rende, extrem erleichterte, intramolekulare Dissoziation kaum als Normverhalten des Systems angesprochen werden; in nicht derart polarisierten, gelösten Verbindungen ist, wie aus den Messungen entnommen werden kann, trotz des durch eine Solvatisierung anzunehmenden Stabilitätsverlustes der spirocyclischen Form die Lage des Lösungsgleich-

gewichtes weitgehend zur spirocyclischen Form hin verschoben.

Wir möchten abschließend besonders die experimentelle Mitarbeit der Herren A. WILHELM, K. HALFAR und D. HENDRIKS wie auch von Frl. SCHAULE anerkennen. Für Diskussionsbeiträge danken wir Herrn H. P. VOLLMER.

Über Arthropoden-Abwehrstoffe XXXI *

Vergleichend chemische Untersuchungen der Inhaltsstoffe der Pygidialwehrblasen von Carabiden

H. SCHILDKNECHT, H. WINKLER ** und U. MASCHWITZ

Organisch-Chemisches Institut der Universität Heidelberg

(Z. Naturforsch. 23 b, 637—644 [1968]; eingegangen am 21. November 1967)

In Ergänzung zu früheren Arbeiten wurden die Inhaltsstoffe der Pygidialwehrblasen von 69 verschiedenen Laufkäferarten durch Dünnschichtchromatographie, Hochspannungs-Elektrophorese, Gaschromatographie, Massen- und IR-Spektroskopie untersucht. Es zeigte sich, daß neben Ameisensäure, Methacrylsäure und Tiglinsäure auch n-Undecan sowie teilweise n-Decan und n-Tridecan gespeichert werden kann. Als weitere Sekretbestandteile konnten *iso*-Valerian- und *iso*-Buttersäure sowie *p*-Benzochinon, 2-Methyl-*p*-benzochinon und 2-Methyl-3-methoxy-*p*-benzochinon und *m*-Kresol nachgewiesen werden.

Die Pygidialwehrdrüsen der Laufkäfer zeigen, wie aus den vergleichend-morphologischen Studien von DIERCKX¹ hervorgeht, eine große Formenmannigfaltigkeit. Sie reicht von einfach gebauten Systemen bis zu sehr komplex strukturierten Organen. In der vorliegenden Studie haben wir untersucht, inwieweit sich diese Mannigfaltigkeit auch in der Zusammensetzung der verschiedenen Wehrsekrete zeigt.

1. Ergebnisse

1.1. Chinone, Kresol, Monocarbonsäuren und Paraffine als Inhaltsstoffe der Pygidialwehrblasen

Die chemischen Untersuchungen wurden oft dadurch erschwert, daß die teilweise recht ähnlich gebauten Laufkäfer nicht nur von einem Spezialisten bestimmt werden müssen, sondern außerdem in unserer Fauna oft selten sind oder überhaupt feh-

len. Standen uns nur zwei oder drei Exemplare einer bestimmten Art zur Verfügung, die manchmal noch zusätzlich beim Fang ihr Sekret teilweise verspritzt hatten, so war der Geruch oder die Farbe des Wehrsekrets ein wichtiger Hinweis für die anzuwendende Untersuchungsmethode. Eine Gelbfärbung des Sekretes der Pygidialwehrblasen kann z. B. durch ein verbrücktes Carbonyl, eine 1.2-Diketo-Gruppierung oder durch eine chinoide Struktur im Molekül verursacht werden. Außer der erstgenannten Gruppe reagieren die beiden anderen mit 2.4-Dinitrophenylhydrazin zu schwerlöslichen 2.4-Dinitrophenylhydrazonen (2.4-DNPH). So konnte aus dem rötlichgelben Sekret des *Callistus lunatus* ein Gemisch von 2.4-DNPH gewonnen werden, das sich dünnschichtchromatographisch gut auftrennen ließ. Die *R_f*-Werte stimmten genau mit denen der 2.4-DNPH von *p*-Benzochinon, Toluchinon und Äthylchinon überein. Die gleichen Ergebnisse wurden bei *Chlaenius vestitus* erhalten². Chromatographiert man die Chinone

* XXX. Mitt.: H. SCHILDKNECHT u. W. KÖRNIG, Angew. Chem. 80, 45 [1968]; Int. Ed. 7, 62 [1968].

** Aus der Diplomarbeit H. WINKLER, Universität Heidelberg 1967.

¹ F. DIERCKX, La Cellule 16, 61 [1899].

² H. SCHILDKNECHT, unveröffentlicht.

direkt, so werden diese Befunde bestätigt (Abb. 1). Lediglich auf Grund der Farbfleckintensitäten läßt sich aussagen, daß Toluchinon die Hauptkomponente ist.

