden könnten. Was fehlte, war also eine „chemische Anatomie“, d. h. die Zuordnung von Inhaltsstoffen und chemischen Mechanismen zu anatomisch bereits definierten Organtypen.

Lyonet hat mit neuen Hilfsmitteln die Kenntnisse der Insektenanatomie erweitert und vertieft – die parallel dazu gedachte Insektenchemie bedurfte ebenfalls einer neuen Methodik. Mit ihr konnte man die Inhaltsstoffe der Abwehrblasen (Abb. 1 und 2) verschiedener Käferarten identifizieren.

2. Methodik

Wegen der geringen Größe der Organe und der oft sehr kleinen Zahl von Versuchstieren, deren man habhaft werden kann, muß man meist auf die klassischen Methoden der Anreicherung, Trennung und Identifizierung von Substanzgemischen verzichten und moderne Mikroverfahren anwenden oder entwickeln [11].

Gase können sicher und elegant mit dem Massenspektrometer identifiziert werden [12], und flüchtige Verbindungen lassen sich mit einer einfachen Absaugvorrichtung [13] isolieren, wie sie in Abb. 3 dargestellt ist.

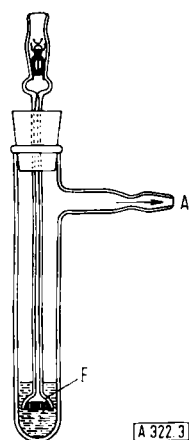


Abb. 3. Absaugvorrichtung zur Isolierung von Insekten-Abwehrstoffen.
A – Zur Wasserstrahlpumpe,
F – Fritte

„Ärgert“ man den Käfer durch Drücken, Zwicken oder Erhitzen und saugt an ihm langsam Luft vorbei, die durch ein vorgelegtes Lösungsmittel perlt, so gewinnt man nur die zur Abwehr ausgestoßenen Substanzen. Der Käfer soll dabei am Leben bleiben, damit er, wenn er seinen Wehrstoff wieder regeneriert hat, erneut „gemolken“ werden kann. Allerdings sind die so gewonnenen Extrakte noch sehr verdünnt, manchmal so stark, daß die gesuchten Verbindungen nicht mehr einwandfrei erfaßt werden können.

Die Lösungen können jedoch – ohne Verluste durch Zersetzung und Lösungsmittelflüchtigkeit – durch Ausfrieren des Lösungsmittels, d. h. durch „Normales Erstarren“ [14, 15] und Eiszonenschmelzen [16], konzentriert werden.

[11] *H. Schildknecht*: XI. Internationaler Kongreß für Entomologie, Wien 1960. Verhandlungen. Istituto di Entomologia Agraria dell' Università di Pavia, 1960, Bd. III, S. 269.

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

[13] *H. Schildknecht*, *Angew. Chem.* 71, 524 (1959).

Durch Zonenschmelzen lassen sich auch aus festen Lösungen Substanzspuren mikropräparativ isolieren [17] und Substanzgemische trennen – z. B. Insektenwaxe [18] und Fettalkohole [19]. Die wichtigste Ergänzung zu diesen Anreicherungs- und Trennverfahren sind chromatographische Methoden, die darüber hinaus die Identifizierung erleichtern; diese gelingt aber meist erst spektroskopisch.



Abb. 4. *Brachynus crepitans*, ein 8 mm großer Laufkäfer mit rostrotem Prothorax und blaugrünen Flügeldecken; vgl. [21].
Vergrößerung: etwa 2,5-fach.

Unsere in diesem Stil durchgeführten Versuche begannen wir mit 6 bis 8 mm großen Laufkäfern, die über den bestentwickelten Abwehrmechanismus verfügen, mit den Bombardierkäfern [12, 20] (vgl. Abb. 4).

3. Bombardierkäfer (Brachyniden)

Erst viele Jahre, nachdem ein Altmeister der Entomologie, *De Geer* [22], in seiner Naturgeschichte der Insekten von den Bombardierkäfern oder Schußfliegen berichtet hatte, wagte 1778 *Bergsträsser* [23] eine Erklärung des Schusses, den er für einen „Windschuß“, d. h. für die Wirkung komprimierter Luft hielt. Nach dieser mehr physikalischen Betrachtung machte ein Militärarzt im 3. französischen Armeecorps Napoleons die ersten Angaben über die chemische Natur der verschossenen Stoffe. Er hatte während des Spanienfeldzuges 1808 in den Pyrenäen Muße genug, die Bombardierkäfer *Brachinus* und *Aptinus* zu untersuchen [4, 24, 25]. Durch die ihm vertraute Chemie der damaligen Verteidigung inspiriert, erklärte er die vom Schuß hervorgerufenen roten bis braunen Flecken auf der Haut durch die Wirkung von Salpetersäure oder von nitrosen Gasen.

[14] *H. Schildknecht*, *G. Rauch* u. *F. Schlegelmilch*, *Chemiker-Ztg.* 83, 549 (1959).

[15] *H. Schildknecht* u. *F. Schlegelmilch*, *Chemie-Ing.-Techn.*, im Druck.

[16] *H. Schildknecht* u. *A. Mannl*, *Angew. Chem.* 69, 634 (1957).

[17] *H. Schildknecht*, *Z. analyt. Chem.* 181, 254 (1961).

[18] *H. Schildknecht* u. *H. Vetter*, *Fette, Seifen, Anstrichmittel* 65, 551 (1963).

[19] *H. Schildknecht*, *G. Renner* u. *W. Keess*, *Fette, Seifen, Anstrichmittel* 64, 493 (1962).

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

[21] *E. Reitter*: *Fauna Germanica – Die Käfer des Deutschen Reiches*. K. G. Lutz, Stuttgart 1908, Bd. I, S. 31.

[22] *C. De Geer*: *Mémoires pour servir à l'histoire des insectes*. Hesselberg, Stockholm 1752, Bd. 7.

[23] *J. A. B. Bergsträsser*: *Nomenclatur I*. Selbstverlag, Hanau 1778.

[24] *L. Dufour*, *Annales de Musé* 18, 70 (1811).

[25] *L. Dufour*, *Nouveau Bulletin des Sciences, par la Société Philomatique* 1812, tome III, n. 58.

Ohne von diesen Untersuchungsergebnissen zu wissen, deutete man auch weiterhin den Bombardierkäfer-Schuß entweder mehr physikalisch oder mehr chemisch (Tabelle 1). Die Entscheidung fiel erst 1957, als wir im „Pulverdampf“ von lebenden Bombardierkäfern durch Beschuß eines mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin (2,4-DNP) getränkten Chromatographiepapiers und durch UV-Spektroskopie des *Brachynus*-Extraktes Benzochinon und Toluchinon nachweisen konnten [12] und massenspektroskopisch sowie mikrogasanalytisch nach Berg [26] 95- bis 98-proz. Sauerstoff. In den durchschnittlich 0,8 mg schweren Vorratsblasen mußte die hierzugehörige „Munition“ jedoch als flüssiges oder gelöstes farbloses Substanzgemisch vorliegen, was man durch bloßes Betrachten der Wehrgane erkennen kann (Abb. 5).



Abb. 5. Bombardierkäfer mit frei präparierten Pygidialblasen.

Tabelle 1. Geschichte der Bombardierkäfer-Forschung.

