beobachtet haben, wurde das ESR-Spektrum des Bis-(4-fluor-phenyl)-stickoxids bei verschiedenen Temperaturen aufgenommen (Tab. 2). Es ergab sich eine schwache Temperaturabhängigkeit von a_N und gegenläufig von a_F , die zwar den Ergebnissen von SCHEIDLER und BOLTON entspricht, aber zu gering ist, um daraus weitergehende Schlüsse abzuleiten.

Temperatur [°K]	a_N	a_F
293	9,62	4,28
263	9,60	4,28
233	9,54	4,28
203	9,39	4,32
173	9,45*	— —*

* starke Linienverbreiterung.

Tab. 2. a_N und a_F [Gauß] des Bis-(4-fluor-phenyl)-stickoxids in Toluol: i-Pentan: Methylcyclohexan = 1:3:6.

Experimentelles

Die ESR-Spektren wurden mit einem Varian-Spektrometer V-4500 (100 kHz-Feldmodulation, 6 Zoll Magnet) aufgenommen. Das Magnetfeld eichten wir direkt mit einem Protonenresonanz-Magnetometer. Zur ESR-Messung wurden die nach CHEN, D'ADAMO und WALTER¹⁴ dargestellten Diarylamine (5 mg) in Dioxan (5 ml) mit PbO₂¹⁵ (10 mg) 1 Min. geschüttelt. Dann wurde zwischen Wasser und 3 ml Xylol aufgetrennt, die Xylollösungen abfiltriert, 10 Min. mit N₂ durchspült und i. Vak. abgeschmolzen.

Herrn Prof. Dr. RICHARD KUHN danken wir für die Förderung dieser Arbeit.

¹⁴ M. M. CHEN, A. F. D'ADAMO u. R. I. WALTER, J. org. Chemistry **26**, 2721 [1961].

¹⁵ R. KUHN u. I. HAMMER, Chem. Ber. **83**, 413 [1950].

Über Ommochrome, XXIII

Ommidine - ein neuer Typus von Ommochromen aus Orthopteren

BERNT LINZEN

Max-Planck-Institut für Biochemie, München (experimenteller Teil der Arbeit),
und Zoologisches Institut der Universität München (Ausarbeitung und Niederschrift)

(Z. Naturforschg. **21 b**, 1038—1047 [1966]; eingegangen am 27. Mai 1966)

In the compound eyes of the migratory locust, xanthommatin and two other brownish-red screening pigments can be distinguished. The major component has been isolated and named ommidin. This pigment shows both similarities to and marked differences from known ommochromes. By incorporation of labelled precursors it is demonstrated, that it is derived both from tryptophan — and thus that it is an ommochrome — and from methionine. In insects, ommidin seems to be restricted to orthoptera, but it has been identified by paper chromatography in *Limulus polyphemus*. The red pigment extracted from locust hypodermis has been separated into two components. Although these are extremely labile, it is concluded on the basis of their general behaviour, of their colour in oxidized and reduced states, and of incorporation experiments, that they also belong to the ommochromes. The significance of these findings is discussed.

Die Färbung und Zeichnung der Wanderheuschrecken und ihre große Variabilität wird hauptsächlich durch vier Farbstoff-Arten ermöglicht: Carotinoide, Gallenfarbstoffe, Melanine und ein Pigment, das CHAUVIN^{1,2} als „Acridioxanthin“, GOODWIN^{3,4} als „Insectorubin“ bezeichnet hat. Eine ein-

sichtsvolle Darstellung der Pigmente und ihres Zusammenspiels haben uns GOODWIN⁵ und kürzlich UVAROV⁶ gegeben.

Bei Untersuchungen über die Verbreitung der Ommochrome^{7,8,9} waren wir ebenfalls auf die roten Pigmente der Heuschrecken gestoßen. Die ältere

¹ R. CHAUVIN, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. **207**, 1018 [1938].

² R. CHAUVIN, Ann. Soc. ent. France **110**, 133 [1941].

³ T. W. GOODWIN u. S. SRISUKH, Biochem. J. **47**, 549 [1950].

⁴ T. W. GOODWIN, Biochem. J. **47**, 554 [1950].

⁵ T. W. GOODWIN, Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc. **27**, 439 [1952].

⁶ B. UVAROV, „Grasshoppers and locusts“, Vol. I, p. 42 ff., Cambridge 1966.

⁷ A. BUTENANDT, E. BIEKERT u. B. LINZEN, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **313**, 251 [1958].

⁸ A. BUTENANDT, E. BIEKERT, H. KÜBLER u. B. LINZEN, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **319**, 238 [1960].

⁹ B. LINZEN, Zool. Anz. Suppl. **22**, 154 [1959].

Literatur zeigt erhebliche Meinungsverschiedenheiten über die Natur dieser Pigmente, dergestalt, daß CHAUVIN^{1, 2, 10} sie zu den Anthocyaninen stellte, BECKER¹¹ zu den Ommochromen, während GOODWIN^{3, 5} auf Grund seines Vergleiches verschiedener Augenpigmente die Unterscheidung der Ommochrom-Unterklassen Ommine und Ommatine aufhob und den Namen Ommochrome durch die neue Bezeichnung Insectorubin ersetzte. Wir legen jetzt Ergebnisse eigener Studien vor, die die Existenz mehrerer verwandter Pigmente, ihre Zugehörigkeit zu den Ommochromen und ihre Unterschiede von den bisher bekannten Ommochromen zeigen*.

Beschreibung der Versuche

Papierchromatographie

Sie erfolgte durchweg auf dem Papier No. 2043 b von Schleicher & Schüll, aufsteigend in folgenden Systemen:

Collidin/Lutidin/Wasser 1:1:2, org. Phase	CLW ¹²
Collidin/0,5 M prim. Kaliumphosphat 2:3, org. Phase	CP ¹²
Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:1	BEW
Propanol/Ameisensäure/Wasser 1:1:4	PAW

Chromatogramme, die im System CP gelaufen sind, zeigen unter UV-Licht eine Salzfront. Zur Ringpapierchromatographie wurde das System

Ameisensäure/Methanol/Wasser/konz. Salzsäure 50:15:20:1	AMWS
---	------

benutzt.