Abb. 1. Dünnschichtchromatogramm (Kieselgel G Merck, Fließmittel CH_2Cl_2) von 1 Gemisch aus Äthylchinon, Toluchinon und *p*-Benzochinon, 2 *Chlaenius vestitus*, 3 *Callistus lunatus*, 4 Gemisch wie 1, 5 Benzochinon, 6 Toluchinon, 7 Äthylchinon, mit 2,4-DNP-Lösung besprüht und anschließend mit NH_3 begast.

Daneben kann man beim Sekret von *Callistus* und *Chlaenius* noch einen weiteren Fleck sichtbar machen, der dem R_f -Wert nach fast dem des Äthylchinons, bzw. auch dem des entsprechenden 2,4-DNPH-Derivates in den gewählten Laufmittelsystemen entsprechen könnte. Die beim Verblasen der durch das Begasen mit NH_3 erreichten Blauviolett-Färbung auftretende gelblich graue Mischfarbe jedoch entspricht nicht der bekannten graustichig violetten Tönung des Äthylchinons. Da nur die 2,4-DNPH-Derivate von Chinonen mit NH_3 charakteristisch anfärbbar sind, scheint hier ein weiteres Chinon vorzuliegen, welches näher charakterisiert werden soll, wenn mehr Käfermaterial zur Verfügung steht.

Das entsprechende 2,4-DNPH-Gemisch von *Clivina fossor* ergibt in den Laufmittelsystemen Methylenchlorid, Benzol/Methylenchlorid (1 : 1) und Benzol/Petroläther (60–70 °C)/Äthanol (60 : 37 : 3) ebenfalls *p*-Benzochinon neben hauptsächlich Toluchinon. Darüberhinaus konnte hier als 3. Chinonkomponente 2-Methyl-3-methoxy-*p*-benzochinon identifiziert werden.

Das Wehrsekret einiger anderer Vertreter des oben erwähnten Tribus *Chlaeniini* ist weder aktiv gegen 2,4-DNP-Lösung, noch farbig – in Kapillaren aufgenommen erscheint es als weißliche, fast klare Flüssigkeit. Ihr teerartiger Geruch läßt das Vorliegen phenolischer Substanzen vermuten. Die

vergleichende Gaschromatographie auf Apiezon L als Trennflüssigkeit zeigt bei den Sekreten von *Chlaenius tristis*, *Chlaenius chrysocephalus*, *Chlaenius festinus* sowie von *Panagaeus bipustulatus* Identität des Retentionswertes des Sekretpeaks mit dem Wert von *m*-Kresol bzw. *p*-Kresol.

Abb. 2. IR-Absorptionsspektrum von *p*-Kresol (A), *m*-Kresol (B) und Sekret von *Chlaenius chrysocephalus* aufgenommen mit Perkin Elmer 621.

Durch die Interpretation des IR-Spektrums des Wehrsekretes von *Chlaenius chrysocephalus* (Abb. 2) war eine genaue Zuordnung möglich. Bei 2960 cm^{-1} und 2860 cm^{-1} zeigen sich Banden für ν_{asy} - bzw. ν_{sym} -Schwingungen von $-\text{CH}_3$. Die entsprechenden δ_{asy} - bzw. δ_{sym} -Schwingungen für $-\text{CH}_3$ finden sich bei 1460 cm^{-1} und 1580 cm^{-1} . Die Banden bei 1610 cm^{-1} , 1585 cm^{-1} , 1488 cm^{-1} , 1515 cm^{-1} und 1460 cm^{-1} als ν -Schwingungen weisen auf das Vorliegen einer aromatischen Verbindung hin. Das Auftreten der Bandenfolge von δ -Schwingungen bei 1150 cm^{-1} , 1080 cm^{-1} und 1030 cm^{-1} läßt vermuten, daß diese Verbindung 1,3-disubstituiert sein muß. Eine *m*-substituierte Verbindung verfügt noch über drei freie H, deren out of plane Schwingung zwischen 810 und 750 cm^{-1} auftritt. Das Sekretspektrum zeigt diese Bande bei 770 cm^{-1} . Der Vergleich des Spektrums des Nativsekretes mit den IR-Spektren von *m*- und *p*-Kresol (Abb. 2, Kurven B und A) zeigt, daß die Sekrethauptkomponente *m*-Kresol ist. Die Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel G mit Benzol als Laufmittel unterstützt dieses Ergebnis. Sowohl die durch Besprühen mit diazotierter Sulfanilsäure erhaltene gelbliche Fär-

bung, als auch der R_f -Wert von 0,38 stimmen sehr gut mit *m*-Kresol überein.

