

**Identifizierung von Naturstoffprofilen
aus der Nordseekrabbe
*Crangon crangon***

Dissertation

**Zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereichs Chemie
der Universität Hamburg**

vorgelegt von

**Ursula Elisabeth Adriane Fittschen
geb. Jansen**

aus Bonn

**Institut für Organische Chemie
Hamburg 2001**

1. Gutachter : Prof. Dr. Dr. h.c. W. Francke

2. Gutachter: Prof. Dr. W. König

Für Andreas und Elisabeth Lucia

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von April 1996 bis Juli 2001 im Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Wittko Francke danke ich herzlich für die Überlassung des Themas, wertvolle Diskussionen und Anregungen sowie die freundschaftliche Betreuung während dieser Arbeit.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Friedrich Buchholz, Herrn Dr. Reinhard Saborowski, Herrn Dr. Kurt Paschke und Frau Iris Ulrich für die freundliche Aufnahme an der biologischen Anstalt Helgoland und Ihre Hilfsbereitschaft bei der Hälterung von *Crangon crangon*.

Für die Unterstützung und Diskussion bei der Durchführung massenspektroskopischer Analysen danke ich Herrn Dr. Stephan Franke.

Für die Unterstützung bei den präparativen Arbeiten danke ich Frau Melanie Mosler.

Allen Mitgliedern des Arbeitskreises und besonders Herrn Dipl. Chem. Matthias Rietdorf danke ich für wertvolle Diskussionen, Anregungen und Ihre Hilfsbereitschaft.

Herrn Dr. Ernst Plaß und Herrn Dipl. Chem. Jens Fuhlendorff danke ich für das Zurverfügungstellen von Vergleichssubstanzen.

Meinen Eltern und meiner Familie danke ich für die Hilfsbereitschaft und Rücksichtnahme, womit Sie mir die Anfertigung dieser Arbeit sehr erleichtert haben. Sie werden immer an erster Stelle in meinem Leben stehen.

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS :

°	Grad
(A+S)	Adenosinmonophosphat und Serin
(A+T)	Adenosinmonophosphat und Taurin
Abb.	Abbildung
abs.	absolut
AcOH	Essigsäure
Ala	Alanin
Ant.	Antenne
arom.	aromatisch
ATP	Adenosintri-phosphat
BuLi	Buthyllithium
bzw.	beziehungsweise
C	Celsius
CLSA	Closed Loop Stripping Analysis
E	entgegen
Δ	Hitze
δ	chemische Verschiebung
D	dexter
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DEAD	Diethylazodicarboxylat
dest.	destilliertes
DMAP	Dimethylaminopyridin
DMDS	Dimethyldisulfid
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
ee	enantiomeric excess
et al.	(lat) und weitere
Et	Ethyl
fl.	flüssig
FID	Flammenionisationsdetektor
FTIR	Fourier-transformierte Infrarotspektroskopie
g	Gramm
GC	Gaschromatographie
gh	gehäutet
(G+S)	Glycin und Serin
h	Stunde(n)
HPLC	High-Performance-Liquid-Chromatography
Hz	Hertz
Ileu	Isoleucin
IR	Infrarotspektroskopie
J	Kopplungskonstante
L	gegen den Uhrzeigersinn angeordnet im Sinne der Cahn Ingold Prelog Nomenklatur
LC	Liquid Chromatography

Lit.	Literatur
Lsg.	Lösung
Leu	Leucin
M ⁺	Molekülion
MeOH	Methanol
mg	Milligramm
mL	Milliliter
μL	Mikroliter
mmol	Millimol
MS	Massenspektroskopie
m/z	Masse pro Ladung
N	normal
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
Phe	Phenylalanin
Ph	Phenyl
Pro	Prolin
R	im Uhrzeigersinn angeordnet im Sinne der Cahn Ingold Prelog Nomenklatur
rf	reif
RNA	Ribonukleinsäure
RT	Raumtemperatur
s.	siehe
S.	Seite
S	gegen den Uhrzeigersinn angeordnet im Sinne der Cahn Ingold Prelog Nomenklatur
SPE	Solid Phase Extraction
SPME	Solid Phase Micro Extraction
Std.	Stunde
s.u.	siehe unten
Tab.	Tabelle
THF	Tetrahydrofuran
Ts	Tosyl
ur	unreif
UV	Ultraviolett
Val	Valin
Z	zusammen
z.B.	zum Beispiel
ω _n	n bezeichnet die Position einer Doppelbindung von dem Ende der Alkylkette einer Fettsäure betrachtet

1 Einleitung	3
2 Themenstellung	20
3 Verhaltensstudie zur Wahrnehmung von Nahrungsinhaltsstoffen von <i>Crangon crangon</i>	22
3.1 Material	23
3.2 Methoden	23
3.3 Versuchsaufbau	23
3.4 Durchführung und Ergebnisse	25
3.5 Diskussion	31
4 Verhaltensstudie zur Fortpflanzung von <i>Crangon crangon</i>	34
4.1 Material	35
4.2 Methode	35
4.3 Beobachtung	35
4.4 Diskussion	39
5 Identifizierung von Naturstoffen von Männchen und Weibchen in verschiedenen Entwicklungsstadien und aus verschiedenen Körpersektionen von <i>Crangon crangon</i>	41
5.1 Material	41
5.2 Methoden	41
5.3 Strukturaufklärung und Charakterisierung ausgewählter Naturstoffe aus <i>Crangon crangon</i>	43
5.3.1 Hydroxysäureamide	43
5.3.2 Amide	59
5.3.3 Ungesättigte Carbonylverbindungen	63
5.3.4 Makrozyklische Lactone	67
5.3.5 Diketopiperazine	71
5.3.6 Die Nukleoside	77
5.3.7 Ethanolamide	78
5.4 Ergebnisse aus der Untersuchung von Männchen und Weibchen in verschiedenen Entwicklungsstadien	80
5.4.1 Probennahme	80
5.4.2 Chromatogramme der untersuchten Proben	84
5.4.3 Identifizierte Inhaltstoffe von Männchen und Weibchen in verschiedenen Entwicklungsstadien	106
5.4.4 Hauptkomponenten	115
5.4.5 Unterschiede zwischen den untersuchten Gruppen	117

5.5 Ergebnisse aus der Untersuchung verschiedener Körpersektionen von <i>Crangon crangon</i>	121
5.5.1 Probengewinnung	121
5.5.2 Chromatogramme aus der Untersuchung verschiedener Körpersektionen	123
5.5.3 Tabellarische Auflistung der Inhaltsstoffe der verschiedenen Körpersektionen von <i>Crangon crangon</i>	132
5.5.4 Charakteristische Substanzen in den einzelnen Körpersegmenten	140
5.6 Diskussion zur Identifizierung von Naturstoffen bei <i>Crangon crangon</i>	143
6 Zusammenfassung	160
7 Experimenteller Teil	166
7.1 Allgemein	166
7.2 Gewinnung der Naturextrakte	167
7.2.1 Allgemein	167
7.2.2 Festphasenextraktion	168
7.3 Derivatisierung der Naturextrakte	169
7.3.1 Derivatisierung mit Dimethyldisulfid (DMDS)	169
7.3.2 Methylierung der Naturextrakte	169
7.3.3 Silylierung der Naturextrakte	169
7.3.4 Hydrierung der Naturextrakte	169
7.3.5 Acetylierung und Dehydratisierung der Naturextrakte	170
7.4 Synthese der Vergleichssubstanzen	170
7.4.1 Darstellung von Octansäureamid	170
7.4.2 Darstellung von Nonansäureamid	171
7.4.3 Darstellung von Decansäureamid	171
7.4.4 Darstellung von Dodecansäureamid	172
7.4.5 Darstellung von (E)-3-Hexensäureamid	172
7.4.6 Darstellung von (E)-2-Octensäureamid	173
7.4.7 Darstellung von <i>rac</i> .-2-Methylheptansäureamid (26)	173
7.4.8 Darstellung von <i>rac</i> .-3-Hydroxydecansäureamid (17)	175
7.4.9 Darstellung von (S)-3-Hydroxydecansäureamid (17B)	176
7.4.10 Darstellung eines Rasters bestehend aus (S)-3-Hydroxyhexansäureamid, <i>rac</i> .-3-Hydroxyoctansäureamid, (R)-3-Hydroxydecansäureamid (17A), (S)-3-Hydroxydecansäureamid (17B) und (S)-3-Hydroxydodecansäureamid	179
7.4.11 Darstellung von (5Z,8Z,11Z)- <i>rac</i> .-3-Hydroxytetradeca-5,8,11-triensäurenitril	180
7.4.12 Darstellung von (5Z,8Z,11Z)-5,8,11-Tetradecatrien-2-on (28)	184
7.4.13 Darstellung von (5Z,8Z,11Z)- und (5E,8Z,11Z)-Tetradecatrien-2-on (28,27)	187
7.4.14 Darstellung von (3E,5E)-3,5-Octadien-2-on (33)	188
7.4.15 Darstellung von <i>rac</i> .-9-Octadecanolid (37)	189
7.4.16 Darstellung von <i>rac</i> .-10-Octadecanolid (38)	192
7.4.17 Darstellung von L-Pro-L-Phe-Diketopiperazin (44)	194
7.4.18 Darstellung von L-Pro-D,L-Val-Diketopiperazin (39)	196
7.4.19 Darstellung von L-Pro-L-Ala-Diketopiperazin (40)	198
7.4.20 Darstellung von D,L- <i>rac</i> .-Ileu-L-Pro-Diketopiperazin (43)	199
7.4.21 Darstellung von L-Pro-L-Pro-Diketopiperazin (41)	201
7.4.22 Darstellung von Myristinsäureethanolamid	201
7.4.23 Darstellung von Palmitinsäureethanolamid (58)	202
8 Literatur	203
9 Anhang und sicherheitstechnische Hinweise	215

1 Einleitung

Chemische Kommunikation

Viele Lebewesen benutzen chemische Botenstoffe zur Kommunikation. Diese sogenannten Semiochemikalien [1], werden danach unterschieden, ob sie der interspezifischen Kommunikation dienen, also zwischen zwei verschiedenen Arten wirken, oder ob sie zwischen artgleichen Individuen vermitteln [2].

Interspezifisch wirksame Substanzen werden Allelochemikalien genannt [3], wobei unterschieden wird, ob die Duftsignale eine für den Sender (Allomon) oder für den Empfänger (Kairomon) nützliche Wirkung haben [4]. Intraspezifisch wirksame Substanzen werden als Pheromone bezeichnet. Sie können physiologische Veränderungen („Primer“-Pheromon) oder Verhaltensänderungen („Releaser“-Pheromon) auslösen [5,6,7]. Sie dienen z.B. zum Anlocken und Auffinden des Geschlechtspartners, der Steuerung und Stimulierung des Kopulationsvorgangs, zur Aggregation, zur Markierung von Spuren und Arealen und zur Auslösung von Alarmreaktionen.

Pheromone sind Sekundärmetaboliten des Stoffwechsels. Sie können de novo erzeugt werden, dieser Vorgang stellt allerdings für einen Organismus einen energetischen Aufwand dar, oder durch Veränderungen von Substanzen, die mit der Nahrung aufgenommen wurden, entstehen. Im ersten Fall handelt es sich oft um Sexuallockstoffe, die darauf hinweisen sollen, dass es sich bei dem Emitter um ein starkes gesundes Tier handelt.

Im zweiten Fall sagen die Botenstoffe etwas über den Zustand des Habitats, in dem sich das Individuum aufhält aus. Borkenkäfer regeln z.B. die Besiedelung ihrer Wirtsbäume größten Teils über Metaboliten von Harzinhaltstoffen [8,9].

Für pheromonale Wirkung können sowohl Einzelsubstanzen als auch Multikomponentengemische sogenannte Buketts, verantwortlich sein. In letzterem Fall werden die wirksamen Einzelsubstanzen als Pheromonkomponenten bezeichnet. Das Komponentengemisch ist häufig erheblich wirksamer als die Summe der einzelnen Substanzen (synergistischer Effekt).

Da verwandte Arten ähnliche Stoffwechsel haben und de novo nur selten unterschiedliche Sekundärmetaboliten erzeugen [10,11], ermöglicht die Zusammensetzung eines Pheromons aus mehreren Komponenten eine höhere Artspezifität. Das gleiche gilt auch für die Individualerkennung einzelner Individuen. Ein Bukett von Substanzen ermöglicht es, dass viele Tiere einen unverwechselbaren Eigengeruch haben, der besonders bei der Mutter-Kind-Erkennung von Säugetieren eine Rolle spielt [12].

Seit der Identifizierung des ersten Pheromons durch Butenandt (1959) [13], der die Struktur des Sexuallockstoffs des weiblichen Seidenspinners *Bombyx mori*, das (10Z,12E)-Hexadecadien-1-ol (**1**), aufklärte, wurden zahlreiche Pheromone für terrestrische Systeme beschrieben. Allein bei Schmetterlingen wurden über 200 Sexuallockstoffe identifiziert.

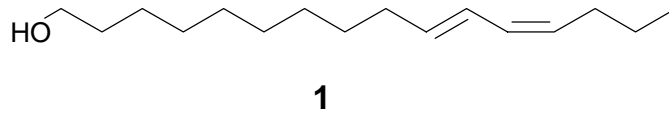


Abbildung 1 Bombykol

Chemische Botenstoffe aus dem marinen Bereich sind hingegen bedeutend schlechter erforscht. Die Ursache hierfür liegt im Vergleich zu terrestrischen Systemen in der geringer erforschten Biologie von Meeresorganismen. Zudem sind die Methoden zur Isolierung und Identifizierung von Pheromonen, die bei Insekten Anwendung gefunden haben, nicht immer auf aquatische Systeme übertragbar.

Methoden

Sexuallockstoffe werden meistens in sehr geringen Mengen von den Organismen abgegeben. Für die Spurenanalyse flüchtiger organischer Substanzen, zu denen die meisten Sexuallockstoffe von Insekten gehören, stehen mit der Gaschromatographie (GC) bzw. der Kombination von GC und Massenspektroskopie (MS) geeignete Methoden zur Verfügung.

Eine weitere wichtige Methode, die zur Aufklärung vieler Insektenpheromone geführt hat, ist die Elektroantennographie. Bei dieser Methode wird die Spannung gemessen, die an der Antenne, dem Riechorgan der meisten Insekten abfällt, sobald ein Duftstoff auf den Rezeptoren der Antenne bindet. Dadurch ändert sich das Membranpotential der Zelle, und es wird ein messbarer elektrischer Impuls erzeugt. Mit dieser Methode kann die Antenne eines Insekts als gaschromatographischer Detektor eingesetzt werden. Ein Chromatogramm, das auf diese Weise aufgenommen wird, nennt man Elektroantennogramm (EAG).

Üblicherweise wird parallel zu dem EAG mit einem Flammenionisationsdetektor (FID) ein FID-Chromatogramm aufgenommen. Dies ermöglicht dann, das Signal des elektroantennographischen Detektors (EAD), einer bestimmten Substanz aus dem Gesamtextrakt zuzuordnen.

Mit Hilfe dieser Zuordnung kann im Anschluss mittels GC/MS-Kopplung die Aufnahme eines Massenspektrums der aktiven Substanz erfolgen, das erste Strukturinformationen über

die Verbindung liefert und in vielen Fällen entscheidend zur Identifizierung beiträgt.

Eine ähnliche Form der Reizerkennung mit Antennen mariner Organismen gestaltet sich deutlich schwieriger. Untersuchungen an Antennen des Flusskrebses *Oreonectes propinquus* haben gezeigt, dass Extrakte, die im Verhaltenstest eine Reaktion auslösen bei der Ableitung der Antenne kein reproduzierbares Signal ergaben [14].

Im wässrigen System sind neben unpolaren, flüchtigen Signalstoffen, die denen von Insekten ähnlich sind, auch eine Reihe polarer und schwerflüchtiger Botenstoffe bekannt, die nur im Wasser transportiert werden können.

Zur Isolierung flüchtiger Stoffe aus wässrigem Medium hat sich die Adsorption mit der „Closed-Loop-Stripping-Analysis“ (CLSA) bewährt. Bei dieser Methode wird über mehrere Stunden in einem geschlossenen System Luft durch den zu untersuchenden Wasserkörper gepumpt und anschließend durch einen Aktivfilter geleitet [15]. Mit dieser Methode konnten unter anderem Algen- und Seeringelwurmpheromone isoliert werden.

Die Extraktion mit organischen Lösemitteln hat nur in begrenztem Umfang Einsatz zur Identifizierung mariner Naturstoffe gefunden. Die Isolierung mittelpolarer Verbindungen wie z.B. kurzkettiger Hydroxysäuren gelingt mit dieser Methode nur in unzureichendem Maße.

Bei der Anreicherung solcher Verbindungen hat sich die Festphasenextraktion mit C-18 beschichteten Kieselgelen „Reversed Phase“ (RP18) bewährt. Hierbei wird die wässrige Lösung durch das Adsorbens geleitet und die adsorbierten Substanzen anschließend mit einem organischen Lösemittel wie z.B. Methanol oder Acetonitril eluiert.

Mit dem Einsatz von Festphasen konnte z.B. aus Fischwasser eine Fraktion isoliert werden, die bei Wasserflöhen der Gattung *Daphnia* eine Vertikalwanderung induziert.

Sehr polare Substanzen wie Zucker oder Aminosäuren lassen sich durch Gefriertrocknung gewinnen.

An den Isolierungsschritt können sich verschiedene Identifizierungsmethoden anschließen. Unpolare, flüchtige Verbindungen lassen sich gaschromatographisch meistens gut trennen und können dann massenspektroskopisch untersucht werden. Polare Substanzen lassen sich entweder derivatisieren, so dass sie auch der GC/MS-Kopplung zugänglich werden, oder mit der „High Performance Liquid Chromatographie“ (HPLC) trennen und anreichern.

Die Vorteile der Anwendung der GC/MS-Kopplung liegen in dem hohen Grad an Strukturinformation, die diese Methode liefert und an den geringen Konzentrationen die mit ihr noch analysiert werden können.

Nachteile ergeben sich z. B. aus der Reaktivität der verwendeten Lösemittel. Zur Extraktion

polarer Substanzen finden häufig Methanol, Acetonitril und Aceton Anwendung. Diese Lösemittel können Reaktionen katalysieren oder selber daran beteiligt sein. Die Verwendung kurzkettiger Alkohole kann z.B. zu Umesterungen führen. Da das Lösemittel im Vergleich zu den extrahierten Substanzen im vielfachen Überschuss vorliegt, sind auch thermodynamisch ungünstigere Reaktionen nicht zu vernachlässigen.

Ein anderer Nachteil ergibt sich daraus, dass die Derivatisierungen nicht immer GC gängige Produkte erzeugen und dadurch eine Reihe interessanter Verbindungen unentdeckt bleiben.

Die Detektion bei der HPLC erfolgt zumeist über einen UV-Detektor, der nicht alle Substanzen detektieren kann und zudem geringe Strukturinformationen liefert. Die Identifizierung unbekannter Substanzen unter Einsatz der HPLC gelingt meistens nur dann, wenn die Naturstoffe in ausreichend hoher Konzentration vorliegen, so dass durch die präparative Anwendung der HPLC genug Substanz für die Aufnahme eines kernmagnetischen Resonanzspektrums (NMR) vorhanden ist > 1mg. Die Konzentration vieler Pheromone ist aber so gering, dass eine Anreicherung durch HPLC überaus zeitaufwendig ist.

Geringere Mengen von Substanzen können mit der „Liquid Chromatographie“ (LC) und anschließender Massenspektroskopie analysiert werden. In diesem Bereich kommt zunehmend die Tandem-Massenspektroskopie (MS/MS) zum Einsatz. Sie liefert auch bei der Flüssigchromatographie ein hohes Maß an Strukturinformationen über die chromatographierten Verbindungen.

Biologisch aktive Naturstoffe in aquatischen Organismen

Trotz der beschriebenen Problematik gibt es eine Reihe gut erforschte Signalstoffe im aquatischen Bereich. Dies gilt z.B. für die Gametenlockstoffe verschiedener Braunalgenarten wie z.B. *Ectocarpus siliculosus*, *Homosira banksii* und *Durvillaea potatorum*. Sie sind ein Beispiel dafür, dass auch im marinen Naturstoffbereich flüchtige, unpolare Substanzen eine wichtige Rolle spielen.

Zur Anlockung und Freisetzung männlicher Geschlechtszellen dient diesen Algen das Divinylcyclopropan (**2**). Die Deaktivierung dieses Signals erfolgt sehr schnell über eine Cope-Umlagerung, bei der sich die Verbindung in ein substituiertes Cyclohepta-1,4-dien (**3**) das sogenannte Ectocarpin umwandelt [16,17].

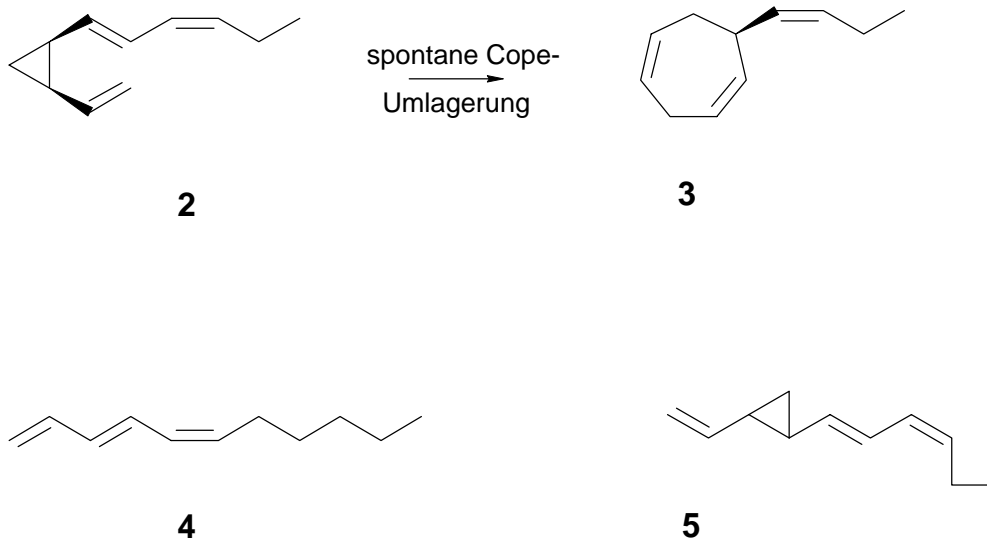


Abbildung 2 Braunalgenpheromone

Im Zusammenhang mit der Freisetzung von Gameten wurden bei einer Reihe mariner Braunalgen weitere aktive mehrfachungesättigte C₁₁-Kohlenwasserstoffe gefunden wie z.B. das Cystophoren (**4**) und das Hormosiren (**5**), welches auch als Racemat wirksam ist [18,19,20,21].

Bei Grünalgen der Art *Volvox carteri* wurde wiederum eine sehr polare Verbindung, ein Glycoprotein gefunden, das schon in sehr geringen Konzentrationen die Umwandlung zur geschlechtlichen Form der Alge induziert [22].

Die verschiedenen Signalstoffe, die die Fortpflanzung des Seeringelwurms der Gattung *Platynereis* und *Nereis* steuern, wurden ähnlich intensiv beforscht, wie die Sexualpheromone der Braunalgen.

Als Schwärmungspheromon dient dem Seeringelwurm *Nereis japonica* unter anderem 3,5-Octadien-2-on [23]. Als Auslöser des Schwärmens des Seeringelwurms *Platynereis dumerilii* wurde das (S)-5-Methyl-3-heptanon, das von den Männchen abgegeben wird und das (R)-5-Methyl-3-heptanon, das von den Weibchen abgegeben wird, identifiziert [24,25].

Das Pheromon das die Spermaabgabe bei *Nereis succinea* induziert, konnte als L-Cystein-Glutathion-Disulfid (**6**) identifiziert werden [26]. Bei *Platynereis dumerilii* wird die Spermaabgabe erstaunlicherweise durch Harnsäure induziert [27,28,29].

Es fällt auf, dass zur Partnerfindung, der hier beschriebenen Seeringelwürmer vor allem unpolare Substanzen von Bedeutung sind, die Abgabe der Keimzellen jedoch durch sehr

polare Substanzen induziert wird.

Neben Sexualpheromonen ist auch eine Reihe von Warn- und Abwehrstoffen mariner Organismen bekannt. Ein Beispiel für eine sehr polare Verbindung als Warnsignal ist das Anthopleurin (7), das von der Seeanemone *Anthopleura elegantissima* verwendet wird.

Wenn eine Seeanemone verletzt wird, gibt sie die Substanz in geringen Mengen ab, um die in der nächsten Nachbarschaft ansässigen Artgenossen vor der Gefahr zu warnen. Die Seeanemonen ziehen dann augenblicklich ihre Tentakeln ein und sind vor Befraß geschützt. Der Fressfeind führt zudem das Warnsignal mit sich, so dass auch weit entfernte Kolonien der selben Seeanemone von der Ausschüttung des Pheromons profitieren [30].

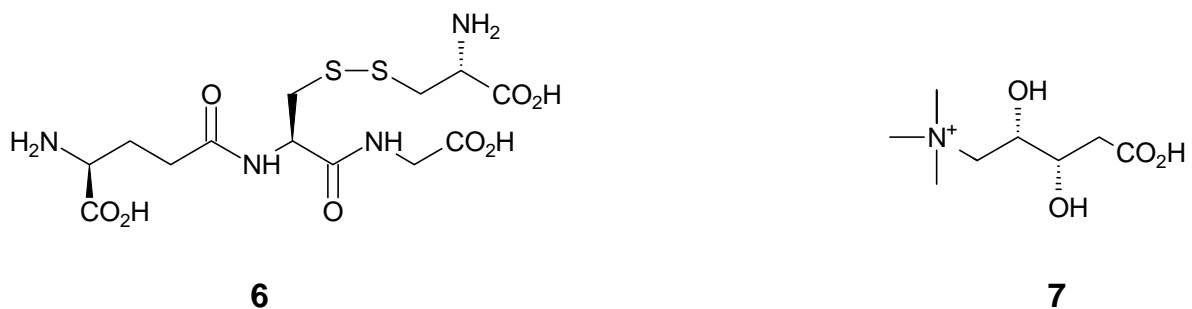


Abbildung 3 Strukturen mariner Pheromone; Sexualpheromon von Seeringelwürmern 6 und Anthopleurin (7)

Je mehr über die Bedeutung chemischer Signalstoffe für das Überleben vieler mariner Organismen bekannt wird, desto häufiger stellt sich auch die Frage, ob anthropogen eingetragene Substanzen diese Kommunikationswege stören können. Untersuchungen mit wasserlöslichen Erdölfractionen in ihrer Wirkung auf die Fortpflanzung von Seeringelwürmern und auf das Revierverhalten von Hummern, haben diese Vermutung bestätigt [31,32,33]. Bestandteile dieser Fraktionen veranlassen z.B. Seeringelwürmer der Spezies *Platynereis dumerilii* zur Gametenabgabe. Bei Hummern wurde beobachtet, dass unter dem Einfluss wasserlöslicher Erdölfractionen Revierkämpfe länger andauern und die dabei ausgefochtenen Rangordnungen schneller zusammenbrechen.

Ob die Ökotoxologie dieser Substanzen auch für den Rückgang einiger Arten verantwortlich gemacht werden kann, ist jedoch ungewiss.

Naturstoffe bei Crustaceen

Crustaceen gehören wie die Insekten zu den Arthropoden [34,35] und sind phylogenetisch betrachtet mit diesen möglicherweise enger verwandt, als bisher angenommen wurde [36,37,38]. Crustaceen sind sowohl im terrestrischen als auch im marinen Bereich weit verbreitet. In marinen Biotopen nehmen sie oft vergleichbare ökologische Nischen wie die Insekten auf dem Land ein.

Für den Menschen sind Crustaceen sowohl als Nahrungsmittel als auch als Schädlinge von wirtschaftlicher Bedeutung. So werden z.B. einige Langustenarten, Hummer und Shrimps fischereiwirtschaftlich genutzt. Als Schädlinge gelten in erster Linie Seepocken z.B. der Gattung *Balanus*, die in ihrem sessilen Stadium unter anderem Schiffsrümpfe besiedeln, und mit einer Reihe von Antifoulingmitteln bekämpft werden. Da die in der Großschifffahrt verwendeten Alkylzinnverbindungen wegen ihrer mutagenen und toxischen Eigenschaften in Verruf gekommen sind, wird seit geraumer Zeit versucht, umweltverträgliche Mittel zu finden, die die Besiedelung durch Seepockenlarven steuern [39].

Bei Insekten ist eine Vielzahl Verhaltensweisen bekannt, die durch chemische Botenstoffe reguliert werden. In staatenbildenden Arten ist es eine ganze Batterie von Duftstoffen, die die Hierarchie aufrechterhalten und das Arbeitsleben regulieren. Bei solitären Arten wird z.B. die Paarung, die Brutpflege und Reviermarkierung durch Pheromone koordiniert.

Da es unter Crustaceen wie bei Insekten Kolonien bildende eusozial lebende Arten gibt, wie die Bromelienkrabbe *Metopaulias depressus* [40], ist anzunehmen, dass auch hier eine Reihe von Botenstoffen das Zusammenleben koordinieren.

In den meisten Fällen sind allerdings die Strukturen der dafür verantwortlichen Verbindungen nicht bekannt.

Relativ gut untersucht ist die Entlassung der Larven aus den Eiern, die bei vielen Crustaceenarten synchronisiert wird. Die Elterntiere der Seepocke *Balanus balanoides* stimulieren z. B. mit einer *all-cis*-10,11,12-Trihydroxy-5,8,14,17-eicosatetraensäure (**8**) das Schlüpfen der Larven [41,42]. Die Stereochemie an den Hydroxygruppen konnte bisher nicht identifiziert werden.

Bei der Crustaceenart *Rhitropanopius harrisii* signalisiert das Dipeptid Leucylarginin (**9**) dem Krabbenweibchen, die Larven aus den Eiern zu entlassen. Das Pheromon wird in den Eiern

produziert und freigesetzt, sobald die Schale einiger Eier spröde wird und Risse bekommt. Das Weibchen bringt dann durch seine Körperbewegung auch alle anderen Eier zum Aufbrechen [43].

