

Prof. H. Steinmetz, dem wir auch hier für seine Mühewaltung danken, hat unser synthetisches Präparat mit einem von Windaus stammenden verglichen. Er berichtet darüber wie folgt:

„Beide Präparate wurden in Äther gelöst, dann vorsichtig mit Alkohol versetzt, so daß eben eine Ausscheidung erfolgte, die mit einer weiteren kleinen Äthermenge wieder zur Auflösung gebracht wurde. Dann wurde die Lösung in kleinen Präparatenröhrchen im Exsiccator sich selbst zur Krystallisation überlassen.“

In beiden Fällen entstanden ca. 0.25 mm dicke und bis 8 mm lange, stark längsgestreifte Prismen, vereinzelt mit spiegelnden kleinen Endflächen. Im wesentlichen bestanden sie aus einer Kombination der Formen $b(010)$, $m(110)$, $q(101)$, sowie einer Anzahl vicinaler Formen in der Zone $[001]$, der die Krystalle die Streifung verdanken, und die im übrigen für die Identifizierung wenig geeignet sind.

Die Messung ergab folgende Werte:

Wieland Windaus

$(110):(010) = 54^{\circ} 40' \quad 54^{\circ} 35'$, entsprechend: $a:b:c = 0.709:1:0.493$ (Präp. Wieland)

$(101):[001] = 55^{\circ} 13' \quad 55^{\circ} 06'$, „ : $a:b:c = 0.711:1:0.496$ (Präp. Windaus).

Beide Präparate zeigten eine den Prismenkanten parallel gehende Auslöschung, u. z. ist die den Prismenkanten parallele Schwingungsrichtung die der größeren Lichtgeschwindigkeit. Die Messungen ergeben mit Sicherheit Identität der beiden Substanzen.“

324. Clemens Schöpf und Heinrich Wieland: Über das Leukopterin, das weiße Flügelpigment der Kohlweißlinge (*Pieris brassicae* und *P.napi*).

[Aus d. Chem. Laborat. d. Bayr. Akad. d. Wissenschaften zu München.]

(Eingegangen am 10. August 1926.)

Vor einem Jahr haben wir über die Isolierung des gelben Flügelfarbstoffs vom Citronenfalter (*Gonepteryx rhamni*) berichtet¹⁾ und sind zu der Auffassung gekommen, daß in ihm ein Dihydro-dixanthin von der Zusammensetzung $(C_5H_5O_2N_4)_2$ vorliege.

Wir haben uns in Fortsetzung dieser Untersuchung mit dem weißen Pigment der Pieriden beschäftigt, das nach der herrschenden Vorstellung in der Hauptsache aus Harnsäure²⁾ bestehen soll. Die experimentellen Unterlagen, auf die sich diese Kenntnis stützt, finden sich in einer weit zurückliegenden Untersuchung von Hopkins³⁾, dem das Verdienst zukommt, die Pigmente der Schmetterlingsflügel grundsätzlich als Purin-Derivate erkannt zu haben. Hopkins hat den weißen Farbstoff der Pieriden mit Ammoniak oder Soda von den Flügeln abgelöst, mit Salzsäure gefällt und in gleicher Weise unter Verwendung von Tierkohle umgereinigt⁴⁾. Der so isolierte Stoff wird als Harnsäure angesprochen, da er in intensiver Weise die charakteristische Murexidreaktion gibt. Der Einwand der Gräfin Linden⁵⁾, daß die so isolierte Harnsäure aus der Flügelsubstanz selbst stammen könne und nicht aus dem Pigment der Flügelschuppen, erscheint wenig begründet, da wir die Beobachtung gemacht haben, daß das Chitin-

1) Wieland und Schöpf, B. 58, 2178 [1925].

2) vergl. Biochem. Handlexikon, Bd. 6., S. 355.

3) Proc. of the Royal Soc. 57, 5 [1894/95].

4) Phil. Trans. Roy. Soc. (B), 186, 661 [1895]; vergl. auch Winterstein, Handb. d. vergl. Physiologie, Bd. III, 1. Hälfte, 2. Teil, S. 1671.

5) Arch. f. d. ges. Physiologie 98, 7 [1903].