Blaseninhalt	Schuß-Mechanismus	Jahr	Lit.
Preßluft	„Windschuß“	1778	[23]
HNO ₃	Flüssigkeits-Spritze	1808	[4, 24, 25]
wasserhelle Flüss. gibt mit O ₂ d. Luft HNO ₂ u. N ₂ O	Dampfspritze	1848	[7]
leicht siedende Flüssigkeit	Dampfspritze	1860	[27]
Preßluft (im „condensateur“)	„Luftgewehr“ mit „Schrot“ org.-chem. Natur	1884	[28]
Jod aus Jodstickstoff-Verbindung	Flüssigkeitsspritze	1885	[29]
Leicht siedende Flüssigkeit mit Kp = 8 und 15 °C	Dampfspritze	1899	[9]
Nitrite, nitrose Säure	Flüssigkeits-Spritze	1939	[30]

Sticht man das Sekretreservoir aber an, so braust sein Inhalt auf, färbt sich mehr und mehr rotbraun und zum Schluß violett (Abb. 6a–d).

Über den zerstörten Blasen riecht es stechend wie beim Schießen der Käfer. Der Geruch wird auch hier durch die enzymatisch katalysierte Entwicklung von Chinonen verursacht. Die manchmal sehr intensive Blau- bis Violettfärbung kann als Chinhydronbildung verstanden werden. Das war ein erster Hinweis darauf, daß die Chinone aus Hydrochinonen entstehen. Diese konnten dann im farblosen Blaseninhalt in Substanz, papier-

[26] W. E. Berg, Science (New York) 104, 575 (1946).

[27] M. C. Dumeril, Memoires de l'academie des Sciences de l'Institut Impérial de France 31 (1e Partie), 277 (1860).

[28] Ph. de Rougemont, Mitt. Schweiz. entom. Ges. 6, 99 (1884).

[29] J. C. Loman, Tijdschrift der Nederlandsche Dierkundige Vereniging 1886, Deel I, Afte Vering 2, S. 106.

[30] M. Vialli, Riv. Biol. Coloniale 2, 273 (1939).

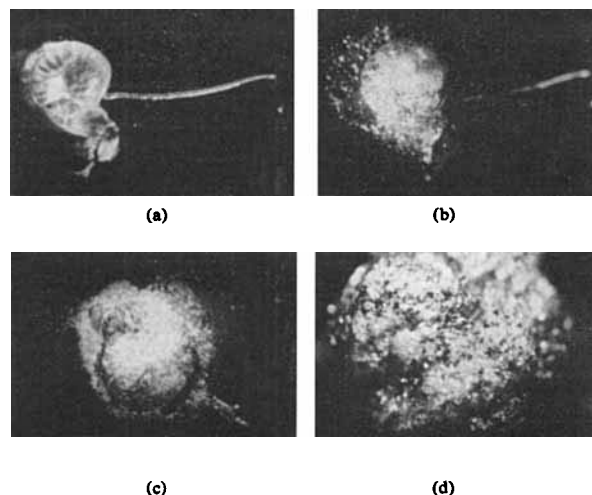


Abb. 6.

(a) Eine unversehrt herausoperierte, prall mit einer farblosen Flüssigkeit angefüllte Bombardierkäferblase mit Sammelkanal.

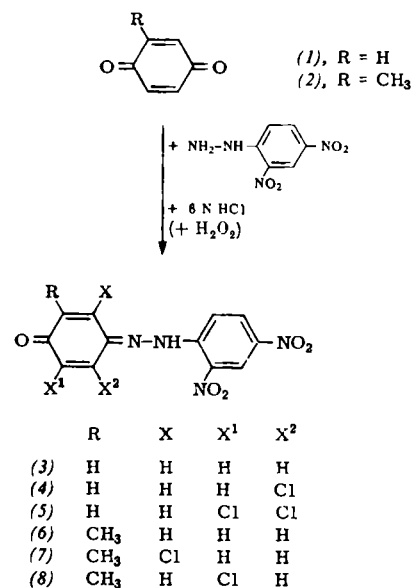
(b) Verletzte Blase. Beginn der Reaktion: Gasentwicklung und Blasenbildung.

(c) Ende der Blasenreaktion.

(d) Die Blase hat ausreagiert und man erkennt das kristallin auftretende Chinhydron (schwarze Punkte).

chromatographisch sowie UV- und IR-spektroskopisch nachgewiesen werden. In der Blase liegen sie als ca. 10-proz. Lösung in etwa 25-proz. Wasserstoffperoxyd vor, das qualitativ und quantitativ identifiziert werden konnte. In dem bei –50 °C gewonnenen Blasenextrakt war das Hydroperoxyd durch seine Oxydationswirkung gegenüber Kaliumjodid und seine Reduktionswirkung gegen Kaliumpermanganat, sowie colorimetrisch mit Titanylchwefelsäure nachweisbar. Die endgültige Entscheidung darüber, ob wirklich H₂O₂ allein vorliegt, brachte die Papierchromatographie mit dem Fließmittelsystem Essigester/Dioxan/Wasser (20:45:46), das von Rieche [31] zur Trennung der Hydroperoxyde und Peroxyde angegeben wurde.

Aber auch schon die von den Blaseninhaltsstoffen gebildeten 2,4-Dinitrophenylhydrazone zeigten höherpro-



[31] A. Rieche, Angew. Chem. 70, 263 (1958).

zentiges H_2O_2 an: Wie das Studium der Reaktion von Benzochinonen mit 2,4-DNP gezeigt hat, entstehen in Gegenwart von 6 N HCl vor der Hydrazone-Bildung chlorierte Hydrochinone. Diese geben als solche oder nach der Oxydation mit noch nicht umgesetztem Chinon die chlorierten 2,4-Dinitrophenylhydrazone. In Gegenwart von H_2O_2 entsteht meist noch ein weiteres Chlorbenzochinon. So erhielten wir aus p-Benzochinon (1) mit 2,4-DNP in 6 N HCl die Hydrazone von Benzochinon (3) und 3-Chlorbenzochinon (4). In Gegenwart von H_2O_2 bildete sich außerdem das 2,4-Dinitrophenylhydrazone des 2,3-Dichlorbenzochinons (5). Aus Tolu-chinon (2) entstehen mit 2,4-DNP und 6 N HCl die Hydrazone von Tolu-chinon (6) und 6-Chlortolu-chinon (8),

Tabelle 2. Papierchromatographie (absteigend) der 2,4-Dinitrophenylhydrazone von Benzo- und Tolu-chinonen. Die Farben treten erst beim Begasen des Chromatogramms mit Ammoniak oder beim Besprühen mit Alkalilauge auf. Sie bleiben nach dem Verdunsten des NH_3 nur bei (7) und (8) erhalten.

Verbindung	R _F -Wert in; Farbe nach Einwirkung von		
	Benzol/ CHCl_3 (1:1); NH_3	Diisopropyläther/ Cyclohexan (1:1); 0,1 N NaOH	Diisoamyläther/ Cyclohexan (4:1); 0,1 N NaOH
(3)	1; r-viol. [a]	1; r-viol.	1; r-viol.
(4)	0,08; r-viol.	1,20; r-viol.	1,39; r-viol.
(5)	Start	0,42; r-viol.	0,44; r-viol.
(6)	abgetropft	1,10; blau	1,15; blau
(7)	0,47; r-viol.	0,21; r-viol.	0,11; r-viol.
(8)	1; viol.	1; bl-viol.	1; bl-viol.