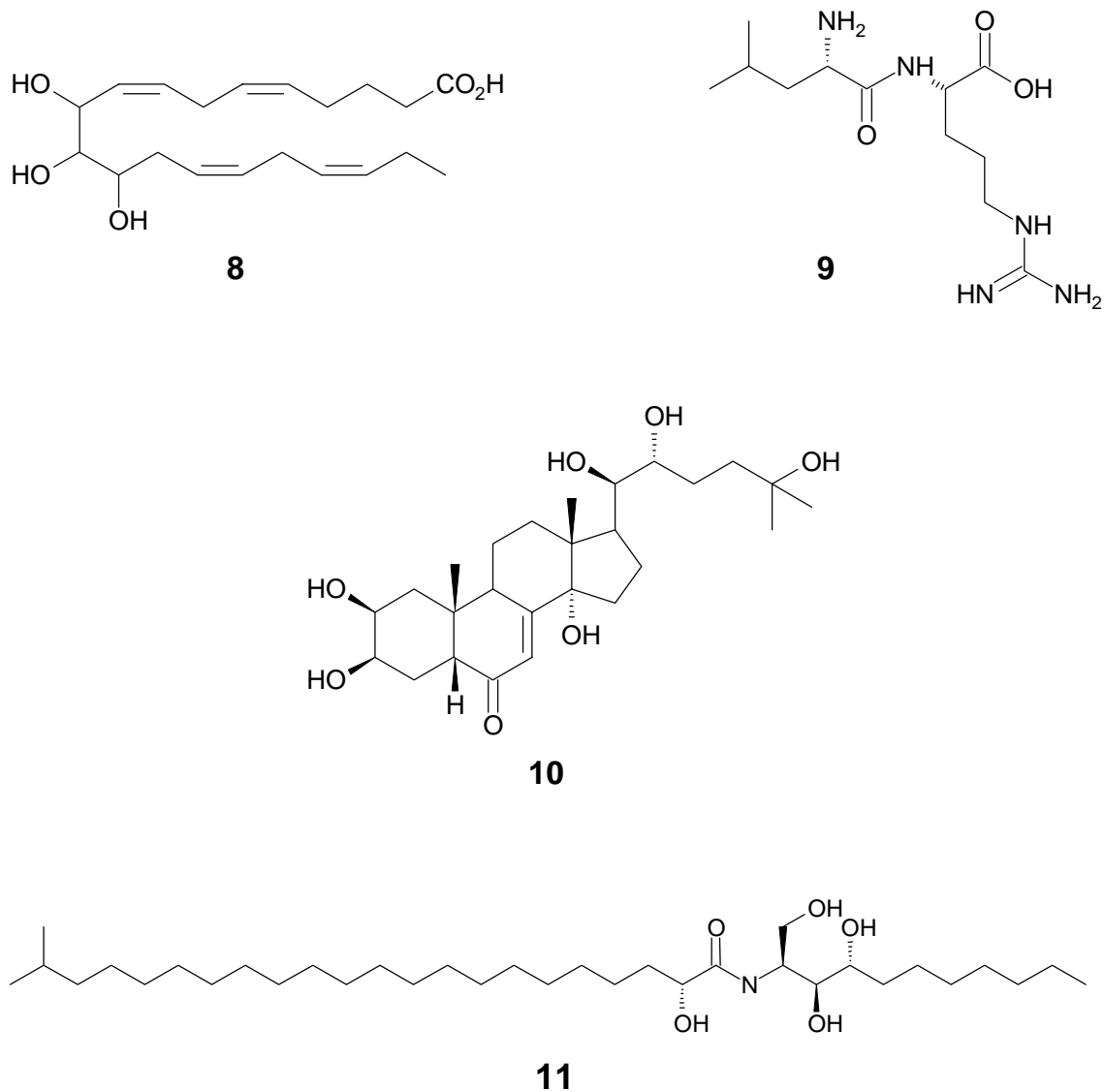


Abbildung 4 Naturstoffe in Crustaceen: 8 und 9 Schlüpfungspheromone von *Balanus balanoides* und *Rhitropanopius harrisii*, 10 Häutungshormon von Crustaceen, 11 Sexualpheromon von *Erimacrus isenbeckii*

Je nach Crustaceenart können die Paarungsrituale sehr unterschiedlich sein. Gemeinsam ist jedoch den meisten, dass die Paarung im Anschluss an die Reifehäutung des Weibchens erfolgt [44].

Viele Untersuchungen ergaben außerdem, dass die Pheromone, die für die Partnerwahl verantwortlich sind, mit dem Urin über die Antennendrüsen abgegeben werden.

Die Annahme, dass das Häutungshormon β -Ecdyson (**10**), ein Polyhydroxysteroid, als generelles Sexualpheromon bei Crustaceen fungiert [45], konnte in verschiedenen Studien unter anderem am Hummer *Homarus americanus* widerlegt werden [46].

Sehr ausführlich Untersuchungen wurden zu dem Sexualverhalten der Blaukrabbe *Callinectes sapidus* durchgeführt. In Anwesenheit von Weibchen, deren Reifehäutung kurz bevorsteht, beginnt das Männchen mit einem intensiven Werbeverhalten und nimmt dann das Weibchen in die sogenannte „cradle-carry“ Position. Es konnte gezeigt werden, dass dieses Verhalten von dem Urin der Weibchen ausgelöst wird. Dieser wurde den Weibchen abgezapft und löste in einem Biotest bei den Männchen Paarungsverhalten aus.

Aus der Studie geht außerdem hervor, dass ausschließlich die Riechäste der Männchen für die Rezeption des Sexualpheromons zuständig sind. Ähnliche Erkenntnisse ergaben sich auch aus Studien am Flusskrebs *Oronectes propinquus* [14,47]. Die Struktur dieser Pheromone konnte allerdings bislang nicht aufgeklärt werden. Erst in jüngster Zeit konnten Sexualpheromone der Haarkrabbe *Erimacrus isenbeckii*, die ein ähnliches Paarungsverhalten wie die Blaukrabbe aufweist, aufgeklärt werden. Es handelt sich hierbei um eine Reihe von Ceramiden in denen Sphingosin mit einer α -Hydroxyfettsäure verestert ist **11** [48].

Hummermännchen reagieren im Gegensatz zu Blaukrabbenmännchen erst auf gehäutete reife Weibchen mit Paarungsverhalten. Auch ist das Werbungsverhalten bei Hummern nicht so auffällig wie bei der Blaukrabbe. Trotzdem konnte gezeigt werden, dass auch bei Hummern der Art *Homarus americanus* die Sexualpheromone der Weibchen, über den Urin abgegeben werden.

Gehäutete reife Weibchen umgebendes Wasser und deren Urin zeigten in diesem Versuch eine hohe Attraktivität. Nahrungsextrakte und Wasser von Hummern verschiedener anderer Häutungsperioden riefen keine Reaktion hervor. Weitere Versuche, den Ursprung des Pheromons zu lokalisieren, ergaben, dass es wahrscheinlich in den Ovarien der Tiere sezerniert wird [49]. Ebenso wie bei der Blaukrabbe blieb auch beim Hummer die Struktur der Pheromone unaufgeklärt.

Studien, die mit Einsiedlerkrebsen der Art *Pagurus geminus* durchgeführt wurden, ergaben ebenfalls, dass bei dieser Art die Geschlechtererkennung durch Duftstoffe vermittelt wird, und das die Antennulen für die Rezeption derselben verantwortlich sind [50]. Auch in diesem Fall konnten die Substanzen, die als Pheromone wirken, nicht identifiziert werden.

Chemorezeption bei Crustaceen

Die Untersuchung chemischer Signalstoffe ist eng verknüpft mit dem Forschungsgebiet über die Chemorezeption der verschiedenen Lebewesen. Bei Insekten hat der Einsatz bekannter Pheromone dazu beigetragen, die Empfindlichkeit und die Spezifität, der am Insektenkörper vorhandenen Chemorezeptoren aufzuklären. Die Ableitung von einzelnen Chemorezeptoren oder den Antennen hat wiederum zu der Identifizierung weiterer Pheromone beigetragen.

Grundsätzlich wird in der Chemorezeption zwischen Geschmacks- und Geruchswahrnehmung unterschieden. Gering konzentrierte Duftstoffe, die noch weit von Ihrer Quelle entfernt wahrgenommen werden, ordnet man dem Geruch zu und hoch konzentrierte in Wasser gelöste Substanzen, deren Wahrnehmung durch den Kontakt mit dem Rezeptor erfolgt, werden als Geschmack bezeichnet.

Bei marinen Crustaceen scheint eine ähnliche Differenzierung der chemischen Wahrnehmung vorzuliegen. Wie sich die Begriffe Geruch und Geschmack im Detail auf den marinen Bereich übertragen lassen hat allerdings zu kontroversen Diskussionen geführt. So wird z.B. die Ansicht vertreten [51], dass die Art und Weise der Verarbeitung der Reize im zentralen Nervensystem ausschlaggebend für die Zuordnung zwischen Geruch und Geschmack ist.

Geruchsrezeptoren bilden bei den meisten Lebewesen ein eigenes Organ, z.B. die Riechäste bei Garnelen oder die Nase beim Menschen. Das Organ ist über das zentrale Nervensystem mit dem Riechzentrum verbunden, das alle eingehenden Signale verarbeitet. So besitzen marine Crustaceen fast identisch aufgebaute Riechapparate, wie die auf dem Land lebenden Insekten [52]. Nach dieser Definition sind alle Reize, die vom Riechorgan wahrgenommen und im Riechzentrum verarbeitet werden olfaktorischer Natur.

Diese systematische Einteilung erscheint sinnvoll, weil sie eine eindeutige Zuordnung zwischen Geruch und Geschmack ermöglicht. Sie befriedigt allerdings nicht die Frage, warum sich bei marinen Organismen, für die alle Substanzen de facto im Wasser gelöst sind, ein separater Riechapparat entwickelt hat.

Deswegen wird außerdem eine qualitative Einteilung zwischen Geruch und Geschmack vertreten [53], in der Art, dass einfache Verhaltensweisen, wie z.B. die Nahrungsaufnahme durch Geschmacksstoffe, komplexe Verhaltensweisen, wie z.B. die Paarung aber von olfaktorischen Reizen ausgelöst werden.

Andere Autoren sind wiederum der Meinung [54], dass gute Wasserlöslichkeit und hohe

Konzentration für Geschmacksvermittler und geringe Konzentration und hohe Flüchtigkeit für Geruchsvermittler charakteristisch sind.

Es wird vermutet [55], dass die Verbindung von Chemorezeption und Tastsinn ausschlaggebend für die Geschmackswahrnehmung ist. Diese Vermutung stützt sich unter anderem auf die Tatsache, dass die Chemorezeptoren, die sich auf der Körperoberfläche und den Extremitäten der Garnelen befinden, immer mit Tasthaaren zusammen auftreten. Auf den Riechästen befinden sich hingegen keine solchen Rezeptoren.

Inwieweit die hier wiedergegebenen Thesen voll oder teilweise zutreffen, konnte bisher nicht geklärt werden.

Während es zu der Rezeption polarer Substanzen aus Futterextrakten [56,57,58] eine Reihe von Untersuchungen gibt, scheitert die Erforschung der Geruchswahrnehmung oft an dem Fehlen geeigneter Testsubstanzen. Besonders geeignet für solche Studien wären Sexuallockstoffe, da sie ein komplexes Verhalten auslösen und ausschließlich auf das Riechorgan wirken. Bisher konnte aber mit Ausnahme des schon erwähnten Crustecdyson und einiger ähnlicher Verbindungen, deren Lockstoffwirkung mehr als zweifelhaft ist, noch kein Sexualpheromon von Crustaceen identifiziert werden.

Die Nordseekrabbe *Crangon crangon*

Crangon crangon (Linné 1758) (Caridea, Crangonidae) ist die dominierende Garnelenart der sandigen und schlickigen Küsten des Ostatlantiks. Ihre Verbreitung reicht vom weißen Meer bis zu der Atlantikküste von Marokko. Sie kommt ebenfalls in der Ostsee, dem Mittelmeer und dem schwarzen Meer vor. Sie ist in Deutschland die einzige marine Garnele mit fischereiwirtschaftlicher Bedeutung. In Deutschland und den Niederlanden werden im Durchschnitt mehr als 5000 t im Jahr gefangen. In einigen Regionen der Nordsee tritt sie zusammen mit der Garnele *Crangon allemanii* auf, der aber keine wirtschaftliche Bedeutung zukommt.

In der Abbildung 5 ist die Abstammung von *Crangon crangon* dargestellt. Um den Verwandtschaftsgrad zu anderen bekannten Crustaceenarten zu veranschaulichen, wurde auch die Abstammung der hier beheimateten Strandkrabbe *Carcinus maenas* und des Wasserfloh *Daphnia pulex*, sowie die der intensiv beforschten Seepocke *Balanus amphitrite*, der Blaukrabbe *Callinectes sapidus* und der Garnele *Palaemonetes pugio* dargestellt.

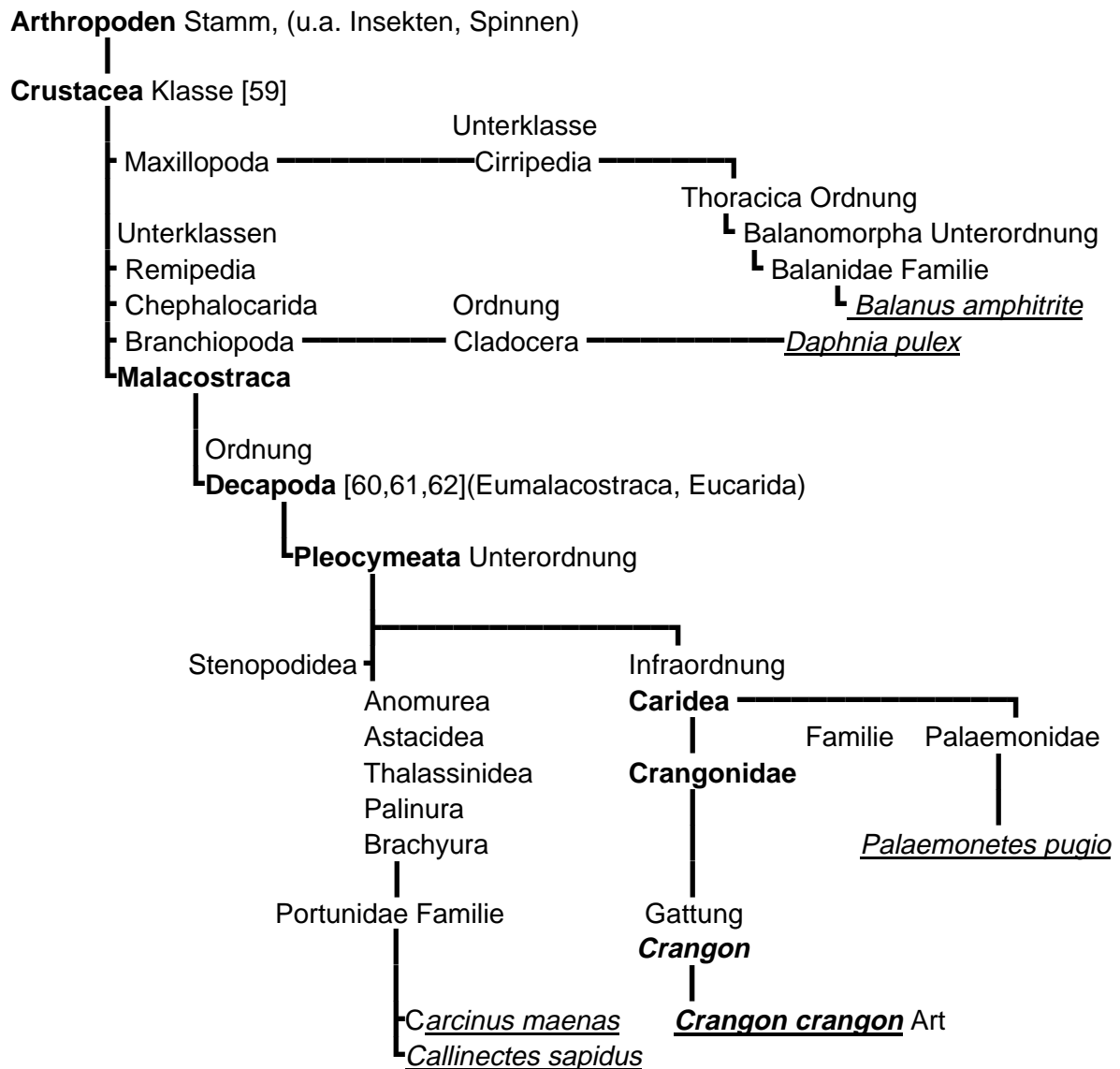


Abbildung 5 Stammbaum von *Crangon crangon*

Erste Arbeiten zur Fortpflanzung von *Crangon crangon* finden sich bei Nouvel (1939) [63]. Die Fortpflanzungsperioden sind von April bis Juni und von November bis März. Die Tiere erreichen ungefähr ein Jahr nach dem Schlüpfen die Geschlechtsreife. Die Paarung erfolgt hauptsächlich nachts, nach der Häutung von Weibchen, deren Ovarien voll entwickelt sind. Sie reichen dann bis zum dritten Segment des Abdomens Abbildung 6 und Abbildung 7 [64,65,66].

Die Anatomie von Garnelen ist am Beispiel des Flusskrebse in Abbildung 6 dargestellt. Die Lage der Ovarien entspricht der bei *Crangon crangon*.

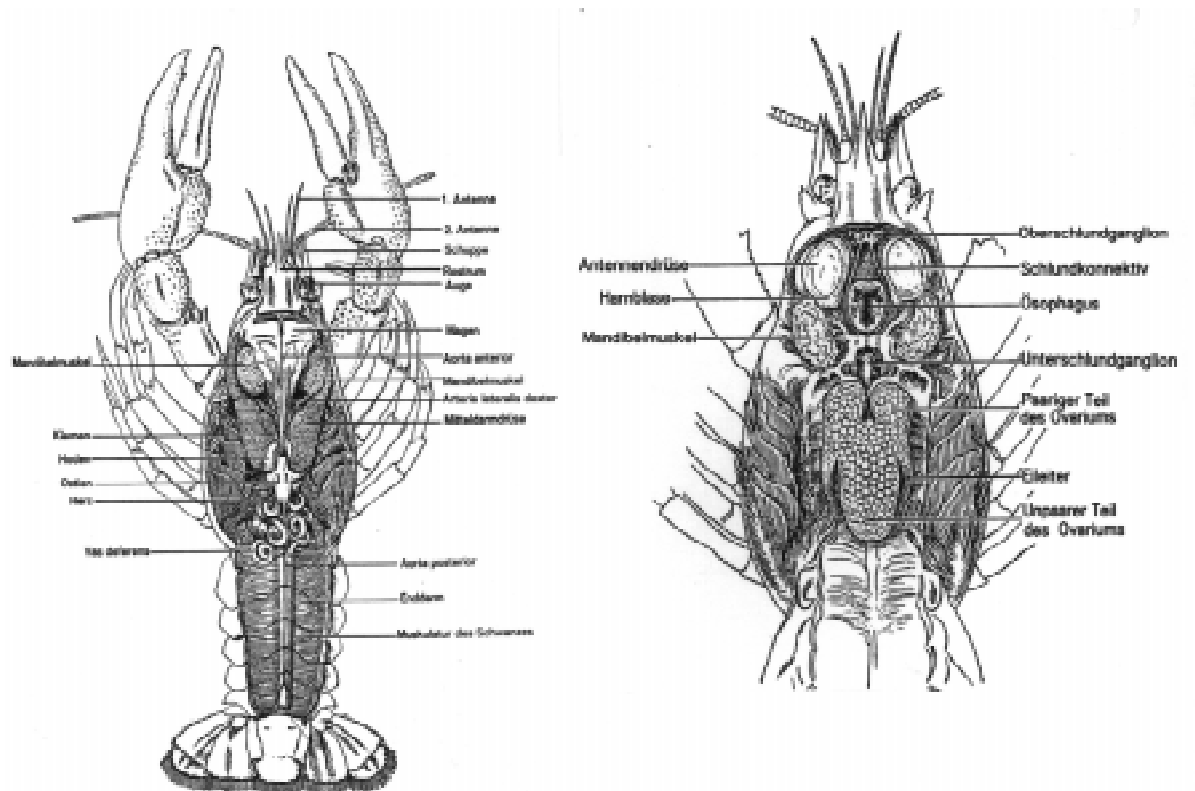


Abbildung 6 links: Anatomie eines männlichen Flusskrebsses Dorsalansicht; rechts: Anatomie eines weiblichen Flusskrebsses, Dorsalansicht, Magen, Mitteldarmdrüse und Herz entfernt

Dem gehäuteten Weibchen kann sich das meist wesentlich kleinere Männchen gefahrlos nähern. Es dreht das Weibchen auf den Rücken und befördert einen Spermatophoren in die Gegend der weiblichen Geschlechtsöffnung.

Boddeke, Bosschietter und Goudswaard beschreiben [67], dass das Männchen den Rücken des Weibchens mit den Antennulen betriillert und das Weibchen daraufhin wie erstarrt wirkt. Kämpfe rivalisierender Männchen sind unbekannt. Eine erneute Begattung findet meist nicht statt, da das Weibchen jeden weiteren Annäherungsversuch abwehrt.

Boddeke, Bosschietter und Goudswaard beschreiben außerdem ihre Beobachtung, dass bei *Crangon crangon* sogenannte sekundäre Weibchen auftreten, dass sind solche, die durch eine Geschlechtsumwandlung aus Männchen entstehen.

In Abbildung 7 ist der Körperbau von Garnelen am Beispiel von *Penaeus setiferus* dargestellt.

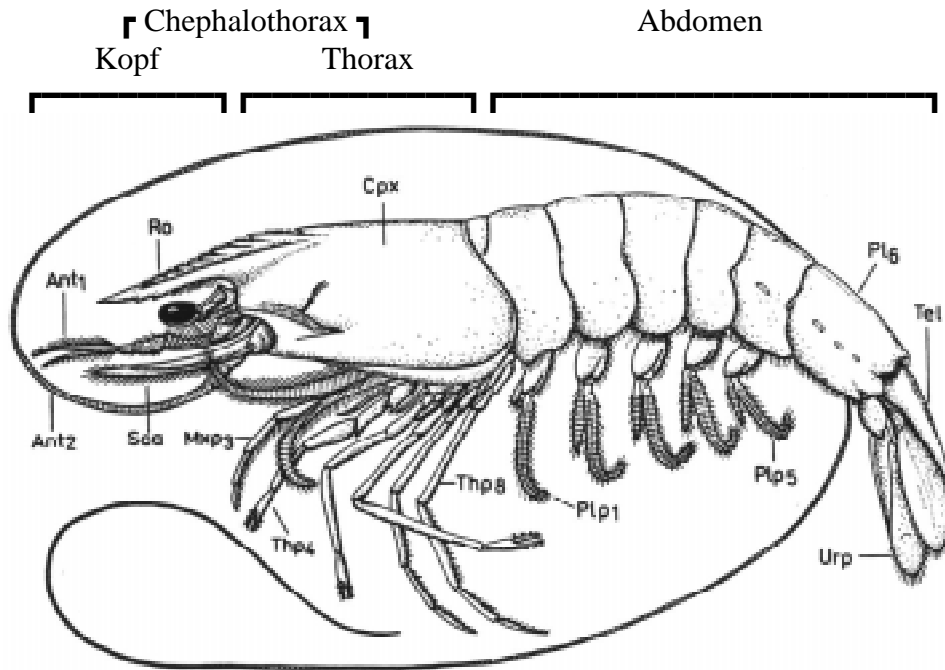
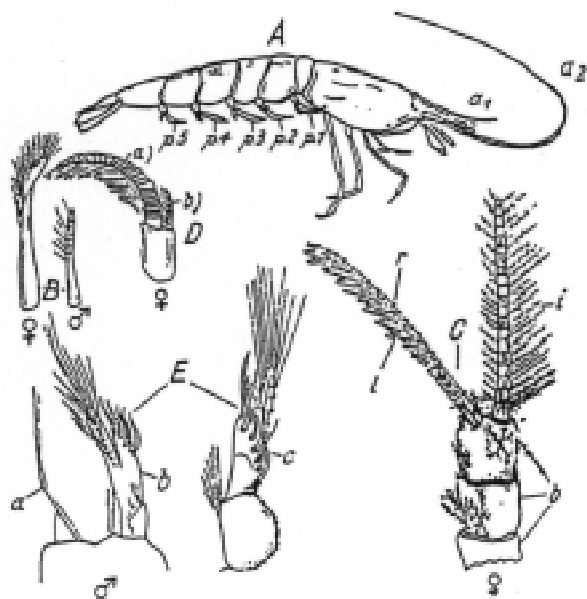


Abbildung 7 *Penaeus setiferus*, Weibchen. Länge 200 mm. Beispiel für den garnelenförmigen (caridoiden) Habitus. Das Tier lebt in den Ästurien an der Ostküste der USA und bewegt sich laufend und schwimmend über den Schlamm Boden. Man beachte das große Pleon mit den kräftigen Pleopoden, die als Schwimmorgane dienen. Die Thorakopoden stützen durch Laufbewegungen den Körper vom Boden ab. Es sind drei Paar Scheren an den Thorakopoden 4-6 (Laufbeine 1-3) vorhanden. Die Uropoden bilden mit dem Telson einen großen Schwanzfächer für das Rückstoßschwimmen. - Ant₁ Antennula, Cpx Carapax, Mxp₃ Maxilliped (= 3. Thorakopod), Pl₆ 6. Pleomer (mit Uropoden), Plp Pleopoden, Ro Rostrum, Sca Scaphocerit (Exopodit) der Antenna, Tel Telson, Thp Thorakopoden, Urp Uropoden. Nach Pérez Farfante 1978 [70,71]

Die Unterscheidung der Geschlechter der Nordseekrabbe erfolgt über den Appendix masculina am Endopoditen des 2. Pleopoden oder über die Anzahl der mit Riechhaaren besetzten Segmente an der 1. Antenne [64]. Bei allen Weibchen sind die unteren 4-7 Segmente der Riechäste nicht mit Riechhaaren besetzt, während die Männchen vollständig mit Riechhaaren ausgestattete Riechäste besitzen (Abbildung 8).



A. Schematische Seitenansicht, a1 erste Antenne, a2 zweite Antenne, p1-3 erster bis fünfter Pleopod

B. Endopodit des 1. Pleopoden

C. 1. Antenne des ♀. b Basalglieder, i Innengeißel, r Richast (Außengeißel), l Leydig'sche Sinneshaare

D 2. Pleopod des ♀

E. 2. Pleopod des ♂ a Exopodit, b Endopodit, c Endopodit mit Appendix masculina

Abbildung 8 Unterscheidung der Geschlechter von *Crangon crangon*, Tiews 1953 [64]

Viele Beobachtungen sprechen dafür, dass die Männchen ihre Partnerin über Duftstoffe erkennen und dass der chemischen Orientierung für diese Garnele eine große Bedeutung zukommt.

Erste Arbeiten über die Chemorezeption bei *Crangon crangon* finden sich bei Spiegel (1927) [68]. Es wurde die Reizwirkung verschiedener gelöster Substanzen auf einzelne Exemplare untersucht. Eine ausführlichere Betrachtung der chemischen Reizauslösung bei der Nahrungsaufnahme von *Crangon crangon* findet sich bei Dahm und Lillielund (1971). Sie experimentierten mit Nahrungsextrakten und verschiedenen Aminosäuren. Sie konnten zeigen, dass der Nahrungssaft eine gerichtete Annäherung des Tieres entgegen dem Konzentrationsgefälle auslöst. Von den untersuchten Aminosäuren hatte allerdings keine die Wirkung des Nahrungsextraktes [69].

Interessanter sind die Ergebnisse dieser Arbeit hinsichtlich des deutlich unterschiedlichen Riechvermögens der beiden Geschlechter. Die Männchen waren im Vergleich zu den Weibchen in der Lage, geringere Konzentrationen eines Duftstoffes wahrzunehmen und seinen Ursprung genauer und schneller zu lokalisieren.

Da die Häutung des Weibchens den einleitenden Schritt zur Paarung darstellt, liegt die Vermutung nahe, dass die Sexuallockstoffe bei diesem Vorgang freigesetzt werden. Es ist

nicht bekannt ob diese Stoffe, wie bei den schon erwähnten Crustaceenarten *Homarus americanus* und *Callinectes sapidus* über den Urin aus den Antennendrüsen abgegeben werden. Ebenso ist der Ursprungsort dieser Lockstoffe ungewiss. Des öfteren wurde vermutet, dass die Sexualpheromone in den Ovarien gebildet werden [49]. Spezielle Pheromondrüsen, wie sie von einigen Insektenarten bekannt sind, wurden bei diesen Garnelen nicht gefunden. Untersuchungen über die in *Crangon crangon* enthaltenen Naturstoffe beschränken sich auf aus den Jahren 1959 und 1962 stammende Arbeiten über Ganztierextrakte, die ein Malonsäureamid und Spinacin identifizieren konnten [72,73]. So wie die eigene Arbeit (Diplomarbeit 1996) zu dem Thema: Identifizierung flüchtiger Inhaltsstoffe von *Crangon crangon*. In dieser Arbeit wurden Cuticularextrakte und CLSA-Proben von *Crangon crangon* untersucht.

