

chromatography on silicagel, by electrophoresis on paper, by amino-acid analysis, and by digestion of the total hydrolysate with L-amino-acid oxidase of snake venom. The ACTH-activity displayed was 5–10 U/mg in the *in vitro* assay of SAFFRAN & SCHALLY⁴⁾ and less than 1 USP-U/mg in the subcutaneous test according to SAYERS⁵⁾ (solution in 1% gelatin).

Organisch-Chemisches Institut der Universität Zürich, und
Forschungslaboratorien der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel,
Pharmazeutische Abteilung

281. Fluoreszierende Stoffe aus *Ephestia kühniella* ZELLER

3. Mitteilung¹⁾

Isolierung und Strukturen von Erythropterin, Ekapterin und Lepidopterin

von M. Viscontini und H. Stierlin

(1. X. 62)

Nachdem bei früheren Untersuchungen²⁾ an *Ephestia kühniella* ZELLER (Mehlmotte) das Vorkommen verschiedener Pterine nachgewiesen und vier dieser Pterine als Xanthopterin, Isoxanthopterin, 2-Amino-6-hydroxy-pteridin (Hb₁) und Bioppterin (Hb₂) identifiziert werden konnten, erschien es in Fortsetzung dieser Arbeiten wünschenswert, die übrigen bisher in ihrer Struktur noch nicht aufgeklärten Pterine zu untersuchen. Es handelt sich hauptsächlich um das bereits erwähnte, voraussichtlich mit Xanthopterin verwandte Pterin G₁, sowie um eine in unserer ersten Arbeit erwähnte orange-fluoreszierende Substanz. Damals wurde zur Isolierung der Substanzen mit den ganzen Tieren gearbeitet, wir konnten aber in der Zwischenzeit feststellen, dass die uns interessierenden Pterine in annehmbarer Menge in den Köpfen der Mehlmotten vorkommen. Wir verwendeten daher in der vorliegenden Arbeit die abgetrennten Köpfe, was den grossen Vorteil hat, dass bei der Säulenchromatographie unerwünschte Begleitstoffe wie Proteine, Lipide usw. weitgehend fehlen.

Als tierisches Material wurden die schwarzbraunäugige Wildform *a*⁺ und die rotäugige Mutante *a* von *Ephestia kühniella* verwendet. Beide Stämme wurden uns in sehr freundlicher Weise von Herrn Prof. A. KÜHN, MAX-PLANCK-Institut für Biologie, Tübingen, überlassen.

Zunächst prüften wir mit Hilfe der üblichen zweidimensionalen Papierchromatographie das genaue Muster der in den *Ephestia*-Köpfen vorhandenen fluoreszierenden Substanzen nach.

Bei der Verwendung ammoniakhaltiger Laufmittel stellte sich heraus, dass *Ephestia*-Pterine während der Aufarbeitung teilweise zersetzt werden; es wurde

¹⁾ Vorläufige Mitteilung: M. VISCONTINI & H. STIERLIN, Helv. 44, 1783 (1961).

²⁾ M. VISCONTINI, A. KÜHN & A. EGELHAAF, Z. Naturforsch. 11b, 501 (1956).

daher möglichst unter Ausschluss von Ammoniak gearbeitet. Die zweidimensionalen Chromatogramme (Fig. 1 und 2) wurden mit *i*-Propanol/2-proz. Ammoniumacetat (1:1) in der einen Dimension und mit 3-proz. *tert.*-Na-Citrat-Lösung in der zweiten Dimension entwickelt.

Die Wildform a^+ zeigt ein Fluoreszenzmuster von folgenden 9 Substanzen (Fig. 1), die wir mit den Buchstaben A–I (in Klammern jeweils die Fluoreszenzfarbe) bezeichnen:

A (gelb)	D (violett)	G (blaugrün)
B (grünblau)	E (blaugrün)	H (blau)
C (orange)	F (blaugrün)	I (blau)

Davon sind folgende Pterine schon bekannt: D: Isoxanthopterin, E: Xanthopterin, H: 2-Amino-6-hydroxy-pteridin, I: Biopterin.

Die in gleicher Weise aufgenommenen 2-dimensionalen Chromatogramme von a -Mutanten (Fig. 2) bieten ein ähnliches Bild.