Zur Prüfung des Verhaltens der Farbstoffe bei Oxydation wurde mit einer Lösung von wenig Natriumnitrit in verd. Salzsäure betupft; zur Reduktion mit Ascorbinsäure oder Natriumdithionit in Wasser. Für die Reaktion mit Ninhydrin wurde mit einer 0,1-proz. Lösung von Ninhydrin in Butanol/Collidin/Eisessig (66:30:4) besprüht und anschließend 5–10 Min. auf 105° erhitzt (in Anlehnung an LEVY und CHUNG¹³).

Isolierung von Augenpigment aus Wanderheuschrecken

Aus etwa 1000 Köpfen von *Locusta migratoria*, die in Methanol aufbewahrt worden waren, wurden die Augen herausgeschnitten, getrocknet und fein gemahlen. Sie wurden je mehrere Male mit Äther und Äthanol extrahiert, und anschließend der Farbstoff mit salzsauerm Methanol (2 ml konz. HCl auf 100 ml), in das SO₂ eingeleitet worden war, erschöpfend extrahiert. Der Extrakt wurde im Rotationsverdampfer eingedampft,

in wenig reiner Ameisensäure aufgenommen und im System AMWS ringchromatographiert. Die Zone der Hauptkomponente wurde ausgeschnitten, mit Ameisensäure nach Art der absteigenden Papierchromatographie eluiert, und das Eluat zur Trockene gebracht. Das Pigment wurde mehrmals durch Lösen in 0,1 M sek. Natriumphosphatlösung (wenn nötig, unter Zugabe von einigen Tropfen N NaOH) und erneutem Ansäuern mit 6 N HCl und Einleiten von SO₂ umgefällt, bis beim Lösen kein weißlicher Rückstand zurückblieb. Der Farbstoff wurde nun über eine Säule (3,5·15 cm) von Ecteola-Cellulose chromatographiert. Der Austauscher wurde wie früher beschrieben⁸ vorbehandelt, in 1 M Pyridinacetat von pH 7,0 vorgequollen und nach dem Einschlüssen in die Säule mit 0,1 M Natriumphosphatlösung gewaschen, bis der Pyridingeruch aus dem Eluat verschwunden war. Nach dem Auftragen des Farbstoffes wurde ebenfalls zunächst mit Natriumphosphatlösung gewaschen und dann mit einem Pyridin-Puffer-Gradienten eluiert: Im Mischgefäß 250 ml 3 M Pyridinwasser, im Zulauf 3 M Pyridinformiat von pH 6,5. Die Farbstoffbande wurde zur Trockene gebracht, 10–15-mal umgefällt, schließlich zweimal mit verdünnter HCl, zweimal mit Aceton gewaschen und über P₂O₅ und Paraffin bei 80° i. Vak. getrocknet. Ausbeute aus 1000 Köpfen: rund 12 mg.

Versuche zur Charakterisierung des Farbstoffes

Die Elementaranalysen wurden vom Laboratorium Dr. A. SCHOELLER (Kronach) und freundlicherweise von Herrn Dr. H. REIMLINGER (Brüssel) ausgeführt. Sie ergaben:

C 41,20	H 4,22	N 17,94	O 27,07,	Rückst. 5,5%.
C 43,96	H 3,81,	Rückst. 5,1%.		

Die Probe auf Schwefel wurde in der üblichen Weise vorgenommen und war bei dem Farbstoff sowohl mit Nitroprussidnatrium, als auch mit Bleiacetat positiv. Die Umsetzung mit Ninhydrin wurde nach MOORE und STEIN¹⁴ durchgeführt.

Zur alkalischen Hydrolyse wurde eine Probe des Farbstoffes in 4 ml N NaOH gelöst und auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Nach 0, 1, 2 und 4 Stdn. wurden Proben von 0,4 ml entnommen, verdünnt und die Extinktion zwischen 370 und 450 nm gemessen:

nm	0	1	2	4 Stdn.
370	0,585	0,600	0,720	0,750
400	0,900	0,890	0,960	0,980
450	0,445	0,410	0,453	0,462

Der Extinktionsanstieg nach 2 Stdn. geht auf Wasserverlust durch ungenügenden Verschluss des Kölbchens zurück. Nach Abbruch der Hydrolyse wurde die Lösung zur Trockene gebracht, mit wenig Pyridin und wenig

¹⁰ R. CHAUVIN, Bull. Soc. Zool. France **69**, 154 [1944].

¹¹ E. BECKER, Z. Vererbungslehre **80**, 157 [1942].

* Teilergebnisse wurden vorgetragen auf dem 17. int. Kongreß f. angew. Chemie, München 1959.

¹² A. BUTENANDT, U. SCHIEDT, E. BIEKERT u. P. KORNMAN, Liebigs Ann. Chem. **586**, 217 [1954].

¹³ A. L. LEVY u. D. CHUNG, Analytic. Chem. **25**, 396 [1953].

¹⁴ S. MOORE u. W. H. STEIN, J. biol. Chemistry **176**, 367 [1948].

absolutem Äthanol extrahiert und Proben dieser Extrakte in BEW und CLW papierchromatographisch untersucht. Der Rückstand wurde in wenig Wasser gelöst, der Farbstoff durch Einleiten von SO_2 gefällt und in den Systemen CLW und AMWS chromatographiert.

In einem anderen Versuch wurde die alkalische Reaktionslösung angesäuert und nach Abtrennung des ausgefallenen Farbstoffes der saure Überstand mit Butanol extrahiert; unter diesen Bedingungen gehen die Abbauprodukte der Ommatine und Ommine (Xanthurensäure und 2-Amino-3-hydroxy-acetophenon) in die Butanolphase¹⁵. Die Butanolphase wurde unter N_2 i. Vak. eingedampft, der geringe Rückstand mit salzsaurem Methanol gelöst und in BEW papierchromatographisch untersucht.

Zum Säureabbau wurden 1,23 mg des Farbstoffes in 3 ml Ameisensäure gelöst, 3 ml 6 N Salzsäure zugeben und unter ständigem Durchleiten von SO_2 während 20 Stdn. am Rückflußkühler gekocht. Die Lösung wurde im Rotationsverdampfer zur Trockene gebracht, der Rückstand mit wenig dest. Wasser befeuchtet, erneut eingedampft und nun mit wenig SO_2 -haltigem, salzsaurem Methanol gelöst und in den Systemen CLW, CP, BEW und AMWS papierchromatographisch untersucht.

Einbau radioaktiver Vorstufen

Alle Injektionen radioaktiver Substanzen erfolgten unter CO_2 -Betäubung seitlich in das Abdomen der Versuchstiere.

