

Zusammenfassung

1. Es konnte gezeigt werden, dass bei getrockneten Alkalicellulosen, die mit verschiedenen Alkalien hergestellt wurden, zwischen den aufgenommenen Mol Gesamtalkali und den gebildeten Alkoholat-Gruppen Proportionalität besteht.

2. Durch Schütteln trockener Alkalicellulosen mit Methanol kann das Alkoholatalkali der Cellulose als Methylalkoholat ausgetauscht werden.

3. Die maximale Anzahl der umgesetzten OH-Gruppen ist von der Art des verwendeten Alkalis abhängig.

Chemisches Laboratorium der STECKBORN KUNSTSEIDE AG.

142. Fluoreszierende Stoffe aus *Drosophila melanogaster*

10. Mitteilung¹⁾

Beitrag zur Konstitutionsaufklärung der Drosopterine

von **M. Viscontini**

(10. VI. 58)

In der 5. Mitteilung beschrieben wir eine Isolierungsmethode der drei roten Pigmente Neodrospterin, Drospterin und Isodrospterin und gaben eine Elementaranalyse des Drospterins an²⁾. Seither haben wir eine grössere Menge *Drosophila*-Material nach dieser Methode behandelt und je 10 mg reines Drospterin und kristallisiertes Isodrospterin erhalten¹⁾. Da die Elementaranalysen beider Substanzen nicht zu stark voneinander abweichen, kann man annehmen, dass es sich um Isomere handelt. Ausserdem vermuten wir, dass Neodrospterin auch ein Isomeres der zwei anderen Pteridine ist; dies wird durch die Identität der IR.-Spektren der drei Produkte (Fig. 1 und 2) sowie durch das Studium der Reduktion und der Rückoxydation der Drosopterine weiterhin bekräftigt.

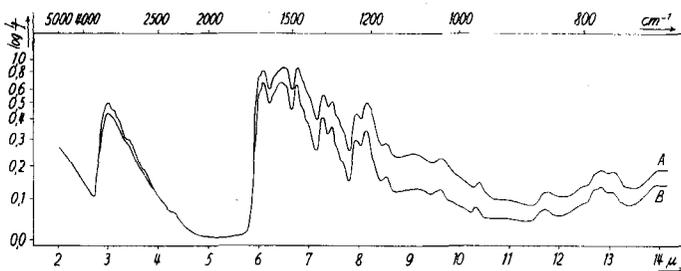


Fig. 1

IR.-Spektren von A Drospterin, B Isodrospterin, gemessen in KBr

¹⁾ 9. Mitteilung: M. VISCONTINI, *Helv.* **41**, 922 (1958).

²⁾ M. VISCONTINI, E. HADORN & P. KARRER, *Helv.* **40**, 579 (1957).

Da sich keines der bekannten und von uns untersuchten Pteridine mit NaBH_4 reduzieren liess, möchten wir annehmen, dass die Reduktion der Drosopterine nicht das Pteridingerüst selbst, sondern eine Carbonyl-Funktion der Seitenkette angreift, eine Vermutung, die durch die katalytische Reduktion gestützt wird, da diese Reduktion nach der Aufnahme von 1 Mol H_2 aufhört.

Die Dihydro-drosopterine sind farblose Substanzen, die sich an der Luft spontan unter Bildung von Drosopterinen zurückoxydieren. Neben Drosopterin findet man in der oxydierten Mischung stets 2-Amino-6-hydroxy-pteridin (III) und 2-Amino-6-hydroxy-pteridin-8-carbonsäure (IV). Es können auch andere Substanzen entstehen, die je nach den Ausgangspigmenten variieren. Praktisch erhält man:

nach der Oxydation des Dihydro-drosopterins Drosopterin, ein wenig Neodrosopterin, aber kein Isodrosopterin;

nach der Oxydation des Dihydro-isodrosopterins Isodrosopterin, ein wenig Neodrosopterin, kein Drosopterin und Spuren eines Produktes, das sich papierchromatographisch wie HB_2 ^{4a)} verhält;

nach der Oxydation des Dihydro-neodrosopterins gleiche Mengen Isodrosopterin, Drosopterin und Neodrosopterin, neben kleineren Mengen des Produktes mit HB_2 -Eigenschaften.

Wie wir schon erwähnt haben, lässt auch die leichte gegenseitige Umwandlung der Pigmente eine Isomerie vermuten, und die Umwandlung des Isodrosopterins und des Neodrosopterins in HB_2 erlaubt, sie in Beziehung mit einem bekannten Pteridin (V) zu bringen.