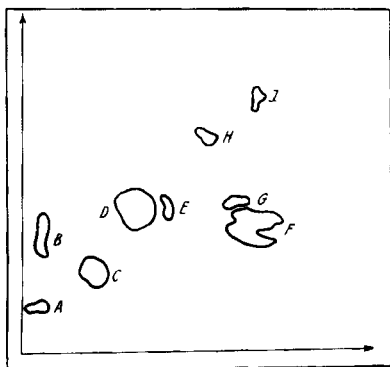


Fig. 1. Zweidimensionales Chromatogramm von Mehlmotte-Köpfen (Wildform a^+)

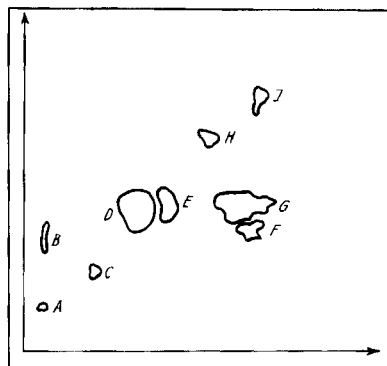


Fig. 2. Zweidimensionales Chromatogramm von Mehlmotte-Köpfen (Mutante a)

Senkrecht: *i*-Propanol/2-proz. Ammoniumacetat (1:1)
Waagrecht: 3-proz. Na-Citrat-Lösung

Fertigt man die Chromatogramme unter den gleichen Bedingungen an und verwendet man die gleiche Anzahl von Köpfen, so stellt sich eindeutig heraus, dass die Mutante a mengenmässig bedeutend mehr Pterine enthält als die Wildrasse a^+ . Die Verhältnisse der einzelnen vorkommenden Pterine sind jedoch sehr unterschiedlich. So enthält die Wildrasse a^+ verhältnismässig mehr A und C, die Mutante a hingegen mehr Xanthopterin (E) und vor allem G, Beobachtungen, die übrigens von KÜHN und Mitarbeitern schon gemacht und publiziert wurden³⁾.

Zur Überprüfung der Ergebnisse wurden auch Rundchromatogramme angefertigt (Fig. 3). Die Rundchromatogramme, vor allem die der Mutante a , ergaben Fluoreszenzmuster, welche sich an der Luft verändern. Nach mehrstündigem Stehen an der Luft tritt bei a sehr deutlich, bei a^+ nur schwach die neue Bande G auf. Papierchromatographisch konnten wir feststellen, dass diese Bande tatsächlich dem

³⁾ E. HADORN & A. KÜHN, Z. Naturforsch. 8b, 582 (1953); A. KÜHN & A. EGELHAAF, Naturwiss. 42, 634 (1955); A. KÜHN, *ibid.* 43, 25 (1956); A. EGELHAAF, *ibid.* 43, 165 (1956).

Fleck G des zweidimensionalen Chromatogrammes entspricht und dass das so gebildete Produkt G mit Substanz F identisch ist. Weiter unten werden wir noch näher auf dieses Problem eingehen.

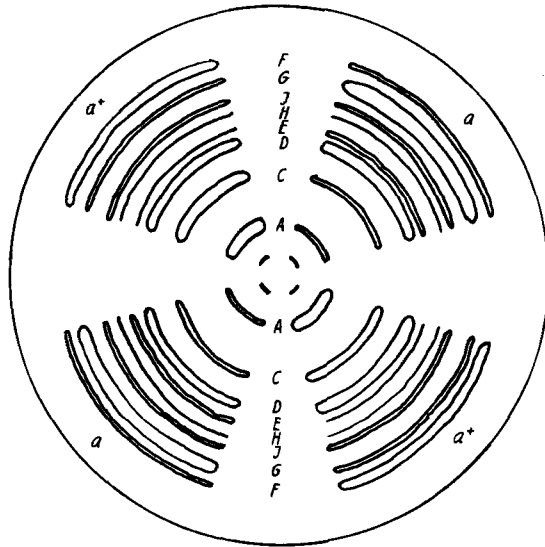


Fig. 3. Rundchromatogramm von Mehlmotte-Köpfen (Wildform a^+ und Mutante a)
 Lösungsmittel: *i*-Propanol/2-proz. Ammoniumacetat (1:5). Die Bezeichnungen entsprechen denjenigen der zweidimensionalen Chromatogramme.