Gefüge der Flügel bei der von Hopkins geübten Extraktionsmethode so gut wie unversehrt bleibt.

Es bedarf wiederholter Extraktion mit $n/2$ -Ammoniak, um das weiße Pigment von den Flügelschuppen wegzunehmen. Die hellrotbraunen Auszüge lassen nach der Entfernung des Ammoniaks im Vakuum ein graubraunes, schwer filtrierbares Pulver ausfallen, das sich bei allen Prozeduren, die man mit ihm vornahm, so ungemein ähnlich dem unreinen Ammoniumsals der Harnsäure verhielt, daß wir längere Zeit die Identität der Substanz mit ihr für beinahe sicher hielten. Im Lauf der Untersuchung traten indessen doch so charakteristische Unterschiede auf, daß die Verschiedenheit des weißen Pigments von Harnsäure einwandfrei erwiesen werden konnte:

1. Der genaue Vergleich der Murexidreaktion von Harnsäure und von unsern gereinigten, krystallisierten Präparaten gab zu Zweifeln an der Identität der beiden Substanzen Anlaß. Während Harnsäure beim Erwärmen mit verd. Salpetersäure (1 Vol. Säure d 1.4 + 3 Vol. Wasser) sehr rasch unter Gasentwicklung reagiert und bald den roten Farbstoff auftreten läßt, wird Leukopterin unter den gleichen Bedingungen nicht merkbar angegriffen. Erst beim wiederholten Eindampfen tritt die Färbung auf, und während der Trockenrückstand aus Harnsäure einen durchsichtigen Lack bildet, bleibt hier eine körnige, zum Teil noch unveränderte Masse zurück. An Intensität steht die gebildete Färbung der aus Harnsäure nicht nach.

2. Phosphorwolframsäure wird in alkalischer Lösung durch Harnsäure in eine blaue Reduktionsstufe des Wolframs übergeführt, eine Reaktion, die zur colorimetrischen Bestimmung der Harnsäure benützt⁶⁾ wird. Wir haben sie zur Prüfung unserer Präparate herangezogen, die wir aus den aufeinanderfolgenden 5 Extraktionen der Flügel jeweils getrennt aufgearbeitet hatten. Es ergab sich beim colorimetrischen Vergleich unter genau denselben Verhältnissen, daß die durch die einzelnen Fraktionen des Pigment-Präparats in Phosphorwolframat-Lösung hervorgebrachte Färbung bei I 60, bei II 30, bei III 2.7, bei IV 2.8, bei V 3.5, bei VI 3.2% der von derselben Menge Harnsäure verursachten Intensität ausmachte.

Demnach können die Präparate aus Extraktion I und II ansehnliche Mengen von Harnsäure enthalten, die wir jedoch nicht durch Isolierung in reinem Zustand nachweisen konnten; es ist nicht ausgeschlossen, freilich auch nicht gerade wahrscheinlich, daß eine Beimengung von anderer Natur die starke Reduktionswirkung jener Präparate verursacht. Sicher ist aber, daß die nachfolgenden Fraktionen keine nennenswerten Mengen davon enthalten.

3. Die überlegene Reduktionswirkung der Harnsäure äußert sich auch bei der Bildung der Silbersalze. Wenn man in die soda-alkalische Lösung von Harnsäure verd. Silbernitrat-Lösung eintropfen läßt, scheidet sich augenblicklich unter tiefer Schwärzung metallisches Silber aus⁷⁾. Dies geschieht auch bei den unreinen Leukopterin-Präparaten aus Extraktion I und II. Die Fraktionen III—VI jedoch üben keinerlei Reduktionswirkung aus. Hier fällt mit Silbernitrat das hellgelbe Silbersalz, das, in der Lösung suspendiert, stundenlang unverändert bleibt.

⁶⁾ Folin und Denis, Journ. Biol. Chem. **12**, 239 [1912]; C. **1912**, II 1239. — Folin und Macallum, ebenda **13**, 363 [1912]; C. **1913**, I 852.

⁷⁾ Schiff, A. **109**, 67 [1859].