[a] viol. = violett; r-viol. = rotviolett; bl-viol. = blauviolett.

ist H_2O_2 zugegen, so erhält man außerdem das Hydrazone des 3-Chlortolu-chinons (7). Die 2,4-Dinitrophenylhydrazone von 3- und 6-Chlortolu-chinon lösen sich im Gegensatz zu allen anderen untersuchten Hydrazonen

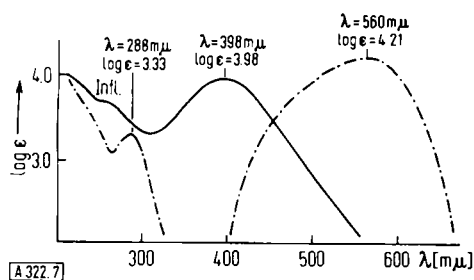


Abb. 7. UV-Absorptionskurven von Benzochinon-2,4-dinitrophenylhydrazone (3).

— In 95 % Äthanol; - - - - - in 0,1 N NaOH/Äthanol.

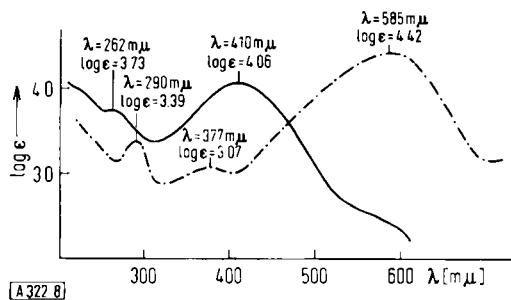


Abb. 8. UV-Absorptionskurven von Tolu-chinon-2,4-dinitrophenylhydrazone (6).

— In 95 % Äthanol; - - - - - in 0,1 N NaOH/Äthanol.

in Äthanol mit blaugrüner bis violetter Farbe. Tabelle 2 zeigt die R_F-Werte der Hydrazone (3) bis (8).

Für das schnelle und sichere Erkennen kleinster Chinon-mengen ist der Farbumschlag der genannten Hydrazone mit Alkalien von größtem Wert, besonders wenn man ihn spektrophotometrisch dokumentiert (Abb. 7–9).

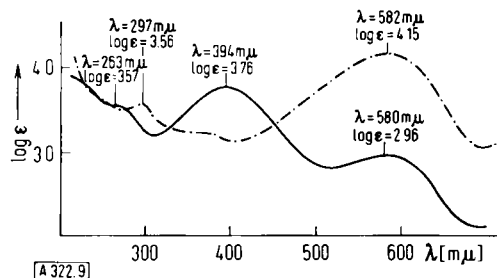
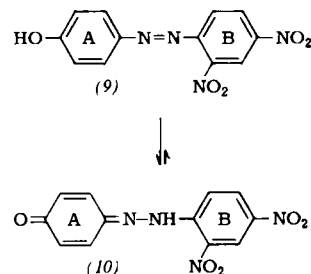


Abb. 9. UV-Absorptionskurven von 6-Chlortolu-chinon-2,4-dinitrophenylhydrazone (8).

— In 95 % Äthanol; - - - - - in 0,1 N NaOH/Äthanol.

Man versteht diese bathochrome Verschiebung, wenn man sich vergegenwärtigt, daß z. B. das 2,4-Dinitro-4'-hydroxyazobenzol (9) (im Gegensatz zum 4-Hydroxyazobenzol [32,33]) ganz in der chinoiden Form (10) vorliegt [34]. Man kann also die 2,4-Dinitrophenylhydrazone von Chinonen



ebenso wie die 2,4-Dinitrophenylhydrazone von Aldehyden und Ketonen [35–38] in alkoholischer Lösung als schwache Säuren auffassen, mit dem Sitz des Protons am basischen Azostickstoff [39]. Die Dissoziation dieser sehr schwachen Säuren ist stärker, wenn der Ring A mit einer CH_3 -Gruppe substituiert ist. Sie wird durch Halogene als Substituenten weiter verstärkt.

In den UV-Absorptionsspektren erkennt man das resonanz-stabilisierte Kation an einer Inflexion der UV-Absorptionskurve zwischen 580 und 585 mμ beim Tolu-chinon-2,4-dinitrophenylhydrazone (Abb. 8, ausgezogene Kurve) und an einem Maximum bei 580 mμ beim 6-Chlortolu-chinon-2,4-dinitrophenylhydrazone (Abb. 9, ausgezogene Kurve). Es entspricht dem Hauptmaximum des Benzochinon-2,4-dinitrophenylhydrazons in alkalischer Lösung (Abb. 7, unterbrochene Kurve).

[32] R. Kuhn u. F. Bär, Liebigs Ann. Chem. 516, 143 (1935).

[33] H. Shingu, Sci. Pap. Inst. phys. chem. Research (Tokio) 35, 78 (1938).

[34] W. Lauer u. S. Miller, J. Amer. chem. Soc. 57, 520 (1935).

[35] C. J. Timmons, J. chem. Soc. (London) 1957, 2613.

[36] A. J. Sensabaugh, R. A. Cundiff u. P. C. Markunas, Analytic. Chem. 30, 1445 (1958).

[37] R. S. Starns u. G. W. Wheland, J. Amer. chem. Soc. 69, 2025 (1947).

[38] R. Schaal u. C. Gadet, Bull. Soc. chim. France 1961, 2154.

[39] L. Doub u. J. M. Vandenbelt, J. Amer. chem. Soc. 69, 2714 (1947); 71, 2414 (1949); 77, 4535 (1955).

4. Schwarzkäfer (Tenebrioniden)

Man bezeichnet diese Käferfamilie als „Schwarzkäfer“, obwohl nicht alle Exemplare schwarz sind; viel besser könnte man sie mit „Chinonkäfer“ bezeichnen, denn weder durch das Literaturstudium [40,41], noch durch eigene Untersuchungen [13,42,43] ist uns ein Tenebrionide ohne Benzochinone bekannt geworden. Selbst bei 100 Jahre alten Käfern in Museen fanden wir im Hinterleib Chinone [43].

Da die Tenebrioniden für ihre Abwehrstoffe nicht immer ein gut gefülltes Speicherorgan besitzen und bei der Abwehrreaktion oft nur mit Drüsen besetzte Hautfalten nach außen stülpen [44], muß man das Sekret durch öfteres „Melken“ der Käfer mit der in Abb. 3 gezeigten Anordnung sammeln und konzentrieren. Oft sondern aber die bedrohten Tiere – vor allem die Totenkäfer – ein flüssiges, leicht flüchtiges und gelbes Sekret aus zwei zylindrischen Gefäßen [45] ab, das auch ohne vorherige Anreicherung, z. B. durch normales Erstarren, analysiert werden kann.

In jedem Fall ergab der Abwehrsaft das typische UV-Absorptionsspektrum der p-Benzochinone, eine Chinhydronbildung und einen Niederschlag mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin, der durch Verteilungschromatographie an einer Kieselgel-Säule mit Chloroform sehr gut gereinigt werden konnte. Das erleichterte vor allem die halbquantitative Bestimmung der von den Käfern gespeicherten Chinonmenge (Tabelle 3).

Tabelle 3. Von Schwarzkäfern abgesonderte Chinonmengen.