Die Messungen der optischen Drehungen der Ausgangs-Pteridine und deren Umwandlungsprodukte liefern auch interessante Ergebnisse. Die spezifischen optischen Drehungen von Isodrosopterin und Drosopterin sind so hoch, dass man sie in sehr verdünnten Lösungen messen kann; bei gleicher Verdünnung ist das Neodrosopterin optisch inaktiv, was immerhin nicht ausschliesst, dass es doch ein oder mehrere asymmetrische Kohlenstoffatome besitzt⁵⁾. Reduziert man Neodrosopterin, so erhält man in der Tat nach der Rückoxydation des hydrierten Pigmentes Drosopterin und Isodrosopterin, welche beide optisch aktiv sind. In ähnlicher Weise ergibt die Oxydation des Dihydro-drosopterins das (–)-Drosopterin und diejenige des Dihydro-isodrosopterins das (+)-Isodrosopterin.

Wir haben in der nachfolgenden Tab. alle experimentellen Ergebnisse zusammengestellt.

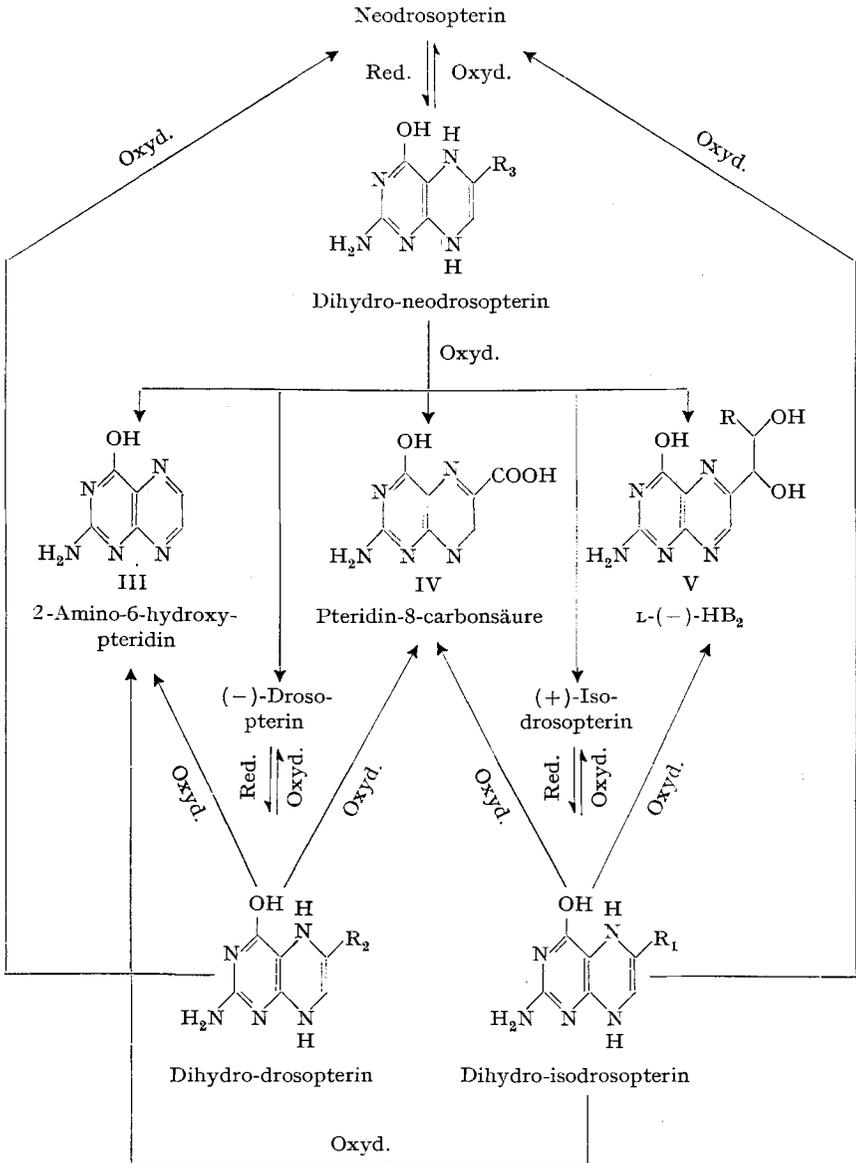
Die IR.-Spektren der 3 Drosopterine zeigen einige Merkmale, die Auskunft über die Konstitution dieser Pigmente geben können. Das Interessanteste besteht darin, dass die 5,8 und 5,9 μ Banden, die bei allen 2-Amino-6-hydroxy-pteridinen und insbesondere bei HB_2 und den synthetischen Dihydroxypropyl-pteridinen auftreten, bei den Drosopterinen durch zwei starke Banden bei 6,0 und 6,1 μ ersetzt sind. Nach Angaben verschiedener Autoren⁶⁾ soll eine

^{4a)} Bedeutung von HB_2 siehe Helv. **38**, 398 (1955); **41**, 440 (1958).