1 *Tryptophan- ^{14}C* . 970 μg (4,73 μM) D,L-Tryptophan-(Carboxyl- ^{14}C) (0,66 mC/mM) wurden in 0,3 ml Insekten-Ringer-Lösung (7,5 g NaCl, 0,35 g KCl, 0,21 g CaCl_2 im l) unter Erwärmen gelöst und je 0,015 ml in 16 Larven von *Locusta migratoria* injiziert. Nachdem sich alle Tiere zur Imago gehäutet hatten, wurden sie getötet, die Augen herausgeschnitten, getrocknet, gemahlen und das Pulver zweimal mit Benzol und anschließend mit salzsaurem Methanol extrahiert. Der Extrakt wurde eingedampft und der Rückstand mit 0,1 M sek. Natriumphosphat extrahiert. Dieses wurde wiederum zur Trockene gebracht und mit trockenem Äthanol, in das HCl-Gas eingeleitet worden war, extrahiert. Dieser Extrakt wurde papierchromatographisch in CLW getrennt, und die Farbstoffzone sowie die beiden Nachbarzonen, die noch wenig Farbstoff enthielten, ausgeschnitten. Sie wurden mit Äther und Aceton je zweimal ausgewaschen, und der Farbstoff mit Ameisensäure eluiert. Diese Eluate wurden auf Plättchen aufgetragen und ihre Aktivität gemessen.

Der Rest der Tierkörper (getrocknet 1,8 g) wurde gemahlen und mit Benzol und Methanol jeweils so lange extrahiert, bis der Extrakt farblos ablief. Darauf wurde mit SO_2 -haltigem, salzsaurem Methanol ein tieferer Extrakt erhalten. Dieser wurde mit ges. Bicarbonatlösung auf pH 5,0 gebracht, ein geringer Nieder-

schlag abzentrifugiert und der Überstand mit dem fünffachen Volumen an Aceton versetzt. Der entstandene Niederschlag wurde abzentrifugiert, mit SO_2 -haltigem, salzsaurem Methanol digeriert und der weißliche Rückstand (Aceton-bisulfit-Verbindung) erneut abzentrifugiert. Der Überstand wurde papierchromatographisch im System PAW aufgetrennt. Man erhielt zwei rote Banden, die unter Schwefeldioxyd-Atmosphäre mit Ameisensäure eluiert und auf Zählplättchen aufgetragen wurden. Die Radioaktivität zeigte folgende Verteilung:

	[IpM]
Untere Nachbarzone	66
Langsam wandernder Farbstoff	127
Zwischenzone (enthielt etwas Farbstoff)	64
Schnell wandernder Farbstoff	167
Obere Nachbarzone (enthielt noch Farbstoff)	115
Darauf folgende Zone	44

Ein Teil der Eluate wurde nochmals papierchromatographisch gereinigt und zeigte dann die in Abb. 5 wiedergegebene Verteilung der Radioaktivität.

2. *3-Hydroxy-kynurenin*. Larven des letzten Stadiums von *Gryllus bimaculatus* wurden je ca. 3,9 μC 3-Hydroxy-kynurenin- ^3H ¹⁶ injiziert, und die Tiere nach 24 Stdn. in Äthanol fixiert. Die Augen wurden ausgeschnitten, unter Äther mit wenig Seesand zerrieben und dann analog der oben beschriebenen Isolierung des Ommidins verfahren. Die Säulenchromatographie wurde mit einer 0,5·9 cm messenden Säule von DEAE-Sephadex und 25 ml 3 M Pyridinwasser im Gradienten-Mischgefäß sowie 50 ml Pyridinformiat im Vorratsgefäß durchgeführt. Der Farbstoff wurde isoliert aufgefangen, i. Vak. zur Trockene gebracht und einmal umgefällt. Er wurde dann auf ein Ringchromatogramm aufgetragen, das nacheinander in den Systemen BEW, AMWS, dest. Wasser und wieder BEW entwickelt wurde. Zwischen den Läufen ließ man das Chromatogramm bei Zimmertemperatur trocknen. Das Chromatogramm wurde in ringförmige Zonen zerschnitten, der Farbstoff mit Ameisensäure eluiert, sein Spektrum gemessen und die Lösung erneut auf Filterpapierstreifen aufgetragen. Zur Messung der Aktivität im Flüssigkeits-Scintillationszähler wurden die Streifen im Sauerstoff-gefüllten Kolben verbrannt, und das Verbrennungswasser direkt mit dem Scintillationsgemisch (7 g PPO, 0,3 g Dimethyl-POPOP, 100 g Naphthalin, Dioxan ad 1 l) aufgenommen.

3. *Leucin- ^{14}C* . In dieser Aufarbeitung sollte die Wirksamkeit der Reinigung des Ommidins von möglicherweise radioaktiven Begleitstoffen geprüft werden. 18 Imagines von *Gryllus bimaculatus* wurden je 0,87 μC D,L-Leucin-(Carboxyl- ^{14}C) (2,9 mC/mM) injiziert, und nach 24 Stdn. der Augenfarbstoff wie vorstehend isoliert. Die Zonen des letzten Papierchromatogrammes wurden eluiert und die Aktivität der eluierten Substanz auf Plättchen mit einem Gas-Durchflußzähler

¹⁵ A. BUTENANDT, U. SCHIEDT u. E. BIEKERT, Liebig's Ann. Chem. 586, 229 [1954].

¹⁶ I. ISHIGURO u. B. LINZEN, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 340, 286 [1965].

(Tracerlab) gemessen. Die Farbstoffzone war absolut frei von Radioaktivität, während in einer der Nachbarzonen noch sehr schwache Radioaktivität gefunden wurde.

4. ³⁵S-markierte Verbindungen. ³⁵S-Sulfat (trägerfrei) und ³⁵S-markiertes Methionin (Ausgangsaktivität 12,9 mC/mM) wurden Gruppen von je 15 Larven von *Gryllus bimaculatus* injiziert. Die Dosis betrug jeweils 10 µC pro Tier; das Volumen der injizierten Lösung lag zwischen 11 und 25 µl. Die Tiere wurden nach 24 Stdn. fixiert und die Augen wie vorstehend für ¹⁴C-Leucin beschrieben aufgearbeitet. Bei den ersten Aufarbeitungen wurde in der Papierchromatographie statt des Systems AMWS das System CLW (aufsteigend) verwandt. Der Einbau von ³⁵S-Sulfat war entweder gleich Null oder äußerst niedrig (vgl. Tab. 1).