4. Die Löslichkeit des Leukopterins erwies sich bei gründlichem Studium in einigen Solvenzien als wesentlich geringer als die der Harnsäure. So löst 50-proz. Pyridin eine gewisse Menge Harnsäure in der Siedehitze glatt auf, Leukopterin aber nicht. Beim Umfällen aus konz. Schwefelsäure krystallisiert unter gleichen Bedingungen Harnsäure langsam aus, während Leukopterin augenblicklich in winzigen Sphäro-Krystallen niederfällt. In Natriumnitrit-Lösung löst sich Harnsäure beim Kochen leicht und rasch auf. Leukopterin ist darin auch bei längerem Kochen so gut wie unlöslich. In siedender Kaliumcarbonat-Lösung ist Harnsäure mehr als 10-mal so leicht löslich als Leukopterin.

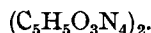
5. Besonders bemerkenswert ist die Zusammensetzung des sauren, citronengelb gefärbten Natriumsalzes, das man beim Auflösen des Leukopterins in Soda-Lösung und zwar in Sphäro-Krystallen erhält; es enthält nur die Hälfte des Natriums von primärem Natriumurat.

Wir fügen als weiteren Unterschied hinzu, daß Leukopterin, in Essigsäure-anhydrid suspendiert, auf Zugabe eines Tropfens konz. Schwefelsäure rasch in Lösung geht, im Gegensatz zur Harnsäure, die hierbei vollkommen ungelöst bleibt. Diese Reaktion deutet an, daß im Leukopterin eine acetylierbare Gruppe enthalten ist.

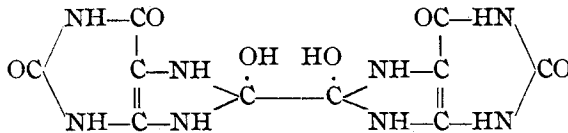
Im übrigen ist der Habitus und das Verhalten der beiden Stoffe überaus ähnlich. Sie titrieren sich gegen Phenol-phthalein genau gleich; die geringe Löslichkeit des Ammoniumsalzes ist beiden gemeinsam, auch die Löslichkeit in Salzsäure und die Art, in der sie aus diesem Lösungsmittel auskrystallisieren, enthält kein Moment der Verschiedenheit.

Nach einer freundlichen Mitteilung von Prof. Steinmetz, der die beiden Substanzen einer krystallographischen Prüfung unterzog, gibt sich bei dieser Art der vergleichenden Untersuchung keinerlei Unterschied zu erkennen.

Die Analysen, die mit verschiedenen reinen Präparaten von Leukopterin ausgeführt wurden, ergaben in voller Übereinstimmung und Deutlichkeit, daß der Hauptbestandteil des Pieriden-Pigments ein Wasserstoffatom mehr enthält als Harnsäure, also die Zusammensetzung $C_5H_5O_3N_4$ besitzt. Leukopterin steht demnach zur Harnsäure $C_5H_4O_3N_4$ in der analogen Beziehung, wie Xanthopterin ($C_5H_5O_2N_4$)₂, das Flügelpigment des Citronenfalters, zum Xanthin $C_5H_4O_2N_4$. Wir haben es auch hier mit einem Derivat eines Dipurins zu tun und müssen die Formel $C_5H_5O_3N_4$, die ja einer radikalartigen Verbindung zukommen würde, verdoppeln zu dem Ausdruck



Bei der außerordentlichen Übereinstimmung in den Eigenschaften, die zwischen Leukopterin und Harnsäure besteht, wird man — ebenso wie beim Xanthopterin — an eine symmetrische Verbindung aus 2 Harnsäure-Hälften zu denken haben, und ohne damit den weiteren Versuchen zur exakten Konstitutionsermittlung vorzugreifen, kommen wir aus dieser Überlegung heraus zu nachstehender Formel-Aufstellung, die wenigstens für die darin angenommenen Hydroxylgruppen in der Reaktion des Leukopterins mit Essigsäure-anhydrid eine gewisse experimentelle Stütze besitzt:



Mit aller Sicherheit läßt sich aus unsern beiden bisherigen Untersuchungen über die Flügel-Pigmente der Schmetterlinge die biologisch interessante Tatsache entnehmen, daß der Purin-Stoffwechsel dieser Organismen andere Wege geht, als der der Wirbeltiere. Es hat den Anschein, als ob hier der Aufbau der Purinsubstanz unter Beteiligung der Oxalsäure als Kern des Mittelgerüsts sich vollziehe.