⁵⁾ M. VISCONTINI & P. KARRER, Helv. **40**, 968 (1957).

⁶⁾ Siehe z. B. M. L. BENDER & J. FIGUERAS, J. Amer. chem. Soc. **75**, 6304 (1953).

solche Verschiebung auf die Bildung einer Enol- (aus einer Carbonyl-) Gruppe zurückzuführen sein, die an ein System konjugierter Doppelbindungen angeschlossen ist.



Den Herren Prof. P. KARRER und E. HADORN danke ich für ihr ständiges Interesse an dieser Arbeit, Fräulein S. HUPPENBAUER und J. SEREN für die experimentelle Mitarbeit und dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung für die materielle Unterstützung.

Experimenteller Teil

Das *Drosophila*-Material wurde uns von Herrn Prof. E. HADORN, Zoologisches Institut der Universität Zürich, in sehr freundlicher Weise zur Verfügung gestellt.

Die Drosopterine wurden nach der für die Herstellung des kristallisierten Isodrosopterins angegebenen Methode¹⁾²⁾ bearbeitet. Trotz unseren Bemühungen ist es uns noch nicht gelungen, das Drosopterin kristallin zu erhalten, und wir haben auch nur 4 mg festes Neodrosopterin isoliert, das nicht rein war und noch Kupfer enthielt. Neodrosopterin ist viel unbeständiger als die zwei anderen Drosopterine, in Wasser aber weniger löslich, und lässt sich auch nur langsamer chromatographieren, so dass seine Isolierung nicht immer mit befriedigenden Ausbeuten erfolgt. Zum Vergleich geben wir nachstehend die in unserem Laboratorium gefundenen Elementaranalysen des kristallisierten Isodrosopterins bzw. des reinen, aber nicht kristallisierten Drosopterins, des unreinen Neodrosopterins, des Pteridins HB₂⁷⁾ sowie eines Dihydroxypropyl-pteridins C₉H₁₁O₃N₅ an:

Isodrosopterin	Gef. C	45,80	H	4,91	N	31,44%	
Drosopterin	Gef. „	43,21	„	5,61	„	29,69	(C)—CH ₃ 3,16%
Neodrosopterin	Gef. „	43,82	„	6,40			(Aschen berücksichtigt)
HB ₂	Gef. „	43,80	„	4,99	„	28,0	(C)—CH ₃ 3,84%
C ₉ H ₁₁ O ₃ N ₅	Ber. „	45,56	„	4,68	„	29,52	„ 6,3 %

Sofern es möglich war, haben wir die Drosopterine in wässriger Lösung gleich nach ihrer Elution und nach Entfernung des NH₃ im Vakuum verwendet. Die Messungen der Extinktions-Maxima im Bereich 470–500 mμ ergaben die Konzentrationen der entsprechenden Pigmente¹⁾²⁾; dabei hat man angenommen, dass die molare Extinktion des Neodrosopterins mit der Extinktion des Drosopterins identisch ist.

Reduktionen mit NaBH₄. Zu einer wässrigen Lösung, die 1–5 mg Pigment enthielt, tropfte man sehr langsam unter leichtem Rühren bis zur vollständigen Entfärbung eine 0,5-proz. NaBH₄-Lösung. Die UV.-Spektren der gebildeten Dihydrodrosopterine wurden nach der nötigen Verdünnung direkt in den erhaltenen farblosen Lösungen gemessen.

Katalytische Reduktionen. Die Mikrohydrierungen wurden in wässriger Lösung bei 724,4 Torr/25° mit Platin als Katalysator durchgeführt. Die Hydrierungen von 5 mg Drosopterin und 5 mg nicht kristallisiertem Isodrosopterin waren nach 3 Std. beendet. Aufgenommen wurden 0,53 bzw. 0,59 ml H₂. Nimmt man für die Drosopterine ein Molekulargewicht von 237 an, so würden diese Volumina der Aufnahme von 1 Mol. H₂ entsprechen.

Oxydation der Dihydro-drosopterine. – a) Nach der katalytischen Reduktion: Die Lösungen wurden von Pt abfiltriert und an der Luft stehengelassen. Die Bildung der Drosopterine geht sehr rasch vor sich.

b) Nach der Reduktion mit NaBH₄: Die Lösungen wurden mit verdünnter Essigsäure neutralisiert, auf pH 6 gebracht und an der Luft stehengelassen. Die rote Farbe des Drosopterins erscheint sogleich.