Die Verteilung der Radioaktivität im Ringchromatogramm nach Applikation von ³⁵S-Methionin ist in Abb. 4 wiedergegeben.

Zone	Start	A	B	C	D	E	F	G	H
[IpM]	1	2	2	1	1	8	1	1	1

Tab. 1. Verteilung der Radioaktivität im Papierchromatogramm des gereinigten Ommidins nach Injektion von Sulfat-³⁵S in *Gryllus bimaculatus*-Larven. Der Farbstoff befand sich in der Zone E. Werte sind IpM nach Abzug des Nullwertes.

Vergleichende Untersuchung zum Vorkommen von Ommidin

Die Augen der untersuchten Arten wurden entweder direkt auf Papierchromatogramme aufgequetscht, die in CLW oder CP entwickelt wurden, oder nach Trocknen und Zerreiben mit Äther und Methanol vorextrahiert und der Farbstoff mit SO₂-haltigem, salzsaurem Methanol herausgelöst.

Versuche zur Anreicherung der Epidermispigmente

Die Aufarbeitung zum Nachweis des Einbaus von ¹⁴C-Tryptophan wurde bereits oben beschrieben. Für die Aufarbeitung größerer Materialmengen machten wir Vorversuche zur Trennung der Farbstoffe an Chromatographiesäulen. Dazu wurden jeweils 50–100 Köpfe von *Schistocerca gregaria*, die in der rotgefärbten Schwärmphase standen, unter SO₂-haltigem, salzsaurem Methanol zerrieben und nach Abzentrifugieren noch mehrere Male mit dem gleichen Lösungsmittel extrahiert. Der Extrakt wurde i. Vak. zur Trockene gebracht, mit Aceton und Aceton/Methanol 1:1 extrahiert und das Farbstoffgemisch in 0,06 M Phosphatpuffer von pH 7,6–7,8, enthaltend 0,5% Natriumdithionit, gelöst. Die Lösung wurde auf Perlonpulver- oder Ecteolssäulen aufgetragen, und die Farbstoffe mit Phosphat- und Pyridinacetat-Puffern verschiedenen pH-Wertes zu eluieren versucht. Die besten Ergebnisse erzielten wir auf Ecteola mit 2 M Pyridinacetat von pH 7,0. Die Chromatographie wurde in der Kälte durchgeführt, die Vorlagen mit Eis/Kochsalzmischung oder Aceton/Kohlensäureschnee gekühlt und die eingefrorenen Eluate

lyophilisiert oder bei tiefer Temperatur im Rotationsverdampfer eingedampft. Die papierchromatographische Untersuchung erfolgte in den Systemen PAW und BEW.

Ergebnisse

Papierchromatographische Analyse der braunroten Redoxfarbstoffe

Die Augen der Wanderheuschrecken *Locusta migratoria* und *Schistocerca gregaria* sind nicht wie die der meisten anderen Insekten schwarzviolett oder dunkelbraun, sondern hellbraun gefärbt. Extrahiert man sie mit salzsaurem Methanol, so lassen sich papierchromatographisch 3 orangefarbene Pigmente nachweisen: Eine sehr kleine Menge Xanthommatin, eine ziegelrote Hauptkomponente und ein ebenfalls ziegelroter Begleitfarbstoff. Alle diese Farbstoffe können durch Nitrit in saurem Milieu zu einer gelben Form oxydiert und durch Ascorbinsäure oder Dithionit wieder zur roten Ausgangsform zurückgeführt werden. Während aber die Oxydation des Dihydro-xanthommatins schon durch Luftsauerstoff erfolgt, ist bei den ziegelroten Pigmenten die reduzierte Form beständig.

Im System CP liegt Xanthommatin auf der Salzfront, während die Hauptkomponente zwischen Startlinie und Salzfront mit *R_f* 0,09 wandert. In CLW wandert die Hauptkomponente mit *R_f* 0,2–0,3, während sich Xanthommatin zersetzt und auch der Begleitfarbstoff einen breiten, verwaschenen Streifen bildet. In AMWS läuft der Hauptfarbstoff mit *R_f* 0,55, der Begleitfarbstoff mit 0,70–0,75.

Zweifelloos handelt es sich um Nativfarbstoffe, denn man erhält die gleichen Ergebnisse, wenn man Augen direkt auf die Startlinie der Chromatogramme aufquetscht. Der Anteil der Hauptkomponente wird auf 90–95% geschätzt.

Die beiden ziegelroten Farbstoffe wurden ausschließlich in den Augen nachgewiesen. In der Epidermis der Heuschrecken kommt jedoch ebenfalls rotes Pigment vor, das sich mit salzsaurem Methanol extrahieren läßt. Papierchromatographisch spaltet dieses Pigment in zwei Komponenten auf, von denen die in BEW und PAW schneller wandernde hellrot, die langsamer wandernde karminrot gefärbt ist. Auf dem Papier zeigen beide das für Ommochrome charakteristische Verhalten gegenüber Oxydations- und Reduktionsmitteln. Diese beiden Farbstoffe zersetzen sich so rasch, daß sie in Substanz bisher nicht gefaßt werden konnten (s. u.). Unsere Untersuchungen konzentrierten sich daher vorerst auf den ziegelroten Augenfarbstoff.

Isolierung und Eigenschaften des Augenfarbstoffes

Dieser wurde aus einem Rohextrakt der Augen zunächst ringpapierchromatographisch von seinen Begleitpigmenten abgetrennt. Nach Elution mit Ameisensäure wurde er mehrmals umgefällt und über Ecteola rechromatographiert. Das eluierte Pigment wurde noch oftmals umgefällt; nach Auswaschen und Trocknen des Niederschlags erwies es sich als papierchromatographisch einheitlich und spektroskopisch sehr rein.

Der Farbstoff ist in Lipoidlösungsmitteln unlöslich; in Aethanol, Methanol und Wasser ist seine Löslichkeit gering, aber deutlich höher, als bei den bisher bekannten Ommochromen. Aus Methanolfixiertem Tiermaterial wird er jedoch nicht herausgelöst. Mäßig gut löslich ist er in salzsaurem Methanol oder Aethanol, in schwach alkalischen Pufferlösungen, gut löslich in Ameisensäure, Trifluoressigsäure (zu ca. 2–5%), Dimethylsulfoxyd (zu ca. 2%) und Natronlauge (über 10%).