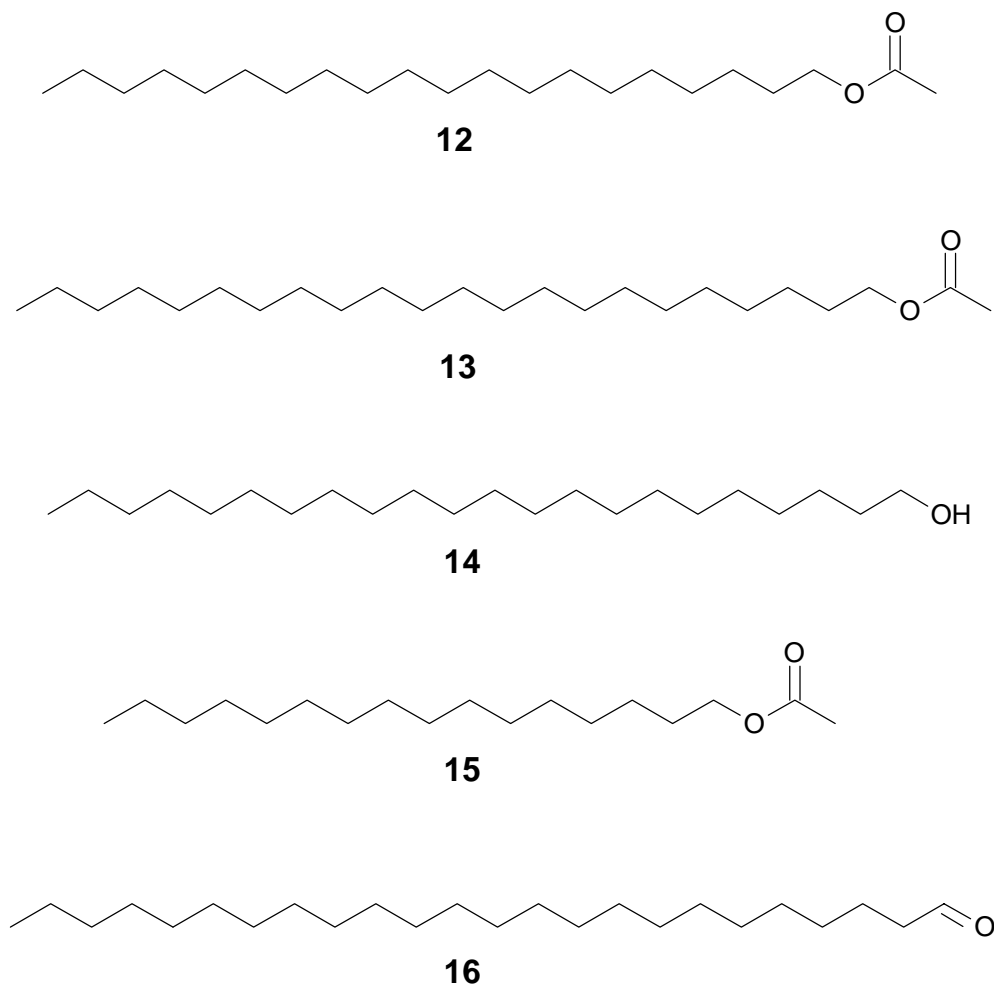


Abbildung 9 Hauptkomponenten in den Cuticularextrakten von *Crangon crangon*

In den Cuticularextrakten gehäuteter Tiere konnte neben Cholesterin und α -Tocopherol, Eicosylacetat (**12**), Docosylacetat (**13**), und Docosanol (**14**) als Hauptkomponenten

identifiziert werden. In den Cuticularextrakten nicht gehäuteter Tiere stellen Hexadecylacetat **(15)** und Tetracosanal **(16)** die Hauptkomponenten dar. Sowohl in den methylierten Extrakten gehäuteter als auch nicht gehäuteter Tiere wurden Ölsäure, Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure als Hauptbestandteile nachgewiesen. Die Ergebnisse aus den CLSA Untersuchungen ließen sich nicht reproduzieren [74].

2 Themenstellung

Dank der Entwicklung immer empfindlicheren Instrumente rückt die Erforschung der Meere immer mehr in das Interesse der Wissenschaft.

Die Kenntnisse über Naturstoffe mariner Organismen und deren Bedeutung sind deutlich geringer als die, die wir von terrestrischen Lebewesen haben. Ebenso sind Verhalten und Lebensweise von vielen marinen Organismen meist nur lückenhaft dokumentiert.

Die Naturstoffchemie eines Organismus ist eng mit seiner Lebensweise verknüpft. Es ist davon auszugehen, dass fast allen Substanzen die in einem Lebensraum gebildet werden eine biologische Bedeutung zu kommt.

So können neue Erkenntnisse über die Lebensweise einer Art die Bedeutung eines Naturstoffes erklären. Ebenso führt die Erforschung der Naturstoffe zu einem genaueren Bild der Biologie des Lebewesens und seines Lebensraums.

Die Nordseekrabbe *Crangon crangon* hat als einzige Garnele in Deutschland wirtschaftliche Bedeutung und ihre Biologie ist relativ gut untersucht.

Sie gehört zu den Garnelen (Caridea), die über eine sehr differenzierte Wahrnehmung chemischer Signale verfügen.

Das Fortpflanzungsverhalten von *Crangon crangon* wurde schon mehrfach beschrieben. Es wurde vermutet dass chemische Signalstoffe beim Ablauf der Paarung eine Rolle spielen.

Aus diesen Gründen ist die Nordseekrabbe *Crangon crangon* für die Untersuchung, im Hinblick auf ihr Naturstoffpotential besonders gut geeignet.

Um Kenntnisse über die Inhaltsstoffe von *Crangon crangon* zu erhalten, sowie deren Bedeutung abzuschätzen, wird im Rahmen dieser Arbeit zunächst die Biologie der Garnele vorgestellt. Dann soll anhand der gewonnenen Kenntnisse eine sinnvolle Zusammenstellung des zu untersuchenden Materials und der Extraktionsmethoden erfolgen.

Anschließend sollen die Inhaltsstoffe der Extrakte mit Hilfe von Gaschromatographie und Massenspektroskopie identifiziert und die Ergebnisse aus den verschiedenen Extrakten verglichen werden.

Neben der Aufstellung eines Datensatzes der Naturstoffe von *Crangon crangon* wird insbesondere die Identifizierung unbekannter Verbindungen angestrebt. Strukturvorschläge sollen durch Synthese von Referenzsubstanzen bewiesen werden.

3 Verhaltensstudie zur Wahrnehmung von Nahrungsinhaltsstoffen von *Crangon crangon*

Die Futtersuche und die Paarung sind die beiden am häufigsten beschriebenen Verhaltensweisen, für die chemische Signalstoffe von Bedeutung sind. Die Reizwirkung von Futterextrakten auf *Crangon crangon* wurde ausführlich von Dahm (1971) [69] beschrieben. Er untersuchte außerdem die Attraktivität einzelner Aminosäuren, von denen er annahm, dass sie in den Nahrungsextrakten enthalten sind.

Eine neuere Studie zur Wahrnehmung von Futterinhaltsstoffen stellten Derby und Carr (1986) [56] mit der Garnele *Palaemonetes pugio* vor, die wie *Crangon crangon* zu der Infraordnung der Caridea gehört. In dieser Studie wurden wässrige Nahrungsextrakte auf ihre Inhaltsstoffe untersucht. Ein Auszug aus dieser Analyse ist in Abbildung 10 wiedergegeben.

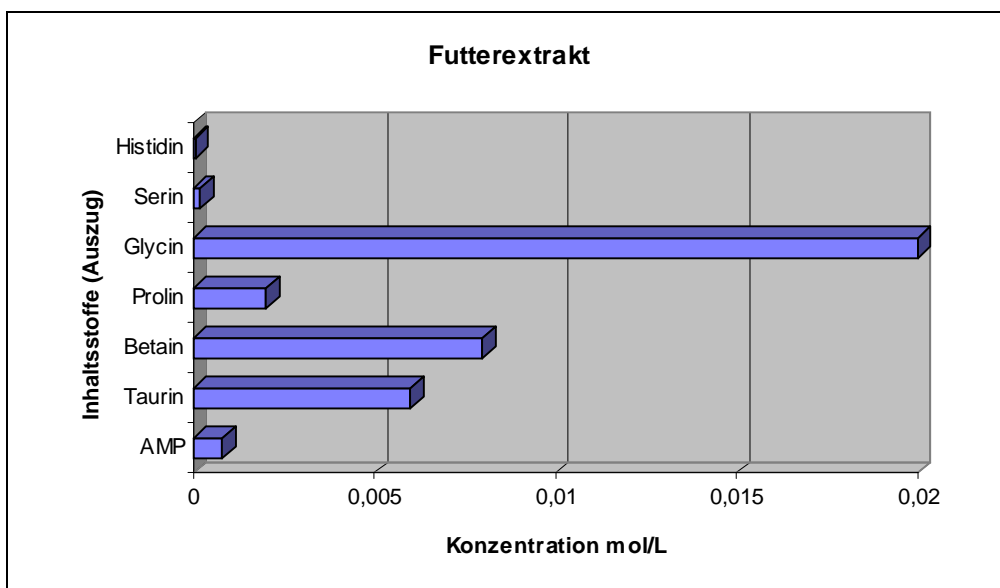


Abbildung 10 Konzentrationen ausgewählter Inhaltsstoffe in Futterextrakten

Anhand der Ergebnisse aus den Nahrungsextraktanalysen wurden künstliche Futterlösungen erstellt und diese auf Ihre Aktivität im Vergleich zu den natürlichen Futterextrakten getestet. Sie untersuchten außerdem eine Reihe von Einzelsubstanzen, um Rückschlüsse auf die Wahrnehmung von Substanzgemischen vornehmen zu können.

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurden eine Reihe der von Derby und Carr analysierten Futterinhaltsstoffe ausgewählt, um ihre Wirkung auf *Crangon crangon* zu testen.

Die Untersuchungen konnten im Rahmen des Fortgeschrittenen-Praktikums für Physiologie des Zoologischen Instituts der Universität Hamburg durchgeführt werden. Die Ergebnisse sind in den folgenden Abschnitten wiedergegeben.

3.1 Material

Die Tiere stammten aus dem Sylter Watt. Sie wurden in List auf Sylt, einer Außenstation der Biologischen Anstalt Helgoland, in Durchlaufbecken gehalten.

3.2 Methoden

Es wurde die Wirkung von Glycin, L-Serin, L-Prolin, Betain, Taurin, L-Histidin und Adenosylmonophosphat (AMP) jeweils als Seewasserlösung in den Konzentrationen 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} und 10^{-5} mol/L an hungrigen Garnelen getestet.

Ein wässriger Extrakt aus homogenisierten Miesmuschelfleisch wurde zum Vergleich untersucht. Es wurde angenommen, dass der Muschelextrakt bei der Garnele die größt mögliche Reaktion hervorruft (100 %). Alle anderen Ergebnisse wurden zu diesem Wert in Relation gesetzt. Der Nullwert wurde mit einer Blindprobe aus reinem Seewasser ermittelt, dieses löste bei keinem Versuch eine Reaktion aus.

3.3 Versuchsaufbau

Der Versuchsaufbau bestand aus einem Hälterungsbecken mit 10 bzw. 12 einzelnen Kammern, von denen jede einen eigenen Seewasserzu- und -ablauf besaß. Außerdem war jeder Zulauf mit einem zusätzlichen Schlauch versehen, durch den jedem Tier separat Versuchssubstanzen mit in das Wasser gegeben werden konnte. Die Kammerböden waren mit Sand bedeckt, und in jede Kammer wurde ein Tier gesetzt. Über die Becken wurde eine Kiste gestellt, die zu einer Seite offen war. An der offene Seite konnten die Tiere über einen Spiegel ungestört beobachtet werden. In Abbildung 11 ist der Versuchsaufbau schematisch dargestellt.

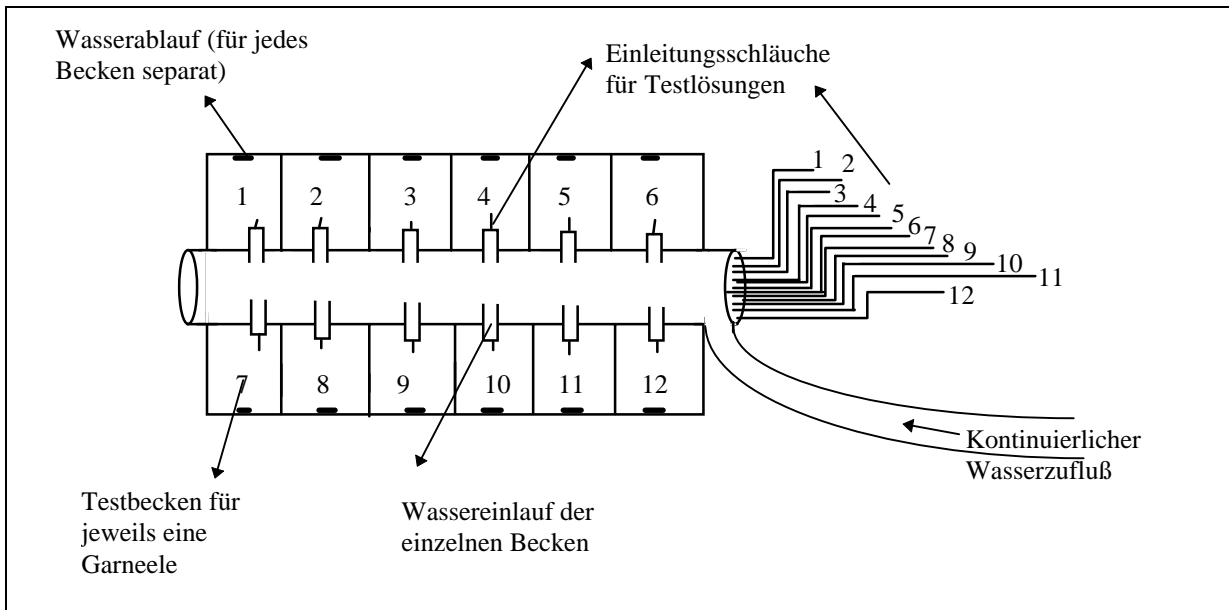


Abbildung 11 Versuchsaufbau schematisch

3.4 Durchführung und Ergebnisse

Es wurde je ein Milliliter Probenflüssigkeit in eine Kammer gegeben und dann die Reaktion des Tieres über einen Zeitraum von 2 Minuten beobachtet. Die Intensität der Reaktion wurde nach der folgenden Punkteliste bewertet.

0	keine Reaktion, das Tier sitzt weiter im Sand und zeigt keine Bewegung der Mundwerkzeuge und keine deutliche Antennulenzbewegung
0,5	späte, schwache Reaktion, z.B. nur Antennulenzbewegung oder Bewegung der Mundwerkzeuge
1	schnelle und deutliche Reaktion, z.B. Heben des Kopfes
1,5	schnelle und deutliche Reaktion, z.B. Ausgraben aus dem Sand
2	schnelle und sehr deutliche Reaktion, wie das Ausgraben aus dem Sand und eine gerichtete Suchbewegung

Gleichzeitig wurden die Tiere in den anderen Kammern beobachtet, um auszuschließen, dass aus dem Seewasser ungewollt Reize zu den Tieren gelangt sind. Dieses konnte während der gesamten Versuchsdurchführung nicht beobachtet werden.

Ermittlung des Wirkungsgrades

Zunächst wurde Wirkungsgrad von Muschelextrakt ermittelt. Hierzu wurde das Verhalten jedes einzelnen getesteten Tieres bei Zugabe des Nahrungssaftes beobachtet und nach den oben aufgeführten Kriterien bewertet. Aus der Summe der Punkte wurde der Mittelwert gebildet und als Wirkungsgrad von 100% definiert.

In den Versuchen mit den Testsubstanzen wurde ebenso verfahren und die Ergebnisse zu denen vom Muschelextrakt in Relation gesetzt.

Diese Prozentangaben sind in den folgenden Balkendiagrammen wiedergegeben. Die Literaturwerte stammen aus den Untersuchungen von Derby und Carr [56], die die Aktivität dieser Substanzen ebenfalls im Verhältnis zu den Nahrungsextrakten gemessen haben. Für die Aminosäuren L-Serin, L-Histidin und L-Prolin lagen keine Referenzdaten vor.

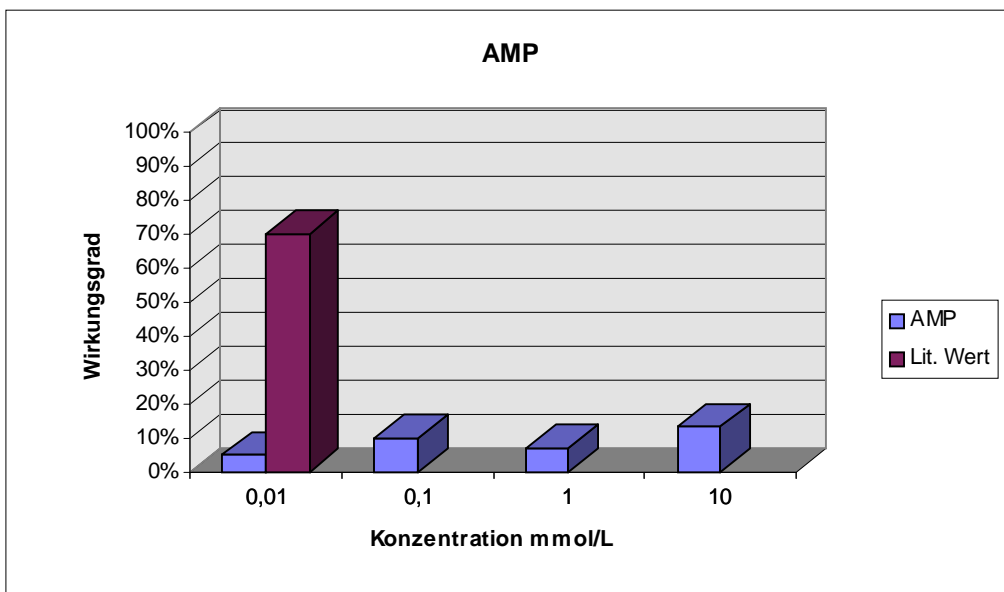
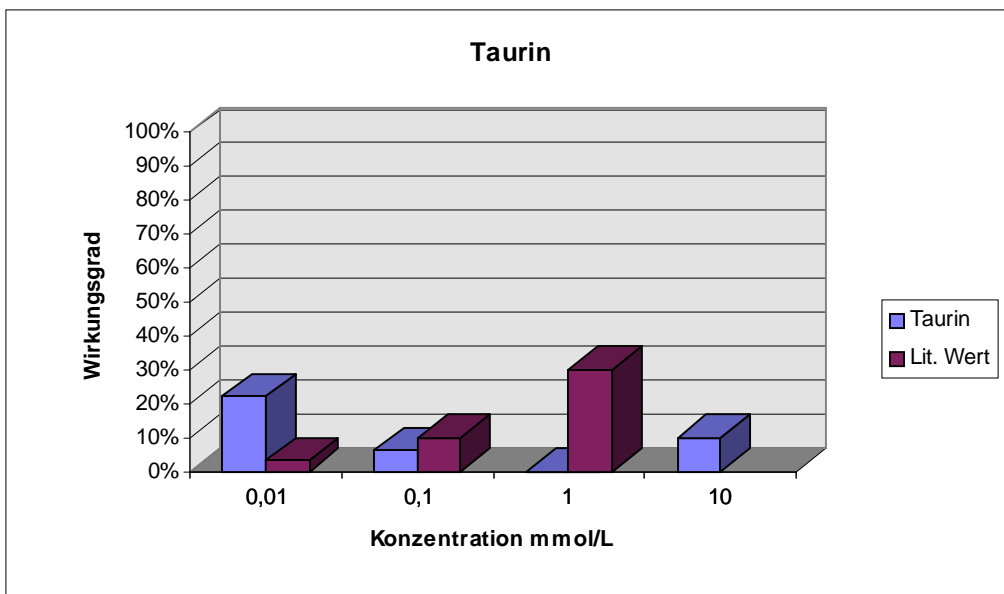
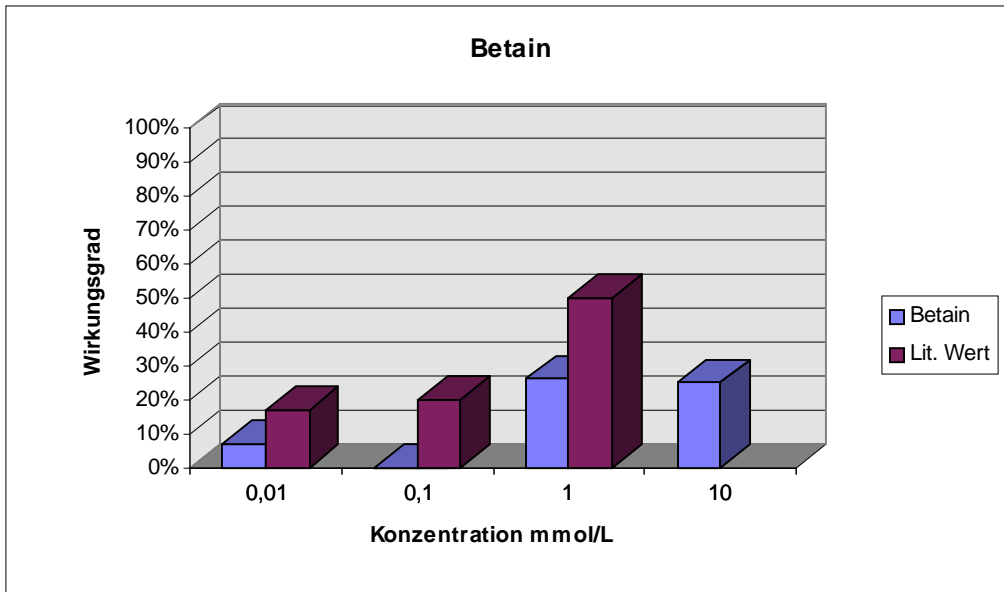


Abbildung 12 Balkendiagramme verschiedener Substanzattraktivitäten auf *Crangon crangon*

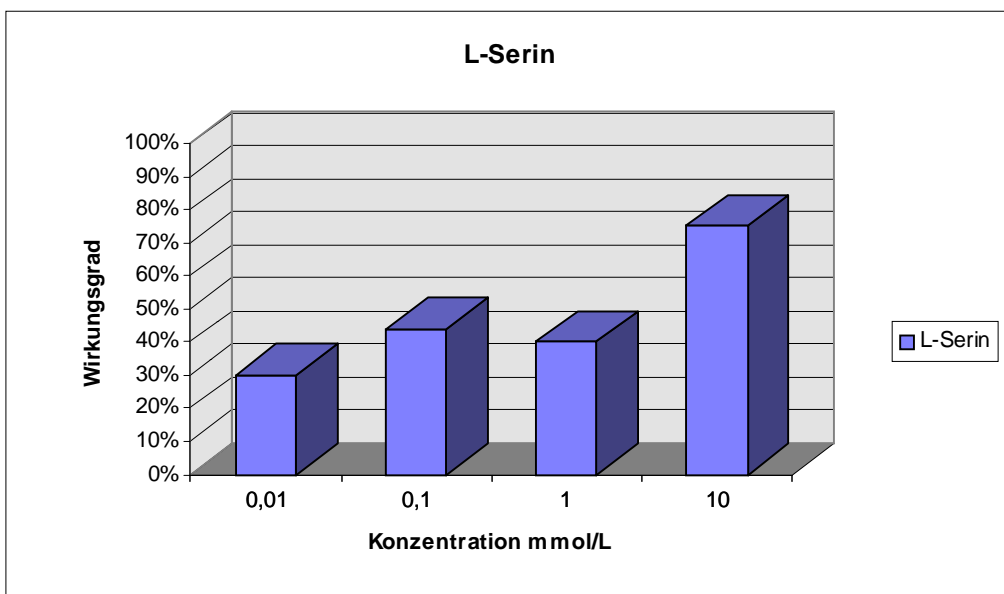
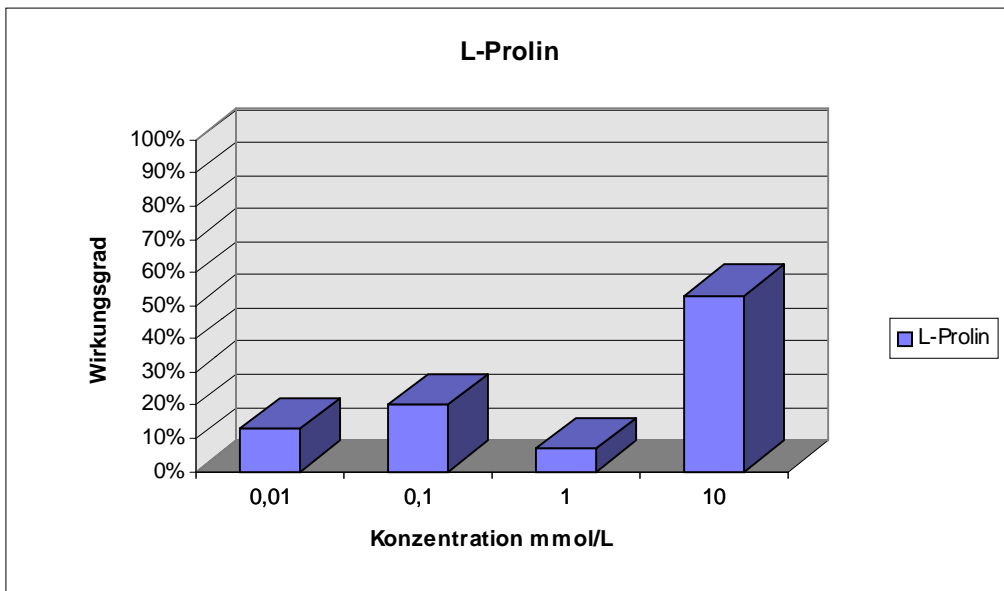
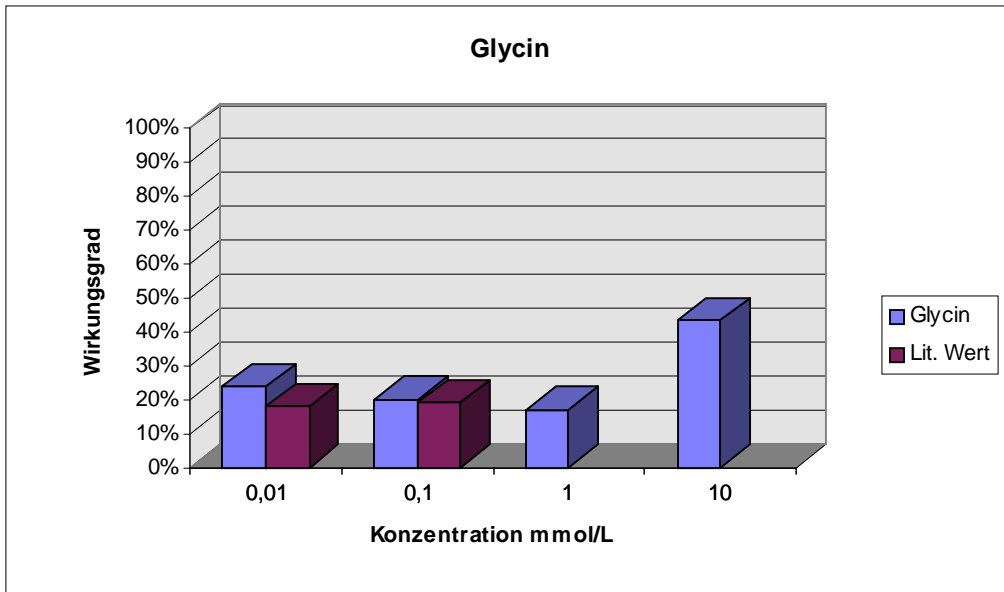


Abbildung 13 Balkendiagramme verschiedener Aminosäureattraktivitäten auf *Crangon crangon*

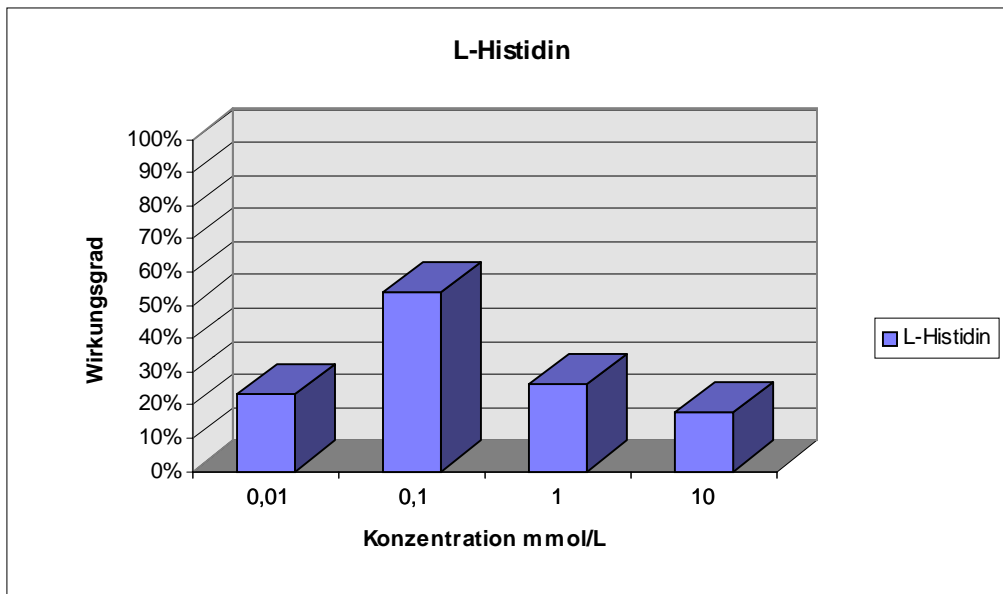


Abbildung 14 Balkendiagramm der Attraktivität von L-Histidin auf *Crangon crangon*

Aus den Abbildungen ist zu entnehmen, dass die getesteten Aminosäuren die stärksten Reaktionen auslösten. Dabei variierte die Attraktivität stark in Abhängigkeit von der Konzentration. L-Serin war über alle Konzentrationsbereiche sehr attraktiv, und die Attraktivität nahm mit steigender Konzentration stetig zu.

L-Histidin war bei einer Konzentration von 0,1 mmol/L am attraktivsten, mit einem Wirkungsgrad von etwa 50 %. In den anderen getesteten Konzentrationen lag dieser deutlich darunter. Glycin, L-Prolin und Taurin lösten bei einer Konzentration 1 mmol/L ein Minimum an Resonanz aus. Taurin rief in dieser Konzentration gar keine Aktivität bei den Tieren hervor. Die Attraktivität von Glycin und L-Prolin stieg bei einer Konzentration 10 mmol/L wieder an auf ca. 40- bzw. 50 %. Das war gleichzeitig die stärkste Resonanz, die mit diesen beiden Aminosäuren erreicht werden konnte.

Die größte Resonanz, die Taurin auslöste, lag bei ca. 20 % und wurde mit der geringsten der getesteten Konzentration von 0,01 mmol/L erreicht.

Im Gegensatz zu Taurin, Glycin und L-Prolin, die bei 1 mmol/L den geringsten Wirkungsgrad hatten, löste Betain bei dieser Konzentration mit 20 % die stärkste Resonanz aus, die mit Betain in diesem Versuch erzielt werden konnte.

AMP war in allen gemessenen Konzentrationen vergleichsweise unattraktiv. Die höchste Resonanz konnte bei 10 mmol/L mit ca. 10 % erreicht werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Aminosäuren am attraktivsten waren während Taurin und AMP bei den Tieren die geringste Aktivität auslösten. Betain nimmt im Vergleich mit den anderen Substanzen eine Mittelstellung ein.