Zahl der abgesaugten Tiere	Käferart	Insgesamt erhaltene Monohydrazonmenge[μ g]	Errechnete Chinonmenge/Käfer [μ g]
5	<i>Blaps mortisaga</i>	270	20
5	<i>Bl. lethifera</i>	360	27
10	<i>Bl. mucronata</i>	580	22
10	<i>Bl. requienii</i>	2430	91
20	<i>Diaperis boleti</i>	950	17
10	<i>Helops quisquilius</i>	160	6
5	<i>Opatrum sabulosum</i>	180	13
5	<i>Scaurus uneinus</i>	130	10

Ohne großen Aufwand lassen sich nach einem von uns entwickelten chromatographischen Trennungsgang Monohydrazone der Chinone schnell und sicher identifizieren. Bei unbekannten Gemischen empfiehlt es sich, durch eine Vorprobe mit einem Sekret-Tropfen das Fließmittelgemisch auszuwählen. Als Vergleichssubstanzen wählt man das Mono-2,4-dinitrophenylhydrazon vom Benzochinon für das Fließmittelgemisch Chloroform/Benzol (2:1), vom 2-Äthylchinon für Cyclohexan/Benzol (1:2) und vom 2-tert. Butylchinon für Cyclohexan/Benzol (2:1). Für die 2,4-Dinitrophenylhydrazone der Tenebrioniden-Chinone war das geeignetste Gemisch Chloroform/Benzol (1:1). Ein typisches Chromatogramm zeigt die Abbildung 10.

- [40] R. Trave, L. Garanti u. M. Pavan, Chim. e Ind. 41, 19 (1959).
 [41] L. M. Roth u. T. Eisner, Annu. Rev. Entom. 7, 107 (1962).
 [42] H. Schildknecht u. K. H. Weis, Z. Naturforsch. 15b, 200 (1960).
 [43] H. Schildknecht u. K. H. Weis, Z. Naturforsch. 15b, 757 (1960).
 [44] L. M. Roth, Ann. entomol. Soc. America 38, 77 (1945).
 [45] G. Gilson, La Cellule 5, 3 (1889).

Die rotvioletten Flecke a–d sind die 2,4-Dinitrophenylhydrazone der chlorierten Chinone, die in 6 N HCl mit entstehen und die Deutung der Chromatogramme sichern. Bei

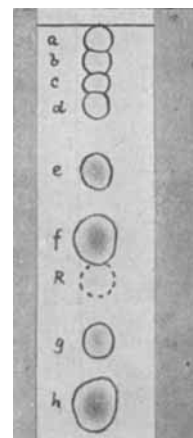


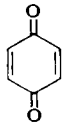
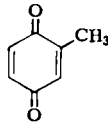
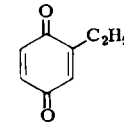
Abb. 10. Chromatogramm der mit salzsaurer 2,4-Dinitrophenylhydrazin (R) angelegten Blasen verschiedener *Blaps*-Arten.

dem blauvioletten Flecken f und dem graustichig dunkelvioletten Flecken h handelt es sich um die Mono-2,4-dinitrophenylhydrazone des 2-Methyl- und des 2-Äthyl-p-benzochinons. Die blauvioletten Flecken e und g stammen von den Monohydrazonen des 3-Methyl- und des 3-Äthyl-p-benzochinons.

Wir haben diese Zuordnung durch papierchromatographischen Vergleich mit Monohydrazonen gesichert, die nach Lauer und Miller [34] durch Kuppeln der entsprechenden Phenole mit 2,4-Dinitroanilin synthetisiert worden waren.

Die Sekrete aller untersuchten Schwarzkäfer enthalten – mit Ausnahme des Mehlkäfers (*T. molitor*) [13] – Äthyl- und Toluchinon. Bei zwei Totenkäferarten und bei *Scaurus dubius* aus Italien findet man dazu noch das Benzochinon (Tabelle 4). Außerdem besitzt das Männchen von *Blaps requienii* zwischen dem 1. und 2. Bauch-

Tabelle 4. Inhaltsstoffe der Pygidialblasen von 12 Tenebrioniden- und einer Alleculiden-Art.

			
<i>Tenebrionidae</i>			
<i>Blaps mortisaga</i>	—	+	+
<i>Bl. mucronata</i> [46]	—	+	+
<i>Bl. requienii</i> [46]	(+)	+	+
<i>Bl. lethifera</i>	+	+	+
<i>Bl. gigas</i>	+	+	+
<i>Scaurus dubius</i>	+	+	+
<i>Diaperis boleti</i> [46]	—	+	+
<i>Helops quisquilius</i>	—	+	+
<i>Helops aeneus</i>	—	+	+
<i>Opatrum sabulosum</i>	—	+	+
<i>Opatroides punctulatus</i>	—	+	+
<i>Tenebrio molitor</i>	—	+	—
<i>Alleculidae</i>			
<i>Prionychus ater</i> Fabr.	—	+	+

sternit einen braunen Bürstenfleck, den man als „Duftapparat“ bezeichnet hat [47]. In ihm fanden wir kleinste Mengen von dem in den Pygidialblasen fehlenden p-Benzochinon.

- [46] Herrn Prof. Dr. Pavan (Pavia, Italien) danken wir für die Überlassung dieser Käfer.
 [47] G. Brandes, Z. Naturwiss. 72, Heft 3 (1899).

5. Ohrwürmer (Forficuliden)

Der Versuch, bei der vielgestaltigen und großen Insektenfamilie der Hautflügler Abwehrsekrete aufzufinden, mußte auf die Ohrwürmer beschränkt bleiben, denn bei den heimischen Heuschrecken-Arten konnten keine Anzeichen für das Vorhandensein von solchen Stoffen festgestellt werden.

Von den Ohrwürmern selbst gibt es in Deutschland fünf Arten, aber nur des gemeinen Ohrwurms (*Forficula auricularia*) konnten wir habhaft werden (Abb. 11).

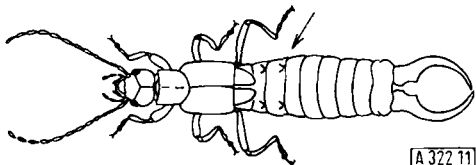


Abb. 11. *Forficula auricularia* Linn. (nach [48]) mit den 4 Drüsenöffnungen (Pfeil), aus denen die Tiere ihre Abwehrstoffe bis 10 cm weit verspritzen können.

Seine Stinkblasen enthalten einen gelben bis bräunlichen, manchmal violettstichigen Saft, in dem man bereits bei der Vorprobe – z. B. durch die Absorption bei 246 m μ – Chinone nachweisen kann. Das Sekret wurde bei den Totenkäfern mikropräparativ aufgearbeitet, d. h. durch Absaugen der Tiere mit vorgelegter 2,4-DNP-Lösung, Ausschütteln mit Chloroform und Reinigung der Hydrazone an einer Kieselgel-Säule. Ergebnis: Tolu-chinon und Äthylchinon, von denen ein Ohrwurm 20 μ g pro Spritzakt von sich gibt [49]. Neben den Chinonen enthalten die Abwehrblasen die Hydrochinone, was sich leicht durch Dünnschichtchromatographie beweisen läßt [50].