Der Farbstoff ist dialysierbar. Er enthält die Elemente C, H, N, O und S; mit den übrigen Ommochromen teilt er die sehr schwere Verbrennbarkeit, so daß brauchbare Elementaranalysen bisher nicht erhalten wurden. Möglicherweise enthält er eine Aminosäuregruppierung, da er eine positive Ninhydrin-Reaktion gibt. Mit Ba^{2+} bildet er ein schwerlösliches Salz.

Der Farbumschlag beim Ansäuern, den alle Ommochrome zeigen, ist hier besonders ausgeprägt und führt von hellgelb nach rot. Die UV-Spektren des Farbstoffes bei p_H 9 (sek. Natriumphosphatlösung) und in 5 N HCl sind in Abb. 1 dargestellt, ein Ausschnitt aus dem IR-Spektrum in Abb. 2. Einige Unterschiede von den bekannten Ommochromen lassen sich daraus ablesen. So fehlt im IR-Spektrum die Bande bei $5,77 \mu$, die der Carboxylgruppe am Chinolinring der Ommatine zugeordnet wird¹⁷. Im UV-Spektrum der angesäuerten Lösung fehlt die Bande bei 370 nm („C-Bande“), die bei allen Phenoxazonen gefunden wird, die in 3,4-Stellung einen aromatischen oder heterocyklischen Ring ankondensiert enthalten¹⁸. Außerdem verändert sich die Lage der Hauptextinktionsbande nicht; aber es tritt eine Anzahl von neuen Banden bei 440, 480 bis 500 nm hinzu. In 1-N Natronlauge wird das Maximum nach 403 nm verschoben.

Abb. 1. UV-Spektren des Omidins in 0,1 M sek. Natriumphosphatlösung (—) und in 5 N HCl (---).

Abb. 2. IR-Spektrum des Omidins (—) und zum Vergleich des Ommatins D (---).

Obwohl der allgemeine Typus des Spektrums, besonders im schwach alkalischen Bereich, dem des Xanthommatins ähnelt, dürfte der chromophore Teil des Moleküls sich von den Ommatinen wie von den Omminen beträchtlich unterscheiden. — In konzentrierter Schwefelsäure zeigt der Farbstoff violette

¹⁷ A. BUTENANDT, E. BIEKERT, N. KOGA u. P. TRAUB, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **321**, 258 [1960].

¹⁸ A. BUTENANDT, U. SCHIEDT, E. BIEKERT u. R. J. T. CROMARTIE, Liebigs Ann. Chem. **590**, 75 [1954].

Halochromie mit einem Maximum bei 510 nm und mehreren Inflexionen unterhalb 320 nm.

Das Kernresonanzspektrum weist folgende Signale auf: Bei 2,59 τ (Singulett), 2,82 τ (Singulett), 6,18 τ (angedeutetes Triplett) und 6,66 τ (Multi-plett), die zueinander die relativen Intensitäten 1 : 2 : 1 : 2 aufweisen. Der Bereich zwischen 3,9 und 6 τ war (durch H₂O-Gehalt) nicht beobachtbar. Danach wären 3 aromatische Protonen im Molekül vorhanden, während die Signale bei 6,18 und 6,66 τ mit Vorbehalt einer Aminosäuregruppierung und einer CH₂-Gruppe zugeordnet werden können.

Eine für uns überraschende Eigenschaft des Farbstoffes ist seine große Resistenz gegen Hydrolyse. Die Labilität besonders im alkalischen Milieu ist ja für Ommochrome charakteristisch. Als Extrem kann das Xanthommatin gelten, das schon bei p_H 8 und Zimmertemperatur gespalten wird⁸; aber auch die Ommine werden beim Erwärmen in N Natronlauge in 2–3 Stdn. vollständig zersetzt und geben typische fluoreszierende Produkte¹⁹. Demgegenüber verändert sich der ziegelrote Augenfarbstoff der Heuschrecken auch in heißer Natronlauge nur langsam; nach 4 Stdn. wurde der größte Teil des Ausgangsmaterials unverändert zurückerhalten. Fluoreszierende Spaltprodukte konnten nicht nachgewiesen werden.

Auch die Stabilität gegen konzentrierte Säuren ist sehr groß, wenn man die Hydrolyse in reduzierendem Milieu durchführt; nach 20-stündigem Kochen in einem Gemisch von 6 N HCl und konzentrierter Ameisensäure sind noch etwa 50% des Farbstoffes erhalten. Dagegen wird der Farbstoff in Anwesenheit von Sauerstoff durch Säure angegriffen; schon nach eintägigem Stehen in salzsaurem Methanol bemerkt man eine deutliche Zersetzung. Da der Farbstoff nativ offensichtlich in seiner reduzierten Form vorliegt und jedenfalls durch das reduzierende Extraktionsmilieu so erhalten wird, muß der Spaltung eine Oxydation vorausgehen. Tatsächlich lassen sich schon nach kurzer Einwirkung von Natriumnitrit gelbe, leicht wasserlösliche Spaltprodukte nachweisen. In keinem Falle konnte jedoch 3-Hydroxykynurenin als Reaktionsprodukt nachgewiesen werden.

Diese Eigenschaften — die große Stabilität des reduzierten und die Labilität des oxydierten Farb-

stoffes — sind bei keinem der bekannten Ommochrome derart ausgeprägt, wohl aber bei einem Abbauprodukt der Ommine, dem „Farbstoff IV“²⁰. Dieser enthält ebenfalls noch Schwefel, unterscheidet sich von dem Augenfarbstoff der Heuschrecken jedoch grundsätzlich in seinen UV-Spektren.

Einbau radioaktiv markierter Vorstufen

Die chemischen und physikalischen Eigenschaften des Farbstoffes, so sehr sie auf eine Verwandtschaft zu den Ommochromen hindeuten, sind dennoch für diese keineswegs beweisend. Ommochrome sind definitionsgemäß Tryptophanmetaboliten. Um ihnen den neuen Farbstoff zuzuordnen, mußte man seine Herkunft von dieser Aminosäure nachweisen. Dazu wurde *Locusta*-Larven Carboxyl-¹⁴C-markiertes Tryptophan injiziert, und nach der Imaginalhäutung der Augenfarbstoff papierchromatographisch isoliert. Die Radioaktivität des Streifens fiel von der Startlinie gleichmäßig ab, zeigte jedoch einen Gipfel genau über der Farbstoffbande: Sie enthielt 51 IpM, die untere und obere Nachbarzone zusammen nur 16 IpM.