Im Anschluss wurden einige Versuche mit Mischungen von zwei Substanzen durchgeführt, um eventuelle synergistische Effekte der Aminosäuren zu erkennen. Untersucht wurde eine 1:1 Mischung der beiden attraktivsten Verbindungen Glycin und L-Serin ebenso wie eine 1:1 Mischung der beiden am wenigsten attraktiven Verbindungen AMP und Taurin. Außerdem wurde die Kombinationen von AMP/Serin und Taurin/Serin getestet.

Die Ergebnisse sind als Balkendiagramme wiedergegeben. Die Konzentrationsangaben für die Lösungen, beziehen sich auf die Gesamtkonzentration der eingesetzten Substanzen. So enthält das Testgemisch das in den Diagrammen mit 1 mmol/L (Serin/Glycin) angegeben wird 0,5 mmol/L Serin und 0,5 mmol/L Glycin.

In den Diagrammen sind zuerst die Ergebnisse der Attraktivität der Einzelsubstanzen angegeben, dann folgt ein berechneter Mittelwert aus der Summe der Einzelergebnisse, und in den letzten Spalten sind die experimentellen Ergebnisse der Substanzgemische dargestellt.

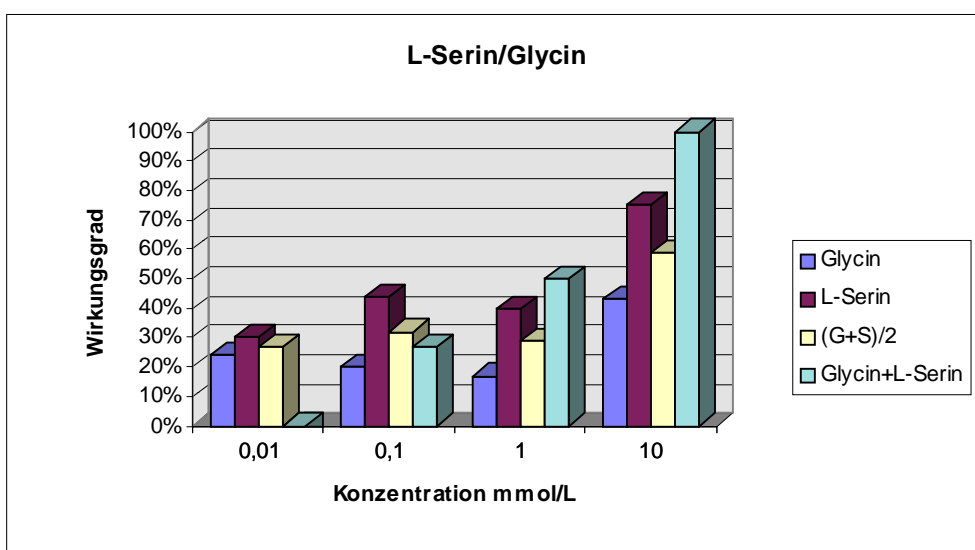


Abbildung 15 Balkendiagramm der Attraktivität des Substanzgemisches L-Serin/Glycin auf *Crangon crangon*

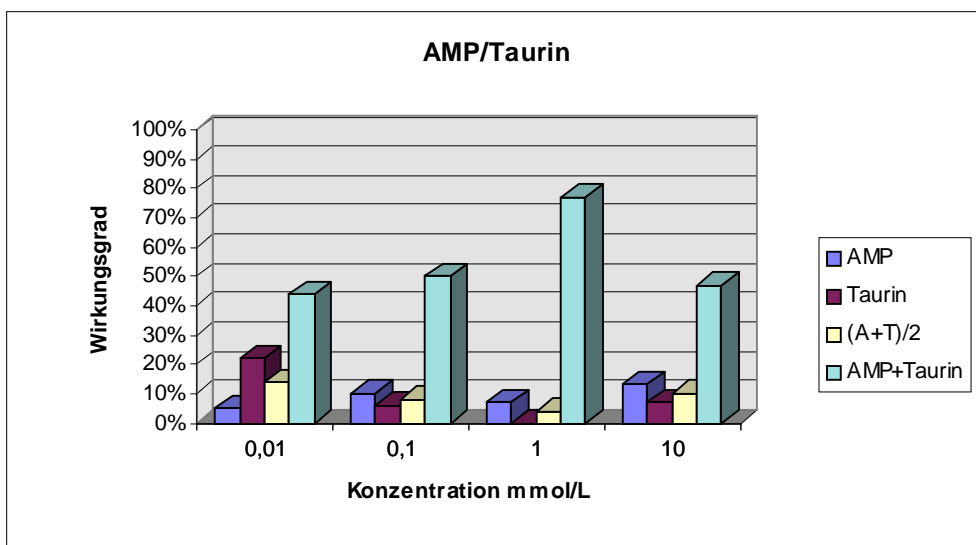
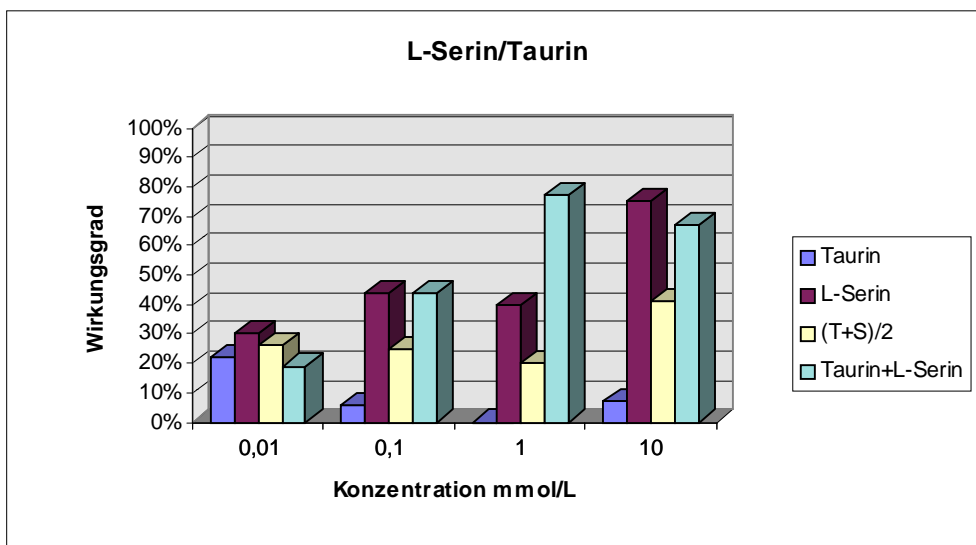
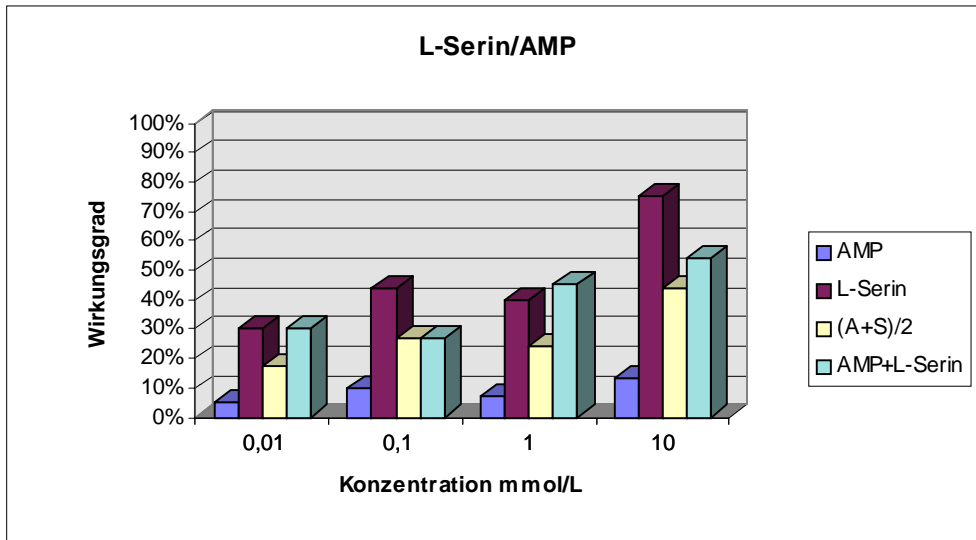


Abbildung 16 Balkendiagramme der Attraktivitäten der Substanzgemische aus L-Serin/AMP, L-Serin/Taurin und AMP/Taurin auf *Crangon crangon*

Aus den Abbildungen geht hervor, dass die Kombination zweier Substanzen in den meisten Fällen einen synergistischen Effekt hat. Ausnahmen bilden die Gemische von L-Serin und Glycin sowie L-Serin und Taurin bei der niedrigsten gemessenen Konzentration von 0,01 mmol/L. Die Attraktivität dieser Gemische lag unter dem Mittelwert.

Die Kombination von L-Serin und Glycin löste in dieser Konzentration gar keine Aktivität bei den Tieren aus.

Die Attraktivität der Gemische aus L-Serin und Glycin sowie aus L-Serin und AMP nahm mit steigender Konzentration zu, während die Gemische aus L-Serin und Taurin, sowie aus AMP und Taurin bei 1 mmol/L ein Maximum aufwiesen.

Die Kombination aus AMP und Taurin zeigte den stärksten synergistischen Effekt. Dabei unterschied sich die Mobilität, die von dem Gemisch dieser beiden Substanzen ausgelöst wurde, erheblich von den vergleichbaren Bewegungsabläufen der Garnele bei der Futtersuche. So konnte die Bewegung der Antennulen fast gar nicht beobachtet werden, dafür aber des öfteren der für *Crangon crangon* typische Fluchtreflex, der die Tiere sprungartig durch die Kontraktion des Pleonmuskels nach oben schnellen lässt [74].

3.5 Diskussion

Der Versuch hat gezeigt, dass *Crangon crangon* auch auf einzelne Nahrungskomponenten reagiert. Am attraktivsten von den getesteten Einzelsubstanzen wirkte L-Serin gefolgt von anderen Aminosäuren. Taurin und AMP zeigten die geringste Attraktivität.

Wie bei den Untersuchungen, die von E. Dahm durchgeführt wurden [69], liegt der Wirkungsgrad der Einzelsubstanzen weit unter der Attraktivität von Miesmuschelextrakten.

Vergleicht man die Einzelsubstanzattraktivitäten bei *Crangon crangon* mit denen, die von Derby und Carr bei *Palaemonetes pugio* gemessen wurden [56], fällt auf, dass AMP auf *Palaemonetes pugio* einen starken Futterreiz ausübt, während in der vorliegenden Untersuchung zu den Substanzen mit der geringsten Resonanz zählt.

Dies kann darauf zurückzuführen sein, dass AMP für *Crangon crangon* keinen Signalcharakter hat oder daraufhin deuten, dass die getesteten AMP Konzentrationen für *Crangon crangon* zu hoch waren.

Der Gehalt von AMP in den von Derby und Carr analysierten Futterextrakten [56] ist sehr

gering (siehe Abbildung 10). Wenn man sich zusätzlich vor Augen hält, dass der Lebensraum von *Crangon crangon* im Vergleich zu dem von *Palaemonetes pugio* durch starke Strömungen und einen häufigen Austausch des Wasserkörpers gekennzeichnet ist, erscheint es schlüssig, dass *Crangon crangon* möglicherweise auf geringere Mengen von AMP als *Palaemonetes pugio* ($< 10^{-3}$ mol/L) reagiert.

Die Mischungen von zwei Substanzen zeigten fast in allen Fällen einen synergistischen Effekt.

Interessanter Weise konnten bei den Kombinationen von L-Serin und Taurin sowie von Taurin und AMP und einer Gesamtkonzentration von 10^{-3} mol/L aktiver Substanzen, besonders starke synergistische Effekte gemessen werden, obwohl gerade diese Konzentration bei den Einzelsubstanzen eher ein Minimum an Reaktion auslöste.

Die Konzentrationen, bei denen der synergistische Effekt am stärksten ist, variieren zum Teil. So ist der Synergismus von L-Serin und Glycin bei 10 mmol/L am stärksten, von den anderen Mischungen jedoch bei 1 mmol/L.

Die Ergebnisse sprechen dafür, dass *Crangon crangon*, ebenso wie andere Garnelen, über eine sehr differenzierte Wahrnehmung chemischer Substanzen verfügt und insbesondere bestimmte Muster von Substanzgemischen interpretieren kann.

Eine außerordentlich große Reizverstärkung konnte durch das Zuführen einer Lösung von Taurin und AMP hervorgerufen werden. Beide Substanzen riefen in den Einzelsubstanzversuchen fast keine Reaktion hervor.

Das Gemisch beider Substanzen löste bei fast allen Tieren Aktivität aus.

Diese Aktivität ist wahrscheinlich nicht auf einen Nahrungsreiz zurückzuführen, sondern hatte eher einen Fluchtcharakter [75,76], und die Bewegungen der Tiere unterschieden sich deutlich von denen, die für die Futtersuche typisch sind.

AMP-Konzentrationen oberhalb 1 mmol/L werden somit nicht als Nahrungsinhaltsstoff interpretiert und in Kombination mit Taurin sogar als Gefahrensignal verstanden. Dieser Bedeutungswandel ist von Derby und Carr nicht beobachtet worden.

Eine ähnliche konzentrationsabhängige Geruchsänderung kennt man von vielen flüchtigen Schwefelverbindungen in ihrer Wirkung auf den Menschen. Der Geruch von Dimethylsulfid, Schwefelwasserstoff und andere schwefelhaltige Verbindungen, die z.B. für das Aroma von

Kaffee verantwortlich sind [77,78], wird in geringen Konzentrationen als angenehm empfunden. Liegt Ihre Konzentration über einem bestimmten Schwellenwert, wirken sie dagegen höchst abstoßend.

Die genannten Schwefelverbindungen sind außerordentlich giftig und die abschreckende Wirkung, die ihr Gestank beim Menschen hervorruft, biologisch gesehen sehr sinnvoll. Dass sie in geringen Konzentrationen, die zum Teil unter der Nachweisgrenze liegen, angenehm riechen, hängt möglicherweise damit zusammen, dass es sich bei diesen Verbindungen um Abbauprodukte essentieller Nahrungsbestandteile handelt.

Die Kombination relativ hoher Konzentrationen von AMP und Taurin scheint für *Crangon crangon* ebenfalls eine unangenehme Wahrnehmung darzustellen.

AMP als Endprodukt der Energiefreisetzung aus ATP und Taurin als Abbauprodukt von L-Cysteinsäure signalisieren in den getesteten Konzentration möglicherweise eine nährstoffarme von bakteriellem Abbau geprägte Umwelt.

4 Verhaltensstudie zur Fortpflanzung von *Crangon crangon*

Das Fortpflanzungsverhalten von *Crangon crangon* wurde zuerst von Nouvel (1939) [63] und später von Tiews (1969) [64] und Boddecke, Bosschietter und Goudswaard (1982) [67] beschrieben. Es wurde vermutet, dass das Männchen von Pheromonen, die das gehäutete Weibchen abgibt, angelockt werden. Weiter gehende Untersuchungen über die Art und Weise, wie das Pheromon abgegeben wird, sind nicht beschrieben. So ist z. B. nicht bekannt, ob das Sexualpheromon von *Crangon crangon* über den Urin ausgeschieden wird, wie es bei Hummern beobachtet wurde, oder ob sich das Paarungsverhalten der Männchen mit Wasser von attraktiven Weibchen auslösen lässt.

Die in der Literatur beschriebenen Beobachtungen unterscheiden sich zu dem in einigen Details, so wird z.B. bei Boddecker, Bosschietter und Goudswaard beschrieben [67], dass das Weibchen vom Männchen mit den Antennulen betriillert wird, während dieses Verhalten in den anderen Veröffentlichungen keine Erwähnung findet. Einige dieser offenen Fragen sollen soweit wie möglich durch eigene Untersuchungen geklärt werden.

Da in dieser Arbeit Naturstoffe aus attraktiven Weibchen mit denen von nicht attraktiven Tieren verglichen werden sollten, war es wichtig, attraktive und nicht attraktive Tiere mit Sicherheit unterscheiden zu können. Die Beobachtung der Paarung bietet den eindeutigsten Beweis für die Attraktivität eines Tieres.

Viele Tiere zeigen in Gefangenschaft kein Fortpflanzungsverhalten. Für *Crangon crangon* wurde bereits beschrieben, dass bei Tieren, die in Aquarien gehalten wurden, keine Paarungen beobachtet werden konnten und statt dessen die frisch gehäuteten reifen Weibchen aufgefressen wurden. Dass dieser Kannibalismus bei Aquarienhaltung auftritt, ist auch von anderen Garnelen bekannt [79,80].

In eigenen früheren Arbeiten (Diplomarbeit 1996) [74], bei denen die Garnelen in Aquarien mit geschlossenen Wasserkreisläufen gehalten wurden, konnten ebenfalls keine Paarungen beobachtet werden. Auch nach einer Optimierung der Hälterungsbedingungen durch die Verwendung filtrierten Nordseewassers aus Helgoland und konstanter Kühlung des Wassers auf 15°C, konnte kein Fortpflanzungsverhalten beobachtet werden. Es konnte lediglich erreicht werden, dass die Tiere kaum noch zu Kannibalismus neigten.

Um für diese Arbeit möglichst natürliche Hälterungsbedingungen zu erzielen, wurden alle hier durchgeführten Versuche in Durchlaufbecken auf Helgoland in den Laboren der Biologischen Anstalt durchgeführt.

4.1 Material

Die Tiere, die zu den Untersuchungen, die in diesem Abschnitt beschrieben werden, herangezogen wurden, stammten aus der Elbmündung. Sie wurden in den Räumlichkeiten der Biologischen Anstalt auf Helgoland in Durchlaufbecken gehalten.

4.2 Methode

Zunächst wurden die Tiere in einem großen Gemeinschaftsbecken gehalten und später nach Geschlecht und Entwicklungsgrad in kleinere Becken umsortiert. Dann wurden Weibchen mit vollentwickelten Ovarien zusammen mit drei bis vier Männchen in einem Durchlaufbecken gehalten und mit einer Infrarotkamera und Infrarotbeleuchtung gefilmt. Es wurden außerdem Aufnahmen von Paarungen gemacht, bei denen das bereits gehäutete reife Weibchen in ein Becken mit mehreren Männchen gesetzt wurde.

Außerdem wurde aus einem Becken mit sechs gehäuteten, reifen Weibchen Wasser in ein Becken mit Männchen geleitet und deren Reaktion beobachtet.

4.3 Beobachtung

Am Tage saßen die Tiere die meiste Zeit dicht an dicht eingegraben im Sand. Es wurde beobachtet, dass die Tiere während sie im Sand saßen, kontinuierlich ihre Umgebung und damit auch ihre Artgenossen mit der ersten Antenne abtasteten.

Die Garnelen zeigten kein Revierverhalten, wie zum Beispiel der Flusskrebs *Procambarus clarkii* [81,82]. In der Dämmerung begann große Schwimmaktivität, die im Verlauf der Nacht wieder abnahm. Bei der Laborhaltung konnte oft beobachtet werden, dass gehäutete Tiere für gesteigerte Unruhe im Aquarium sorgten und in vielen Fällen von ihren Artgenossen aufgefressen wurden. In den Aquarien auf Helgoland wurde dieser Kannibalismus nicht beobachtet. Frisch gehäutete Tiere konnten sich ohne Mühe zurückziehen und blieben fast immer unbehelligt.

Nur die Häutung reifer Weibchen sorgte in den Becken für einige Aufregung, die sich dann nach der Paarung des gehäuteten Weibchens mit einem der Männchen wieder legte. Obwohl die Paarung laut Literaturangaben nur nachts stattfindet, konnten einige Paarungen am Tage beobachtet werden.

Zur besseren Untersuchung des Paarungsablaufs wurden Filmaufnahmen auf Video von der Paarung angefertigt und mit Hilfe der Zeitlupentechnik ausgewertet:



Abbildung 17 Männchen nähert sich seiner Partnerin vom Kopf her

Bei den durchgeführten Versuchen wurden je ein frisch gehäutetes reifes Weibchen in das Beobachtungsbecken zu drei Männchen gesetzt. Dabei wurde darauf geachtet, dass sich die Tiere nicht mit den Antennen berührten. Meistens waren die Männchen eingegraben im Sand und schauten nur mit den Augen und den Antennen heraus. Jedes Mal dauerte es etwa eine Minute, bis sich eines der Männchen regte. Es begann damit, dass es zunächst die Antennulen bewegte und dann schnell aus dem Sand heraus kam. Anschließend schwamm es kurz suchend hin und her, bevor es zielstrebig auf das Weibchen zu steuerte.

Das Männchen näherte sich dem Weibchen meistens vom Kopf her und betriillerte dann die Stelle die den Übergang zwischen Cephalothorax und Abdomen bildet. Das Betrillern konnte bei jeder Paarung beobachtet werden und scheint eine Schlüsselfunktion im Paarungsablauf innezuhaben.

Nicht immer näherte sich das Männchen dem Weibchen von vorn. Einige Männchen begannen gleich damit, die mittlere Rückenpartie des Weibchens zu betrillern. Möglicherweise führten Verwirbelungen im Wasser dazu, dass die Duftspur die Männchen nicht immer direkt auf die Antennen des Weibchens zuführte. Sie näherten sich dann von hinten dem Weibchen, (die Seiten sind durch den Antennenschlag des Weibchens geschützt), und hangelten sich über den Uropoden des Weibchens ihren Körper entlang nach vorne, bis sie an die Stelle zwischen Cephalothorax und Abdomen angelangt waren. An dieser Stelle hielten sie inne und begannen mit dem Betrillern.

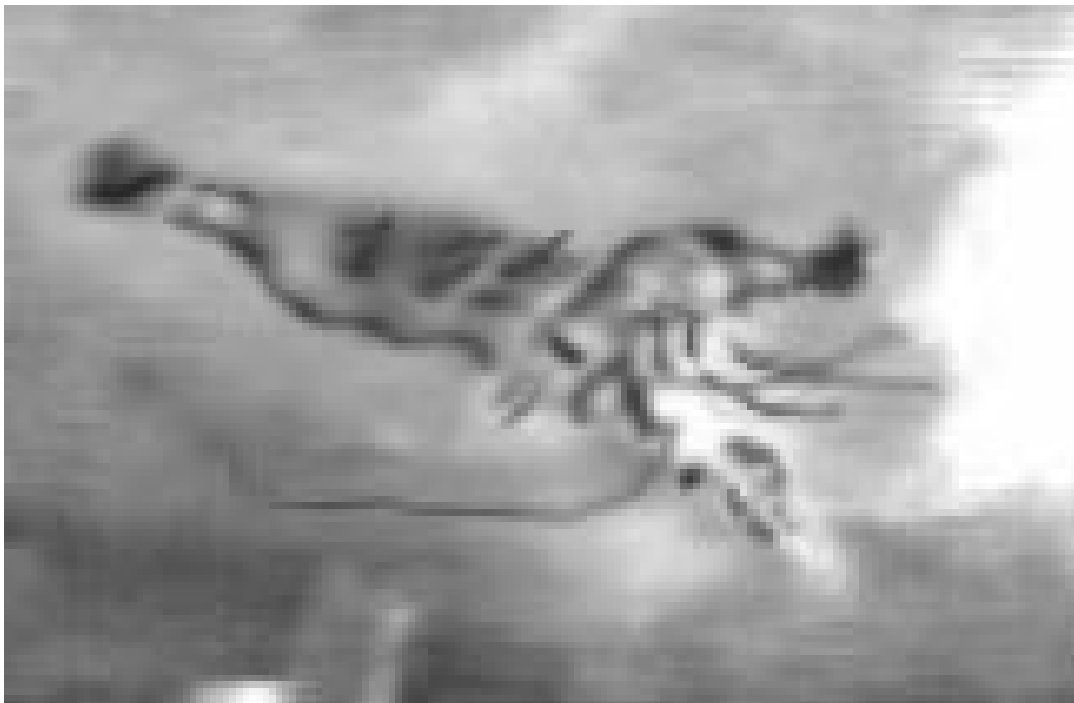


Abbildung 18 Das Männchen betrillert das Weibchen auf dem Rücken und dreht es dabei um

Nach dem Betrillern wirkte das Weibchen wie erstarrt und ließ sich von dem Männchen auf den Rücken drehen. Beide Tiere nahmen eine senkrecht gekreuzte Position ein. Es ist beschrieben, dass das Männchen in dieser Haltung einen Spermatophoren in die Gegend der weiblichen Geschlechtsöffnung überträgt. Dieser Vorgang wurde nicht näher untersucht. Detaillierte Daten zur Übertragung der Spermien bei *Crangon crangon* finden sich bei Boddeke, Bosschieter und Goudswaard (1982) [67].

Anschließend fiel das Männchen in gekrümmter Haltung reglos zu Boden und erholte sich nach kurzer Zeit wieder. Der Paarungsablauf dauerte höchstens eine Minute.

Bei den durchgeführten Versuchen wurden die Weibchen sowohl stromauf-, als auch stromabwärts von den Männchen platziert. In beiden Fällen dauerte es etwa eine Minute bis das Suchverhalten der Männchen einsetzte.

Im Anschluss an die Aufnahmen wurde versucht, mit Wasser von gehäuteten reifen Weibchen eine Reaktion bei Männchen auszulösen. Dazu wurden neun gehäutete reife Weibchen in ein Becken gesetzt und das Wasser aus diesem Becken kontinuierlich in ein Becken mit Männchen geleitet. Es konnte kein gesteigertes Interesse an dem Ort des Einlaufs bei den Männchen beobachtet werden.

Es wurde außerdem versucht, Aufnahmen von der Häutung reifer Weibchen und anschließender Paarung zu erhalten. Dazu wurden mehrere ungehäutete Weibchen im Beobachtungsbecken mit einigen Männchen durchgehend gefilmt. In der für die Beobachtung zur Verfügung stehenden Zeit konnte keine Häutung beobachtet werden.

4.4 Diskussion

Die Beobachtungen lassen vermuten, dass chemische Botenstoffe für den Ablauf der Paarung bei *Crangon crangon* von Bedeutung sind. In den Versuchen konnte gezeigt werden, dass zu der Auslösung des Paarungsverhaltens kein Körperkontakt, z.B. mit der ersten Antenne, notwendig ist. Eine visuelle Wahrnehmung der Partnerin ist ebenfalls unwahrscheinlich, da alle Beobachtungen ausschließlich unter infrarotem Licht durchgeführt wurden.

Die Sexuallockstoffe werden auch noch mehrere Stunden nach der Reifehäutung des Weibchens abgegeben. Hierin unterscheidet sich der Abgabemodus der Lockstoffe deutlich zu denen von Krabben. Zwar ist die Häutung des einen Partners bei fast allen Crustaceen eine notwendige anatomische Voraussetzung [44] für die Paarung, ausführliche Arbeiten zu der Fortpflanzung der Strandkrabbe *Cancer maenas* und der Blaukrabbe *Callinectes sapidus*, ergaben aber [83,48], dass bei diesen Arten das Paarungsverhalten schon vor der Häutung des Weibchens einsetzt.

Während man bei der Strandkrabbe und der Blaukrabbe sicher ist, dass das Pheromon über den Urin aus den Antennendrüsen abgegeben wird, konnte diese Frage für *Crangon crangon* nicht abschließend geklärt werden.

Die Beobachtungen zeigten, dass sich das Männchen nicht immer frontal dem Weibchen nähert, wie es für eine Reizabgabe aus den Antennendrüsen zu erwarten wäre.

Es besteht ebenfalls die Möglichkeit, dass die Sexuallockstoffe von anderen Körperdrüsen als der Antennendrüse abgegeben werden.

Das intensive Betrillern der Rückenpartie des Weibchens, deutet darauf hin dass mehrere Substanzen bei der Partnererkennung von *Crangon crangon* eine Rolle spielen. Zum einen ist wahrscheinlich ein Lockstoff für die Fernerkennung verantwortlich und führt die Männchen zu dem gehäuteten Weibchen, zum anderen ist vermutlich ein anderer Signalstoff für die Naherkennung ausschlaggebend. Dieser wird vermutlich bei dem Betrillern der Rückenpartie von den Männchen wahrgenommen und leitet die Positionierung der Partnerin und die Spermaübertragung ein.

Die vergeblichen Versuche, mit dem Wasser attraktiver Weibchen eine Reaktion bei den Männchen auszulösen, zeigten, dass hier noch einige weitere Faktoren zu berücksichtigen sind,

die noch nicht bekannt sind. Möglicherweise geben die Weibchen nur in Gegenwart von Männchen das Pheromon ab.

Verhaltenstest mit Urin von attraktiven Weibchen konnten nicht durchgeführt werden, da die Antennendrüsen aufgrund der geringen Größe von *Crangon crangon* schlecht zugänglich sind.

Um nähere Informationen über die Substanzen, die von den Antennendrüsen abgegeben werden, zu erhalten, wurde eine Mikrofestphasenextraktion (Solid Phase Micro Extraktion-SPME) durchgeführt [84]. Dazu wurde ein dünner Faden, der mit einer Adsorptionsschicht versehen war, vor die Antennenwurzel attraktiver Weibchen gehalten. Anschließend wurden die adsorbierten Substanzen analysiert. Die Ergebnisse aus den Analysen sind in den nächsten Abschnitten wiedergegeben, zusammen mit den Ergebnissen der Untersuchungen von Ganztierextrakten von attraktiven Weibchen, gehäuteten Männchen, gehäuteten juvenilen Weibchen und reifen Weibchen, die sich noch nicht gehäutet hatten.

5 Identifizierung von Naturstoffen von Männchen und Weibchen in verschiedenen Entwicklungsstadien und aus verschiedenen Körpersektionen von *Crangon crangon*

Den Kern der Arbeit bildete die Untersuchung der Inhaltsstoffe von Männchen und Weibchen verschiedener Entwicklungsstadien und verschiedener Körpersektionen der Nordseekrabbe *Crangon crangon*.

5.1 Material

Die Tiere, die zur den Experimenten herangezogen wurden, stammten von der Elbmündung aus dem Gebiet vor den Inseln Scharhörn und Neuwerk und zwischen Helgoland und Cuxhaven. Die Tiere wurden auf Helgoland in Durchlaufbecken gehalten, durch die kontinuierlich frisches Nordseewasser geleitet wurde.

Die Tiere, die zur Präparation der verschiedenen Organe und Körperabschnitte vorgesehen waren, wurden in gekühlten Becken mit filtriertem Nordseewasser, Strömungsanlage und einem Biofilter im Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg gehalten.