6. Tausendfüßler (Diplopoden)

Tausendfüßler, die man anfaßt, rollen sich sofort zusammen (Abb. 12) und drücken aus nahezu jedem Segment ihres außerordentlich harten Chitinpanzers einen gelben Saft. Dieser schien uns zunächst wie das Sekret der Tenebrioniden und Forficuliden zusammengesetzt zu sein. Zwei Unterschiede ergaben sich aber dann doch. Die UV-Absorptionskurve zeigte Maxima zwischen 250 und 254 m μ sowie zwischen 370 und 375 m μ , und eine mikropräparativ durch Säulen-chromatographie gewonnene Chinonfraktion löste sich in Lauge sehr langsam unter Zersetzung. Die Lage der

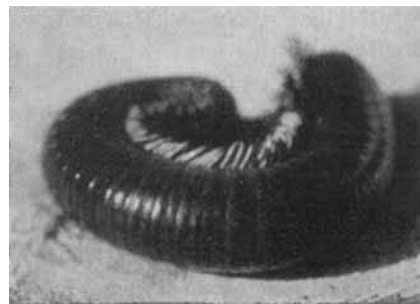


Abb. 12. Tausendfüßler, eine *Spirostreptus*-Art aus Peru, in Schreckstellung [51].

UV-Absorptionsmaxima sprach für ein Methoxychinon [52], das als „vinolyger Ester“ verseifbar sein mußte. In guter Übereinstimmung mit den Analysenergebnissen, die Trave et al. [53] bei *Archiolus sabulosus* erhalten hatte, konnten wir das Chinon als 2-Methyl-3-methoxy-p-benzochinon (II) charakterisieren [54].

Alle sechs untersuchten Diplopoden-Arten sezernieren Toluchinon und Methoxy-toluchinon (II), obwohl die Herkunft der Tiere so verschieden ist. Lediglich die

Tabelle 5. Zusammensetzung des Sekretes verschiedener Diplopoden-Arten.

Diplopodenart	Mengenverhältnis [%]	
Diplopode aus Belg.-Kongo	21	79
Diplopode aus Neu-Guinea	17	83
Diplopode aus Madagaskar	36	64
<i>Rhinocriscus</i> -Art aus Peru	48	52
<i>Brachyiulus unilineatus</i>	49	51
<i>Cylindroiulus teutonicus</i>	58	42

Mengenverhältnisse variieren. In Form der Hydrazone haben wir aus den einheimischen Arten pro Tier 0,5 bis 1,5 mg Chinone und aus den fremdländischen über 300 mg Chinone isoliert.

7. Wanzen (Pentatomiden)

Die wenigsten Leser werden die Stinkblasen von Blattwanzen kennen, geschmeckt haben aber ihren Inhalt wohl die meisten. Schon nach diesem abscheulichen Geschmack zu schließen, konnten die Inhaltsstoffe der Stinkblasen z. B. von *Dolycoris baccarum* keine Chinone sein, wohl aber Carbonylverbindungen, wie die chemischen und spektroskopischen Vorproben zeigten. Mit

[48] T. Eisner, Psyche 67, 62 (1960).

[49] H. Schildknecht u. K. H. Weis, Z. Naturforsch. 15b, 755 (1960).

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

[51] Wir danken Herrn Dr. O. Kraus (Senckenbergische Naturforschende Gesellschaft), Herrn Prof. Dr. H. J. Stammer und Herrn Privatdozent Dr. G. Osche (Institut für Zoologie der Universität Erlangen) für die Überlassung von ausländischen Tausendfüßlern.

[52] W. Flaig u. J. Ch. Salfeld, Liebigs Ann. Chem. 618, 117 (1958).

[53] R. Trave, L. Garanti u. M. Pavan, Chim. e Ind. 41, 19 (1959).

[54] H. Schildknecht u. K. H. Weis, Z. Naturforsch. 16b, 810 (1961).

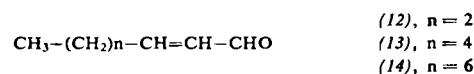
2,4-DNP erhält man daher auch in diesem Fall einen roten Niederschlag, den wir in Anlehnung an unsere Arbeiten über die Phytoncide von Blattpflanzen [55] untersuchten. Nach einer Vorreinigung an einer Kieselgel-Säule trennten wir das Hydrazongemisch dünn-schicht-chromatographisch an Kieselgel G der Fa. Merck und analysierten die Fraktionen papierchromatographisch. Tabelle 6 gibt die Schmelzpunkte und die Absorptionsmaxima der gefundenen und der zum Vergleich synthetisierten 2,4-Dinitrophenylhydrazone wieder.

Tabelle 6. UV-Absorptionsmaxima und Schmelzpunkte der 2,4-Dinitrophenylhydrazone (DNPH) von drei α,β -ungesättigten Carbonylverbindungen und den aus Wanzen isolierten Substanzen A, B und C.

Substanz	Fp [°C]	λ_{\max} in Äthanol [m μ]	λ_{\max} in Äthanol/ 0,25 % NaOH [m μ]
A	142	374	455
Δ^2 -n-Hexenal-DNPH	144	374	455
B	126	374	460
Δ^2 -n-Octenal-DNPH	126	372	455
C	120	372	455
Δ^2 -n-Decenal-DNPH	124	374	455

Alle analytischen Daten führten zu dem Ergebnis, daß in Übereinstimmung mit den Befunden von *Waterhouse* [56], der australische Blattwanzen untersucht hatte, die in Tabelle 7 aufgeführten Wanzenarten neben einer noch nicht bekannten Carbonylverbindung zur Abwehr Δ^2 -n-Hexenal (12), Δ^2 -n-Octenal (13) und Δ^2 -n-Decenal (14) von sich geben [57].

Tabelle 7. Mengenverhältnis der Inhaltsstoffe von Wanzenblasen.



Wanzenart	Mengenverhältnis [%]			
	(12)	(13)	(14)	unbek. Carbonyl- verb.
<i>Dolycoris baccarum</i> L.	50	20	5	25
<i>Eurogaster spec.</i>	60	20	0	20
<i>Palomena viridissima</i> P.	30	5	25	40
<i>Cimex lactularius</i> P. (Bettwanze)	70	30	0	0

Daß Hexenal in den Stinkblasen der Bettwanze nicht fehlt, ist ein schöner Hinweis darauf, daß sehr wahrscheinlich auch die Blattwanzen das Hexenal im eigenen Stoffwechsel synthetisieren und nicht nur mit der Nahrung aus den Blättern aufnehmen, in welchen ungesättigte Aldehyde allenthalben vorkommen [55, 58, 59].

[55] H. Schildknecht u. G. Rauch, Z. Naturforsch. 16b, 422 (1961).

[56] D. F. Waterhouse, D. A. Forss u. R. H. Hackmann, J. Insect. Physiol. 6, 113 (1961).

[57] H. Schildknecht u. K. H. Weis, Z. Naturforsch. 17b, 350 (1962).

[58] W. Karrer: Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe. Birkhäuser, Basel, Stuttgart 1958, S. 149.

[59] R. T. Major, P. Marchini u. Th. Sproston, J. biol. Chemistry 235, 3289 (1960).

8. Laufkäfer (Carabiden)

Scherny berichtet von etwa 20000 bekannten Laufkäferarten [60], von denen etwa 900 in Deutschland gefunden wurden. Viele dieser Käfer sondern aus paarigen Abwehrorganen [61] beim Reiz farblose, flüssige und leicht flüchtige Sekrete ab. Dabei kann man allein durch den Geruch zwei Carabiden-Gruppen unterscheiden. Die eine Gruppe, durchweg Vertreter der Unterfamilie *Carabinae*, jedoch auch einige *Harpalinae*, sezernieren, wie Scherny sich ausdrückt, einen „scharfen, eigenartig aromatisch riechenden Saft“, der im Auge ein zwar vorübergehendes, doch schmerzhaftes Brennen erzeugt. Horion [62] spricht von einem intensiven, moschusartigen Geruch, der an den Fingern haftet.