In weiteren Versuchen wurde Larven von *Gryllus bimaculatus* Tritium-markiertes 3-Hydroxykynurenin injiziert, und die Tiere nach jeweils 24 Stdn. fixiert. Der Farbstoff wurde isoliert und sorgfältig gereinigt. Da aus Untersuchungen an Omminen bekannt ist, daß diese Farbstoffe selbst nach intensiver Reinigung noch durch Protein verunreinigt sein können²¹, prüften wir unser Isolierungsverfahren durch eine Kontrollaufarbeitung von Tieren, die ¹⁴C-markiertes Leucin erhalten hatten. Dabei wurde der Farbstoff völlig frei von Radioaktivität gefunden. Nach Applikation von 3-Hydroxykynurenin dagegen befand sich nach dem letzten Reinigungsschritt ein großer Teil der Aktivität in der Farbstoffzone (Abb. 3). Daß auch noch außerhalb dieser Zone Aktivität gefunden wurde, dürfte auf den säurekatalysierten Abtausch von Tritium vom aromatischen Kern des Farbstoffes während der Entwicklung des Chromatogrammes in Ameisensäure zurückzuführen sein¹⁶.

Während der Befund, daß die Carboxylgruppe des Tryptophans im Farbstoff wiedererscheint, wegen des großen Zeitabstandes zwischen Applikation und Aufarbeitung und wegen der ungenügenden

¹⁹ A. BUTENANDT, E. BIEKERT u. B. LINZEN, Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. **312**, 227 [1958].

²⁰ A. BUTENANDT u. G. NEUBERT, Liebig's Ann. Chem. **618**, 167 [1958].

²¹ B. LINZEN, unveröffentlicht.

Abb. 3. Einbau von 3-Hydroxy-kynurenin-³H in Ommidin aus *Gryllus bimaculatus*. Zone D enthält den Farbstoff (vgl. experimentellen Teil).

Abb. 4. Einbau von L-Methionin-³⁵S in Ommidin aus *Gryllus bimaculatus*. Zone D enthält den Farbstoff.

Reinigung noch anfechtbar ist, ist der Einbau von 3-Hydroxy-kynurenin sehr signifikant. 3-Hydroxy-kynurenin wird nach den bisherigen Kenntnissen im Insektenorganismus nur in Xanthurensäure, 3-Hydroxy-anthranilsäure und in Ommochrome sowie in Konjugate dieser Verbindungen umgewandelt. Der Übergang von Radioaktivität aus dieser Verbindung in den Farbstoff zeigt also einen unmittel-

baren Einbau der Substanz an und beweist, daß der Farbstoff ein Tryptophan-Metabolit ist wie das Xanthommatin, seine Konjugate und wie die Ommine.

Der ziegelrote Augenfarbstoff der Wanderheuschrecken und Grillen ist also einwandfrei den Ommochromen zuzuordnen. Er nimmt eine Mittelstellung zwischen den Ommatinen und Omminen ein, indem er mit den ersteren die hellere Farbe und die Dialysierbarkeit, mit den letzteren die größere Resistenz gegen Hydrolyse und den Schwefelgehalt teilt. Wir schlagen für ihn die Bezeichnung *Ommidin* vor und für den darunter sich verborgenden Begleitfarbstoff den Namen *Kryptommidin*.

Die Anwesenheit von Schwefel im Molekül, die zunächst nur durch die Lassaigne-Probe an teilweise gereinigten Präparaten gezeigt worden war, wurde in Versuchen zur Biosynthese von Ommochromen vollends bewiesen. Diese Versuche zeigen, daß markiertes Sulfat nicht oder nur in äußerst geringem Umfang in Ommidin eingebaut wird (vgl. Tab. 1). Dagegen wird ³⁵S-markiertes Methionin sehr deutlich eingebaut (Abb. 4), ganz parallel zu den Ergebnissen bei den Omminen von *Gryllus*²¹. Auch diese Parallelität spricht dafür, daß Ommidin ein Ommochrom und möglicherweise den Omminen verwandt ist.

Zur Verbreitung des Ommidins

Das Vorkommen dieses Farbstoffes wurde bisher vor allem papierchromatographisch untersucht und ist in Tab. 2 dargestellt. Diese Liste ist zufällig entstanden und von beschränkter Aussagekraft. Man entnimmt daraus:

1. Die Isolierung des Ommidins aus *Locusta* oder aus *Schistocerca* ist kein Einzelbefund. Das Pigment kommt vielmehr in zwei Unterordnungen der Saltatoria vor.

2. Innerhalb der Insekten ist das Vorkommen des Ommidins wahrscheinlich auf die Orthopteren beschränkt. Jedenfalls wurde in 7 weiteren Ordnungen niemals Ommidin gefunden^{7, 8, 9}.

3. Ein isoliertes Vorkommen des Ommidins ist das im Muskelansatzpigment von *Limulus polyphemus*. Es wurden aber nur Spuren des Pigments als Nebenfraktion bei einer Ommin-Aufarbeitung erhalten.

4. Xanthommatin ist ein regelmäßiger Begleiter des Ommidins in kleinen Mengen. Eine ähnliche

Art	unters. Organ	Farbstoff	Begleitfarbstoff
<i>Gryllus bimaculatus</i> DE GEER	Augen	Ommidin	Ommine ^{21, 22} Xanthommatin
<i>Acheta domesticus</i> L.	Integument	Ommine	Xanthommatin ?
<i>Romalea microptera</i> BEAUV.	Augen	Ommidin	Xanthommatin
	Augen	Ommidin	Kryptommidin
	Körper	Ommidin	Xanthommatin
	(Integument ?)		Kryptommidin
<i>Schistocerca gregaria</i> FORSK.	Augen	Ommidin	Xanthommatin
	Integument	2 rote Pigmente	?
<i>Acanthacris ruficornis fulva</i> SJÖST.	Augen	Ommidin	Xanthommatin ?
<i>Nomadacris septemfasciata</i> SERV.	Augen	Ommidin	?
<i>Ornithacris cyanea</i> STOLL.	Augen	Ommidin	?
<i>Tylotropidius speciosus</i> WALK.	Augen	Ommidin	Xanthommatin
<i>Locusta migratoria</i> L.	Augen	Ommidin	Kryptommidin
			Xanthommatin
			Xanthommatin
<i>Oedipoda caerulescens</i> L.	Integument	2 rote Pigmente	?
<i>Limulus polyphemus</i> L.	Augen	Ommidin	Ommidin
	Muskelsatzpigment	Ommidin	

Tab. 2. Liste der Arten, in denen Ommidin nachgewiesen wurde. Einschränkungen: Die Identifizierung des Xanthommatins ist in keinem Falle gesichert; sie beruht lediglich auf der Beobachtung des gelbbraunen Redoxfarbstoffes auf der Salzfront von Papierchromatogrammen im System CP. Auf Kryptommidin wurde z. Z. der vergleichenden Untersuchung noch nicht geachtet.