5.2 Methoden

Bei der Analyse der Inhaltsstoffe aus *Crangon crangon* wurde ein Schwerpunkt auf die Untersuchung und den Vergleich verschiedener Körpersektionen und ein anderer auf die Untersuchung und den Vergleich von Männchen und Weibchen verschiedener Entwicklungsstadien gelegt.

Die zu untersuchenden Körperteile wurden präpariert und mit Wasser oder organischen Lösemitteln extrahiert. Für geschlechtsspezifische Untersuchungen wurden die Tiere vollständig (Ganztierextrakte) extrahiert. Die Rohextrakte wurden nach Aufarbeitung und Aufkonzentrierung mit gaschromatographischen und massenspektroskopischen Methoden analysiert.

Die Identifizierung der Inhaltsstoffe erfolgte anhand ihrer Massenspektren und ihrer gaschromatographischen Retentionszeiten. Aus den spektroskopischen Daten wurden

Strukturpostulate abgeleitet und mit Hilfe der Vermessung synthetischer Vergleichssubstanzen bewiesen. In einigen Fällen erlaubten gezielte Derivatisierungen und der Vergleich mit Spektrenbibliotheken sowie Rastern bestehend aus homologen Verbindungen eine einwandfreie Zuordnung.

Sehr polare Substanzen konnten erst nach der Derivatisierung der Naturextrakte identifiziert werden. In den Naturextrakten vorkommenden Carboxylgruppen wurden entweder silyliert oder methyliert [85,86]. Hydroxygruppen wurden acetyliert oder silyliert. Amide wurden zu den Nitrilen dehydratisiert. Zur Bestimmung der Lage der Doppelbindungen wurde mit Dimethyldisulfid (DMDS) derivatisiert [87]. Zusätzlich angewendete Derivatisierungsmethode war die Hydrierung von ungesättigten Verbindungen zur Bestimmung der Struktur des Kohlenstoffskeletts.

Die Bestimmung der absoluten Konfiguration chiraler Verbindungen gelang über die gaschromatographische Trennung der Enantiomere an chiralen Cyclodextrin-Phasen und den Vergleich mit synthetischen Referenzsubstanzen.

5.3 Strukturaufklärung und Charakterisierung ausgewählter Naturstoffe aus *Crangon crangon*

In diesem Abschnitt wird die Strukturaufklärung und Charakterisierung der Substanzen dargestellt, deren identifizierte Struktur bisher nicht beschrieben wurde, die als Naturstoffe bisher nicht bekannt sind oder die besonderes Interesse verdienen, weil sie möglicherweise als Signalstoffe von Bedeutung sind.

5.3.1 Hydroxysäureamide

Die 3-Hydroxysäureamide bilden mit 13 homologen Verbindungen eine der Hauptsubstanzklassen in den Extrakten. Das (S)-3-Hydroxydekansäureamid (**17B**) ist die Hauptkomponente der Hydroxysäureamide und wurde bisher noch nicht als Naturstoff beschrieben.

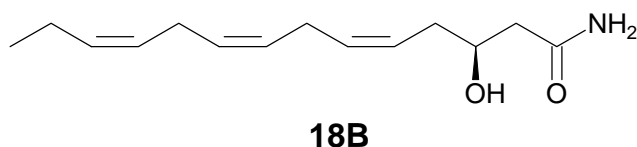
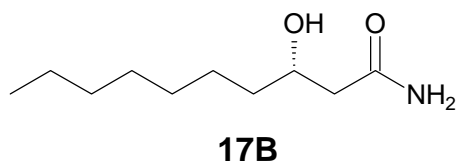


Abbildung 19 Struktur von (S)-3-Hydroxydekansäureamid und von (S)-(5Z,8Z,11Z)-3-Hydroxytetradecatriensäureamid

Es konnte eine Reihe verzweigter und ungesättigter 3-Hydroxysäureamide identifiziert werden. Die Strukturen dieser Verbindungen sind bisher in der Literatur nicht beschrieben worden. Eine dieser Substanzen, das (5Z,8Z,11Z)-(S)-3-Hydroxytetradeca-5,8,11-trienensäureamid (**18B**) gehört zusammen mit dem (5Z,8Z,11Z)- und (5E,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on (**28**), (**27**) und dem Tetradecatriensäureamid zu einer Gruppe Tetradecatrienverbindungen mit unterschiedlichen funktionellen Gruppen, die möglicherweise charakteristisch für *Crangon crangon* sind. Die Verbindungen besitzen allesamt drei

homokonjugierte Doppelbindung am drittletztem Kohlenstoffatom der Kette (ω_3). Die höchste Konzentration dieser Verbindung wurde in attraktiven Weibchen gefunden.

Die 3-Hydroxysäureamide wurden über charakteristische Massenspektren und die Massenspektren ihrer Silylderivate sowie den Vergleich mit synthetischen Vergleichssubstanzen identifiziert. Das Massenspektrum des 3-Hydroxydecansäureamid (**17**) und der Silylderivate **19** und **20** sind in Abbildung 20, Abbildung 21 und Abbildung 22 dargestellt. Die Synthese des Racemats ist in Abbildung 23 wiedergegeben.

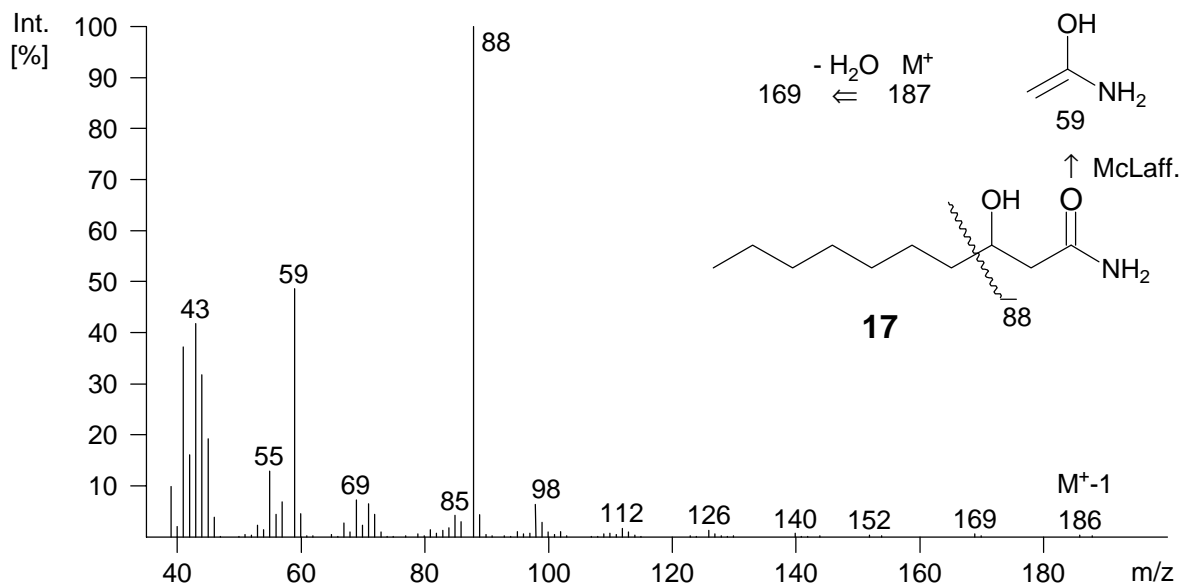


Abbildung 20 Massenspektrum des 3-Hydroxydecansäureamids (**17**)

Das Massenspektrum des 3-Hydroxydecansäureamids (**17**) wies keine Ähnlichkeit mit Massenspektren bekannter Verbindungen auf (Abbildung 20). Es besteht hauptsächlich aus den Fragmenten m/z 59 und 88. Die Ionenserie m/z 44, 58, 72, 86 ließ vermuten, dass die Verbindung Stickstoff enthält.

Die Dominanz weniger Ionen ist ebenfalls typisch für stickstoffhaltige Verbindungen. Der Stickstoff stabilisiert die positive Ladung in den Fragmenten, die dadurch nur in geringen Maße weiter zerfallen.

Bei dem Bruchstück mit der Masse m/z 59 handelt es sich um das Produkt der McLafferty-Umlagerung an der Carbonylfunktion der Amidgruppe. Das Bruchstück mit der Masse m/z 88 leitet sich aus der α -Spaltung an der 3-Hydroxygruppe ab.

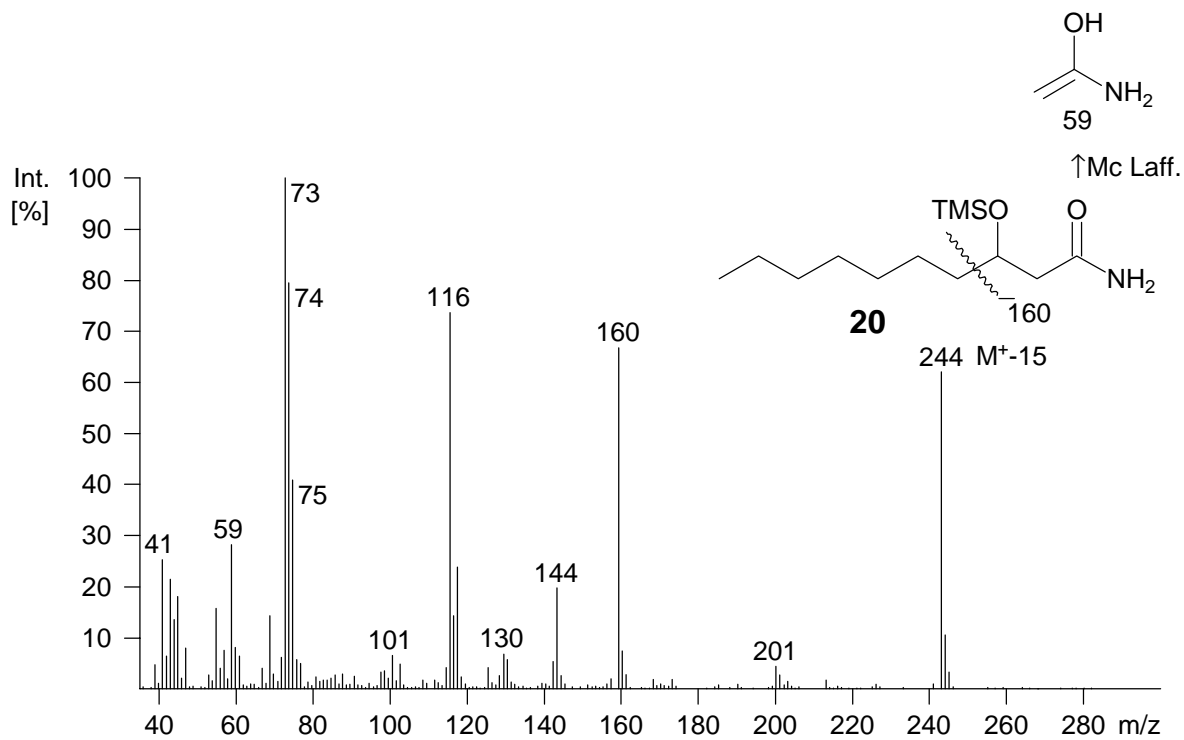


Abbildung 21 Massenspektrum des monosilylierten 3-Hydroxydecansäureamids (20)

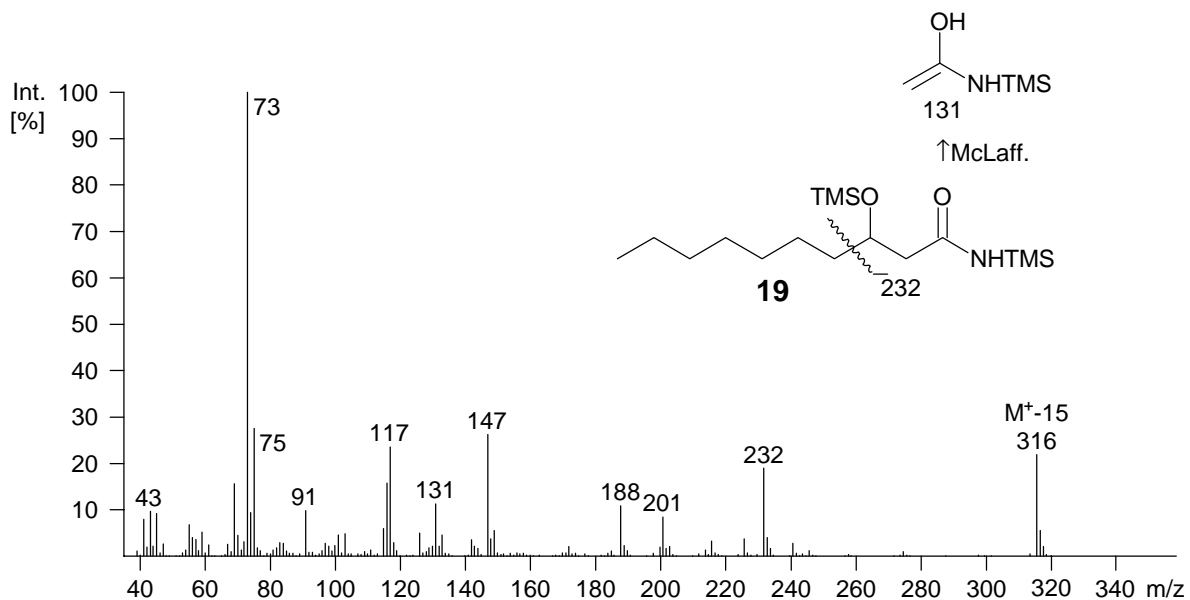


Abbildung 22 Massenspektrum des disilylierten 3-Hydroxydecansäureamids (19)

Bei der Derivatisierung der Naturprobe mit Silylierungsreagenz wurde eine mono- und eine disilylierte Verbindung **20** und **19** erhalten.

Die Massenspektren der beiden Verbindungen lassen sich leicht anhand einiger charakteristischer Ionen unterscheiden.

Das Massenspektrum des disilylierten Hydroxysäureamids **19** zeigt m/z 316 als höchste Masse. Es entsteht aus der Abspaltung einer Methylgruppe vom Molekülion ($M^+ - 15$).

Die gleiche Abspaltung führt im Massenspektrum des monosilylierten Amids **20** zu dem Ion m/z 244.

Des weiteren zeigt sowohl die mono- als auch die disilylierten Verbindung im Massenspektrum ein intensives Fragment aus der α -Spaltung an der Silyloxygruppe mit der Masse m/z 232 für die disilylierte Verbindung (**19**) und m/z 160 für die monosilylierte Verbindung **20**.

Das Ion, das bei einer McLafferty-Umlagerung an der Carbonylgruppe gebildet wird hat in dem Spektrum der monosilylierten Verbindung die Masse m/z 59 und bei der disilylierten Verbindung die Masse m/z 131.

Synthese des 3-Hydroxydecansäureamids (**17**)

Das 3-Hydroxydecansäureamid (**17**) wurde zunächst als Racemat dargestellt. Dazu wurde Acetonitril nukleophil an Octanal addiert (Abbildung 23). Im Anschluss daran wurde die Nitrilfunktion mit Wasserstoffperoxid zum Amid hydrolysiert. Die Hydrolyse des Nitrils musste bei neutralem PH-Wert und mit 3%iger H_2O_2 in äquimolaren Mengen erfolgen. Die Ausbeuten waren trotzdem sehr gering.

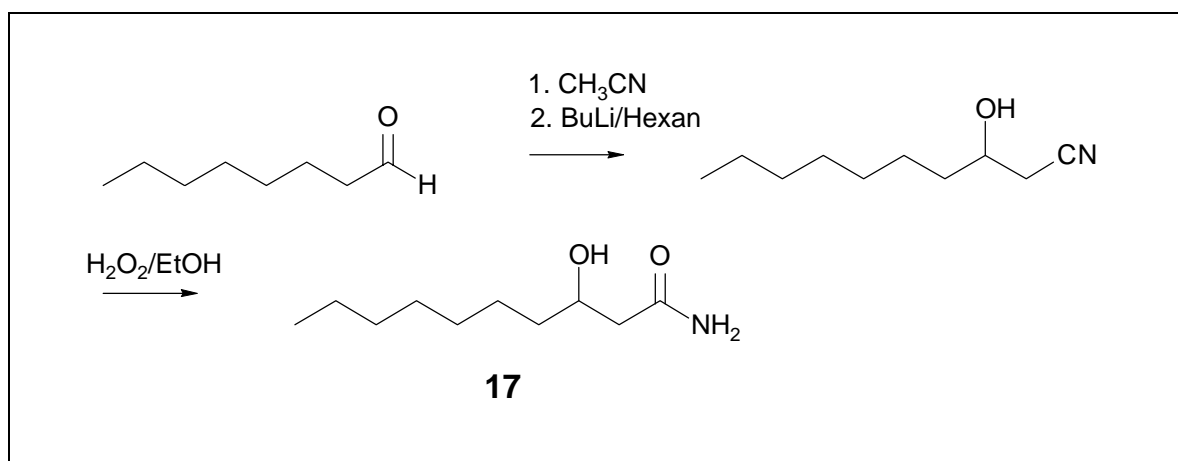


Abbildung 23 Synthese von racemischen 3-Hydroxydecansäureamid (**17**)

Mikroderivatisierungsmethode für hydroxylierte Amide

Die schlechte Chromatographierbarkeit der Hydroxysäureamide stellte ein großes Problem bei der Identifizierung der homologen Verbindungen dar. In mehreren Fällen ließ sich nur das hochkonzentrierte (S)-3-Hydroxydekansäureamid chromatographieren.

Die methylverzweigten und die ungesättigten 3-Hydroxysäureamide konnten trotz ihrer vergleichsweise hohen Konzentration (siehe Tabelle 3) oft nicht detektiert werden.

Erst die Acetylierung der Hydroxygruppe und die gleichzeitige Dehydratisierung der Amidfunktion mit trockenem Acetanhydrid und trockenem Pyridin zum Nitril (Abbildung 24) erlaubte eine genaue Reproduzierbarkeit der Retentionszeiten. Diese Methode stellt möglicherweise eine ganz neue Mikroderivatisierungsmethoden für Amide dar.

Die Abbildung 25 zeigt die Chromatogramme der freien Hydroxysäureamide und der acetylierten Nitrile.

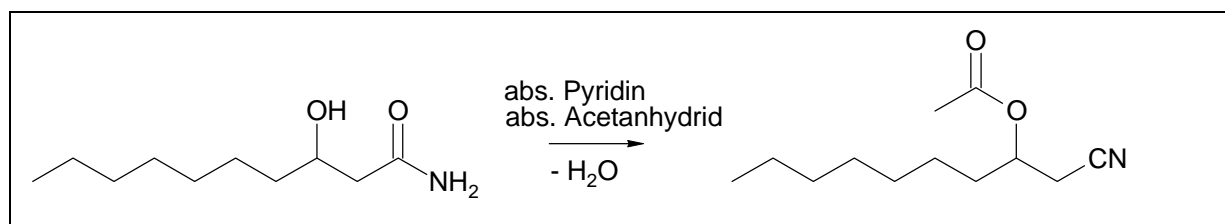
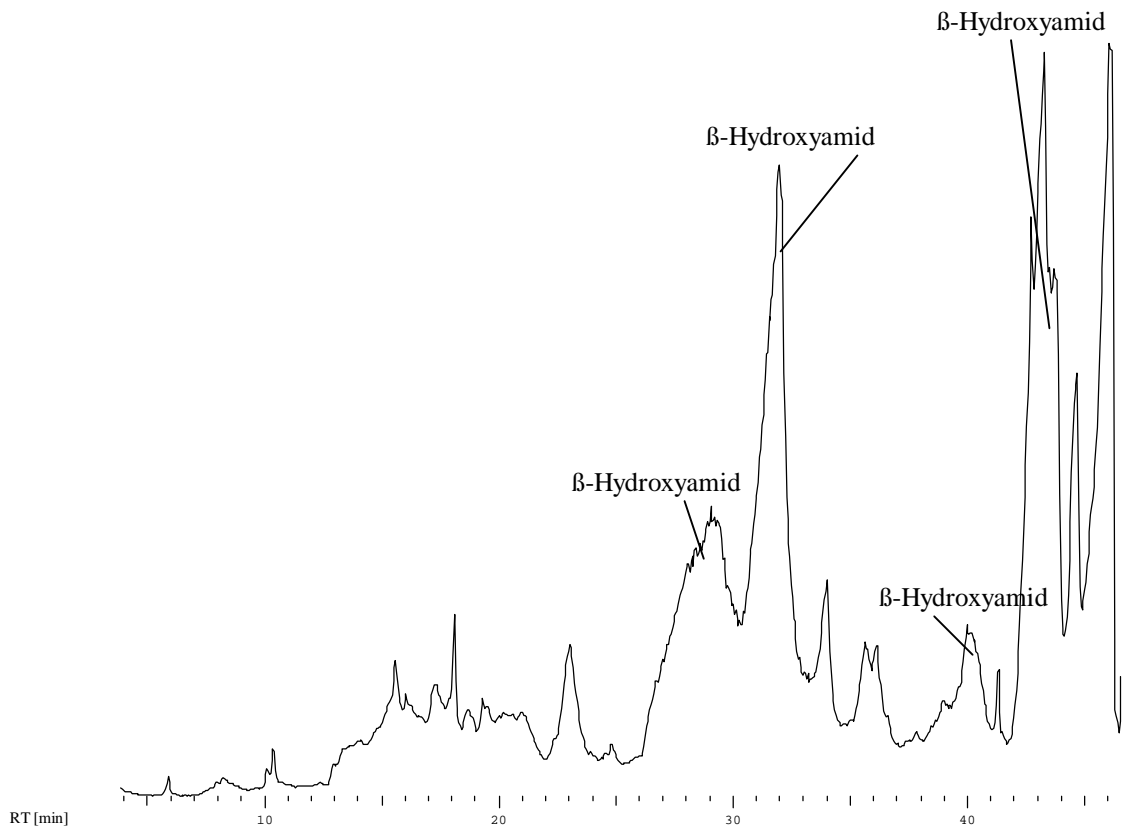


Abbildung 24 Acetylierung bei gleichzeitiger Dehydratisierung

Die Nitrile erlauben aufgrund ihrer spezifischen Fragmentierung im Bereich der Molekülmasse eine eindeutige Bestimmung der Position der Methylgruppen der verzweigten Homologen [91]. In Abbildung 26 und Abbildung 27 sind die Massenspektren von 8- und 9-Methyl-3-acetoxydekansäurenitril* (**22**), (**21**) wiedergegeben. Diese Verbindungen wurden bisher noch nicht in der Literatur beschrieben.

*Bei der Benennung der acetylierten Verbindungen wurde die Priorität auf die Nitrilfunktion gelegt, um hervorzuheben, dass es sich um Derivatisierungsprodukte der zugrundeliegenden Amide handelt.

♀ reif SPE Methanol
DB5MS



♀ reif SPE Methanol
acetyliert und dehydratisiert DB5MS

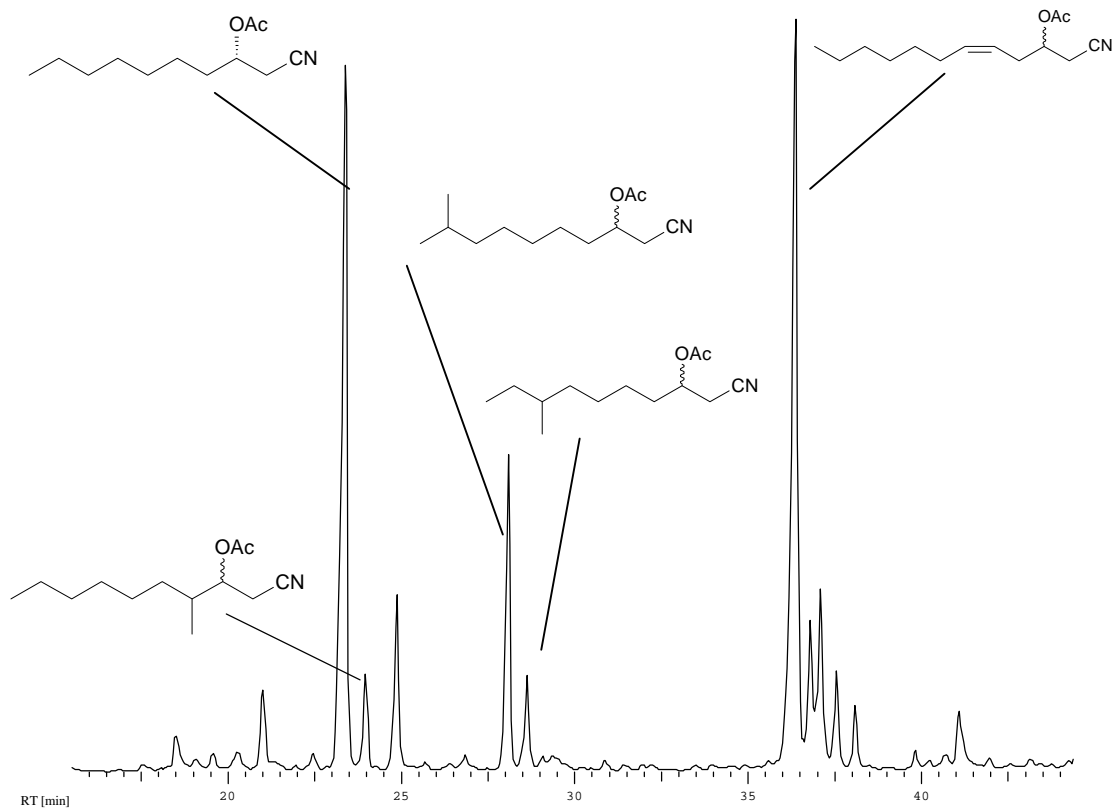


Abbildung 25 Chromatogramme der freien 3-Hydroxysäureamide und der derivatisierten 3-Hydroxysäureamide

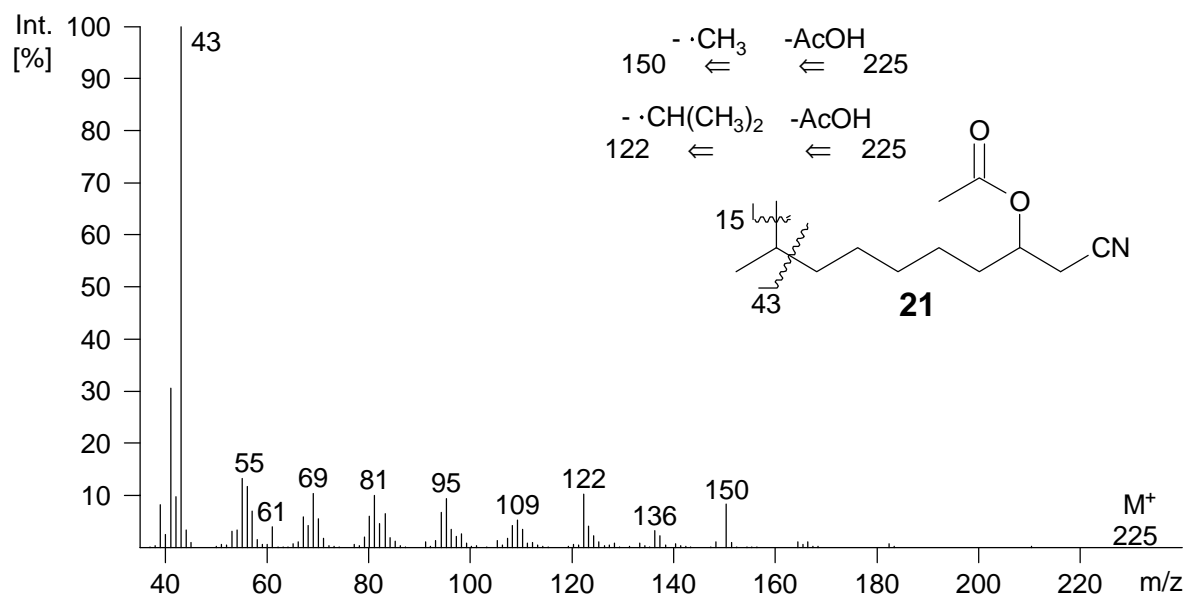


Abbildung 26 Massenspektrum von 3-Acetoxy-9-methyldecansäurenitril (21)

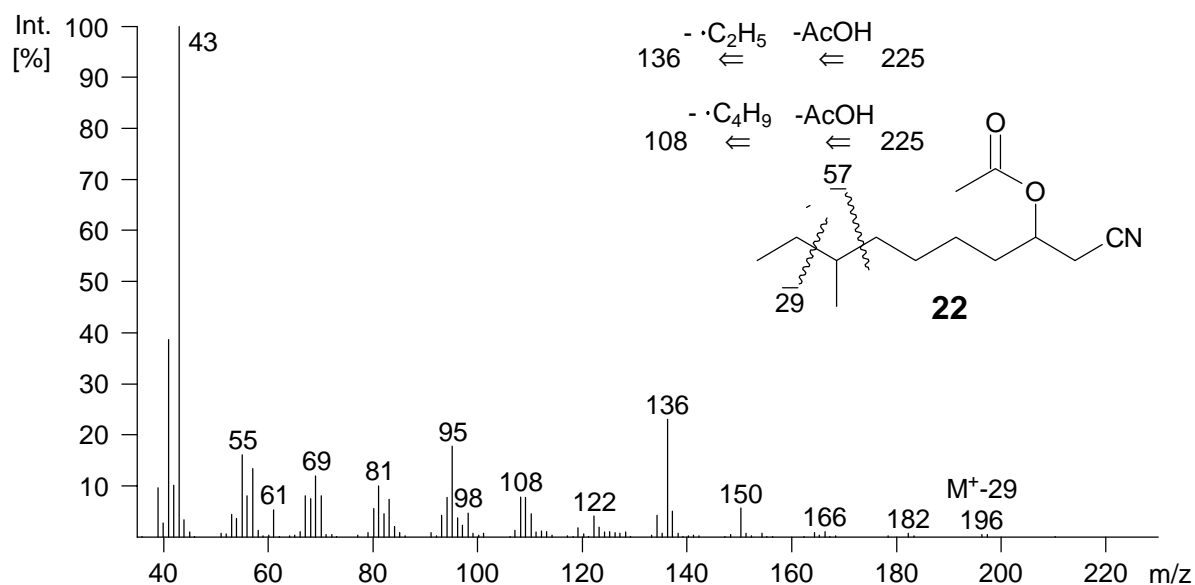


Abbildung 27 Massenspektrum von 3-Acetoxy-8-methyldecansäurenitril (22)

Anhand der Massenspektren lassen sich 8- und 9-Methyl-3-Acetoxydecansäurenitril (**22**), (**21**) deutlich unterscheiden.