Die drei in ihrer Struktur noch nicht aufgeklärten Substanzen A, C und F – die Aufarbeitung wird im experimentellen Teil eingehend beschrieben – wurden durch Chromatographie isoliert und ihre Konstitution auf Grund folgender Erwägungen ermittelt:

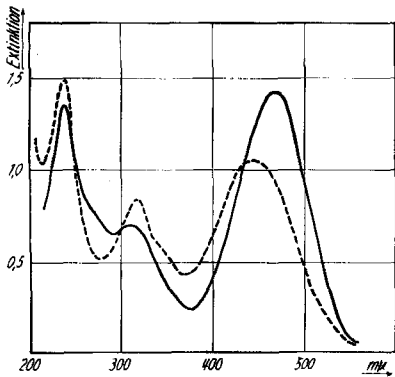


Fig. 4. UV.-Spektrum von Erythropterin
 ----- pH 2 ————— pH 12

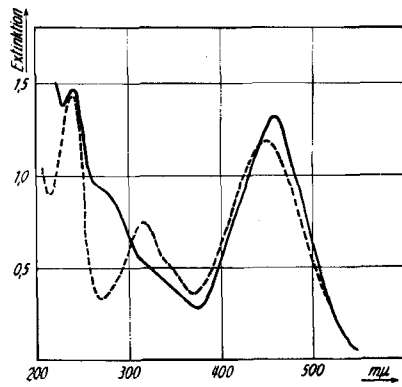
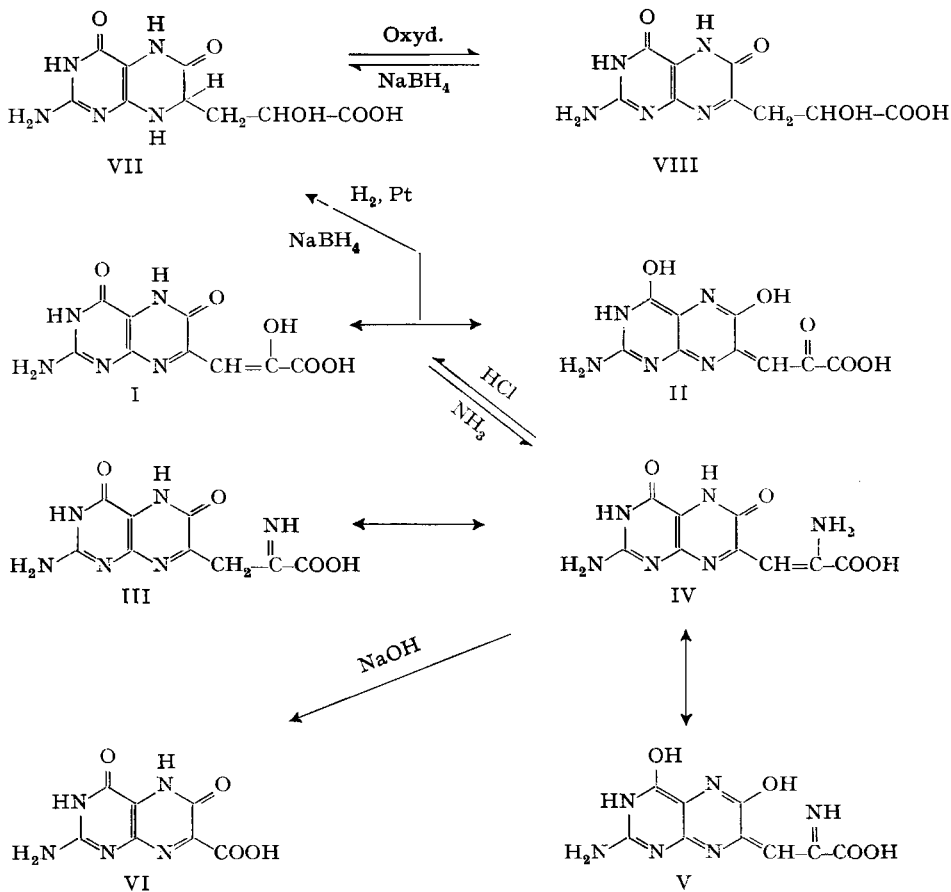


Fig. 5. UV.-Spektrum von Lepidopterin
 ----- pH 2 ————— pH 12

Substanz C, die der zuvor erwähnten orange-fluoreszierenden Substanz entspricht, zeigte auf Papier eine orange Farbe. Spektrographisch (UV.- und sichtbares Absorptionsspektrum s. Fig. 4) konnte Substanz C durch direkten Vergleich ihres

UV.-Spektrums mit demjenigen des von PFLEIDERER aus *Catopsilia argante* isolierten und in seiner Struktur aufgeklärten *Erythropterins* (I) als solches identifiziert werden. Beide Substanzen erwiesen sich in ihren chemischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften als identisch⁴). Auf Grund neuerer Ergebnisse unseres Institutes ziehen wir für das Erythropterin die chinoid Struktur II vor⁵).