Monocarbonsäuren wurden in der Regel durch Hochspannungs-Elektrophorese identifiziert. So konnten wir außer bei *Carabus*, *Pterostichus* und *Abax*³ auch im Wehrsekret von *Leistus*, *Nebria*, *Poecilus*, *Molops* und *Amara* Methacrylsäure und Tiglinsäure auffinden. Diese ungesättigten Säuren sind manchmal bereits durch ihr UV-Absorptionsspektrum mit dem charakteristischen Maximum bei 211 m μ erfassbar, wie die Analyse des Pygidialwehrrüsen-Sekretes von *Nebria livida* ergeben hat. Ebenfalls elektrophoretisch wurde bei *Notiophilus biguttatus* (Notiophilini), *Lorocera pilicornis* (Lorocerini), *Broscus cephalotes* (Broscini), *Omophron limbatum* (Omophronini) und bei *Bembidion lampros* und *Bembidion andreae* (Bembidiini) *iso*-Buttersäure und *iso*-Valeriansäure aufgefunden. Um das sehr breite Vorkommen von gesättigten und ungesättigten Carbonsäuren noch weiter abzusichern, sollten die noch nicht untersuchten Wehrsekrete ähnlicher Arten gaschromatographisch analysiert werden. Auf Grund von Material- und Bestimmungsschwierigkeiten reichte die gewinnbare Sekretmenge jedoch nicht aus, um mit Diazomethan eine Veresterung durchzuführen, wie es für gaschromatographische Auftrennungen am geeignetsten gewesen wäre. Untersuchungen auf verschiedenen Säulen ergaben aber, daß man auf DÄHS (Diäthylhexylsebanat + Sebacinsäure) und LAC (Diäthylenglykoladipatpolyester) als Trennflüssigkeit innerhalb gewisser Konzentra-

tionen eine zufriedenstellende Auftrennung für niedere freie Carbonsäuren erzielen kann. Die Identifizierung der einzelnen Säuren wurde mit Hilfe der von KOVATS beschriebenen Index-Methode vorgenommen⁴ (s. Tab. 1).

Auch massenspektrometrisch konnte das Vorkommen der Carbonsäuren bestätigt werden. Im Spektrum von *Broscus* (Abb. 3) zeigen Peakhöhen bei $m/e = 88$ und $m/e = 102$ die Massen für Buttersäure und Valeriansäure an.

Abb. 3. Massenspektrum von *Broscus cephalotes*-Sekret, aufgenommen mit einem Atlas CH 4 Gerät.

Obwohl zur Zeit bei der Massenspektroskopie darüber diskutiert wird, inwieweit und mit welcher Intensität eine McLafferty-Umlagerung mit entsprechenden Sekundärreaktionen auftritt⁵, kann man die beiden Massen und die anderen Fragmenten-

Säule Untersuchungsmaterial	Vergleichs- Substanz	10% DÄHS			10% LAC	
		<i>Broscus</i>	<i>Bembidion</i>	<i>Amara</i>	Vergleichs- Substanz	<i>Bembidion</i>
Propionsäure	923					
Acrylsäure	970				1602	
n-Buttersäure	1002					
iso-Buttersäure	979	990			1611	1611
n-Valeriansäure	1121					
iso-Valeriansäure	1083	1083	1079		1754	1752
Methacrylsäure	1048			1050		
Tiglinsäure	1198			1192		
Methyl-äthyl-essigsäure	1071					

Tab. 1. Indexwerte für Sekretsubstanzen und einige Monocarbonsäuren auf LAC und DÄHS bei 80 °C.

³ H. SCHILDKNECHT u. K. H. WEIS, Z. Naturforsch. 17b, 439 [1962].

⁴ E. KOVATS, Helv. chim. acta 41, 1915 [1958].

⁵ N. C. ROL, Recueil Trav. chim. Pays-Bas 84, 413 [1965].

tierungen durch Vergleich mit Literaturspektren⁶ der *iso*-Buttersäure und der *iso*-Valeriansäure zuzuordnen. Die durch die Gaschromatographie und die Massenspektroskopie gewonnenen Ergebnisse stehen zusätzlich noch mit den Absorptionswerten der IR-Spektroskopie des Nativsekretes von *Brosicus cephalotes* und einem „synthetischen“ Sekret in gutem Einklang; vgl. Abb. 4.

Abb. 4. Vergleich der IR-Absorptionsspektren von A Sekret des *Brosicus cephalotes* und B ein Gemisch aus *iso*-Buttersäure und *iso*-Valeriansäure, aufgenommen mit dem Perkin Elmer Gerät Typ 621.