Die acetylierten Hydroxysäurenitrile fragmentieren bevorzugt nach Eliminierung von Essigsäure. Die verzweigten Verbindungen zeigen zusätzlich eine α -Spaltung vor und hinter der Verzweigung.

Das Ion m/z 150 entsteht durch die Abspaltung von Essigsäure und einer Methylgruppe. Es ist in dem Massenspektrum der *iso*-methylverzweigten Verbindung **21** deutlich intensiver als in dem Spektrum der *anteiso*-methylverzweigten Substanz **22**. Ein weiteres charakteristisches Signal findet sich bei m/z 122, das durch die Abspaltung von Essigsäure und einer Isopropylgruppe entsteht.

Im Massenspektrum der *anteiso*-methylverzweigten Verbindung **22** sind hingegen die Ionen m/z 136 und m/z 108 vergleichsweise intensiv. Sie entstehen aus der Abspaltung von Essigsäure und einer Ethylgruppe beziehungsweise durch Abspaltung von Essigsäure und einer Methylpropylgruppe.

Basepeak ist in den Massenspektren aller hier beschriebenen acetylierten Verbindungen das Fragment m/z 43, das durch die α -Spaltung an der Carbonylgruppe entsteht. Charakteristisch für Acetate ist das Ion m/z 61, das durch die Protonierung von Essigsäure gebildet wird.

Das Massenspektrum in der Abbildung 28 zeigt die Fragmentierung des acetylierten (5Z,8Z,11Z)-(S)-3-Hydroxytetradeca-5,8,11-triensäurenitrils (**23**).

Erst dieses Massenspektrum und die Bestimmung der Retentionszeit der dazugehörigen Verbindung zwischen den ungesättigten homologen C_{13} und C_{14} -Verbindungen ermöglichte die Strukturaufklärung der Substanz. In Abbildung 29 ist die Synthese der racemischen Vergleichssubstanz dargestellt.

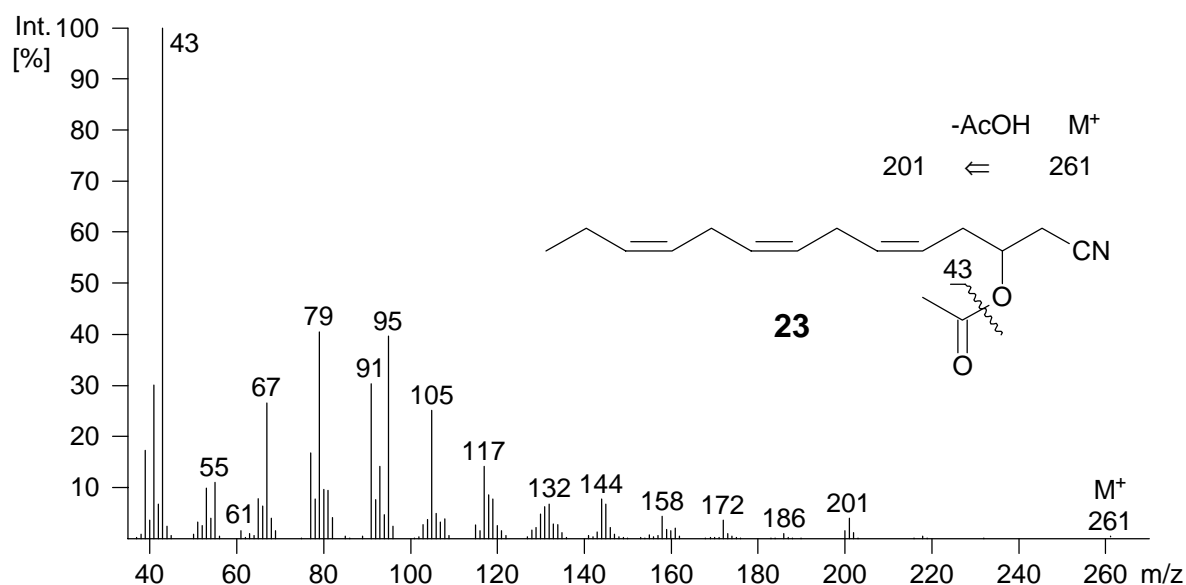


Abbildung 28 Massenspektrum von (5Z,8Z,11Z)-3-Acetyloxytetradeca-5,8,11-triensäurenitril (23)

Auch im Massenspektrum der dreifach ungesättigten Verbindung **23** ist die Abspaltung von Essigsäure charakteristisch. Dabei entsteht das Fragment m/z 201. Der Basepeak m/z 43 entsteht wie bei den anderen Acetaten auch durch eine α -Spaltung an der Carbonylgruppe. Das Fragment m/z 61 ist charakteristisch für Acetate. Dominierend sind die mehrfach ungesättigten Ionen m/z 67, 79, 91, 95, 105.

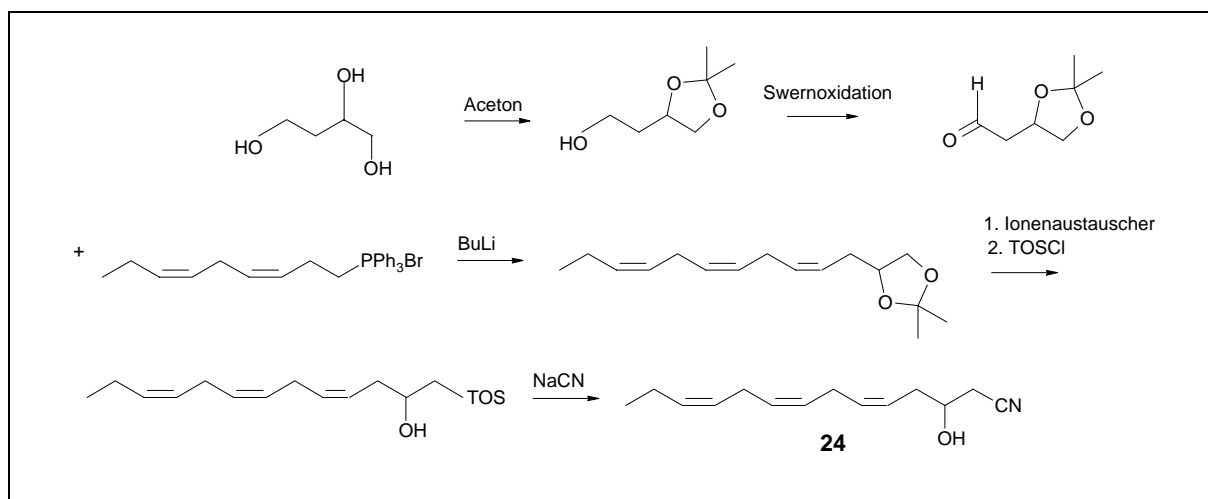


Abbildung 29 Synthese von racemischen (5Z,8Z,11Z)-3-Hydroxytetradeca-5,8,11-triensäurenitril (24)

Zur Synthese des (5Z,8Z,11Z)-3-Hydroxytetradeca-5,8,11-triensäurenitrils, wurde optisch inaktives 1,2,4-Butantriol mit Aceton zu 4-(2-Hydroxyethyl)-2,2-dimethyl-1,3-

dioxolan umgesetzt [90]. Bei dieser Reaktion entstand fast ausschließlich der Fünfring. Die in geringen Maße gebildete 1,4-geschützte Verbindung, die sich leicht anhand ihres Massenspektrums identifizieren ließ, wurde nicht weiter abgetrennt.

Anschließend wurde die freie Alkoholgruppe durch Swernoxidation mit Oxalylchlorid und DMSO zum Aldehyd oxidiert. Dann wurde der Aldehyd in einer Wittigreaktion mit Nonadienyltriphenylphosphoniumbromid umgesetzt. Das Wittigsalz stand in der Arbeitsgruppe zur Verfügung und konnte als Ausgangssubstanz eingesetzt werden. Eine ausführliche Beschreibung der Darstellung dieser Verbindung findet sich bei Plaß [92].

Das Tetradecatriendiol wurde deblockiert und die primäre Alkoholgruppe tosyliert. Die Substitution der Tosylatgruppe durch Natriumcyanid führte im Anschluss zum gewünschten Produkt.

Eine andere Hauptkomponenten der Weibchenextrakte aus der Gruppe der 3-Hydroxysäureamide bildete (*Z*)-3-Hydroxydodec-5-ensäureamid (**60**). Die Lage der Doppelbindung konnte anhand der Massenspektren der Dimethyldisulfid-Derivate ermittelt werden. Diese Verbindung wurde bisher in der Literatur noch nicht beschrieben.

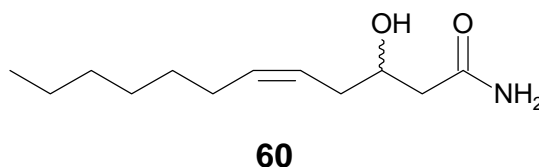


Abbildung 30 Struktur von *rac.*-(*Z*)-3-Hydroxydodec-5-ensäureamid

Zunächst lieferte die Umsetzung der Naturextrakte mit Dimethyldisulfid keine meßbaren Additionsprodukte, erst nach der Acetylierung und Dehydratisierung der Naturextrakte, konnte das 5,6-Dithiomethyl-3-acetyldodecansäurenitril (**61**) detektiert werden. Die mit Iod katalysierte Addition von Dimethyldisulfid an eine Doppelbindung, ist als *anti*-stereospezifisch beschrieben [93]. Da in den Naturextrakten das (*E*)- und das (*Z*)-Isomer vorlagen und die Verbindung ein drittes Stereozentrum am dritten Kohlenstoff mit der Acetoxygruppe besitzt, waren 4 Diastereomere zu erwartenden. An einer DB-1-Phase konnten zwei Diastereomere gaschromatographisch bis zur Grundlinie getrennt werden, die anderen waren als Schulter in den Signalen der beiden erst genannten Substanzen zuerkennen. In Abbildung 31 ist das Massenspektrum von 5,6-Dithiomethyl-3-acetyldodecansäurenitril (**61**) wiedergegeben.

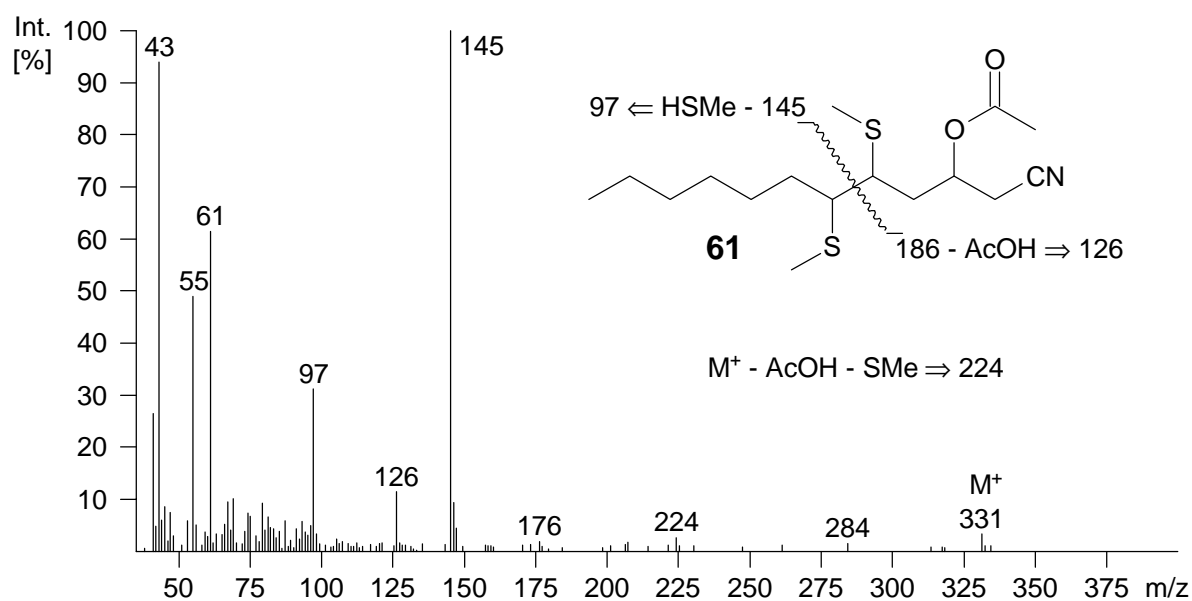


Abbildung 31 Massenspektrum von 5,6-Dithiomethyl-3-acetoxydodecansäurenitril (**61**)

Für die Massenspektren von Dimethyldisulfid-Derivaten ungesättigter Verbindungen ist die Abspaltung von Thiomethylgruppen charakteristisch. Auf diese Weise entsteht auch im Massenspektrum von 5,6-Dithiomethyl-3-acetoxydodecansäurenitril (**61**) das Fragment m/z 224 aus dem Molekülion (m/z 331) nach Abspaltung von Essigsäure und einer Thiomethylgruppe. Der Basepeak m/z 145 bildet sich in Folge einer α -Spaltung zwischen den beiden Kohlenstoffen, die die Thiomethylsubstituenten tragen. Diese Spaltung ist typisch für Dimethyldisulfid Additionsverbindungen [93]. Aus dem Ion m/z 145 kann durch die Eliminierung von Methylsulfid das Fragment m/z 97 entstehen. Das Fragment m/z 126 lässt sich durch die Eliminierung von Essigsäure aus dem zweiten Produkt der α -Spaltung zwischen den beiden Kohlenstoffen mit den Thiomethylsubstituenten m/z 186 erklären.

Die Acetylgruppe tritt außerdem durch das sehr intensive Acylium m/z 43 in Erscheinung. Das Fragment m/z 61 ist sowohl für Acetate als auch für Dimethyldisulfid-Derivate charakteristisch. In den Spektren der 3-Acetyldodecansäurenitrile ist das Ion der protonierten Essigsäure (m/z 61) jedoch deutlich weniger intensiv, so dass man davon ausgehen kann, dass es in diesem Spektrum in erster Linie von einem schwefelhaltigen Fragment ($\cdot\text{CH}_2\text{SCH}_3$) gebildet wird.

Bestimmung der absoluten Konfiguration von 3-Hydroxycarbonsäureamiden

Es konnte gezeigt werden, dass 3-Hydroxydecan- (**17**), -dodecan- und -tetradecatriensäureamid (**18**) als (S)-Enantiomer in den Naturproben vorliegen.

Von der 3-Hydroxyoctan- und der 3-Hydroxydecansäure, die ebenfalls in geringen Mengen in den Naturextrakten nachgewiesen werden konnten, wurden nur die (S)-Enantiomere identifiziert.

Die Bestimmung der absoluten Konfiguration gelang über gaschromatographische Trennung an chiralen Cyclodextrinphasen und den Vergleich der Massenspektren sowie der Coinjektion mit synthetischen Referenzsubstanzen.

Mit Hilfe eines Osmiumtetroxid-Katalysators mit chiralen Liganden konnte das (S)-3-Hydroxydecansäureamid stereoselektiv synthetisiert werden (Abbildung 32) [94]. Zunächst wurde nur die Stereochemie der Hauptkomponente, des (S)-3-Hydroxydecansäureamids (**17B**), aufgeklärt.

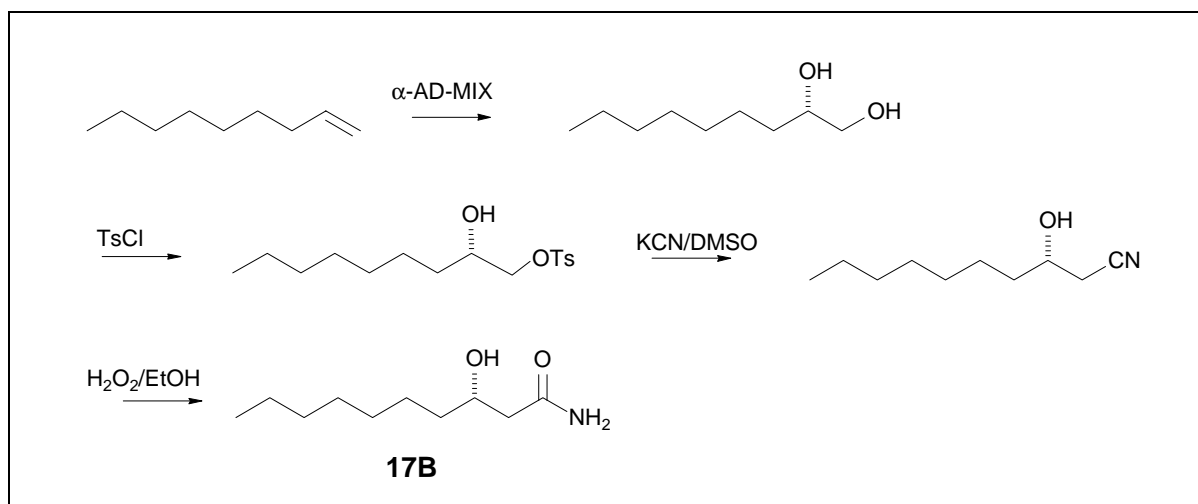


Abbildung 32 Stereoselektive Synthese von (S)-3-Hydroxydecansäureamid (17B)

Da sich das freie Hydroxysäureamid und die Silylderivate auf keiner der zur Verfügung stehenden chiralen Säulen trennen ließen, wurden das racemische und das (S)-3-Hydroxysäureamid an der Hydroxygruppe acetyliert. Die Enantiomere konnten dann mit Hilfe einer Heptakis-O-(6-TBDMS-2,3-methyl)- β -cyclodextrin-Phase getrennt werden. Es ließ sich zeigen, dass in der Naturprobe nur das (S)-Enantiomer des 3-Hydroxydecansäureamids vorlag (Abbildung 33).

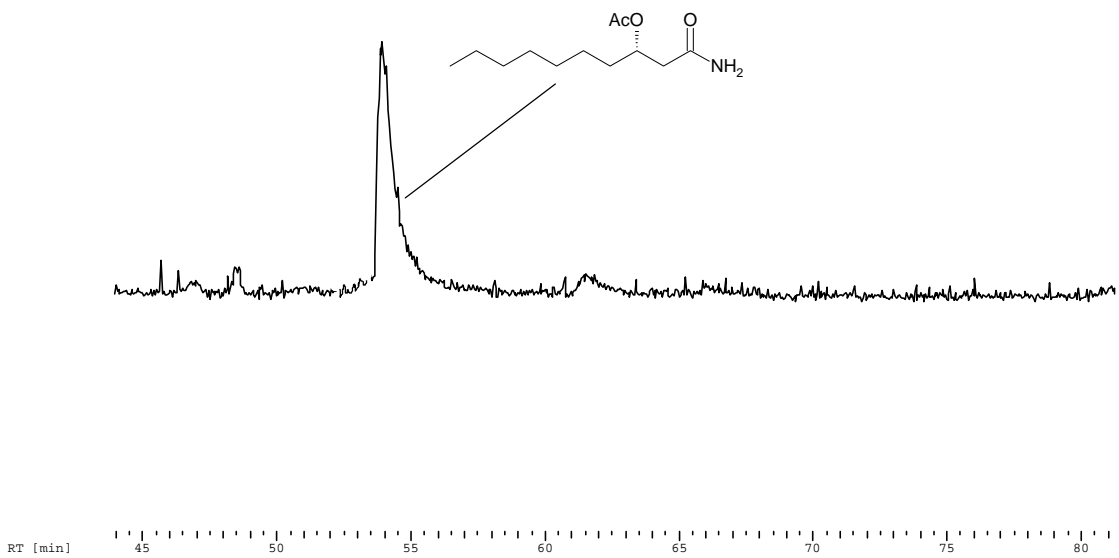
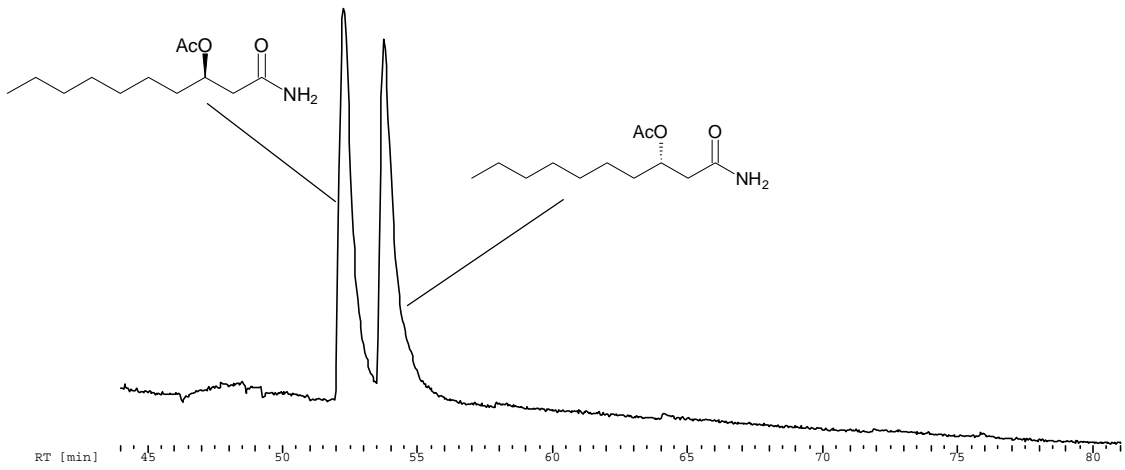
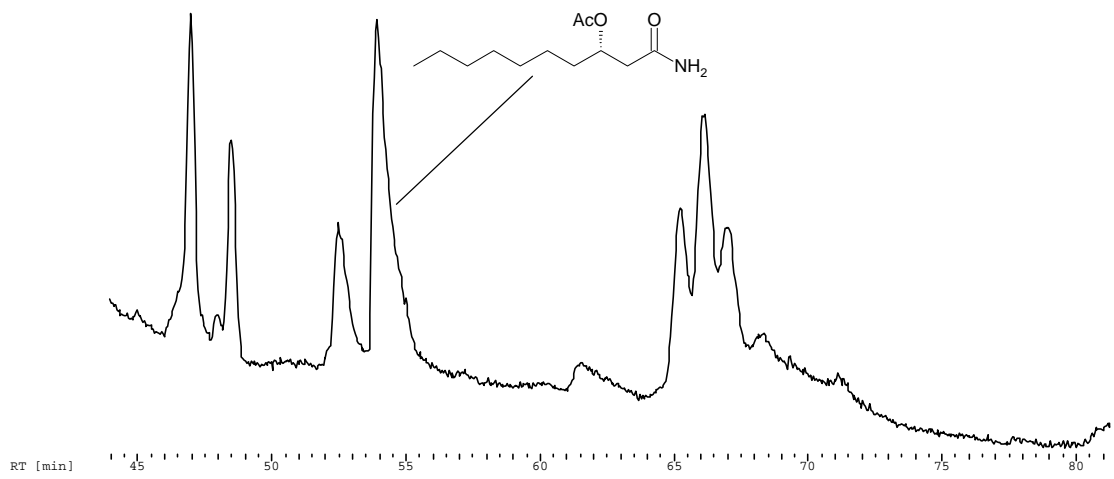


Abbildung 33 Chromatogramme der Naturprobe, des racemischen 3-Hydroxydecanensäureamids und des (S)-3-Hydroxydecanensäureamids

Die Konfiguration der geringer konzentrierten 3-Hydroxysäureamide konnte auf diese Weise nicht bestimmt werden. Erst die Umsetzung zu den acetylierten Hydroxysäurenitrilen ermöglichte es, auch die Stereochemie des (S)-(5Z,8Z,11Z)-3-Hydroxytetradeca-5,8,11-triensäureamids aufzuklären. Die acetylierten Hydroxysäurenitrile zeigten die beste Auftrennung der Enantiomere durch chirale Säulen. Sie wurden wie die acetylierten Verbindungen mit einer Heptakis-O-(6-TBDMS-2,3-methyl)- β -cyclodextrin-Phase getrennt. Die Enantiomere der acetylierten Säurenitrile eluierten von der chiralen Phase sogar mit über einer Minute Differenz (Abbildung 35).

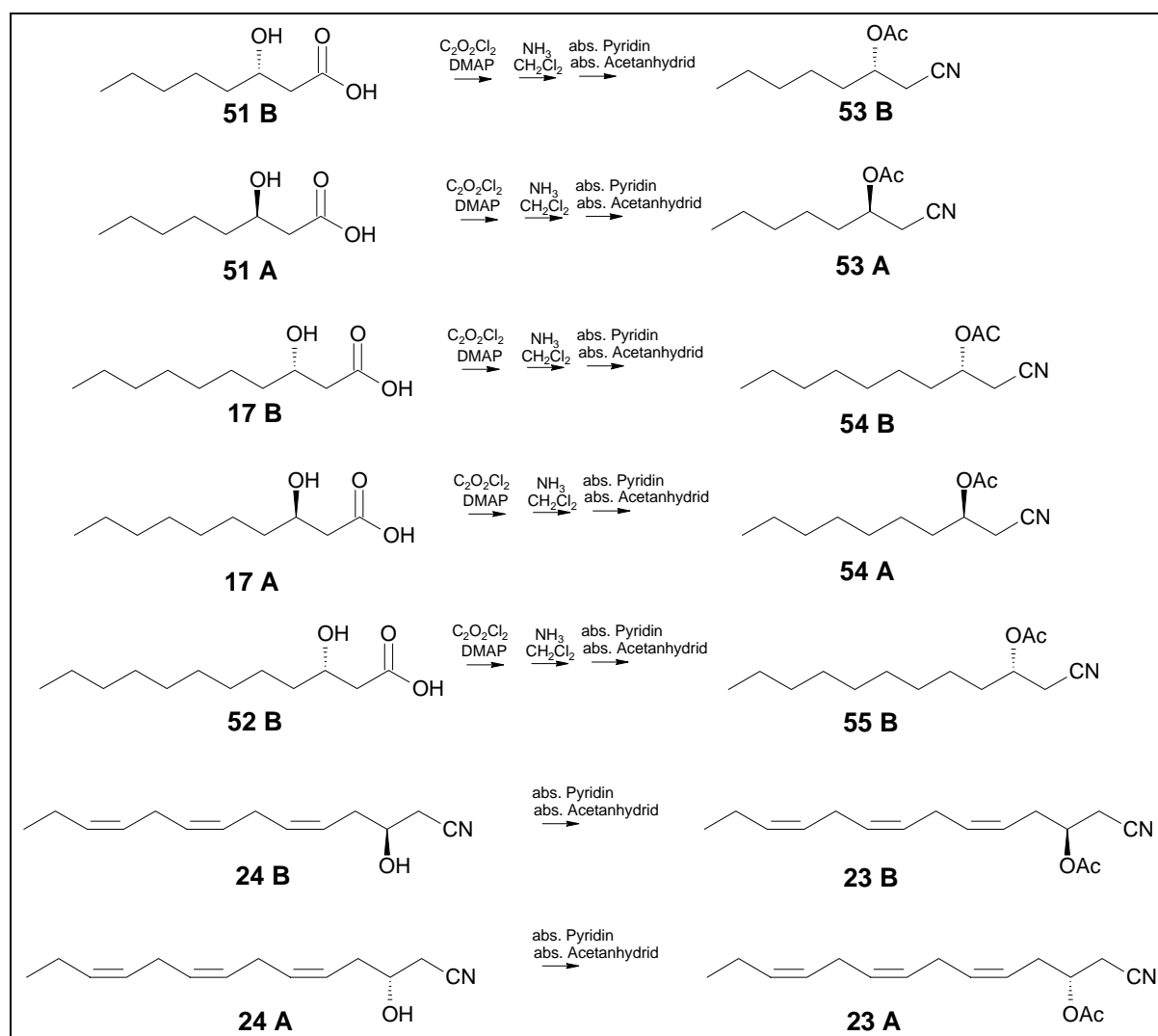


Abbildung 34 Synthese von (S)- und (R)-3-Acetoxyoctansäurenitril (53 B/53A), (S)- und (R)-3-Acetoxydecansäurenitril (54B/54A), (S)-3-Acetoxadodecansäurenitril (55B) und (S)- und (R)-3-Acetoxy-(5Z,8Z,11Z)-tetradeca-5,8,11-triensäurenitril (23B/23A)

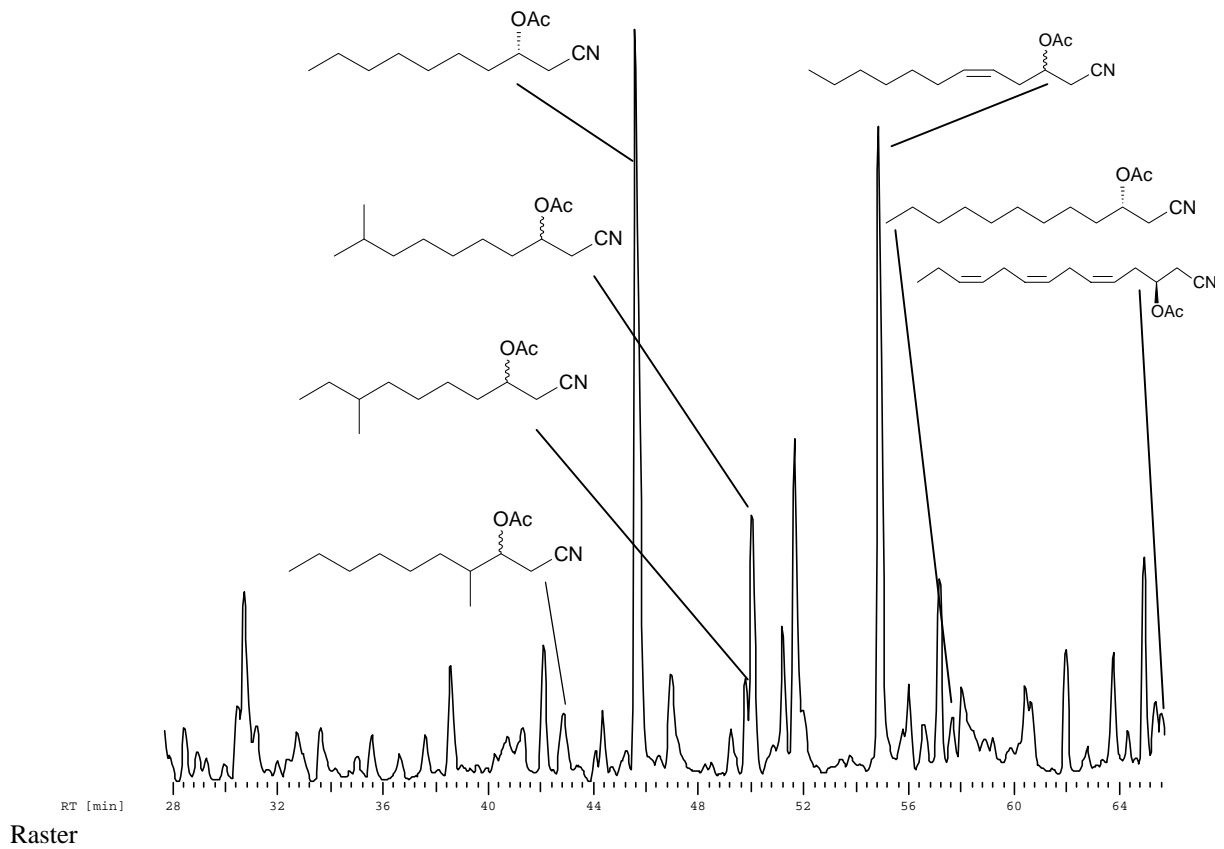
Zum Vergleich mit der Naturprobe wurde ein Raster aus *rac.*-3-Acetoxyoctansäurenitril (**53A/B**), (R)- und (S)-3-Acetoxadecansäurenitril (**54A/B**), (S)-3-Acetoxydodecan-

säurenitril (**55B**) und *rac.*-3-Acetoxy-(5Z,8Z,11Z)-tetradeca-5,8,11-triensäurenitril (**23A/B**) zusammengestellt. Bis auf die ungesättigten Verbindungen wurden alle Verbindungen aus den 3-Hydroxysäuren dargestellt. Eine Beschreibung der Darstellung der 3-Hydroxysäuren befindet sich bei Tagizadeh [95].