Rolle spielt es auch im Falle des Ommins. Bei *Gryllus* ist Ommidin mit Ommin vergesellschaftet²².

5. Ommidin tritt bei den Saltatoria fast ausschließlich als Augenfarbstoff auf. Erstmalig bei *Romalea microptera* wurde es — wiederum in Gesellschaft von Kryptommidin — in großer Menge in den Körpern gefunden. Das Integument wurde allerdings nur bei *Locusta*, *Schistocerca* und *Gryllus* genauer untersucht; auch bei einer genauen Analyse des Integuments von *Carausius morosus* ist Ommidin aber nicht gefunden worden²³. Über die Verbreitung der beiden Hautpigmente kann man noch keine Angaben machen.

Bei *Schistocerca* ist seit einigen Jahren ein Albino-Stamm bekannt. Die Untersuchung des Augenpigmentes ergab, daß dessen Menge gleich groß wie beim Wildstamm ist. Bei beiden Stämmen wurde Ommidin gefunden; das Vorkommen sehr kleiner Mengen von Kryptommidin und Xanthommatin wird durch Papierchromatogramme nahegelegt. Die Ommochrome in den Augen beider Stämme unterscheiden sich also weder qualitativ noch quantitativ*.

Die roten Epidermisfarbstoffe von *Locusta* und *Schistocerca*

Diese Farbstoffe konnten bisher nicht näher charakterisiert werden, da sie ganz ungewöhnlich instabil sind. In vivo sind sie in Granula der Epidermiszellen lokalisiert^{10, 24}; sowie sie durch die Extraktion mit salzsaurem Methanol von diesem Trägerprotein abgelöst werden, beginnen sie sich zu braunem, schwer löslichem Material zu zersetzen. Es ist dies Verhalten, das GOODWIN und SRISUKH³ bewog, die Ommine, die ja ebenfalls schwer löslich sind, als Kunstprodukte infolge der Alterung von „Insectorubin“ anzusehen. Für das Studium dieser Pigmente ist möglichst frisch in Methanol konserviertes Material zu verwenden. Es gelang uns nur, durch Arbeiten im sauren, höchstens neutralen, und reduzierenden Milieu die beiden Pigmente etwas anzureichern. In alkalischer Lösung zersetzen sie sich sofort; daher werden sie bei der Papierchromatographie in den Systemen CLW und CP, die üblicherweise bei der Untersuchung der Ommochrome benutzt werden, nicht gefunden. Ihre papier-

²² S. FUZEAU-BRAESCH, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. Paris **245**, 2401 [1957].

²³ J. H. DUSTMANN, Z. vergleich. Physiol. **49**, 28 [1964].

* Anm. b. d. Korr.: Inzwischen wurde gezeigt (A. BOUTHIER, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. **262**, 1480 [1966]), daß

auch bei *Locusta migratoria* keine qualitativen und nur geringfügige quantitative Unterschiede in der Augenpigmentierung zwischen dem Wild- und einem Albino-Stamm bestehen.

²⁴ D. BELLAMY, Biochem. J. **70**, 580 [1958].

chromatographische Trennung wurde bereits oben beschrieben.

Daß es sich auch bei diesen Farbstoffen um Ommochrome handelt, schließen wir einerseits aus ihrem Redox- und Löslichkeitsverhalten: Die Farbvertiefung bei Reduktion ist sehr charakteristisch, und die Löslichkeit in Fettlösungsmitteln, die sehr geringe Löslichkeit in Wasser, Methanol und Äthanol, das Verhalten als Säure und die Alkalilabilität weisen in die gleiche Richtung. Andererseits wurde in dem Versuch zur Markierung des Ommidins mit ^{14}C -Tryptophan auch in den beiden Hautfarbstoffen Radioaktivität wiedergefunden. Die beiden Farbstoffe wurden papierchromatographisch getrennt, eluiert und rechromatographiert. Die Radioaktivität, die schon im ersten Chromatogramm deutliche Gipfel über den Farbstoffzonen zeigte (vgl. Zahlen im experimentellen Teil), war nach der 2. Chromatographie noch schärfer über diesen Zonen lokalisiert (Abb. 5).

Abb. 5. Einbau von D,L-Tryptophan- ^{14}C in die roten Epidermisfarbstoffe von *Locusta migratoria*. Farbstoff- sowie untere und obere Nachbarzonen nach Rechromatographie in PAW.

Farbstoffe des Faeces

Zur Zeit der Häutung und auch, wenn Heuschrecken hungern, ist der sonst olivbraune Kot der Tiere mehr oder weniger intensiv rot gefärbt^{5, 25}. Nach den Befunden älterer Arbeiten erfolgt die Ausscheidung des roten Pigmentes über die Malpighischen Gefäße. Nach papierchromatographischer Analyse besteht das rote Pigment aus mehreren Komponenten, von denen eine sich wie Xanthommatin verhält, während die beiden anderen in BEW

und PAW ähnlich wie die Hautfarbstoffe wandern. Die Farbstoffe wurden nicht näher untersucht, aber sind mit Sicherheit nicht mit den bekannten Xanthommatin-Derivaten im Exkretpigment anderer Insektenarten identisch⁸. Es sei darauf hingewiesen, daß rotes Pigment in sehr vielen Fällen bei der Puppenhäutung holometaboler Insekten gebildet wird, und daß die analoge Bildung von Pigment bei jungen Larven von *Cerura vinula* auch durch Nahrungsentzug experimentell ausgelöst werden kann²⁶. Alle diese Pigmente, soweit sie untersucht worden sind, gehören zu den Ommochromen.