Substanz A wird von uns als *Lepidopterin*⁶) bezeichnet. Während der Aufarbeitung fiel die Ähnlichkeit der Spektren von A (Fig. 5) und Erythropterin (Fig. 4) auf, und der Gedanke lag nahe, dass es sich um verwandte Produkte handeln könnte.



⁴) W. PFLEIDERER, *Angew. Chem.* **73**, 581 (1961). – Wir danken Herrn Dr. PFLEIDERER für die Überlassung einer Probe Erythropterin aus *Catopsilia argante*.

⁵) W. VON PHILIPSBORN, W. TRABER & H. STIERLIN, Mitt. auf dem Internat. Pterin-Symposium, Stuttgart, Sept. 1962, im Druck.

⁶) Bereits 1925 hatten H. WIELAND & C. SCHÖPF, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **58**, 2178 (1925), für alle fluoreszierenden Pigmente der Schmetterlinge den Namen Lepidopterin vorgeschlagen. Sie schreiben wörtlich: «Über die substantiellen Farbstoffe, die Pigmente der Schmetterlingsflügel, für die wir die Bezeichnung Lepidopterine oder allgemeiner Pterine vorschlagen, ...». Da der Name Lepidopterin sich nicht eingebürgert hat, glauben wir, dass wir ihn für dieses neue in Schmetterlingen entdeckte Pterin ohne weiteres verwenden können.

In der Tat lässt sich Erythropterin mit Ammoniak in A umwandeln. Eine weitere Behandlung von A mit Natronlauge führt zu Xanthopterin-9-carbonsäure (VI). Ausserdem lässt sich A mit Salzsäure wieder in Erythropterin zurückverwandeln. Auf Grund dieser Eigenschaften nehmen wir an, dass es sich beim Lepidopterin um ein Ketimin des Erythropterins handelt, dem wir die tautomeren Formeln III, IV, V zuschreiben. Auch hier sollte das Lepidopterin hauptsächlich in der chinoiden Struktur vorliegen.

Substanz F ist unser G₁ der früheren Veröffentlichung²⁾. Dass es sich um ein Xanthopterinderivat handelt, geht schon aus seinem UV.-Spektrum hervor (Fig. 6). Eine nähere Verwandtschaft dieser Substanz, die wir als *Ekapterin* bezeichnen, mit Erythropterin sowie Lepidopterin wurde vermutet, da sie sich unter bestimmten Umständen ineinander umwandeln können. Katalytische Reduktion von Erythropterin und Rückoxydation an der Luft führt zu Ekapterin, und wir nehmen an, dass Erythropterin zunächst zu einem tetrahydrierten Produkt reduziert wird, welches sich an der Luft zu Ekapterin (VIII) oxydiert. Die Reduktion von Erythropterin mit NaBH₄ gefolgt von Rückoxydation führt zu dem gleichen Produkt. Eine weitere Bestätigung der Formel dürfte die optische Aktivität des Ekapterins liefern: $[\alpha]_D^{20} = -144^\circ \pm 30^\circ$, $c = 23,6 \text{ mg}/100 \text{ ml}$ (*i*-Propanol/Wasser 2:1, pH = 9).

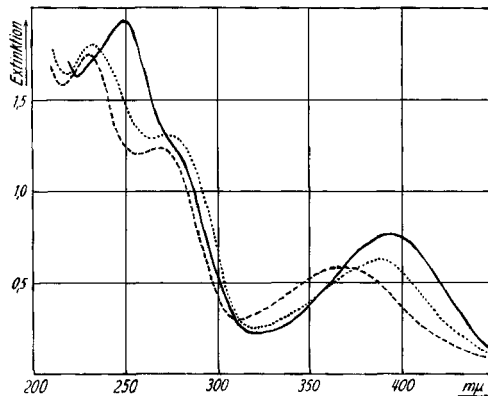
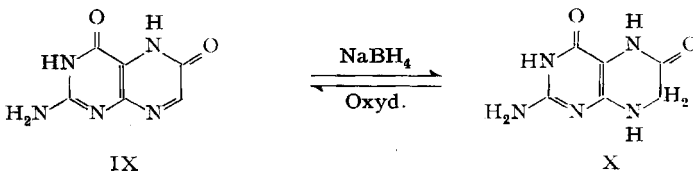


Fig. 6. UV.-Spektrum von Ekapterin

----- pH 2 pH 5 ——— pH 12

Ekapterin lässt sich in wässriger Lösung gleich wie Xanthopterin (IX) mit NaBH₄ reduzieren, und wie beim Xanthopterin nehmen wir an, dass es sich dabei 9,10-Dihydroekapterin (VII) bildet. Für diese Annahme spricht die Tatsache, dass die Spektren von 9,10-Dihydroxanthopterin (X) und von hydriertem Ekapterin identisch sind (Fig.7).