Die Säuren wurden zunächst zu den Säurechloriden und dann mit Ammoniak zu den Amidien umgesetzt. Die Amide wurden dann mit abs. Pyridin und abs. Acetanhydrid zu den acetylierten Nitrilen derivatisiert. Die Umsetzung ist in Abbildung 24 wiedergegeben.

Abbildung 35 zeigt die Chromatogramme der derivatisierten Naturprobe und des synthetischen Rasters.

♀ juvenil, SPE Methanol, acetyliert und dehydratisiert, Chirale Phase



Raster

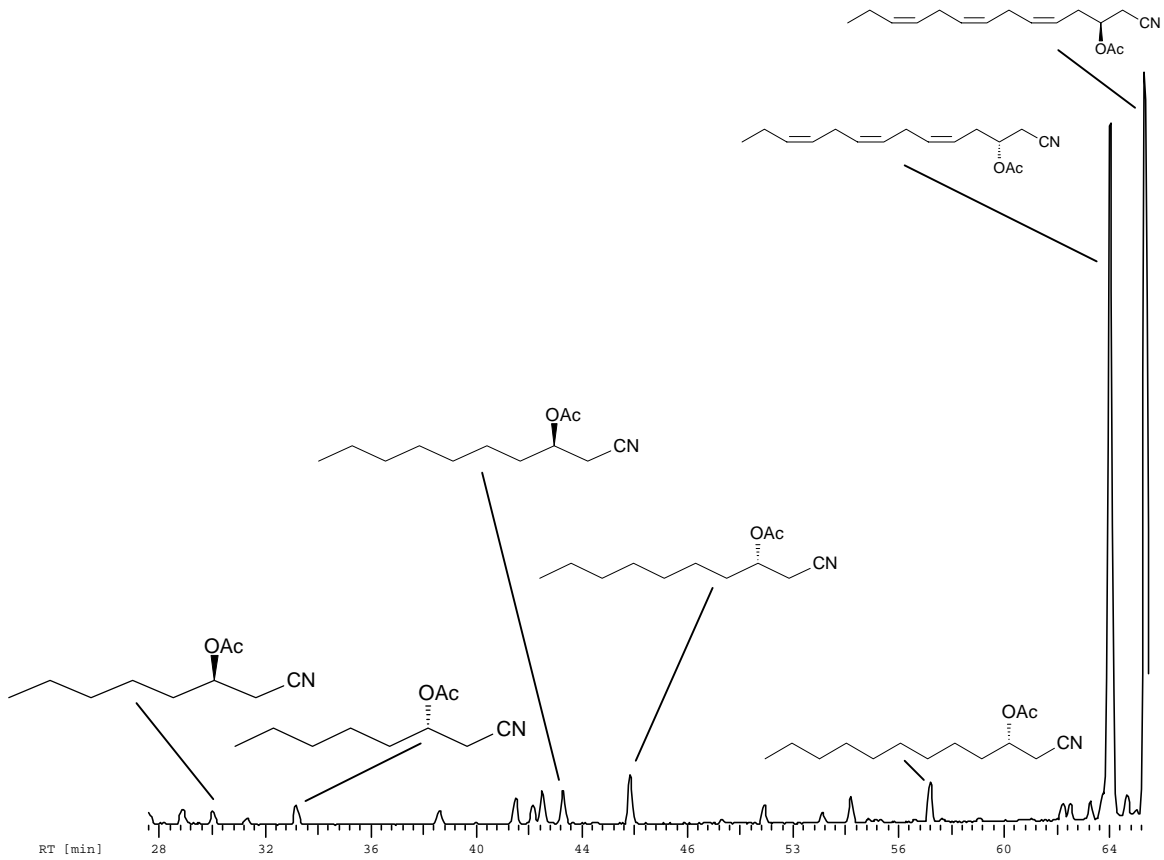


Abbildung 35 Chromatogramme der derivatisierten Naturprobe und Raster der synthetisierten Verbindungen

5.3.2 Amide

Die Amide gehören, wie die Hydroxysäureamide zu einer der Hauptverbindungsklassen, die in den Extrakten gefunden wurden. Sie werden im Gegensatz zu Fettsäureestern und Terpenen eher selten als Naturstoffe beschrieben.

In den Extrakten von *Crangon crangon* dominieren die Verbindungen mit mittleren Kettenlängen, wie z.B. Decansäureamid und (E)-2-Decensäureamid (**25**). Es kommen wie bei den Hydroxysäureamiden methylverzweigte und ungesättigte Verbindungen vor (siehe Tabelle 3). Bei den methylverzweigten Verbindung sind Verzweigungen in der *iso*- oder *anteiso*-Position am häufigsten. Das α -methylverzweigte 2-Methylheptansäureamid (**26**) kommt nur in reifen Weibchen vor.

Zur Identifizierung der verschiedenen Säureamide wurden die korrespondierenden Carbonsäuren in die Carbonsäurechloride überführt und dann mit Ammoniak zu den Säureamiden umgesetzt.

Die Synthese ist in Abbildung 36 am Beispiel des (E)-2-Decensäureamids (**25**) dargestellt. Bei einigen Umsetzungen der Säurechloride mit Ammoniak wurde die Bildung eines Nebenproduktes festgestellt, dass als Carbonsäurenitril identifiziert werden konnte. Bei der Verwendung trockenen Dichlormethans und ohne Kühlung des Reaktionsansatzes konnte das Nitril sogar als Hauptprodukt gewonnen werden.

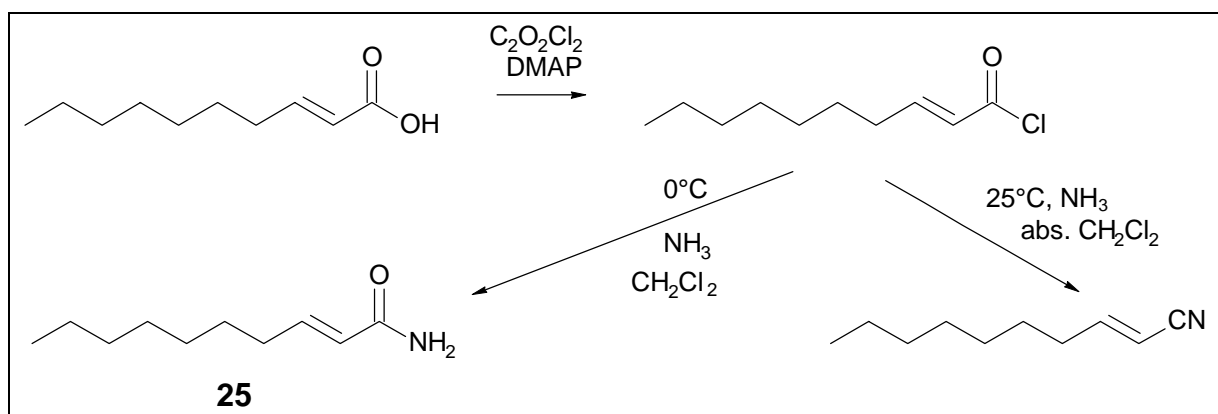


Abbildung 36 Synthese von (E)-2-Decensäureamid (**25**)

Die 2-Alkensäureamide zeichnen sich durch ein charakteristisches Massenspektrum und relativ späte Retentionszeiten aufgrund der konjugierten Doppelbindung aus. So eluiert das (E)-2-Decensäureamid (**25**) an einer unpolaren Phase zwischen dem Decensäureamid und dem Undecensäureamid, während die anderen ungesättigten Decensäureamide, zwischen dem Nonensäureamid und dem Decensäureamid eluieren. Das Massenspektrum des (E)-2-Decensäureamids (**25**) ist in Abbildung 37 wiedergegeben.

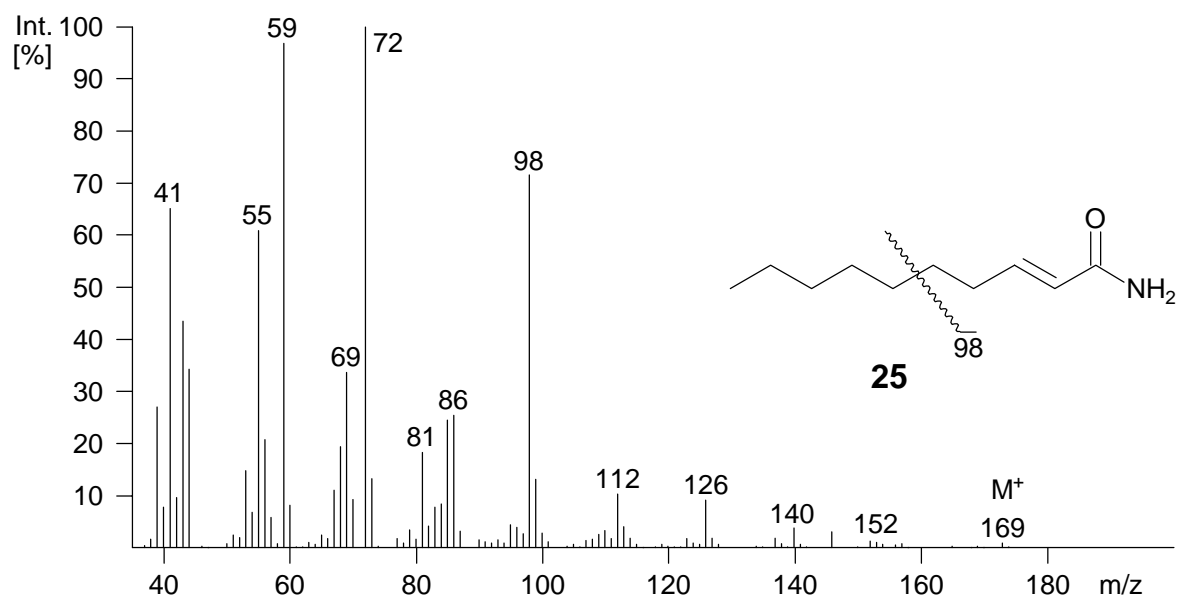


Abbildung 37 Massenspektrum von (E)-2-Decensäureamid (**25**)

Trotz der Doppelbindung in der α -Position zeigt das des Massenspektrums von **25** das für Carbonsäureamide charakteristische Fragment m/z 59 aus der McLafferty-Umlagerung an der Carbonylgruppe als Basepeak. Ebenso enthält es das für Säureamide charakteristische Fragment der Spaltung am β -Kohlenstoff m/z 72. Voraussetzung für die Entstehung dieser Fragmente ist die Umlagerung der Doppelbindung. Das Ion m/z 98 ist bei den 2-Alkensäureamiden besonders intensiv. Die 3- und 5-Alkensäureamide, die ebenfalls im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert wurden, bilden dieses Fragment mit Intensitäten, die zwischen 10 und 30 % liegen. Die bevorzugte Bildung von m/z 98 lässt sich durch die in Abbildung 38 gezeigte Fragmentierung erklären.

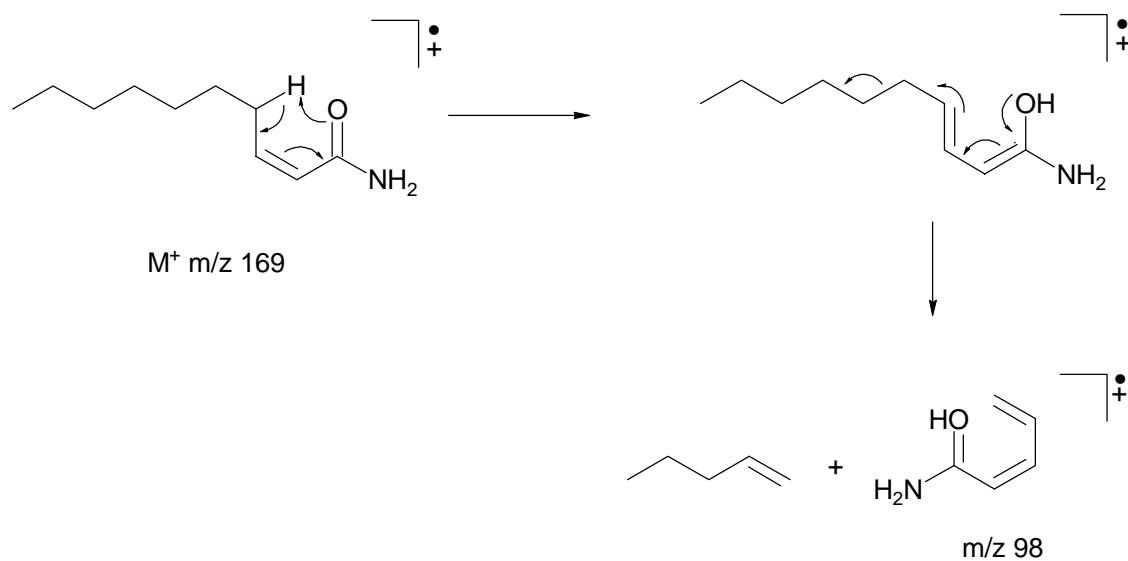


Abbildung 38 Fragmentierungsschema des (E)-2-Decensäureamids. Die hier und später aufgeführten Strukturen von Ionen sind hypothetisch und dienen zur Verdeutlichung von Zerfallsmechanismen

Voraussetzung für diese Fragmentierung ist die Isomerisierung der konjugierten Doppelbindung. Es folgt eine McLafferty-Umlagerung an der Carbonylgruppe unter Einbeziehung der Doppelbindung. Anschließend erfolgt eine weitere Umlagerung ausgehend vom freien Elektronenpaar am Sauerstoff, die zu dem Fragment m/z 98 führt.

Im Vergleich zu dem Massenspektrum des (E)-2-Decensäureamids (**25**) enthält das Spektrum des 2-Methylheptadecensäureamids (**26**) statt der Fragmente m/z 59 und m/z 72 die homologen Ionen m/z 73 und m/z 86, die sich auch aus einer β -Spaltung und einer McLafferty-Umlagerung bilden, aber durch die Methylverzweigung um eine CH_2 -Gruppe schwerer sind. Das Massenspektrum ist in Abbildung 39 dargestellt.

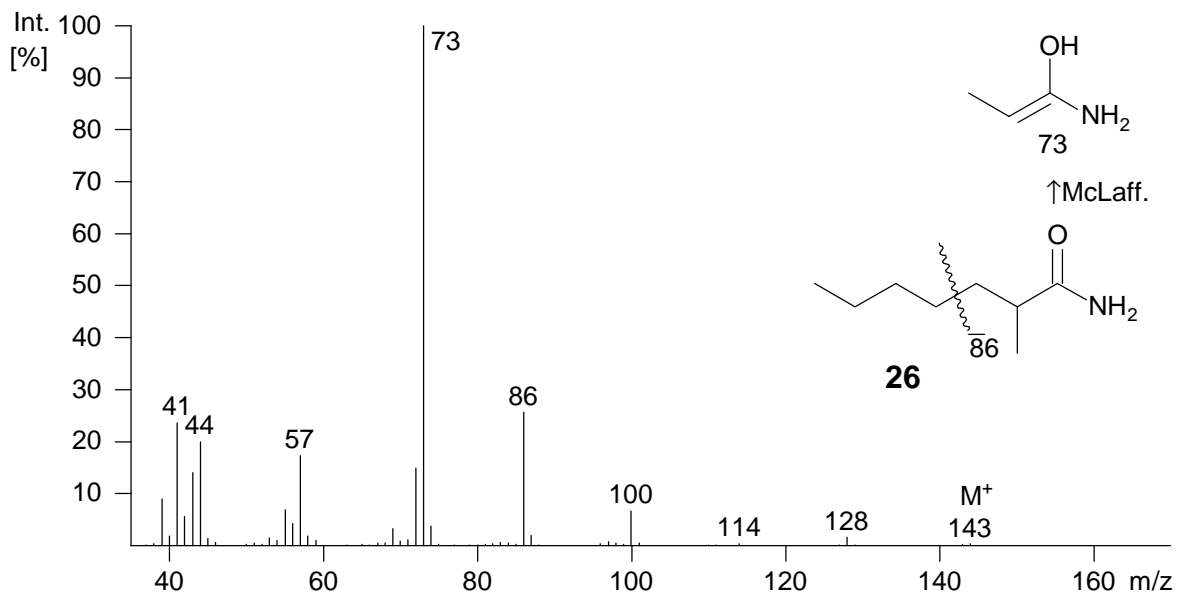


Abbildung 39 Massenspektrum von 2-Methylheptansäureamid (26)

Um das 2-Methylheptansäureamid **26** darzustellen, wurde 2-Bromheptan in einer Grignardreaktion mit Kohlendioxid umgesetzt. Aus der resultierenden 2-Methylheptansäure wurde das Säurechlorid hergestellt und im Anschluss mit Ammoniak umgesetzt. Die Stereochemie an der Methylverzweigung konnte aufgrund der geringen Konzentration dieser Verbindung in der Naturprobe und der schlechten Trennbarkeit der Enantiomere an den zur Verfügung stehenden chiralen Säulen nicht aufgeklärt werden. Die Synthese des Racemats ist in Abbildung 40 dargestellt.

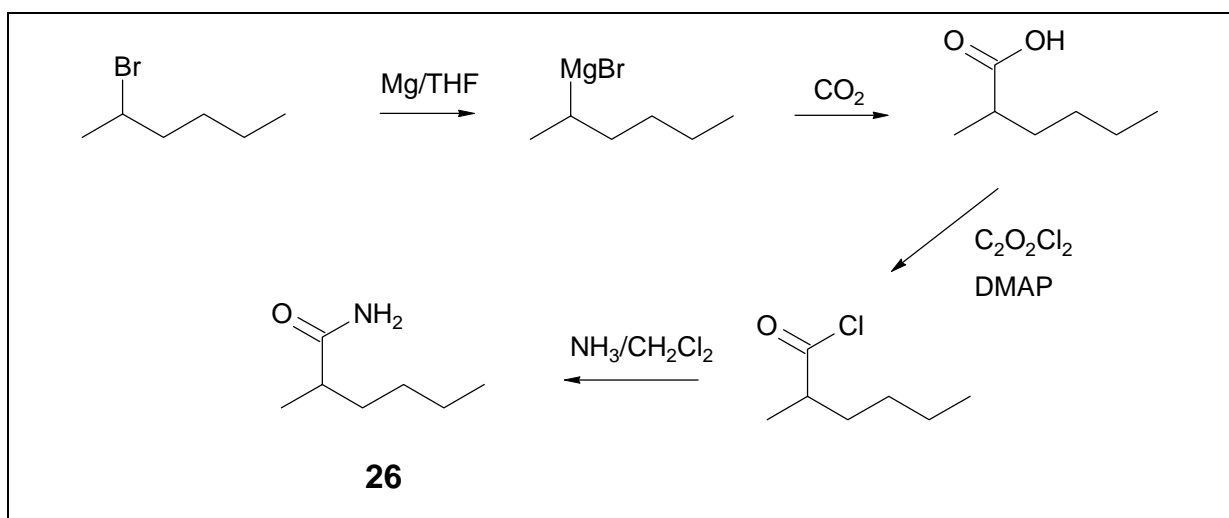


Abbildung 40 Synthese von racemischem 2-Methylheptansäureamid 26

5.3.3 Ungesättigte Carbonylverbindungen

Im Abschnitt Hydroxysäureamide wurde bereits beschrieben, dass eine ganze Reihe von Tetradeccatrienverbindungen mit Doppelbindungen an der 5-, 8- und 11-Position in der Kohlenstoffkette in den Extrakten vorkommen. Das (5Z,8Z,11E)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on (**27**) und das (5Z,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on (**28**) gehören in den reifen und juvenilen Weibchen mit zu den Hauptkomponenten. Bei den Männchen hingegen findet man diese Verbindungen nur in Spuren. Es fällt auf, dass bei den attraktiven Weibchen die Konzentration der beiden Verbindungen eher gering ist. Das Verhältnis zwischen der (5Z)- und der (5E)-Verbindung bei unattraktiven Weibchen beträgt etwa 1:0,9, bei attraktiven Weibchen nur 1:0,6.

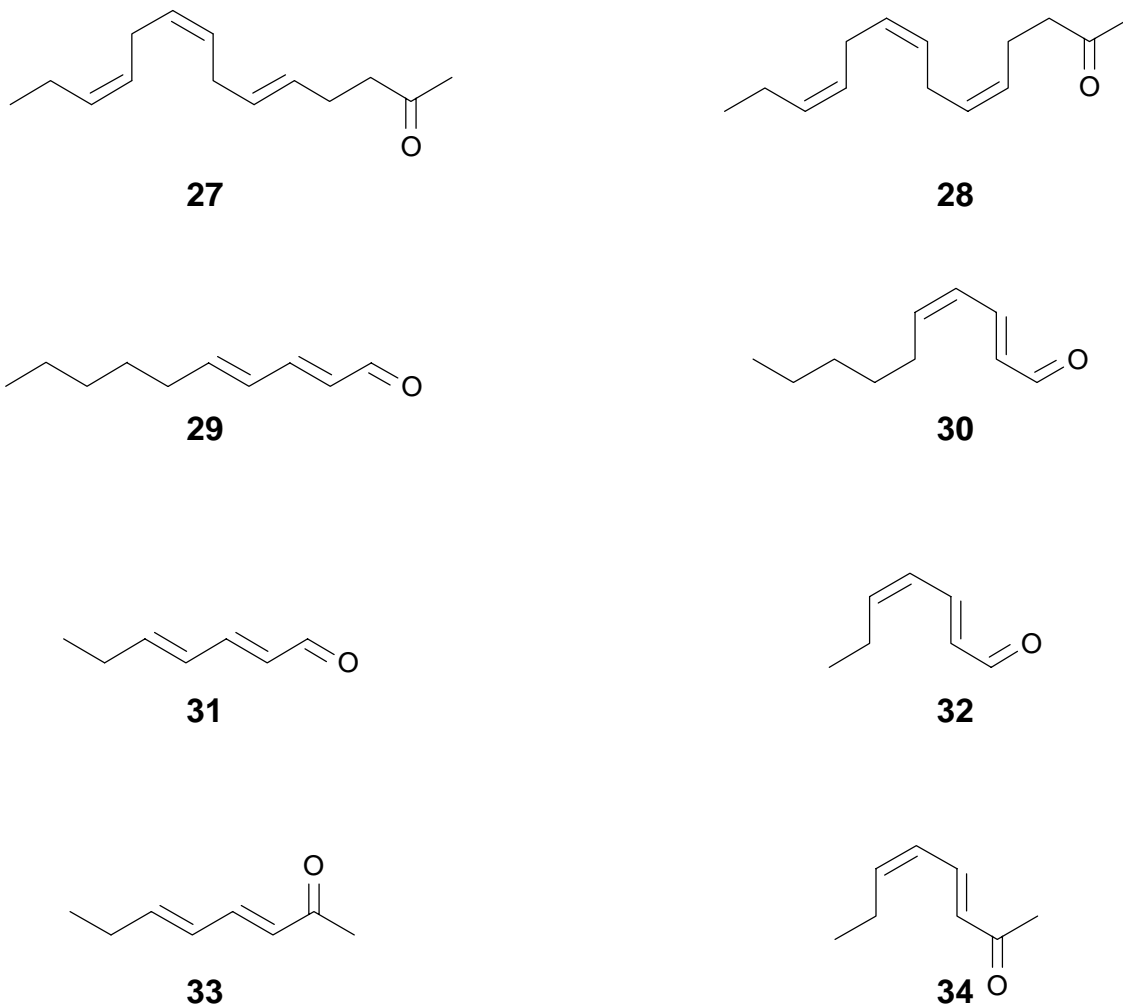


Abbildung 41 Strukturen ungesättigter Ketone und Aldehyde in *Crangon crangon*

In den Extrakten attraktiver Weibchen wurden ungesättigte Carbonylverbindungen gefunden, die sonst in keinem der Extrakte vorkommen, das (2E,4E)- und das (2E,4Z)-2,4-Decadienal (**29**), (**30**), so wie ein Decatrienal und ein Undecatrienon, dessen Struktur nicht abschließend geklärt werden konnte, die aber wie das Decadienal vermutlich konjugierte Doppelbindungen besitzen.

Das (2E,4Z)- und das (2E,4E)-2,4-Heptadienal (**31**), (**32**) sowie das (3E,5Z)-3,5-Octadien-2-on und das (3E,5E)-3,5-Octadien-2-on (**33**), (**34**) wurde nur in Extrakten von reifen Weibchen gefunden, nicht aber in denen von Männchen und juvenilen Weibchen. Ihre Massenspektren sind im Anhang abgebildet.

Die ungesättigten Aldehyde waren käuflich erhältlich. Die Ketone wurden synthetisiert. Die Synthesen und Massenspektren von (5Z,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on (**28**) und (3E,5E)-3,5-Octadien-2-on (**33**) sind in Abbildung 42, Abbildung 43 und Abbildung 44 dargestellt.

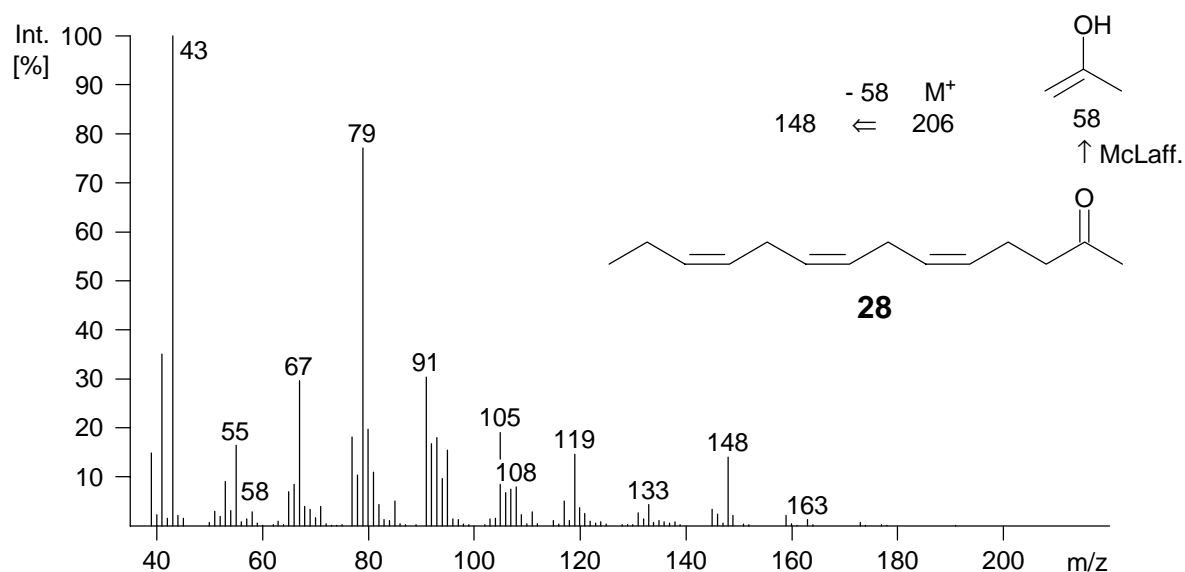


Abbildung 42 Massenspektrum des (5Z,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on (**28**)

Das Massenspektrum zeigt mit geringer Intensität das Produkt aus einer McLafferty-Umlagerung mit der Masse m/z 58 und als Basepeak das Produkt der α -Spaltung ebenfalls an der Carbonylgruppe mit der Masse m/z 43. Des weiteren zeigt das Massenspektrum des Tetradecatrienons **28** als charakteristisches Fragment das Ion m/z 148, das auf den Verlust der Masse 58 aus dem Molekülion zurückzuführen ist. Das (5Z,8Z)-Tetradeca-5,8-dien-2-on zeigt

die gleiche Fragmentierung. Sie führt bei dem Spektrum des Dienons zu dem Fragment m/z 150.