Im Massenspektrum des Sekretes von *Amara familiaris*, *Amara similata* und *Poecilus cupreus* waren die der Methacrylsäure und Tiglinsäure zukommenden Massen bei $m/e = 86$ bzw. $m/e = 100$ sowie ihre möglichen Fragmentierungen gut zu erkennen. Daneben treten aber auch die Fragmentgruppierungen von $C_nH_{2n+1}^+$ und $C_nH_{2n}^+$ mit steigender Massenzahl in abnehmender Intensität auf, was für n-Alkane charakteristisch ist. Wie bei *Idiochroma dorsalis* zum ersten Mal beschrieben⁷, ist auch hier der Molekularpeak für n-Undecan stark ausgeprägt. Auch gaschromatographisch konnte $C_{11}H_{24}$ als Hauptkomponente nachgewiesen werden. Ein sehr guter, allgemein anwendbarer Nachweis von n-Alkanen ist durch einen Vergleich der Logarithmen der durch die Gaschromatographie gewonnenen Retentionszeiten der Sekretpeaks mit denen der durch bekannte n-Alkane hervorgerufenen Elutionspeaks möglich. Allerdings muß man darauf achten, daß auf mindestens drei Säulen Übereinstimmung

herrscht; vgl. Abb. 5. Zusätzlich haben sich als charakteristisch, auch in Substanzgemischen, die verschiedenen Wellenlängen der IR-Absorption für die CH_3 -, CH_2 - und CH_3-C - bzw. $-CH_2$ -Gruppen erwiesen⁸.

Abb. 5. Vergleich von $\log tr$ der n-Alkane mit $\log tr$ der Sekretpeaks bei *Harpalus distinguendus* auf fünf verschiedenen belegten Säulen.

Haben wir früher bereits bei Käfern der Gattung *Calathus* Ameisensäure aufgefunden⁹, so konnten wir nun zusätzlich noch die Paraffine n-Decan, n-Undecan und n-Tridecan nachweisen. Die darüberhinaus untersuchten Gattungen *Agonum*, *Platynus*, *Ophonus*, *Diachromus*, *Pseudophonus*, *Anisodactylus*, *Harpalus*, *Dichirotrichus*, *Stenolophus* sowie *Licinus*, *Polystichus*, *Odacantha*, *Badister* und *Drypta* speichern in ihren Pygidialwehrblasen neben Ameisensäure ebenfalls die genannten n-Alkane. Eine Ausnahme stellt *Lebia chlorocephala* dar; im Sekret des einzigen zur Verfügung stehenden Käfers konnten neben Ameisensäure keine Alkane aufgefunden wer-

⁶ American Petroleum Institute, Catalog of Mass Spectral Data, Carnegie Institute of Technology, Pittsburgh, Nr. 649 u. 659.

⁷ H. SCHILDKNECHT, H. WINKLER, D. KRAUSS u. U. MASCHWITZ, Über Arthropoden-Abwehrstoffe XXVIII, Z. Naturforsch. 23b, 46 [1968].

⁸ C. N. R. RAO, Chemical Applications of Infrared Spectroscopy, Academic Press, New York—London 1961, S. 131.

⁹ H. SCHILDKNECHT u. K. H. WEIS, Z. Naturforsch. 16b, 361 [1961].

den. Die n-Alkane fehlen auch bei den untersuchten *Carabus*, *Leistus*- und *Nebria*-Arten und außerdem bei *Molops elatus* und *Abax*, wohingegen alle anderen der von uns bearbeiteten Methacryl- und Tiglinsäure aufweisenden Vertreter der Pterostichini und Amarini ebenfalls zusätzlich über Alkane als Sekretkomponenten verfügen. Keine Paraffine waren dagegen bei verschiedenen Käfern nachzuweisen, deren Hauptsekretkomponenten *iso*-Valerian- und *iso*-Buttersäure sind, so bei *Brosicus*, *Omophron* und *Lorocera*. Die Wehrsekrete von *Bembidion*, *Notiophilus* und *Elaphrus* konnten bisher noch nicht auf das Vorhandensein von Kohlenwasserstoffen untersucht werden.

2. Schlußbemerkung

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sollen in den Tabn. 2 und 3 noch einmal zusammenfassend dargestellt werden. Tab. 2 gibt eine Darstellung der auftretenden Wehrsubstanzen bei den einzelnen untersuchten Carabidenarten, Tab. 3 die entsprechenden Verteilungen innerhalb der einzelnen Triben. Obwohl noch nicht sämtliche Triben, die Vertreter in der mitteleuropäischen Fauna besitzen, untersucht werden konnten, zeigen doch die bereits vorliegenden Ergebnisse, daß die Mannigfaltigkeit der Drüsenformen auch einer umfassenden Mannigfaltigkeit der Wehrsekret-Zusammensetzung entspricht.