Isolierung von Oxydationsprodukten. Nach Beendigung der Oxydationen an der Luft hat man die Lösungen im Vakuum eingengt und die Oxydationsprodukte an einer Papierpulversäule von 1 cm Durchmesser und 20 cm Höhe chromatographiert. Als Eluierungsmittel diente destilliertes Wasser. Eine erste blau fluoreszierende Zone wurde aufgefangen. Anschliessend hat man die stark am Papier adsorbierten Drosopterine mit einer Mischung von Methanol/0,5-proz. Ammonacetat-Lösung (1:1) eluiert. Je nach den Experimenten wurden so das Isodrosopterin bzw. das Drosopterin und das Neodrosopterin getrennt erhalten. Man hat jede dieser Fraktionen gereinigt, indem man die einzelnen Pigmente an einer kurzen Papierpulversäule aufgetragen, mit Wasser gründlich gewaschen und hierauf mit einer ammoniakalischen Lösung vom pH 9 eluiert hat. Alle Drosopterine wurden durch ihre UV.-Adsorptionsspektren, durch Papierchromatogramme und durch ihre optischen Drehungen (pH 7–8) charakterisiert. Die gefundenen $[\alpha]_D^{20}$ -Werte sind in der folgenden Tab. wiedergegeben.

⁷⁾ M. VISCONTINI, E. LOESER & P. KARRER, *Helv.* **41**, 440 (1958).

	$[\alpha]_D^{20}$ der Ausgangs-pigmente	$[\alpha]_D^{20}$ nach der Oxydation der entsprechenden Dihydroderivate	$[\alpha]_D^{20}$ der aus Neodroso-pterin erhaltenen Pigmente
Isodrosopterin	+ 2150° (c = 9 mg/100 ml)	+ 2500° (c = 17 mg/100 ml)	+ 2550° (c = 3,5 mg/100 ml)
Drosopterin	- 2400° (c = 37 mg/100 ml)	- 2900° (c = 23 mg/100 ml)	- 2200° (c = 3,5 mg/100 ml)
Neodrosopterin	0° (c = 10 mg/100 ml)	0° (c = 5 mg/100 ml)	0° (c = 3 mg/100 ml)

Als dann wurde die erste blau fluoreszierende Zone an einer Papierpulversäule von 1 cm Durchmesser und 15 cm Höhe chromatographiert. Als Eluierungsmittel diente Propanol/1-proz. Ammoniak-Lösung (2:1). Es bildeten sich zwei blau fluoreszierende Zonen, welche getrennt aufgefangen wurden. Die erste stellte noch ein Gemisch von zwei Pteridinen dar, die zweite erwies sich als 2-Amino-6-hydroxy-pteridin-8-carbonsäure. Man hat das Gemisch an einer Papiersäule mit 3-proz. NH_4Cl -Lösung chromatographiert und so die zwei Pteridine voneinander getrennt. Das erste war das HB_2 -Produkt, das zweite das 2-Amino-6-hydroxy-pteridin. Die Pteridin-8-carbonsäure und das 2-Amino-6-hydroxy-pteridin wurden durch ihre UV.-Absorptionsspektren und durch Papierchromatogramme mit üblichen Lösungsmitteln charakterisiert. Leider stand zu wenig HB_2 zur Verfügung, um ein UV.-Absorptionsspektrum zu messen. Wir konnten das Produkt nur papierchromatographisch charakterisieren.

Die IR.-Spektren (Fig. 1 und 2) wurden in KBr aufgenommen. Wir glauben, die Metallspuren, die das Neodrosopterin begleiten, für die unscharfe Bande im Gebiet 8,5 bis 10,5 μ verantwortlich machen zu können; in der Tat ist die Stärke dieser Bande proportional zur Menge dieses Metalles.

Die Analysen wurden von Herrn H. FROHOFER und Frä. H. WILD in unserem Mikroanalytischen Laboratorium ausgeführt. Herr FROHOFER hat die IR.-Spektren aufgenommen.

Zusammenfassung

Die gegenseitigen Umwandlungen des Isodrosopterins, Drosopterins, Isodrosopterins und HB_2 -Pteridins nach Reduktion und Rückoxydation wurden beschrieben.

Zürich, Chemisches Institut der Universität

143. Bestimmung des Diffusionskoeffizienten von Tristearin in Triolein nach der Kapillarmethode von R. Jeanneret¹⁾ und F. Grün

(6. VI. 58)

Im Rahmen von Untersuchungen über die «innere Beweglichkeit» von Flüssigkeiten stellte sich uns das Problem, Diffusionskoeffizienten D von diffundierenden Substanzen mit Molekulargewichten von ungefähr 1000 und darüber in viskosen Diffusionsmedien zu bestimmen. An solchen Systemen sind bis jetzt kaum Messungen durchgeführt worden. Prinzipiell stehen die be-

¹⁾ Diese Arbeit enthält einen Teil der Ergebnisse der Dissertation von Herrn R. JEANNERET.