Die andere Gruppe, ausschließlich Käfer der Unterfamilie *Harpalinae*, scheiden auch ein flüssiges Sekret ab, das jedoch stechend riecht.

a) Das „aromatisch“ riechende Laufkäfer-Sekret

Bereits vor mehr als hundert Jahren erschien eine vielbeachtete Veröffentlichung von *Pelouze* [63], die bis heute nicht angezweifelt worden ist. In seinem Artikel „Sur la nature du liquide sécrété par la glande abdominale des insectes du genre Carabe“ vertritt er die Auffassung, daß das Sekret von *Carabus niger* und von *C. auratus* zum größten Teil aus Buttersäure besteht. Nach unseren Erfahrungen riecht Buttersäure anders. Übereinstimmend mit *Pelouze* fanden wir jedoch, daß das Laufkäfer-Sekret sauer reagiert, die Haut ätzt und daß seine Alkalisalze stark oberflächenaktiv sind. Unerklärlich war, daß das Sekret leicht verdampft und andererseits oft spontan einen plastischen Film bildet.

Die Frage nach dem Aggregatzustand der gesuchten Säure konnte durch wiederholte Beobachtung des Rohsekrets zunächst nicht geklärt werden. Die Möglichkeit eines gasförmigen oder festen, gelösten Stoffes bestand genauso, wie die einer flüssigen Verbindung. Um so glücklicher waren wir, als ein Goldlaufkäfer (*Carabus*

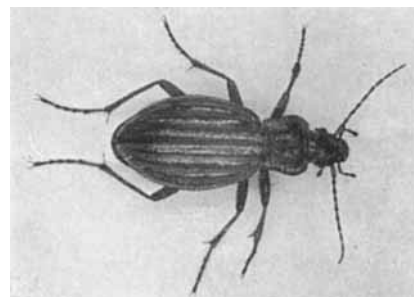


Abb. 13. *Carabus auratus* L., ein 20–27 mm großer Laufkäfer mit metallischgrün gefärbter Vorderbrust und gelblich, goldgrünen Flügeldecken. Vergrößerung etwa 1,5-fach.

[60] F. Scherny: Die neue Brehm-Bücherei. Ziemschen, Wittenberg 1959, Heft 245.

[61] A. Beylese, Gli Insetti, Società edit. Ciby. Milano 1909, Bd. I, S. 543.

[62] A. Horion: Käferkunde für Naturfreunde. Verlag Vittoria Klostermann, Frankfurt/M. 1949.

[63] M. J. Pelouze, C. R. hebdom. Séances Acad. Sci. 43, 122 (1856).

auratus, Abb. 13) auf das Brillenglas meines Begleiters spritzte und das Wehrsekret sofort, wenigstens teilweise erstarrte. Durch den Schmelzpunkt von 62°C, die spektrophotometrischen und die chemischen Vorproben mit KMnO₄, Bromwasser und Tetranitromethan, sowie durch einen chromatographischen Vergleich mit verschiedenen organischen Säuren geleitet, vermuteten auch wir eine mittlere, aber ungesättigte Carbonsäure.

Die weitere Charakterisierung der Säure war erst dann möglich, als wir zufällig beobachteten, wie ein Laufkäferschuß in der Nähe einer offenen, mit Ammoniakwasser gefüllten Flasche zu einem bleibenden Ammoniumsalz-Nebel wurde. Es gelang uns dann, durch Begasen der frischen, auf einem Objektträger gesammelten Sekretspritzer mit Ammoniak, ein farbloses, gut kri-

Der Spektroskopiker liest aus dieser unterschiedlichen Lage von Gerüstschwingungsbanden aber eine unterschiedliche Kettenlänge heraus. Für eine kürzere Kette, also für Methacrylsäure (15), sprach auch die Elementaranalyse [64] und eine quantitative Mikrohydrierung. Außerdem haben wir das Hydrierungsprodukt papierchromatographisch untersucht. Dabei stellten wir überraschend fest, daß statt der vermuteten einen Säure deren zwei entstanden waren, von denen eine allerdings bei weitem überwog. Diese zeigte nicht nur im Chromatogramm den gleichen R_F-Wert wie die iso-Buttersäure, sondern gab auch das gleiche IR-Spektrum. Das war der zweite wichtige Hinweis auf Methacrylsäure im Käfersekret, das dann auch im Rohzustand das IR-Spektrum dieser Säure ergab (Abb. 15).

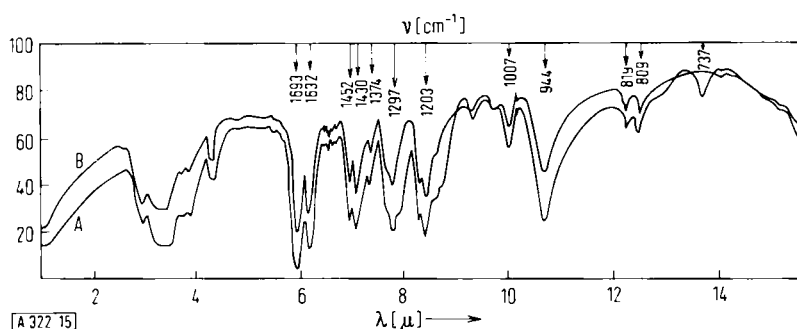


Abb. 15. IR-Spektren des rohen Käfersekrets (A) und der Methacrylsäure (B).
Ordinate: Durchlässigkeit [%]

stallisiertes und leicht sublimierendes Ammoniumsalz zu gewinnen. Dieses war besonders gut geeignet, um einen kleinen Sekretvorrat anzulegen. Trotzdem waren es nur wenige Milligramm, von denen wir immer nur einen kleinen Bruchteil für den IR-spektroskopischen Vergleich mit anderen, verzweigten und ungesättigten Carbonsäuren entnehmen durften. Schließlich fanden wir die beste Übereinstimmung zwischen dem Sekret und der Tiglinsäure. Trotz der Ähnlichkeit der IR-Spektren der Ammoniumsalze beider Säuren lagen zwei, die Spektren besonders charakterisierende Absorptionsbanden bei verschiedenen Wellenzahlen. Das Spektrum der Tiglinsäure war gekennzeichnet durch die Banden bei 798 und 748 cm⁻¹, das des Käfersekrets durch die Banden bei 924 und 823 cm⁻¹ (Abb. 14).

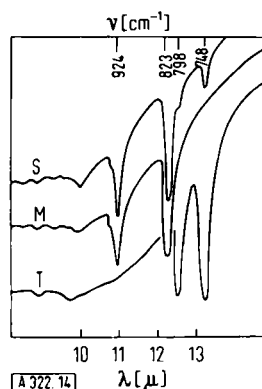
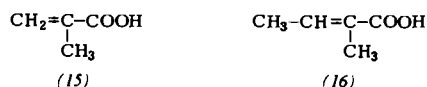


Abb. 14. Zum Vergleich übereinandergesetzte Ausschnitte aus den Spektren der Ammoniumsalze vom Laufkäfer-Sekret (S), Methacrylsäure (M) und Tiglinsäure (T).