Tribus Art	Sekret Bestand- teil	Ver- schiede- dene	Untersuchungsmethoden Elek- G.C. IR UV tro- pho- rese
Omophronini			
<i>Omophron limbatum</i>	V		+
Carabini			
<i>Carabus auratus</i>	M		+
<i>Carabus granulatus</i>	M		+
<i>Carabus problematicus</i> (und weitere 9 Arten ¹⁰)	M		+
Nebriini			
<i>Leistus ferrugineus</i>	M		+
<i>Nebria livida</i>	M		+
Notiophilini			
<i>Notiophilus biguttatus</i>	V		+
Elaphrini			
<i>Elaphrus riparius</i>	V		+
Lorocerini			
<i>Lorocera pilicornis</i>	V		+
Scaritini			
<i>Clivina fossor</i>	CH	DC	
Broschini			
<i>Brosicus cephalotes</i>	V		+
Bembidiini			
<i>Bembidion quadriguttatum</i> ¹⁰	SA	DC	
<i>Bembidion quadrimaculatum</i> ¹⁰	Ke		+
<i>Bembidion lampros</i>	V		+
<i>Bembidion andreae</i>	V		+
<i>Asaphidion flavipes</i> ¹⁰	SA		+
Pterostichini			
<i>Calathus fuscipes</i>	A+Al		+
<i>Calathus melanocephalus</i>	A+Al		+
<i>Agonum sexpunctatum</i>	A+Al		+
<i>Agonum marginatum</i>	A+Al		+
<i>Agonum viduum</i>	A+Al		+
<i>Agonum moestum</i>	A+Al		+
<i>Platynus assimilis</i>	A+Al		+
<i>Poecilus cupreus</i>	M+Al		+
<i>Pterostichus niger</i> ³	M+Al		+
<i>Pterostichus macer</i>	M+Al		+
<i>Pterostichus vulgaris</i>	M+Al		+
<i>Pterostichus melas</i>	M+Al		+
<i>Pterostichus metallicus</i>	M+Al	Mass	+

Tribus Art	Sekret Bestand- teil	Ver- schiede- dene	Untersuchungsmethoden Elek- G.C. IR UV tro- pho- rese
<i>Abax parallelus</i> ³	M		+
<i>Abax ovalis</i> ³	M		+
<i>Molops elatus</i>	M		+
Amarini			
<i>Amara similata</i>	M+Al		+
<i>Amara familiaris</i>	M+Al	Mass	+
Harpalini			
<i>Ophonus azureus</i>	A+Al		+
<i>Diachromus germanus</i>	A+Al		+
<i>Pseudophonus pubescens</i>	A ³ +Al	Mass	+
<i>Pseudophonus griseus</i>	A ³ +Al		+
<i>Anisodactylus binotatus</i>	A+Al		+
<i>Harpalus distinguendus</i>	A+Al		+
<i>Harpalus dimidiatus</i>	A+Al		+
<i>Harpalus atratus</i>	A+Al		+
<i>Harpalus luteicornis</i>	A+Al		+
<i>Harpalus tardus</i>	A+Al		+
<i>Dichirotrichus obsoletus</i>	A+Al		+
<i>Stenolophus mixtus</i>	A+Al		+
Licinini			
<i>Badister bipustulatus</i>	A+Al		+
<i>Licinus nitidior</i>	A+Al		+
Chlaeniini			
<i>Chlaenius tristis</i>	Kr		+
<i>Chlaenius chrysocephalus</i>	Kr		+
<i>Chlaenius vestitus</i> ²	Ch		+
<i>Chlaenius festivus</i>	Kr		+
<i>Callistus lunatus</i>	Ch	DC	+
Panagaeini			
<i>Panagaeus bipustulatus</i>	Kr	DC	+
Lebiini			
<i>Lebia chlorocephala</i>	A		
Odacanthini			
<i>Odacantha melanura</i>	A+Al		+
Dryptini			
<i>Drypta dentata</i>	A+Al		+
Zuphiini			
<i>Polystichus connexus</i>	A+Al		+

Tab. 2. Zusammenfassende Darstellung der Carabidenarten mit untersuchten Wehrsekreten. A Ameisensäure, Al Alkane, Ch Chinone, Kr *m*-Kresol, Ke aliphatische Ketone, M Methacryl/Tiglinsäure, SA Salicylaldehyd, SE Salicylsäuremethylester, V *iso*-Valerian-/iso-Buttersäure.

¹⁰ H. SCHILDKNECHT et al., in Vorbereitung.