Beschreibung der Versuche.

Isolierung des Leukopterins (mitbearbeitet von Margarete Bülow).

134 g Flügel von *Pieris napi* (entsprechend etwa 24—25000 Faltern) werden im Extraktionsapparat erschöpfend mit Äther extrahiert, der 7 g Fette und Wachse löst, die durch ein Lipochrom schwach gelb gefärbt sind. Den so vorbehandelten Flügeln wird das Leukopterin am besten durch verd. Ammoniak entzogen, da Natronlauge, die an sich viel besser löst, gleichzeitig noch viele in Ammoniak unlösliche Verunreinigungen mit herauslöst, deren Abtrennung vom Leukopterin auf große Schwierigkeiten stößt.

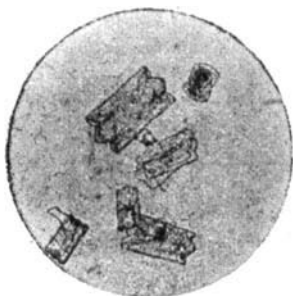
Die Flügel werden insgesamt 6-mal mit je 4 l ca. halbnormalem Ammoniak einige Stunden in der Kälte extrahiert und die durch Absaugen gewonnenen, schwach bräunlich gefärbten Extrakte im Vakuum auf ein kleines Volumen eingedampft. Dabei scheidet sich das Ammoniumsalz des Leukopterins als schwach bräunlich-grün gefärbte, amorphe Masse aus, die durch Abzentrifugieren von der braunen Lösung befreit wird. Eine weitere Extraktion mit Ammoniak ergibt keine neuen Mengen an Ammoniumsalz.

Aus der zentrifugierten Lösung erhält man beim völligen Verdunsten im Vakuum-Exsiccator eine beträchtliche Menge eines amorphen, dunkelbraunen Rückstandes, der in seinem Verhalten der in analoger Weise aus *Gonepteryx rhamni* gewonnenen dunkelgrünen Substanz sehr ähnlich ist.

Das abzentrifugierte Ammoniumsalz des Leukopterins wird mehrmals mit Wasser gewaschen, wobei ein Teil wieder kolloidal in Lösung geht, der durch Eindampfen der Waschwässer wiedergewonnen wird. Zur Darstellung des freien Leukopterins wird das aus den einzelnen Fraktionen erhaltene Ammoniumsalz jeweils in 30 ccm 2-n. Natronlauge gelöst und mit überschüssiger verd. Salzsäure gefällt. Die Ausbeute an mit Wasser gewaschenem Roh-Leukopterin beträgt insgesamt 5.6 g. Ein Falter enthält also nur etwa 0.2 mg Leukopterin.

Zur Orientierung über den Reinheitsgrad der einzelnen Fraktionen wurden je 2.0 mg in 2 ccm 4-n. Sodalösung mit 1 ccm Phosphorwolframsäure-Lösung versetzt, und die auftretende Blaufärbung mit der einer analog aus 2.0 mg Harnsäure bereiteten Lösung verglichen. Es ergab sich, daß die ziemlich dunkel gefärbten Fraktionen I und II des Leukopterins 60 bzw. 30%, alle übrigen Fraktionen dagegen nur 2—3% der Farbintensität zeigten, die die gleich konzentrierte Harnsäure-Lösung gab. Diese Farbreaktion ließ sich bis jetzt auf keine Weise völlig zum Verschwinden bringen. Weder Auskochen mit Natriumnitrit-Lösung oder wäßrigem Pyridin, noch Kochen mit Zinkstaub in alkalischer Lösung, noch fraktionierte Fällung ändert etwas an ihrer Intensität. Auch wenn man in alkalischer Lösung den größten Teil des Leukopterins durch Wasserstoffsuperoxyd

oder Kaliumpermanganat zerstört, zeigt der mit Säure gefällte, unangegriffene Rest die gleiche Blaufärbung mit Phosphorwolframsäure, wie die ursprüngliche Substanz.