Auch hier deutete eine Verbreiterung der Bande bei 1297 cm⁻¹ und eine nur mäßig ausgeprägte Bande bei 737 cm⁻¹ eine zweite Substanz an, die im Verlauf der weiteren Analyse als Tiglinsäure (16) identifiziert wurde. Beim Vergleich der Spektren der Ammoniumsalze des Sekrets, der Methacrylsäure (15) und der Tiglinsäure (16) (Abb. 14), sind die Inflexion bei 798 cm⁻¹ und die Bande bei 748 cm⁻¹ ebenfalls der Tiglinsäure zuzuschreiben. Schließlich gelang es, die Tiglinsäure selbst aus dem Sekret kristallin zu isolieren und wie die Methacrylsäure durch das IR- und Massenspektrum, sowie als Tetraphenylstibonium-Salz [65] zu charakterisieren [66].

Tabelle 8. Laufkäfer mit Methacrylsäure (15) und Tiglinsäure (16) als Abwehrstoffe.

Käfer	Methacrylsäure [%]	Tiglinsäure [%]
<i>Carabus granulatus</i> L.	93,7	6,3
<i>C. convexus</i> Fbr.	90,4	9,6
<i>C. auronitens</i> Fbr.	88,9	11,1
<i>C. auratus</i> L.	87,0	13,0
<i>C. cancellatus</i> Illig.	86,8	13,2
<i>Abax ovalis</i> Dfisch.	89,8	10,2
<i>Ab. ater</i> Villers	91,4	8,5
<i>Ab. parallelus</i> Dfisch.	88,8	11,2
<i>Pterostichus vulgaris</i> L.	92,3	7,7
<i>Pt. niger</i> Schall.	91,3	8,7
<i>Apotomopterus albr. esakii</i>	91,2	8,8
<i>Ap. insulicula</i>	90,1	9,9

[64] Wir danken Herrn Dr. H. Gysel (CIBA AG., Basel) für sein großes Entgegenkommen, uns die entsprechenden Elementaranalysen anzufertigen.

[65] H. E. Affsprung u. H. E. May, *Analytic. Chem.* 32, 1164 (1960).

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

Als Beweis, daß auch in den Sekreten zahlreicher anderer Carabiden Methacrylsäure und Tiglinsäure vorliegen, diente vor allem der gleichartige Verlauf aller IR-Absorptionsspektren der rohen Ammoniumsalze. Gleichzeitig ließen sich aus diesen Spektren die Mengenverhältnisse der Säuren bestimmen (Tabelle 8).

In der beschriebenen Weise haben wir qualitativ ein Methacryl-Tiglinsäure-Gemisch auch bei den folgenden Laufkäfern gefunden:

Carabus coriaceus L.
C. cyaneus F.
C. violaceus L.
C. irregularis Fbr.
C. Ullrichi Germ.
Pterostichus metallicus Fbr.

Bei den japanischen Laufkäfern *C. procerulus*, *Damaster oxuroides* und beim einheimischen *Cychrus rostratus* fanden wir lediglich Methacrylsäure.

b) Das „stechend“ riechende Laufkäfer-Sekret

Im Gegensatz zu den *Pterostichini* einerseits und den *Brachynini* andererseits scheiden *Pseudophonus pubescens* und *Ps. griseus* zur Abwehr eine rasch verdampfende, scharf und stechend riechende Flüssigkeit aus. Die Reaktion mit Säure-Basen-Indikatoren, das UV-Spektrum und auch die hautreizende Eigenschaft wiesen auf eine starke Säure hin. Wurde das Sekret nach Long [67] chromatographiert, so erhielt man für die Blaseninhaltsstoffe der drei *Harpalinae*-Arten nur einen Fleck. Die Papierchromatographie war auch das einzige Verfahren, das zur Untersuchung des Sekrets von *Harpalus dimidiatus* Rossi verwendet werden konnte, da uns von dieser Art nur zwei Exemplare zur Verfügung standen.

Die Chromatographie ergab Ameisensäure, die auch quantitativ nach der Methode von Frehden und Fürst [68] und durch Titration bestimmt wurde. Es ließ sich errechnen, daß in den Käferblasen 1,5 bis 2 mg einer 75-proz. Ameisensäure vorliegen muß [69].

Bei nicht näher bestimmbarern Vertretern der Gattungen *Calathus*, *Acinopus* und *Carterus* (sizilianische Laufkäfer) wiesen wir papierchromatographisch im System Äthanol/Wasser/Ammoniak (80:16:4) (Papier Schleicher und Schüll 2043b) ebenfalls Ameisensäure (R_F 0,50) als Wehrstoff nach.

9. Schwimmkäfer (Dytisciden)

Die Schwimmkäfer sind, entwicklungsgeschichtlich gesehen, erst später zu Wassertieren geworden. Sie haben dann sehr wahrscheinlich die Fähigkeit der Laufkäfer, die Pygidialblasen plötzlich zu entleeren, verloren. So findet man – vor allem bei frisch gefangenen Gelbrandkäfern – die leuchtend gelben Blasen meist prall gefüllt. In Äthanol ausgedrückt, erhält man eine gelbe Lösung

- [67] A. G. Long, J. R. Quayle u. R. J. Stedman, J. chem. Soc. (London) 1951, 2197.
 [68] O. Frehden u. K. Fürst, Mikrochemie 25, 256 (1938).
 [69] H. Schildknecht u. K. H. Weis, Z. Naturforsch. 16b, 361 (1961).

und einen farblosen Niederschlag, der IR-spektroskopisch und durch Elektrophorese [70] zunächst nur als Glykoprotein erkannt wurde.

Aus der Lösung gewinnt man durch Chromatographie an Kieselgel von einem Käfer etwa 3 mg farbloser Kristalle, die sich sehr leicht sublimieren lassen ($F_p - 110^\circ\text{C}$) [71]. Ein einheitlicher Stoff ist das Kristallisat mit dem niedrigen Molekulargewicht (ca. 115) und dem trotzdem komplexen IR-Absorptionsspektrum jedoch nicht. Das war auch nicht zu erwarten. Denn entsprechend dem Dünnschicht- und Papierchromatogramm mit mindestens drei Substanzflecken beobachtet man auch in den sekretproduzierenden Zellkomplexen deutlich unterscheidbare Drüsenzellen [72].

Da wir allein durch die Chromatographie nicht zu einem sicheren Analysenresultat kamen, das Substanzgemisch aber durch Zonenschmelzen mikropräparativ zu trennen war, arbeiteten wir das Pygidialblasen-Sekret der Gelbrandkäfer durch Mikrozonenschmelzen auf [73].

Wir erhielten nach dem Durchgang von 20 Zonen durch einen Mikroschmelzling [74] zunächst zwei Fraktionen. Von der niedrigschmelzenden konnte durch erneutes Zonenschmelzen ein Eutektikum abgetrennt werden [75] (Abb. 16).