Die Fluoreszenz des Ekapterins verschwindet bei der Reduktion und tritt bei der Rückoxydation an der Luft wieder auf.

Bei der oben erwähnten *Substanz G* dürfte es sich um ein solches nichtfluoreszierendes, hydriertes Ekapterin handeln. Durch Oxydation an der Luft geht es allmählich in Ekapterin über. Die starke Anhäufung von Produkt G in der Mutante *a* liesse sich so erklären, dass dieser Mutante eine Oxydase, welche die Oxydation von hydriertem Ekapterin zu Ekapterin bewirkt, fehlt. Es ist durchaus möglich, dass

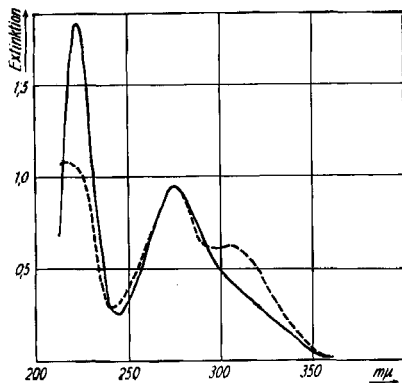


Fig. 7. UV.-Spektrum von 9,10-Dihydroxanthopterin (X) und 9,10-Dihydroekapterin (VII)
 ----- pH 2 ————— pH 12

diese Oxydase an der Bildung von Ommochromen beteiligt ist. (Der Mutante *a* fehlen nämlich auch die Ommochrome.) Einmal mehr würde sich bestätigen, dass eine Mutation durch das Fehlen eines Enzymes zustande kommt. Dies wurde schon bei der Mutante *rosy* von *Drosophila melanogaster* bewiesen, welche keine Xanthinoxidase besitzt⁷⁾.

Wir danken den Herren Prof. A. KÜHN und Dr. EGELHAAF, MAX-PLANCK-Institut für Biologie, Tübingen, bestens für die Überlassung der *Ephestia*-Stämme und für ihre sehr wertvollen Hinweise. Ebenso gilt unser Dank Herrn Dr. W. PFLEIDERER, Stuttgart, der uns über seine Erythropterin-Arbeiten stets auf dem laufenden hielt, und Fr. Dr. E. MÖHLMANN, die erste Versuche mit *Ephestia*-Köpfen durchführte. Dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG danken wir für die gewährte Hilfe bestens.

Experimenteller Teil

Zweidimensionale Chromatogramme. Für die zweidimensionalen Chromatogramme wurden 40 Köpfe von *Ephestia hühiella* im Mörser mit 0,5 ml *i*-Propanol/2-proz. Ammoniumacetat (1:1) gut zerrieben, die festen Bestandteile wurden abzentrifugiert und 1/4 der Lösung mittels einer Kapillare punktförmig aufgetragen. Als Entwicklungsmittel wurden *i*-Propanol/2-proz. Ammoniumacetat (1:1) für die erste Dimension und 3-proz. Na-Citrat-Lösung für die zweite Dimension verwendet.

Rundchromatogramme. Durchmesser des Chromatogrammes 22 cm. Das Lösungsmittel wird mittels eines kleinen Papierstreifens, der durch einen Schlitz in der Mitte des Chromatogrammes geführt wird, angesaugt. Als Laufmittel wurden *i*-Propanol/2-proz. Ammoniumacetat (1:5) oder eine wässrige 3-proz. Lösung von *tert.* Na-Citrat verwendet.

⁷⁾ E. HADORN & I. SCHWINCK, Z. indukt. Abstamm. 87, 582 (1956); E. HADORN, Proc. X. Int. Congress Genetics, Vol. I, 337 (1960); H. S. FORREST, E. GLASSMANN & H. K. MITCHELL, Science 124, 725 (1956).