Zur Reindarstellung werden je 0.1 g Leukopterin in 100 ccm 1-n. Soda gelöst, mit 0.15 g Tierkohle (Kahlbaum) kurze Zeit gekocht und die nun nur noch ganz schwach bräunlich gefärbte Lösung in 100 ccm siedende 2-n. Salzsäure eintropfen gelassen. Dabei scheidet sich die Substanz in einer Ausbeute von 50–60%⁸⁾ sofort in schönen, fast farblosen Krystallen ab (vergl. die Abbildung). Nochmaliges Umfällen bedingt keine weitere nachweisbare Reinigung. Die umgefällte Substanz gibt ebenfalls noch die Phosphorwolframsäure-Reaktion mit einer Intensität, die auch hier 2–3% der einer gleich

konzentrierten Harnsäure-Lösung entspricht.

Zur Analyse wurde bei 150° im Vakuum der Wasserstrahl-Pumpe getrocknet.

4.089 mg Stbst. (Fraktion V; keine Abnahme beim Trocknen): 5.33 mg CO₂, 1.18 mg H₂O. — 3.949 mg Stbst.: 5.16 mg CO₂, 1.14 mg H₂O. — 2.797 mg Stbst.: 0.853 ccm N (21°, 718 mm).

3.714 mg Stbst. (Fraktion III; Abnahme beim Trocknen 0.8%): 4.94 mg CO₂, 1.04 mg H₂O. — 2.103 mg Stbst.: 0.647 ccm N (22°, 717 mm).

C₅H₄O₃N₄ (168.0). Ber. C 35.76, H 2.40, N 33.35.

C₅H₅O₃N₄ (169.0). „ „ 35.49, „ 2.98, „ 33.16.

Gef. „ 35.55, 35.64, 36.28, „ 3.23, 3.23, 3.13, „ 33.45, 33.58.

Ein gleichzeitig analysiertes Harnsäure-Präparat ergab: C 35.71, H 2.30.

Die von Hopkins⁴⁾ angegebenen Analysen stimmen mit den unsrigen überein.

Titration: 0.0102 g Leukopterin, in 10.0 ccm 0.1-n. NaOH gelöst, verbrauchten bis zum Umschlagpunkt von Phenol-phthalein 9.4 ccm 0.1-n. HCl; 0.0109 g, in 10.0 ccm 0.1-n. NaOH gelöst, verbrauchten analog 9.4 ccm 0.1-n. HCl.

Ber. für die Bildung des Salzes [C₅H₄O₃N₄Na]₂ ein Äquivalent von 168. Gef. 170, 181.

Harnsäure titriert sich unter denselben Bedingungen ebenfalls als einbasische Säure.

Leukopterin löst sich in 1-n. Soda-Lösung beim Erwärmen leicht auf; beim Abkühlen krystallisiert rasch ein hellcitronengelbes Natriumsalz in Sphäro-Krystallen aus, das, abgesaugt, mit wenig Wasser gewaschen und im Exsiccator getrocknet, die Zusammensetzung C₁₀H₉O₆N₈Na + 2 H₂O besitzt.

9.117 mg Stbst. verloren bei 150° im Vakuum der Wasserstrahl-Pumpe 0.900 mg H₂O. — 7.182 mg Stbst. verloren 0.704 mg H₂O.

C₁₀H₉O₆N₈Na + 2 H₂O (396.0). Ber. H₂O 9.09. Gef. H₂O 9.88, 9.80.

8.211 mg getrocknetes Na-Salz: 1.564 mg Na₂SO₄. — 6.482 mg Na-Salz: 1.231 mg Na₂SO₄.

C₁₀H₉O₆N₈Na (360.0). Ber. Na 6.39. Gef. Na 6.17, 6.15.

Das getrocknete Natriumsalz ist äußerst hygroskopisch. Aus Harnsäure erhielten wir unter den gleichen Bedingungen das farblose Mono-natriumsalz der Zusammensetzung C₅H₃O₃N₄Na + 1/2 H₂O.

Das Kaliumsalz des Leukopterins läßt sich nicht so leicht rein darstellen. Hier krystallisiert aus 1-n. Pottasche-Lösung im Laufe eines Tages immer ein Gemisch aus Mono- und Dikaliumsalz des Leukopterins aus, das der Analyse nach aus etwa 30% Mono-

⁸⁾ Die unreine I. Fraktion ergab nur 25% reines Leukopterin.

und 70 % Dikaliumsalz besteht. Unter dem Mikroskop sieht man neben ziemlich langen, spindelförmigen, farblosen Nadeln dichte Aggregate sehr kurzer Nadelchen, die gelblich gefärbt sind und dem Mono-Kaliumsalz entsprechen dürften.