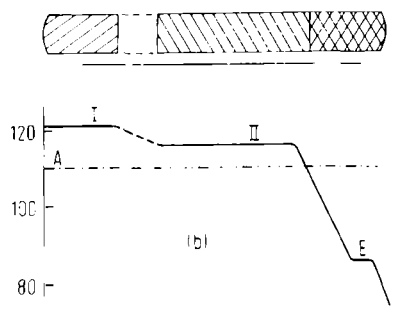
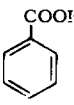
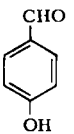
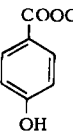


Tabelle 9 zeigt, wie durch eine umfassende Analyse der durch Zonenschmelzen gewonnenen Fraktionen eine chemische Charakterisierung der Sekretkomponenten möglich wurde. Aus dem durch fraktionierte Zonenschmelzen nicht weiter trennbaren eutektischen Gemisch wurde dünnschichtchromatographisch eine Substanz isoliert, die nach nochmaligem Zonenschmelzen rein genug war, um als p-Hydroxybenzoesäure-methylester identifiziert werden zu können.

- [70] Wir danken Herrn Dr. H. H. Determann (Frankfurt/M.) für seine Hilfe bei der Aufklärung des Proteins.
 [71] H. Schildknecht, K. Holoubek u. M. Wolkenstörfer, Z. Naturforsch. 17b, 81 (1962).
 [72] E. Korschelt: Der Gelbrand, Dytiscus marginalis L. Engelmann, Leipzig 1924, Bd. I.
 [73] H. Schildknecht u. H. Vetter, Angew. Chem. 71, 723 (1959).
 [74] H. Schildknecht u. H. Vetter, Angew. Chem. 73, 240 (1961).
 [75] H. Schildknecht u. K. H. Weis, Z. Naturforsch. 17b, 448 (1962).

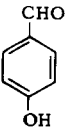
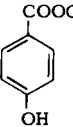

Tabelle 9. Identifizierung der durch Zonenschmelzen (Abb. 16) gewonnenen Fraktionen I und II sowie einer aus dem Eutektikum E abgetrennten Substanz

	Fraktion		
	I	II	E
2,4-Dinitrophenylhydrazon	—	Fp = 279 °C	
R _F -Wert [a]	0,61	0,70	
V-Maxima; (log ε)	in Wasser 227 mμ; (4,1) 273 mμ; (3)	in Äthanol 221 mμ; (4,22) 285 mμ; (4,35)	
IR-Banden [76] für monosubst. Benzol	γ _{CH} 708 cm ⁻¹ ω _{C=O} 1695 cm ⁻¹ , Γ _{OH} 935 cm ⁻¹	—	
aromat. Carbonsäure	—	—	
p-subst. Benzol	—	γ _{CH} 832 cm ⁻¹ ν _{OH} 3250 cm ⁻¹	
Phenol	—	ω _{C=O} 1675 cm ⁻¹	
aromat. Aldehyd	—	—	ω _{C=O} 1690 cm ⁻¹ ω _{C—O} 1292 cm ⁻¹ 1119 cm ⁻¹
aromat. Ester	—	—	—
Elementaranalyse	C ₇ H ₆ O ₂	C ₇ H ₆ O ₂	—
Ergebnis	 (17)	 (18)	 (19)

[a] Papierchromatographie mit CO₂-gesättigtem Wasser als Fließmittel; Papier: Schleicher und Schüll 2043b.

Alle von uns untersuchten Arten der Gattung *Dytiscus* wehren sich – vermutlich nur gegen den Befall mit Mikroorganismen – mit einem Gemisch aus Benzoesäure (17), p-Hydroxybenzoesäure-methylester (19) und p-Hydroxybenzaldehyd (18) (Tabelle 10), wovon die beiden ersten Verbindungen nach dem deutschen Lebensmittelgesetz auch für die Stabilisierung besonders von Fischkonserven verwendet werden dürfen. Bei der Gattung *Cybister* ist die Benzoesäure durch eine noch unbekannte Carbonsäure ersetzt. Auch die Natur des stets in den Blasen auftretenden gelben Farbstoffs ist noch nicht geklärt.

Tabelle 10. Inhaltsstoffe der Pygidialblase von Schwimmkäfern.

Käferart (Größe)			
<i>Dytiscus marginalis</i> (30–35 mm)	+	+	+
<i>D. latissimus</i> (36–44 mm)	+	+	+
<i>Cybister laterimarginalis</i> (30–35 mm)	+	+	—
<i>Hydroporus palustris</i> L. (3,5–4 mm)	+	—	—

[76] R. C. Gore u. N. B. Colthup, J. opt. Soc. Amer. 40, 397 (1950).

10. Zusammenfassung

Wir identifizierten Homologe des p-Benzochinons bei allen Schwarzkäfern (Tenebrioniden). Die zum Teil in Blasen gespeicherten Chinone sind stets von den entsprechenden Hydrochinonen begleitet, die bei den Bombardierkäfern (Brachyniden) allein und unzersetzt neben Wasserstoffperoxyd vorliegen. Überraschend war, daß auch die Ohrwürmer, die in der Systematik zu den Hautflüglern gehören, Tolu- und Äthylchinon zur Abwehr ausspritzen und auch niedere Tiere, wie die Tausendfüßler, Toluchinon und Methoxy-toluchinon in Form einer gelben Lösung oder Suspension tropfenweise von sich geben können. Ebenfalls α,β-ungesättigte Carbonylverbindungen – nämlich Hexenal, Octenal und Decenal – enthalten die Stinkblasen von Wanzen.

Die Blaseninhaltsstoffe der meisten Laufkäfer (Carabinen, Harpalinen) sind entweder nahezu 75-proz. Ameisensäure oder ein Gemisch aus 95 % Methacrylsäure und 5 % Tiglinsäure. Auch hier ist noch nicht geklärt, wie dieses Gemisch stabil und ohne die hauchdünne Blasenwand zu zersetzen, gespeichert wird. Obwohl die Gelbrandkäfer (Dytisciden) mit den Laufkäfern nah verwandt sind, enthalten ihre Pygidialblasen nur eine Carbonsäure, die Benzoesäure. Die Hauptmenge der Inhaltsstoffe bildet der p-Hydroxybenzaldehyd, der vom p-Hydroxybenzoesäure-methylester begleitet wird.

Wer erlebt hat, wie die beschriebenen Käfer gezielt einen Störenfried beschießen, ist überzeugt, daß sie nicht nur ihresgleichen, sondern auch etwas größere Tiere ihrer Umwelt wirksam bekämpfen können. Die Mengen der Verteidigungsstoffe sind klein, die Angreifer aber oft auch, so daß diese sich aus der ätzenden und stinkenden Giftgaswolke nur durch eine eilige Flucht retten können – ein in ein Glas eingesperrtes Insekt geht an seinen eigenen Abwehrstoffen zu Grunde. Die Art der gefundenen Stoffe aber, und besonders die chemische Zusammensetzung des Inhalts der Abwehrblasen von Schwimmkäfern zeigt, daß sich die Wehrstoffe der Insekten und Tausendfüßler auch gegen Mikroorganismen richten können. So könnte man diese Stoffe auch als die Antibiotika des Insektenreiches bezeichnen. Sie ermöglichen den Tieren, ohne von Parasiten befallen zu werden, selbst in der abscheulichsten Umgebung, in feuchten und dunklen Kammern, zu leben.

Wir danken sehr der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der chemischen Industrie für ihre Unterstützungen finanzieller und sachlicher Art, womit unsere Arbeiten über die Insekteninhaltsstoffe wesentlich gefördert wurden. Auch danken wir recht herzlich den Kolleginnen und Kollegen, die mit viel Idealismus mit uns die Insekten und Tausendfüßler gefangen und bestimmt haben.

Eingegangen am 24. Juli 1963 [A 322]