Isolierung der Pterine. Nach Abtöten der Tiere mit Äther wurden die Köpfe abgetrennt und in Äthanol im Kühlschrank aufbewahrt. Dies ist mehrere Monate möglich, ohne dass merkbare Verluste an Pterinen eintreten. Zur Extraktion werden die Köpfe in kleineren Anteilen – pro Ansatz wurden ungefähr 15–20000 Köpfe aufgearbeitet – im Mörser mit Seesand zu einer möglichst homogenen Masse zerrieben und mit 1–2 Löffeln Cellulosepulver vermengt. Die Abtrennung der festen Bestandteile erfolgt an einer aufgeschlammten Cellulosepulver-Säule (WHATMAN Cellulosepulver Standard) von 12 cm Länge und 10–12 cm Durchmesser. Laufmittel: *i*-Propanol/2-proz. Ammoniumacetatlösung (1:1); bei der Verwendung von *i*-Propanol/Wasser (1:1) oder *i*-Propanol/1-proz. NH_3 -Lösung (2:1) wird das Erythropterin weitgehend zersetzt. Alle fluoreszierenden Substanzen wurden zusammen aufgefangen. Das Eluat wurde konzentriert und zur Abtrennung von Erythropterin und Lepidopterin an einer möglichst kurzen, trocken gestopften Säule (Länge 15 cm, Durchmesser je nach der Substanzmenge) mit 1-proz. Ammoniumchloridlösung chromatographiert. Hierbei fallen als erste Fraktion Ekapterin sowie die übrigen Pterine ausser Erythropterin und Lepidopterin an. Die beiden letzteren können im Gemisch oder eventuell schon getrennt erhalten werden. Die einzelnen Fraktionen wurden weiteren Reinigungsverfahren unterworfen.

Die Abtrennung des Ekapterins von den übrigen Pterinen erfolgt an einer Papierpulversäule mit *n*-Butanol/Pyridin/Wasser (7:1:1), da Ekapterin in diesem Laufmittel nicht wandert. Es wird, nach Entfernen der übrigen Substanzen, mit Propanol/Wasser (1:1) eluiert. Das so erhaltene Ekapterin enthält normalerweise noch etwas Ammoniumacetat, das man durch mehrmaliges Chromatographieren mit *i*-Propanol/1-proz. Ammoniaklösung (2:1) und anschliessend mit Wasser entfernt.

Erythropterin lässt sich von Lepidopterin und von geringen Mengen Riboflavin, welche gelegentlich vorkommen, mit *i*-Propanol/2-proz. Ammoniumacetat (1:1) abtrennen; das Eluat wird eingengt und zur Entfernung von Salzen mehrere Male vorsichtig mit Wasser chromatographiert. Eine geringe Salzkonzentration muss vorhanden sein, da sich das Erythropterin sonst zersetzt.

Ist Lepidopterin noch mit Lactoflavin verunreinigt, dann chromatographiert man mit *i*-Propanol/2-proz. Ammoniumacetat (1:1) an einer kurzen gestopften Säule; Riboflavin wandert wesentlich rascher in diesem Lösungsmittel. Die Abtrennung der Salze kann durch mehrmaliges Chromatographieren mit Wasser erfolgen.

1. *Erythropterin.* Wegen der Unbeständigkeit der Substanz stand jeweils nur eine geringe Menge zur Verfügung. Sämtliche Versuche wurden daher mit den stark gelb gefärbten wässrigen Lösungen aus den Säulenchromatogrammen durchgeführt.

a) *UV.-Spektren.* Die UV.-Spektren wurden zunächst von der neutralen Lösung aufgenommen, dann wurde die Lösung durch einen Tropfen konzentrierte Salzsäure auf pH 2 gebracht, nach Aufnahme des Spektrums mit 2–3 Tropfen 25-proz. Natronlauge auf pH 12 eingestellt und das Spektrum in alkalischer Lösung gemessen.

b) *Umwandlung in Lepidopterin.* Fügt man zu einer Erythropterinlösung einige Tropfen konzentriertes Ammoniak, so lässt sich schon nach kurzer Zeit neben anderen fluoreszierenden Produkten die Bildung einer stark gelb fluoreszierenden Substanz papierchromatographisch nachweisen, welche sich mit Lepidopterin als identisch erwies.

c) *Reduktion mit NaBH_4 .* Zu einer mit Natronlauge auf pH 9 eingestellten Erythropterinlösung fügt man einen Überschuss an Na-Borhydrid. Die Farbe der Lösung verblasst und die Fluoreszenz verschwindet. Nach etwa 1 Std. wird mit Essigsäure auf pH 4–5 gebracht; nach Oxydation der hydrierten Substanz an der Luft lässt sich Ekapterin papierchromatographisch isolieren.