	Zahl der untersch. Gatt.	Methacrylsäure Tiglinensäure	Salicylaldehyd	Ameisensäure	n-Alkane	Salicylsäuremethylester	Benzochinon Toluchinon	m-Kresol	Ketone	iso-Buttersäure iso-Valeriansäure	2-Methyl-3-methoxy- p-Benzochinon
Omophronini	1									+	
Carabini	1	+									
Nebriini	2	+									
Notiophilini	1									+	
Elaphrini	1									+	
Lorocerini	1									+	
Scaritini	1						+				+
Broscini	1									+	
Bembidiini	2		+						+	+	
Pterostichini	7	+		+	+	+					
Amarini	1	+			+						
Harpalini	9			+	+						
Licinini	2			+	+						
Chlaenini	2						+	+			
Panagaeini	1							+			
Lebiini	1			+							
Odacanthini	1			+	+						
Dryptini	1			+	+						
Zuphiini	1			+	+						

Tab. 3. Übersicht der Sekretzusammensetzung bei den verschiedenen Triben der Carabiden.

Abschließend muß noch erwähnt werden, daß in den Wehrflüssigkeiten, außer den von uns aufgeklärten Hauptkomponenten, oft noch Begleitverbindungen gaschromatographisch sichtbar auftreten, die jedoch wegen ihrer geringen Konzentration chemisch nicht aufgeklärt werden konnten.

3. Experimentelle Einzelheiten

3.1. Isolierung der Wehrsekrete

Zur Analyse wurden aus den durch Einfrieren abgetöteten Käfern unter dem Binokular die Pygidialblasen in einer mit Insekten-Ringer gefüllten Schale herauspräpariert. Der Sammelkanal wurde mit einer Pinzette zugequetscht, die herausgenommene Blase mit H₂O dest. gewaschen und mit Filterpapier abgetrocknet. Von der so behandelten Blase haben wir dann auf einer Glasplatte die ausgedrückte Sekretflüssigkeit mit einer an den Ausgang des Sammelkanals gelegten Haarkapillare aufgesaugt.

3.2. Vergleichspräparate

Die meisten der benötigten Verbindungen sind einfacher Natur und somit handelsüblich. Sofern sie nicht als p. a. Substanzen erhältlich waren, wurden sie meist durch Destillieren sowie durch Eiszonenschmelzen gereinigt.

Verbindung	R _f -Wert
Methylenchlorid:	
2.4-DNPH von p-Benzochinon	0,12
2.4-DNPH von Toluchinon	0,28 (0,17)
2.4-DNPH von Äthylchinon	0,32 (0,18)
2.4-DNP Fällung von <i>Callistus lunatus</i> -Sekret	0,12
	0,26 (0,16)
	0,30
nicht identifiziert	0,58 und 0,61
2.4-DNPH Gemisch der drei Chinone	0,12
	0,26 (0,16)
	0,30 (0,16)
Benzol/Methylenchlorid: (1:1)	
2.4-DNPH von Äthylchinon	0,29
2.4-DNPH Fällung des Sekretes von	
<i>Clivina fossor</i> 1. Fleck	0,15
2. Fleck	0,17
3. Fleck	0,22
4. Fleck	0,25
2.4-DNPH Gemisch Benzochinon	0,15
Toluchinon	0,17
	0,22
2-Methyl-3-methoxy-p-benzochinon	0,27
2.4-DNPH Gemisch Äthylchinon	0,29
2-Methyl-3-methoxy-p-benzochinon	0,25

Tab. 4. R_f-Werte der 2.4-DNPH der Chinone und Sekretkomponenten, Zahlenwerte in () geben die R_f-Werte der Isomeren an.

3.3 Dünnschichtchromatographie

3.3.1. Dünnschichtchromatographie der 2.4-DNP von p-Benzochinonen

Art: aufsteigend. Adsorbens: Kieselgel G nach STAHL (Merck, Darmstadt). Schichtdicke: 0,25 mm. Laufstrecke: 15 cm dreistufig. Fließmittel: Methylenchlorid p. a. und Benzol/Methylenchlorid (1 : 1) zweistufig. Sprühreagenz: Begasen mit NH_3 .

3.3.2. Dünnschichtchromatographie der Chinone

Art: aufsteigend. Adsorbens: Kieselgel G + Stärke (28,5 g + 1,5 g) + 0,5 g Fluoreszenzindikator. Man löst in 60 ml Wasser, welches vorher auf 85 °C erhitzt wird. Fließmittel: n-Hexan/Essigsäureäthylester (84 : 130). Schichtdicke: 0,25 mm. Laufstrecke: 15 cm, dreistufig zu je 5 cm. Sprühreagenz: 2.4-DNP in 2-n. HCl gelöst, mit anschließendem Begasen der Platte mit NH_3 .

Verbindung	R_f -Wert
Benzochinon	0,63
Toluchinon	0,67
Äthylchinon	0,72
Sekret <i>Callistus lunatus</i>	0,63 0,67 0,72
Sekret <i>Chlaenius vestitus</i>	0,63 0,67 0,72

Tab. 5. R_f -Werte von Chinonen und Sekretsubstanzen.