Das Silbersalz des Leukopterins hat sich nicht rein darstellen lassen. Die voluminöse, gallertartige, gelbe Fällung, die man mit Silbernitrat aus der ammoniakalischen Lösung des Leukopterins erhält, zersetzt sich beim Trocknen. Das Bariumsalz haben wir nur als amorphes, gelbliches, sehr schwer löslichen Niederschlag erhalten.

In analoger Weise wie aus *Pieris napi*, läßt sich Leukopterin auch aus *Pieris brassicae* darstellen. Nur wurde hier das rohe Leukopterin durch Umkrystallisieren aus 20-proz. Salzsäure gereinigt.

0.5 g Roh-Leukopterin werden durch Auskochen mit 25 ccm 20-proz. Salzsäure von dem größten Teil der dunklen Verunreinigungen befreit. Der Rückstand wird durch 6-maliges Auskochen mit je 60 ccm 20-proz. Salzsäure fast restlos in Lösung gebracht. Aus jedem der Salzsäure-Auszüge krystallisieren beim Erkalten schwach rosabraun gefärbte Nadeln, die Eigenschaften und Zusammensetzung des Leukopterins zeigen.

2.808 mg der 1. Fraktion: 3.677 mg CO₂, 0.798 mg H₂O. — 2.809 mg derselben Fraktion: 3.698 mg CO₂, 0.846 mg H₂O. — 2.414 mg Sbst.: 0.723 ccm N (17°, 708 mm).

3.742 mg der letzten Fraktion: 4.97 mg CO₂, 1.05 mg H₂O. — 3.700 mg derselben Fraktion: 4.94 mg CO₂, 1.06 mg H₂O. — 2.511 mg Sbst.: 0.743 ccm N (16°, 715 mm).

C₅H₅O₃N₄ (169.0). Ber. C 35.49, H 2.98, N 33.16.

Gef. „ 35.73, 35.92, „ 3.18, 3.37, „ 32.84.

„ „ 36.22, 36.41, „ 3.14, 3.21, „ 32.88.

Auch hier zeigt jede der Fraktionen bei der Phosphorwolframsäure-Reaktion nur 2—4 % der Farb-Intensität, die eine gleiche Menge Harnsäure ergibt. Das Verhalten gegen Silbernitrat in Soda-Lösung, bei der Murexidreaktion usw. ist das für Leukopterin typische.

325. N. D. Zelinsky und M. A. Rakusin:

Adsorption von Quecksilberdämpfen mit aktivierter Holzkohle.

(Aus d. Laborat. für organ. Chemie d. I. Univ. Moskau, vorgetragen in d. Sitzung d. Gesellschaft d. Naturforscher in Moskau am 21. Mai 1925; eingegangen am 14. Juli 1926.)

Die hohe Adsorptionsfähigkeit der aktivierten Holzkohle gegenüber Gasen und Dämpfen wurde besonders während des letzten Krieges bekannt und bei der Herstellung von Gasmasken verwertet. Unter den kämpfenden Ländern hat Rußland als erstes bereits 1915 sich der aktivierten Holzkohle im Gaskampfe bedient.

Die mit der Adsorption von Metaldämpfen durch Holzkohle in Zusammenhang stehenden Fragen sind jedoch noch nicht studiert, und so sollen in der vorliegenden Mitteilung die ersten Versuche in dieser Richtung beschrieben werden.

In dem von der Pariser Akademie preisgekrönten Werke Duclaux' „Les colloïdes“ findet man¹⁾ folgende Erzählung über einen merkwürdigen Fall einer Quecksilber-Vergiftung, der uns Veranlassung zu den nachstehenden Versuchen gab: Im Jahre 1810 nahm das englische Schiff „The Triumph“ eine größere Ladung von Quecksilber an Bord. Das Metall floß

¹⁾ Duclaux: „Les colloïdes“, Russ. Übersetzung (Leningrad, 1924), S. 112.