d) *Katalytische Reduktion mit Wasserstoff und Platin.* Eine Mikrohydrierung wurde mit 5 ml der schwach alkalischen Erythropterinlösung durchgeführt mit 5 mg PtO_2 als Katalysator. Die Reduktion erwies sich als schwer, die Aufnahme von Wasserstoff war sehr gering, die Farbe verschwand nicht, und die Reduktion wurde nach 6 Std. unterbrochen. Nach Filtrieren und Stehenlassen an der Luft über Nacht liess sich neben Erythropterin papierchromatographisch Ekapterin leicht nachweisen.

e) *Elektrophorese.* Die Elektrophorese wurde auf Papierstreifen in 5 verschiedenen Lösungsmitteln 6 Std. bei 120 Volt durchgeführt. Ergebnisse siehe Tabelle I; sie zeigen eindeutig, dass Erythropterin stark saure Eigenschaften besitzt.

f) *Rf-Werte.* Die Rf-Werte nach der aufsteigenden Methode wurden in 5 Lösungen bzw. Lösungsmittelgemischen bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle II zusammengefasst.

2. *Lepidopterin*. Dieses Pterin kommt in noch geringerer Menge als Erythropterin vor, die Lösungen sind ebenfalls stark gelb gefärbt.

a) *UV.-Spektren*. Sie wurden in gleicher Weise wie beim Erythropterin in neutraler, saurer und alkalischer Lösung gemessen.

b) *Zersetzung durch NaOH*. Fügt man zu einer Lepidopterinlösung einige Tropfen Natronlauge, so bildet sich nach relativ kurzer Zeit Xanthopterin-9-carbonsäure. Diese wurde chromatographisch isoliert und durch Spektren und Rf-Werte mit synthetischer Säure verglichen und identifiziert.

c) *Elektrophorese*. Die Elektrophorese wurde in gleicher Weise wie beim Erythropterin durchgeführt. Die Messwerte finden sich in Tabelle I. Die Ergebnisse zeigen, dass Lepidopterin ebenfalls stark saure Eigenschaften besitzt.

d) *Rf-Werte*. Die Rf-Werte sind in Tabelle II zusammengefasst.

3. *Ekapterin*. Ekapterin ist eine gelb gefärbte Substanz, welche sich in Wasser relativ gut löst, so dass eine Umkristallisation ziemlich schwierig ist. Es ist wesentlich beständiger als Erythropterin und Lepidopterin, von Oxydationsmitteln (KMnO_4 , Na_2O_4) wird es leicht angegriffen und unter Bildung nicht fluoreszierender Stoffe zersetzt.

a) *UV.-Spektren*. Die UV.-Spektren wurden in der zuvor beschriebenen Weise aufgenommen.

b) *Reduktion mit NaBH_4* . Die Reduktion mit NaBH_4 wurde in der zuvor beschriebenen Weise durchgeführt. Das Spektrum der reduzierten Substanz wurde in saurer und alkalischer Lösung gemessen (Fig. 7). Die Rückoxydation an der Luft erfolgt rasch und führt wieder zu Ekapterin.

c) *Katalytische Reduktion mit Wasserstoff und Platin*. Die katalytische Reduktion wurde in der gleichen Weise wie unter Erythropterin beschrieben durchgeführt. Nach ca. 1/2 Std. war die Reduktion beendet, die gelbe Farbe der Lösung war verschwunden. Die Spektren wurden unter Zusatz von etwas NaBH_4 im sauren und alkalischen Medium aufgenommen (Fig. 7). Die Rückoxydation an der Luft führt ebenfalls zum Ekapterin zurück.

d) *Elektrophorese*. Die Messwerte sind in Tabelle I zusammengefasst. Ekapterin ist auch stark sauer.

e) *Rf-Werte*. Die Rf-Werte finden sich in Tabelle II.

Tabelle I. *Elektrophorese-Werte der neuen Pterine*

Lösungen	pH	Wanderung in cm		
		Erythropt.	Lepidopt.	Ekapterin
0,05 M HOOC-COOH	1,6	0	0	- 4,0
0,05 M HCOOH.	2,4	1,1	0	0
0,05 M Pyridinformiat	4,7	2,3	0,5	4,0
0,05 M Ammoniumacetat	7,1	2,5	0,6	4,8
0,05 M $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$	11,1	4,2	1,9	6,7