Diskussion

Die Farbstoffklasse der Ommochrome läßt sich seit einigen Jahren, nach der Reindarstellung und Strukturermittlung dreier Ommatine und nach der genaueren Beschreibung der Ommine, klarer überschauen²⁷. Sie bot vorher ein Bild ähnlich den Melaninen — mit denen die Ommochrome im übrigen oft verwechselt wurden: Zwar konnte man Untergruppen beschreiben, die nach bestimmten Kriterien zu unterscheiden waren; aber die Grenzen schienen fließend zu sein, und z. B. die Ommine höhere Polymerisationsprodukte der gleichen Vorstufe, als die Ommatine. Wir wissen heute, daß die Ommine sich von den Ommatinen durch die Inkorporation eines weiteren Bausteines unterscheiden, der nicht aus dem Tryptophan-Stoffwechsel, sondern aus dem Methionin-Stoffwechsel stammt²¹.

Zu diesen nunmehr klar zu trennenden Gruppen treten jetzt das Ommidin und sein Begleiter, das Kryptommidin, hinzu. Auch das Ommidin leitet sich vom Tryptophan und vom Methionin ab, aber es läßt sich chemisch und physikalisch eindeutig gegen die Ommine abgrenzen. Wesentlich problematischer ist die Einordnung der beiden Hautfarbstoffe. Obwohl ihre Zugehörigkeit zu den Ommochromen ziemlich sicher erscheint, ist es bisher nicht möglich, irgendwelche Beziehungen zu den schon bekannten Ommochromen aufzustellen. Dies wäre besonders deshalb erwünscht, weil diese Farbstoffe eine wichtige Rolle bei der unterschiedlichen Färbung von Wander- und Solitärphase der Wanderheuschrecken spielen. Immerhin erscheint es zweckmäßig, die älteren Bezeichnungen „Acridioxanthin“ und „In-

²⁵ R. CHAUVIN, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales **130**, 1194 [1939].

²⁶ D. BÜCKMANN, J. Ins. Physiol. **3**, 159 [1959].

²⁷ A. BUTENANDT, Naturwissenschaften **46**, 461 [1959].

sectorubin“ aufzugeben, zumal der erste Begriff nicht die in vivo rote Farbe der Pigmente trifft und beide Begriffe verallgemeinernd gemeint und angewendet wurden⁵.

Wie bei den meisten Farbstoffklassen der Tiere, kommen auch bei den Ommochromen fast immer mehrere Vertreter gleichzeitig in einer Tierart vor. Bei *Locusta* sind es 5 Ommochrome, bei *Gryllus* mindestens 7, wie wir in einer anderen Arbeit zeigen werden. Dies wirft die Frage auf, ob nicht die Entstehung mehrerer Ommochrome nebeneinander zufällig, anstatt funktionell zu verstehen wäre. Mehrere Befunde sprechen für die zufällig gemeinsame Bildung, sofern die Ommochrome strukturell sehr nahe verwandt sind:

1. Die parallel verlaufende Synthese von Rhodommatin und Ommatin D in der Metamorphose der Gabelschwanzraupe²⁸.

2. Das stets gemeinsame Auftreten von Ommidin und Kryptommidin in den Augen der Heuschrecken.

3. Die Tatsache, daß vielfach kleine Mengen von Xanthommatin in Ommin-Gemischen gefunden werden. Das Auftreten kleiner Xanthommatin-Mengen ist überall dort wahrscheinlich, wo 3-Hydroxykynurenin oxydativ umgewandelt wird. — Die Synthese verschiedener Ommochrom-Typen — Ommine einerseits, Ommidine oder substituierte Ommatine andererseits — scheint dagegen eine spezifische Leistung bestimmter Tiergruppen oder — innerhalb einer Art — bestimmter Organe zu sein.

Die vorliegenden Versuche über die Biosynthese der Ommidine lassen noch keinen Schluß zu, auf welcher Stufe der Einbau des Schwefels erfolgt. Als Sulfat wie im Ommatin D liegt er sicher nicht vor. Der minimale Einbau von $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ kann jedenfalls

zwanglos mit der Tätigkeit der Darmflora erklärt werden. Der Einbau von Methionin ist zweifellos signifikant, obwohl auch hier der Einbau, bezogen auf die applizierte Dosis, sehr niedrig ist. Das ist aber von vornherein zu erwarten: Nimmt man die Menge des Ommidins in einer Imago von *Gryllus* z. B. mit $10\text{ }\mu\text{g}$ an, so dürfte die Syntheseleistung einer halberwachsenen Larve innerhalb von 24 Std. in der Größenordnung von $0,3\text{ }\mu\text{g}$ liegen, eine Menge, die neben dem lebhaften Proteinstoffwechsel des wachsenden Tieres kaum ins Gewicht fällt.

Überhaupt ist der physiologische Zusammenhang der Pigmentbildung mit dem Methionin-Stoffwechsel bisher noch unklar. Da andere Insekten — z. B. die Schmeißfliege *Calliphora*²⁹ — als Lichtschuttpigment im Blau-Grün-Bereich lediglich Xanthommatin, bzw. seine rote Dihydro-Form enthalten, dürfte der Schwefeleinbau kaum etwas mit einer spezifischen Lichtschuttfunktion zu tun haben. Er wird eher aus der Summe der physiologischen und ökologischen Bedingungen, die zur Selektion des Ommidins geführt haben, zu erklären sein.

Für ihr förderndes Interesse bin ich Herrn Prof. A. BUTENANDT und Herrn Prof. H. DANNENBERG zu großem Dank verpflichtet. An der Durchführung der Arbeit waren beteiligt: Frl. G. RÄDEL, Frau I. KRONE, geb. KRÖNER, und vor allem Frl. R. PAGEL. Die IR-Spektren wurden von Frl. I. KÖHLER, das KMR-Spektrum von Herrn Dr. J. SONNENBICHLER und Frl. G. SCHILD angefertigt. ^{14}C -markiertes Leucin wurde mir von Herrn Dr. W. ZILLIG zur Verfügung gestellt. Das Tiermaterial, soweit es nicht aus eigenen Zuchten gewonnen wurde, stammte vom Anti-Locust Research Centre (London), von Herrn Dr. W. NEUPERT und von Frau Dr. I. LAUB-DROST. Die Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft finanziell wesentlich unterstützt. Allen sei an dieser Stelle herzlich gedankt.

²⁸ B. LINZEN u. D. BÜCKMANN, Z. Naturforschg. **16b**, 6 [1960].

²⁹ A. BUTENANDT u. G. NEUBERT, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **301**, 109 [1955].