3.3.3. Dünnschichtchromatographie von Phenolen

Art: aufsteigend. Adsorbens: Kieselgel G nach STAHL (Merck, Darmstadt). Schichtdicke: 0,25 mm. Laufstrecke: 12 cm zweimal. Fließmittel: Benzol p. a. Sprühreagenz: 0,1% diazotierte Sulfanilsäure in 10-proz. Na_2CO_3 .

Verbindung	R_f -Wert
m-Kresol	0,38
p-Kresol	0,41
o-Kresol	0,53
Phenol	0,78
Käfersekret	0,38

Tab. 6. R_f -Werte von verschiedenen Phenolen und Sekret von *Chlaenius chrysocephalus*.

3.4. Hochspannungselektrophorese

Die Versuchsbedingungen entsprechen den mit der Mitteilung über Arthropoden-Abwehrstoffe XXVIII⁷ veröffentlichten Angaben.

3.5. Gaschromatographie

Alle Versuche und Untersuchungen wurden mit dem Gerät Aerograph 1520 der Firma Varian Aerograph A.G., Basel, durchgeführt. Als Säulenmaterial kamen ausschließlich Rohre aus Edelstahl zur Anwendung. Die verschiedenen Trennflüssigkeiten wurden einheitlich gemäß folgender Arbeitsvorschrift auf das Trägermaterial aufgebracht.

Die Trennflüssigkeit wird zunächst in Methylenchlorid gelöst und das alkali- und säurefrei gewaschene Trägermaterial dazugemischt. Nach innigem Durchmischen wird das Methylenchlorid auf dem Wasserbad oder im Rotationsverdampfer entfernt. Das auf diese Weise erhaltene feuchte Pulver wird dann über Nacht im Vakuum bei ca. 100 °C vollständig getrocknet.

Wenn eine Silanisierung des Trägermaterials nötig war, wurde diese nach HORNSTEIN und GROWE¹¹ durchgeführt. Als Trägermaterial ist für alle Säulen Chromosorb G mesh 80/100 und mesh 100/120 der Firma Varian Aerograph A.G., Basel, verwendet worden.

Die als Vergleichs- bzw. Eichsubstanzen bei jeder Analyse mit eingespritzten n-Alkane (C_6 – C_{15}) wurden von der Firma J. Haltermann, Hamburg, bezogen.

Trennflüssigkeit	Belegung [%]
Apiezon L sil	5
β,β' -Oxydipropionitril	20
Diäthylenglykolsuccinat (DEGS)	5
Silicon SE 30	5
Diäthylhexylsebanat + Sebacinsäure sil (DÄHS)	10
Carbowax + Terephthalsäure	5
Diäthylenglykoladipatpolyester (LAC-2R-446) sil.	10

Tab. 7. Aufstellung der verwendeten Trennflüssigkeiten für die Gaschromatographie.

Der Gaschromatograph war mit einem Flammenionisations-Detektor ausgerüstet.

Herrn Diplom-Ingenieur W. HEINZ möchten wir besonders für die große Hilfe bei der Bestimmung und der Beschaffung der Carabiden danken. Diese Arbeit wurde durch dankenswerte Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft und des Fonds der chemischen Industrie ermöglicht.

¹¹ J. HORNSTEIN u. P. F. GROWE, Analytic. Chem. **33**, 310 [1961].