Tabelle II. *Rf-Werte der neuen Pterine*

Lösungsmittel	Rf-Werte		
	Erythropt.	Lepidopt.	Ekapt.
Wasser	0,72	0,33	0,91
3-proz. Ammoniumchlorid	0,22	0,06	0,61
<i>i</i> -Prop./2-proz. Ammoniumacetat (1:1)	0,12	0,1	0,23
<i>i</i> -Prop./1-proz. Ammoniak (2:1)	0,08	0,05	0,09
<i>n</i> -But./Eisessig/Wasser (20:3:7)	0,08	0,07	0,1

f) *Messung der optischen Drehung*. Zur Messung der optischen Drehung wurden 275 ml einer reinen Ekapterinfraktion in *i*-Propanol/2-proz. Ammoniumacetat (1:1) verwendet. Davon wurden 5 ml zur Bestimmung der Konzentration mittels Molarextinktion beim Max. 382 μm , pH 9, entnommen, und der Rest der Lösung wurde auf 17,5 ml eingengt. Die gemessene Extinktion bei 382 μm betrug 0,475. Daraus ergibt sich eine Ekapterinmenge von 1,5 mg pro 100 ml. In den

ursprünglich vorhandenen 270 ml waren somit 4,05 mg Ekapterin enthalten. Daraus berechnet sich für die 17,5 ml eine Konzentration von 23 mg/100 ml. – Die gemessenen Drehwerte ergaben einen Mittelwert von $\alpha = -0,033^\circ \pm 0,006^\circ$. Aus den angegebenen Daten errechnet sich

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{-0,033 \times 100}{0,023} = -144^\circ \pm 30^\circ$$

ZUSAMMENFASSUNG

Der Nachweis und die Isolierung von Erythropterin, Lepidopterin und Ekapterin aus *Ephestia kühniella* ZELLER, sowie die wichtigsten Eigenschaften dieser Substanzen werden beschrieben. Für Lepidopterin und Ekapterin werden wahrscheinliche Strukturformeln abgeleitet.

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich

282. Phtalocyanine in wässriger Lösung III.¹⁾

Säuredissoziation der Pyrrol-NH-Gruppe in Phtalocyanintetrasulfonsäure

von Klaus Bernauer und S. Fallab

(3. X. 62)

In vorausgegangenen Mitteilungen^{1) 2)} wurde das Absorptionsspektrum von Phtalocyanintetrasulfonsäure (H₂PTS) untersucht. In alkalischer Lösung (pH > 10) treten starke Veränderungen auf, die wir der Abspaltung eines H⁺ aus einer der beiden zentral gelegenen Pyrrol-NH-Gruppen zuschrieben. Diese Reaktion soll nun in der vorliegenden Arbeit genauer untersucht werden.

Bei den strukturanalogen Porphyrinen ist die entsprechende Säuredissoziationsreaktion bisher wenig verfolgt worden, wie aus der zusammenfassenden Darstellung von PHILLIPS³⁾ ersichtlich ist. Dies ist darauf zurückzuführen, dass in dieser Verbindungsklasse die NH-Gruppe schwächer sauer ist als Wasser, was die quantitative Untersuchung in wässriger Lösung sehr erschwert. Es liegen daher nur spärliche und ungenaue Angaben über die entsprechenden pK-Werte vor.

In der Folge soll zunächst die *Gleichgewichtslage der Säuredissoziation* von H₂PTS studiert werden. Da H₂PTS in wässriger Lösung zum grossen Teil in dimerer Form vorliegt¹⁾ und da ausserdem eine gleichzeitige Abspaltung von mehreren Protonen aus Pyrrol-NH-Gruppen – 1–2 Protonen/Mol beim Monomeren, 1–4 beim Dimeren – denkbar ist, ergeben sich für die Stöchiometrie verschiedene Möglichkeiten.

Aus den Extinktionskoeffizienten $\epsilon = 2,4 \cdot 10^5$ für HPTS⁻ bei $\lambda = 680 \text{ m}\mu$ und $\epsilon = 9,6 \cdot 10^4$ für (H₂PTS)₂ bei der gleichen Wellenlänge lässt sich aus der gemessenen Extinktion leicht die HPTS⁻-Konzentration berechnen. In Fig. 1 (Kurve a) ist der so ermittelte prozentuale Anteil des gebildeten Anions gegen pH aufgetragen. Die erhaltene Kurve zeigt, dass der Reaktionsablauf weder mit einem gewöhnlichen Ein- noch mit einem Zweiprotonenschritt (Fig. 1, b und c) erklärt werden kann.

¹⁾ 2. Mitt.: I. SCHILLER, K. BERNAUER & S. FALLAB, *Experientia* 17, 540 (1961).

²⁾ KLAUS BERNAUER & S. FALLAB, *Helv.* 44, 1287 (1961).

³⁾ J. N. PHILLIPS, *Rev. pure appl. Chemistry (Australia)* 10, 35 (1960).