Sekret bzw. Substanz	Trägergasgeschw.		Temperatur [°C]		
	N ₂ $\left[\frac{\text{ml}}{\text{min}} \right]$	H ₂ $\left[\frac{\text{ml}}{\text{min}} \right]$	Kolonne Injektor Detektor		
5% Apiezon L sil. 6' 1/8''					
<i>Carabus problematicus</i>	19	25	90	140	150
<i>Calathus melanocephalus</i>	27	27	80	135	135
<i>Agonum marginatum</i>	21	25	85	155	135
<i>Agonum viduum</i>	27	27	80	135	135
<i>Platynus assimilis</i>	21	25	87	115	128
<i>Idiochroma dorsalis</i>	19	25	90	140	150
<i>Pterostichus melas</i>	27	27	80	135	135
<i>Abax parallelus</i>		25	85	121	125
<i>Molops elatus</i>		25	85	121	125
<i>Pseudophonus pubescens</i>	19	25	90	135	130
<i>Anisodactylus binotatus</i>		25	80	135	127
<i>Lebia chlorocephala</i>	25	25	86	154	135
<i>Odacantha melanura</i>	25	25	85	154	135
<i>Polystichus connexus</i>	25	25	91	155	139
<i>Chlaenius festinus</i>	25	25	79	152	148
<i>Harpalus distinguendus</i>	19	25	90	150	150
<i>Harpalus tardus</i>	21	25	87	117	131
<i>Stenolophus mixtus</i>	23	25	80	112	120
<i>Badister bipustulatus</i>		25	85	121	125
<i>Licinus nitidior</i>	21	25	80	119	126
<i>Drypta dentata</i>		25	85	121	125
m-Kresol	25	25	80	134	106
p-Kresol	25	25	80	134	106
<i>Chlaenius tristis</i>	25	25	80	134	106
<i>Panagaeus bipustulatus</i>	25	25	80	134	106
<i>Chlaenius festinus</i>	25	25	80	134	106
<i>Chlaenius chrysocephalus</i>	25	25	80	134	106
5% Carbowax + Terephthalsäure 6' 1/8''					
<i>Idiochroma dorsalis</i>	19	20	60	145	150
Salicylsäuremethylester	32	28	160	170	170
<i>Idiochroma dorsalis</i>	32	28	160	170	170
<i>Harpalus distinguendus</i>	19	20	60	145	150
5% Silicon SE 30 5' 1/8''					
<i>Idiochroma dorsalis</i>	14	25	90	152	150
<i>Amara similata</i>	19	25	90	152	150
<i>Amara familiaris</i>	21	25	90	152	150
<i>Harpalus distinguendus</i>	21	25	90	152	150
10% LAC sil. 3' 1/8''					
Acrylsäure	25	25	85	147	152
n-Buttersäure	25	25	85	147	152
iso-Buttersäure	25	25	85	147	152
iso-Valeriansäure	25	25	85	147	152
n-Valeriansäure	25	25	85	147	152
<i>Omophron limbatum</i>	25	25	80	145	135
<i>Notiophilus biguttatus</i>	25	25	90	147	152
<i>Bembidion striatum</i>	25	25	90	147	152
<i>Bembidion lampros</i>	25	25	85	147	152
<i>Bembidion quadripustulatum</i>	25	25	85	147	152
<i>Elaphrus riparius</i>	25	25	85	147	152
5% DEGS 6' 1/8''					
<i>Idiochroma dorsalis</i>	20	25	90	145	153
Salicylsäuremethylester	33	33	90	160	175
<i>Idiochroma dorsalis</i>	33	33	90	160	175
<i>Harpalus distinguendus</i>	19	23	90	156	189
10% DÄHS 3' 1/8''					
<i>Carabus problematicus</i>	28	25	90	114	224
<i>Carabus granulatus</i>			80	135	135
<i>Leistus ferrugineus</i>	27	27	80	135	135
<i>Nebria livida</i>	24	24	90	140	138
<i>Poecilus cupreus</i>	28	25	90	114	124
<i>Idiochroma dorsalis</i>	27	27	90	130	130
<i>Pterostichus melas</i>	27	27	90	130	130
<i>Abax parallelus</i>	27	27	90	130	130
<i>Molops elatus</i>	27	27	90	130	130
<i>Pseudophonus pubescens</i>	19	25	90	128	132
<i>Harpalus distinguendus</i>	19	25	90	150	150
<i>Harpalus tardus</i>	27	27	90	130	130
<i>Stenolophus mixtus</i>	24	25	80	112	120
Acrylsäure	27	25	85	125	135
Propionsäure	27	25	85	125	135
Methacrylsäure	27	25	85	125	135
iso-Buttersäure	27	25	85	125	135
n-Buttersäure	27	25	85	125	135
Tiglinssäure	27	29	90	140	130
n-Valeriansäure	27	25	85	125	135
iso-Valeriansäure	27	25	85	125	135
Methyl-äthyl-essigsäure		15	85	125	135
<i>Omophron limbatum</i>	23	25	80	119	126
<i>Carabus auratus</i>	28	25	90	114	124
<i>Loricera pilicornis</i>	23	25	85	121	125
<i>Broscus cephalotes</i>	24	25	80	112	120
<i>Bembidion andreae</i>	23	25	85	110	125
<i>Bembidion lampros</i>	23	25	85	110	125
<i>Calathus melanocephalus</i>	19	24	85	121	125
<i>Idiochroma dorsalis</i>		25	81	131	105
<i>Pterostichus macer</i>	28	25	90	114	124
<i>Pterostichus niger</i>		25	80	135	127
<i>Amara familiaris</i>	19	24	88	150	150
<i>Anisodactylus binotatus</i>		25	81	131	127
<i>Drypta dentata</i>		25	85	121	128
20% β , β '-Oxydipropionitril 6' 1/4''					
<i>Idiochroma dorsalis</i>	25	27	37	77	76

Tab. 8. Bedingungen der Gaschromatographie.