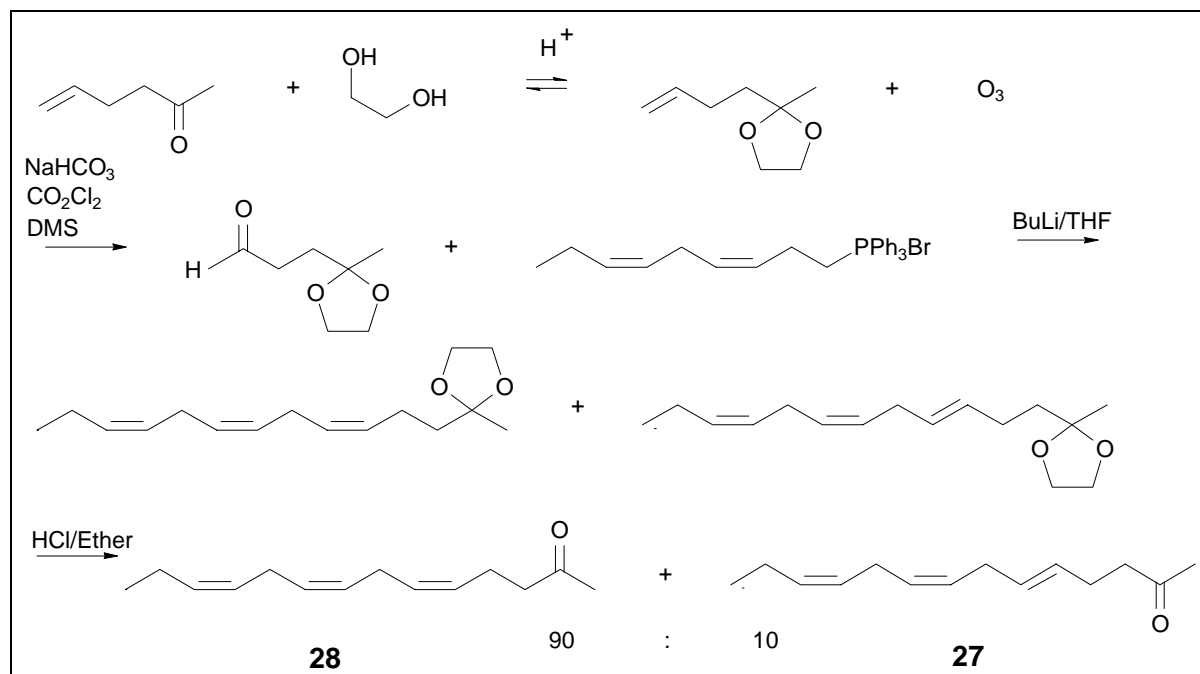


Abbildung 43 Synthese von (5Z,8Z,11Z)- und (5E,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on (28) und (27)

Als Ausgangssubstanz für die Synthese des (5Z,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-ons (28) diene 5-Hexen-2-on. Zuerst wurde die Carbonylfunktion mit Ethandiol geschützt und anschließend die Doppelbindung ozonolytisch gespalten. Die reduktive Aufarbeitung des Ozonolyseansatzes führte zum Aldehyd der geschützten Verbindung. Der Aldehyd wurde durch eine Wittigreaktion mit Nonadienyltriphenylphosphoniumbromid umgesetzt. In der letzten Stufe erfolgte die Abspaltung der Schutzgruppe.

Da bei der Wittigkupplung mit Natriumbis(trimethylsilyl)äureamid fast ausschließlich das (5Z,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on (28) entstand, wurde die Kupplung noch einmal mit Butyllithium durchgeführt, bei der eine für die Identifizierung ausreichende Menge des (5E,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-ons (27) gewonnen werden konnte.

Das in der oben dargestellten Synthese verwendete Wittigsalz (3Z,6Z)-3,6-Nonadienyltriphenylphosphoniumbromid stand in der Arbeitsgruppe zur Verfügung und konnte deswegen als Ausgangssubstanz eingesetzt werden [87].

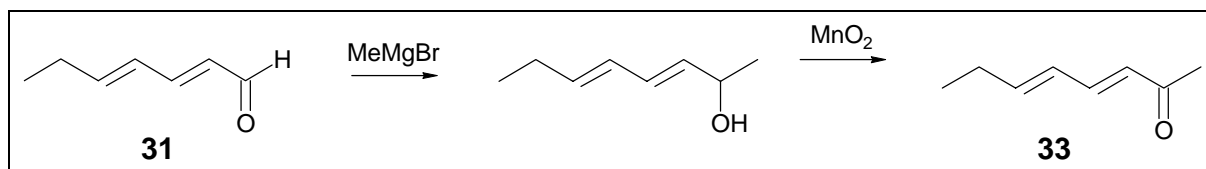


Abbildung 44 Synthese von (3E,5E)-3,5-Octadien-2-on (33)

Für die Darstellung von (3E,5E)-3,5-Octadien-2-on (**33**) wurde zunächst (2E,4E)-2,4-Heptadienal (**31**) mit Methylmagnesiumbromid um ein Kohlenstoff verlängert. Anschließend wurde die Alkoholgruppe mit Braunstein zur Carbonylverbindung oxidiert. In geringen Mengen wurde auch das (3E,5Z)-3,5-Octadien-2-on (**33**) erhalten, da die Ausgangssubstanz nicht vollständig isomerenrein war. Dies ermöglichte zusätzlich die Identifizierung des (E,Z)-Isomers in den Naturproben.

5.3.4 Makrozyklische Lactone

In den Extrakten von Weibchen vor der Reifehäutung mit vollausgereiften Ovarien wurde eine Reihe makrozyklischer Lactone gefunden, deren Strukturen bisher noch nicht beschrieben worden sind. Es handelt sich um das 9- sowie 10-Hexadecanolid* (**35**), (**36**) und das 9- sowie 10-Octadecanolid* (**37**), (**38**).

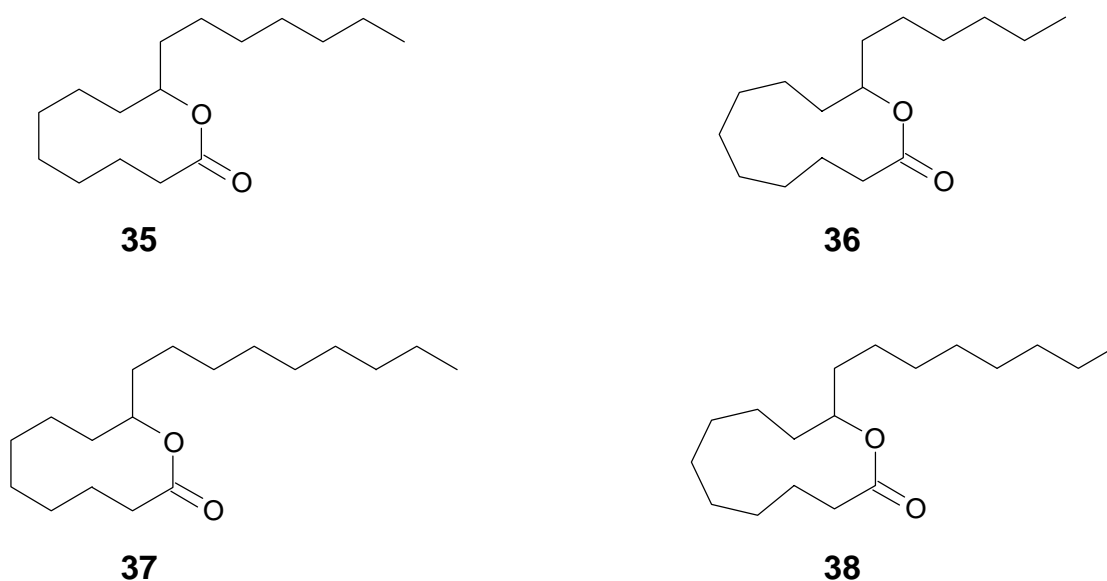


Abbildung 45 Strukturen der makrozyklischen Lactone aus *Crangon crangon*

Die Massenspektren dieser Lactone zeigen charakteristische Fragmente für die unterschiedlichen Ringgrößen. In Abbildung 46 und Abbildung 47 sind die Massenspektren des 9- und des 10-Octadecanolids (**37**), (**38**) dargestellt

*Die Nomenklatur der makrozyklischen Lactone erfolgte nach der in der Literatur üblichen Bezeichnung dieser Verbindungen, die das Strukturelement der Lactongruppe in den Vordergrund stellt. Die JUPAC-Namen sind entsprechend: 10-Heptyloxenan-2-on (**35**), 11-Hexyloxacycloundecan-2-on (**36**), 10-Nonyloxenan-2-on (**37**) und 11-Octyloxacycloundecan-2-on (**38**).

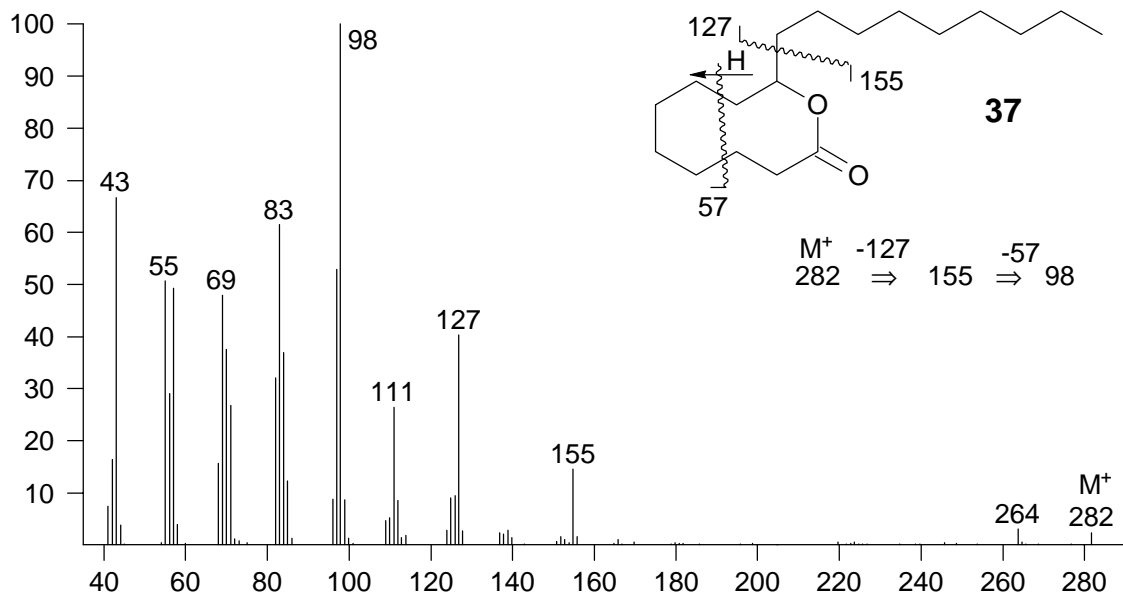


Abbildung 46 Massenspektrum von 9-Octadecanolid (37)

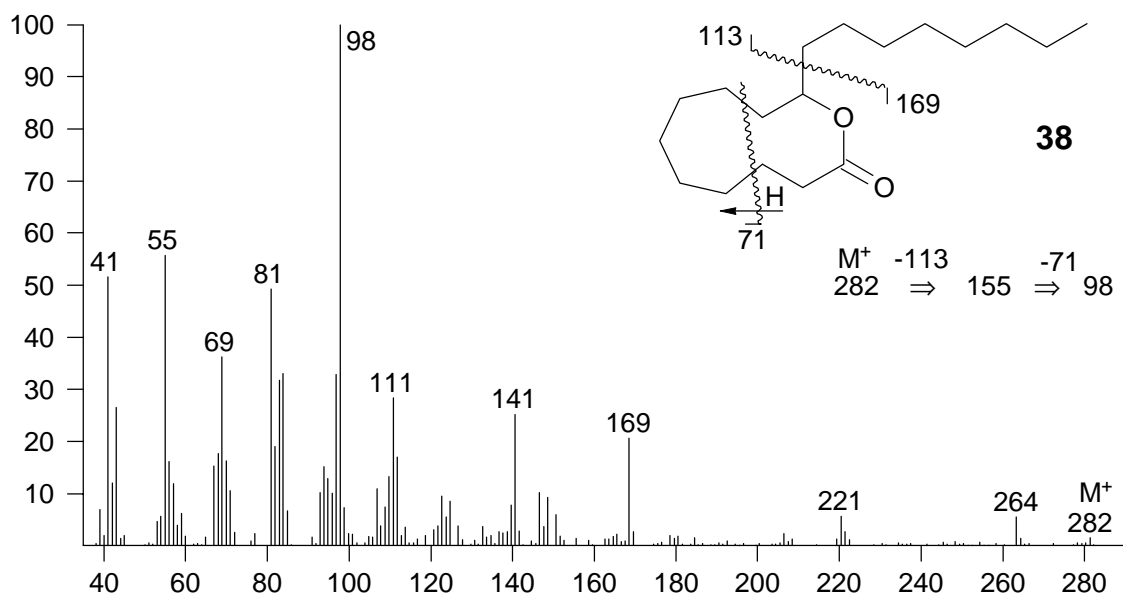


Abbildung 47 Massenspektrum von 10-Octadecanolid (38)

Beide Spektren zeigen die Abspaltung von Wasser aus dem Molekülion m/z 282, die zu dem Fragment m/z 264 führt.

Die Abspaltung der Seitenkette führt bei dem 9-Ring-Lacton (37) zu dem Fragment m/z 155 und bei dem 10-Ring-Lacton (38) zu der Masse m/z 169.

Beide Verbindungen zeigen als Basepeak m/z 98, dies Ion entsteht möglicherweise aus der Abspaltung der Seitenkette und einer Umlagerung des 10- bzw. 9-Rings zu einem Sechsring.

Synthese der makrocyclischen Lactone

Die Bildung von 10- bzw. 9-Ringlactonen ist thermodynamisch betrachtet eher ungünstig. Systematische Untersuchungen haben gezeigt, dass die säurekatalysierte Bildung von Lactonen aus Hydroxysäuren bei 8-11gliedrigen Ringen ein Minimum durchläuft [96]. Den Ringschluß der Hydroxysäure über eine aktivierte Schwefelbindung zum Carboxylkohlenstoff und Silberperchlorat herbei zu führen, ergibt laut Literatur im Vergleich mit der Umsetzung der Hydroxysäure mit 2-Chlor-1-methylpyridiniumiodid oder Triphenylphosphin und DEAD die besten Ausbeuten [97,98,99]. Sie führte auch bei der Darstellung der hier beschriebenen Verbindungen zu zufriedenstellenden Ergebnissen.

Der Syntheseweg für diese Verbindungen ist am Beispiel des 9-Octadecanolids (**37**) in Abbildung 48 aufgeführt.

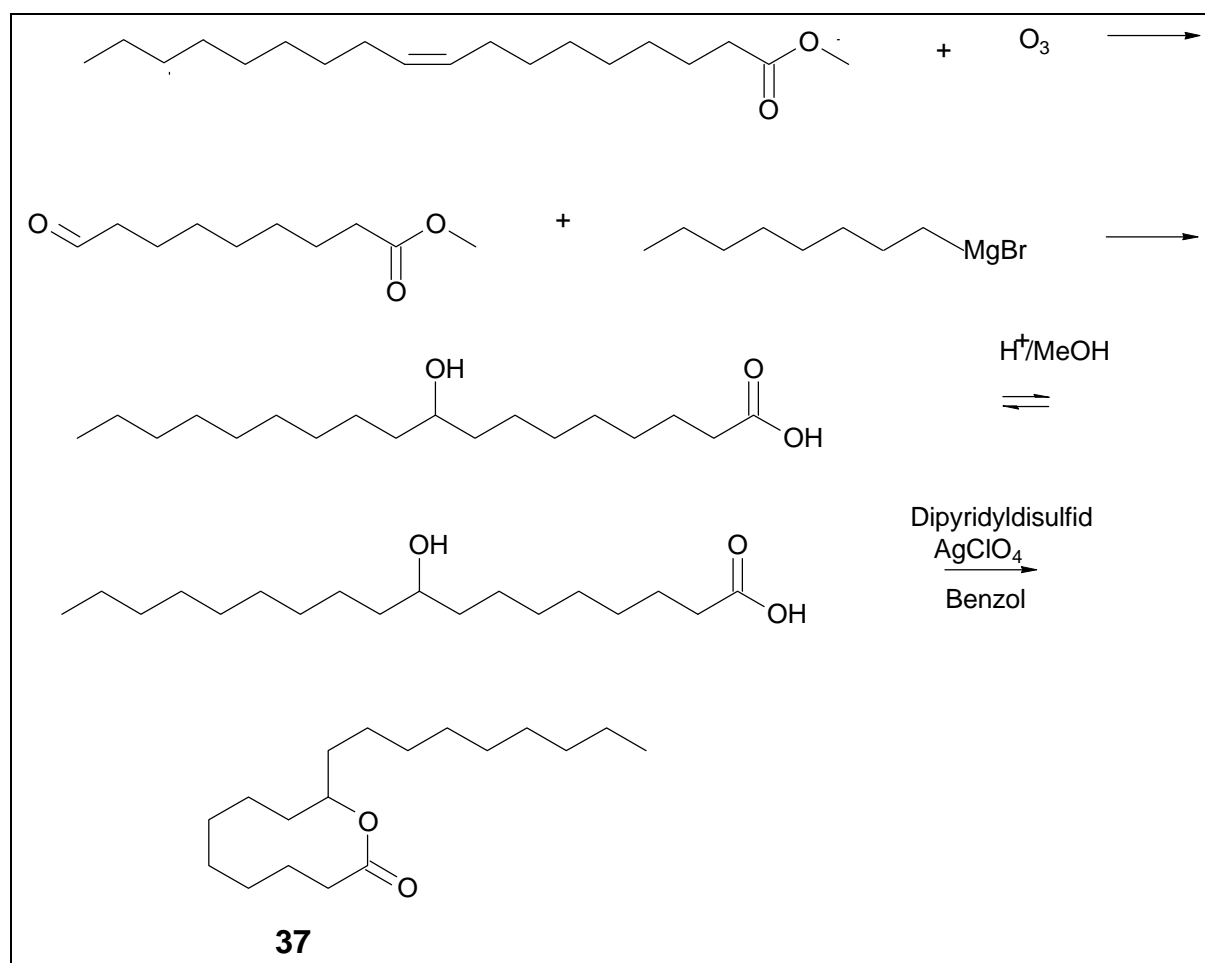


Abbildung 48 Synthese von racemischen 9-Octadecanolid (**37**)

Die Synthese des 9-Octadecanolids (**37**) geht von dem Ölsäuremethylester aus, der zum 8-Formyloctansäuremethylester ozonolysiert wurde. Die Synthese des 10-Octadecanolids geht vom Undec-10-ensäuremethylester aus und verläuft ansonsten wie die hier beschriebene Synthese.

Der Aldehyd wurde durch Grignardaddition mit Nonylmagnesiumbromid bzw. Decylmagnesiumbromid gekuppelt. Das so entstandene Methyl-9- bzw. -10-Hydroxy-octadecanoat wurde verseift und anschließend durch Aktivierung der Carboxylgruppe mit Dipyridyldisulfid zyklisiert.

Die Bestimmung der Stereochemie der Lactone gelang nicht, da diese Verbindungen in zu geringer Konzentration in den Extrakten vorlagen und bei der Gaschromatographie von anderen Substanzen überlagert wurden.

5.3.5 Diketopiperazine

Diketopiperazine sind Kondensationsprodukte zweier Aminosäuren. Die größte Vielfalt an diesen Verbindungen wiesen die Extrakte reifer ungehäuteter Weibchen auf. Hier konnten auch Diketopiperazine ohne Prolin nachgewiesen werden. Die Konzentration der gefundenen Diketopiperazine lag bei allen Extrakten im Spurenbereich. In den Extrakten von Männchen und juvenilen Weibchen konnten keine Diketopiperazine gefunden werden.

Wie bei der Untersuchung verschiedener Körpersektionen von *Crangon crangon* gezeigt werden konnte, wurde diese Verbindungsklasse fast ausschließlich in den Muskelextrakten gefunden und ist möglicherweise Abbauprodukte von Muskelproteinen (Ergebnisse siehe Ergebnisse aus der Untersuchung von Männchen und Weibchen in verschiedenen Entwicklungsstadien). Dass diese Verbindungen bei Männchen und juvenilen Weibchen nicht nachgewiesen werden konnte liegt möglicherweise daran, dass hier nicht genügend Muskelmaterial extrahiert wurde, so dass die Konzentration der Diketopiperazine unter der Nachweisgrenze lag.

In Abbildung 49 sind die Strukturen der gefundenen Diketopiperazine dargestellt. Abbildung 50 zeigt den Syntheseweg für L-Pro-L-Pro-Diketopiperazin (**41**) und L-Pro-L-Phe-Diketopiperazin (**44**). Die L-Pro-D,L-Ileu- (**43**), L-Pro-L-Ala- (**40**) und L-Pro-D,L-Val-Diketopiperazine (**39**) wurden auf die gleiche Weise wie das L-Pro-L-Phe-Diketopiperazin (**44**) dargestellt. Die Verbindungen L-Pro-L-Leu-Diketopiperazin, D-Pro-D-Leu, D-Pro-L-Leu- und L-Pro-D-Leu-Diketopiperazin (**42**) wurden von Herrn Dipl. Chem. Jens Fuhlendorff aus der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. S. Schulz in Braunschweig zu Verfügung gestellt.

Durch Vergleichsmessungen konnte gezeigt werden, dass nur ein Enantiomerenpaar, nämlich die L,L- oder D,D-Diketopiperazine in den Naturproben vorliegen. Die Enantiomere ließen sich auf den zur Verfügung stehenden chiralen Säulen nicht trennen. Die Konzentration der Diketopiperazine in den Naturproben war zu dem zu gering, um sie präparativ zu isolieren und anhand anderer Methoden die Stereochemie zu bestimmen.

Es ist aber davon auszugehen, dassw es sich hier um die Kombination der natürlich vorkommenden L-Aminosäuren handelt.

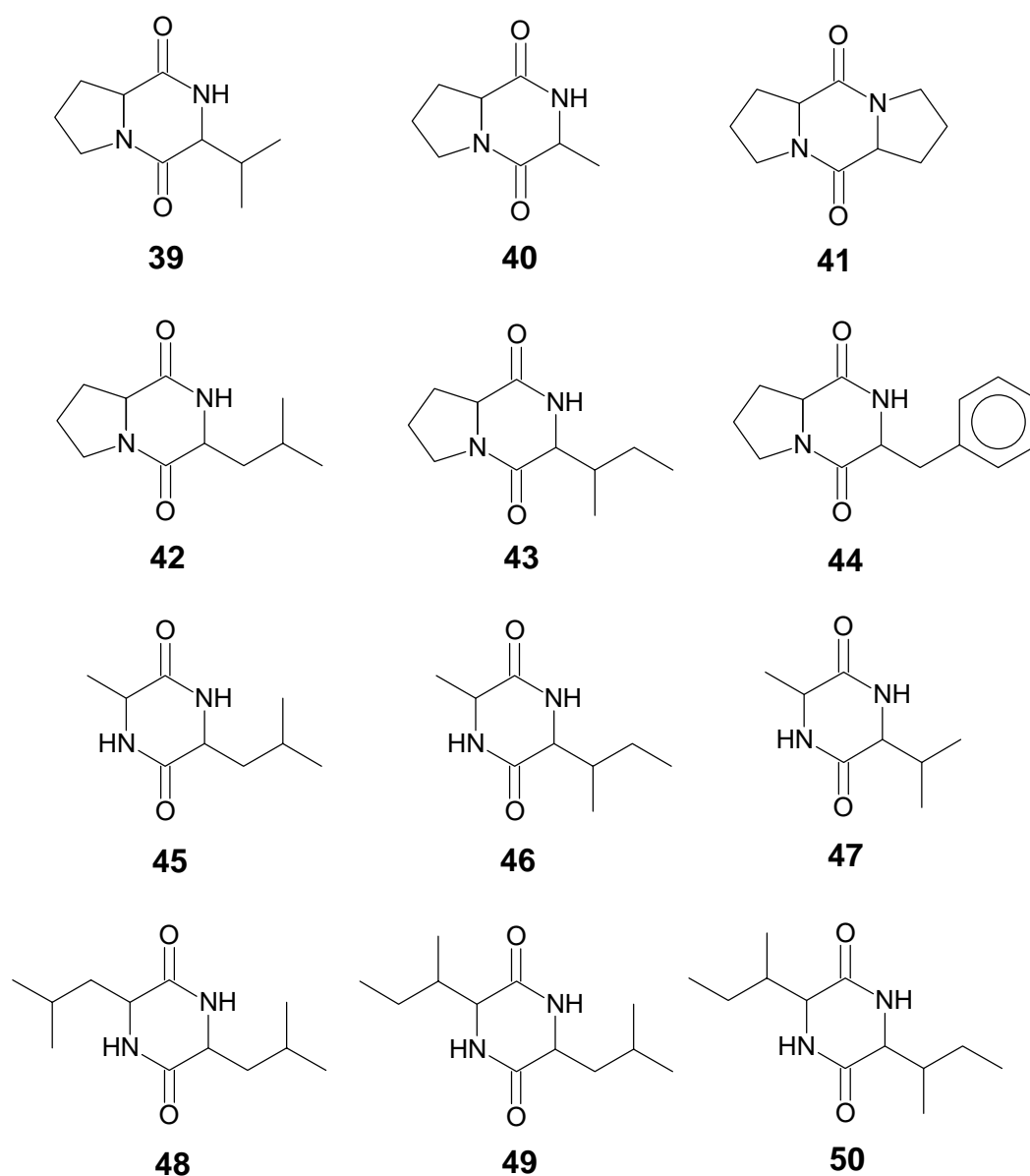
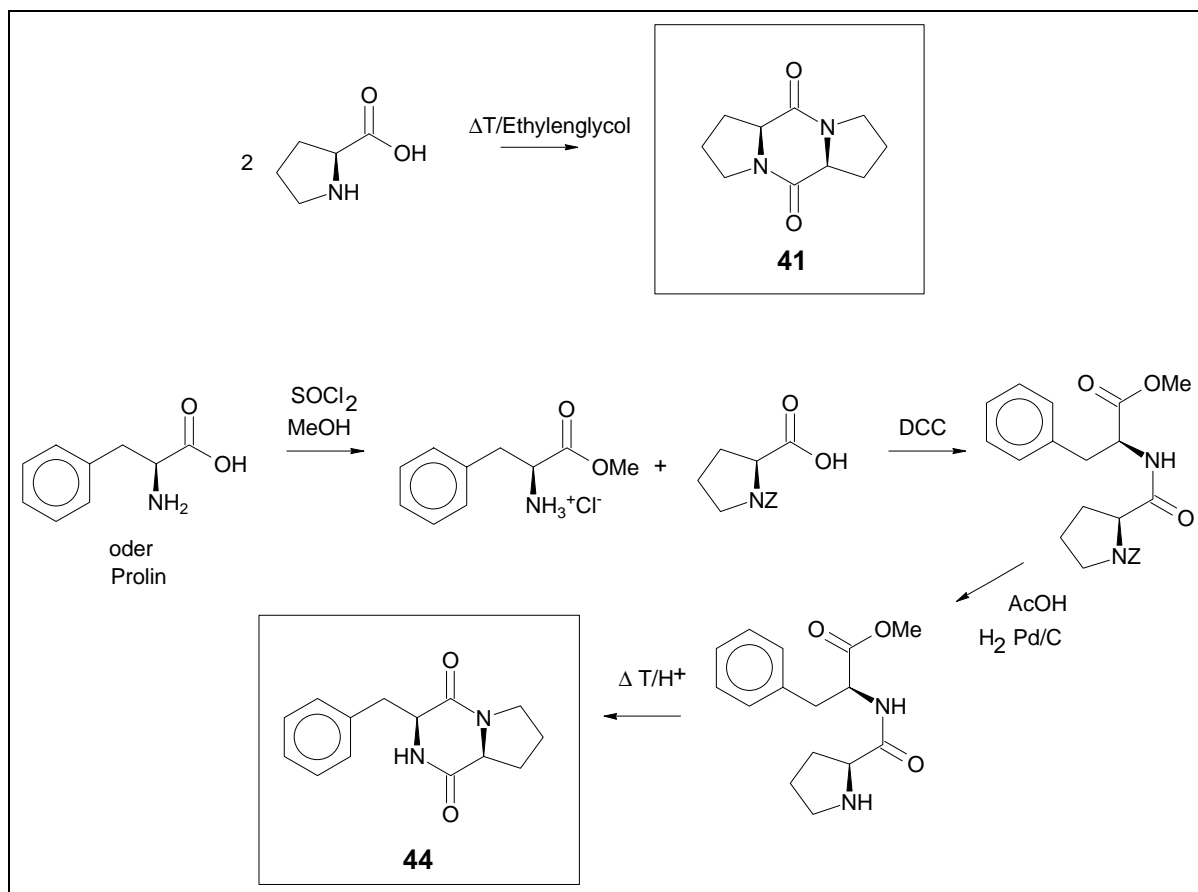


Abbildung 49 Diketopiperazine: Pro-Val (39), Pro-Ala (40), Pro-Pro (41), Pro-Leu (42), Pro-Ileu (43), Pro-Phe (44), Ala-Leu (45), Ala-Ileu (46), Ala-Val (47), Leu-Leu (48), Ileu-Leu (49), Ileu-Ileu (50)

Verbindungen **45, 46, 47, 48, 49** und **50** standen nicht als Referenzsubstanzen zu Verfügung, es handelt sich daher um Strukturvorschläge, die anhand der charakteristischen Massenspektren dieser Verbindungsklasse und dem Vergleich ihrer Retentionszeiten mit den Retentionszeiten der anderen synthetischen Diketopiperazine gemacht wurden.



Z : Benzoylcarbonyl-Schutzgruppe

Abbildung 50 Synthesen von L-Pro-L-Pro, und L-Pro-L-Phe-Diketopiperazin (41) und (44)

Das Pro-Pro-Diketopiperazin (**41**) wurde durch Erhitzen einer 10%igen Lösung von Prolin in Ethylenglycol erhalten.

Das Phe-Pro-Diketopiperazin (**44**) wurden mittels Peptidkupplung von Phenylalanin mit Prolin und anschließender Zyklisierung dargestellt (Abbildung 50).

Zuerst wurde die Carboxylatgruppe des Phenylalanins in einer „Eintopfreaktion“ mit Thionylchlorid in Methanol methyliert. Anschließend erfolgte die Kupplung der freien Aminogruppe des Esters mit Hilfe von Dicyclohexyldicarbodiimid (DCC) an die Carboxylgruppe des Prolins. Die Aminofunktion des Prolins war dazu vorher mit einer Benzoylcarbonylgruppe (Z) geschützt worden. Diese wurde im folgenden Schritt durch katalytische Hydrierung abgespalten. Die Erwärmung des Dipeptids mit geringen Mengen von Essigsäure führte zur Eliminierung von Methanol und zur Cyklisierung zum gewünschten Diketopiperazin.

Die Fragmentierung dieses Verbindungstyps ist an den Mutterkornalkaloiden Ergosin, Ergocryptin und Ergocorin intensiv untersucht worden [100]. In den Studien wurde die Zusammensetzung der Fragmentionen mit der Hilfe hochauflösender Massenspektroskopie und der direkten Analyse von Tochterionen (DADI; Direct Analysis of Daughter Ions) identifiziert.

Die charakteristischen Fragmentierungsreaktionen sind in Abbildung 51 dargestellt.

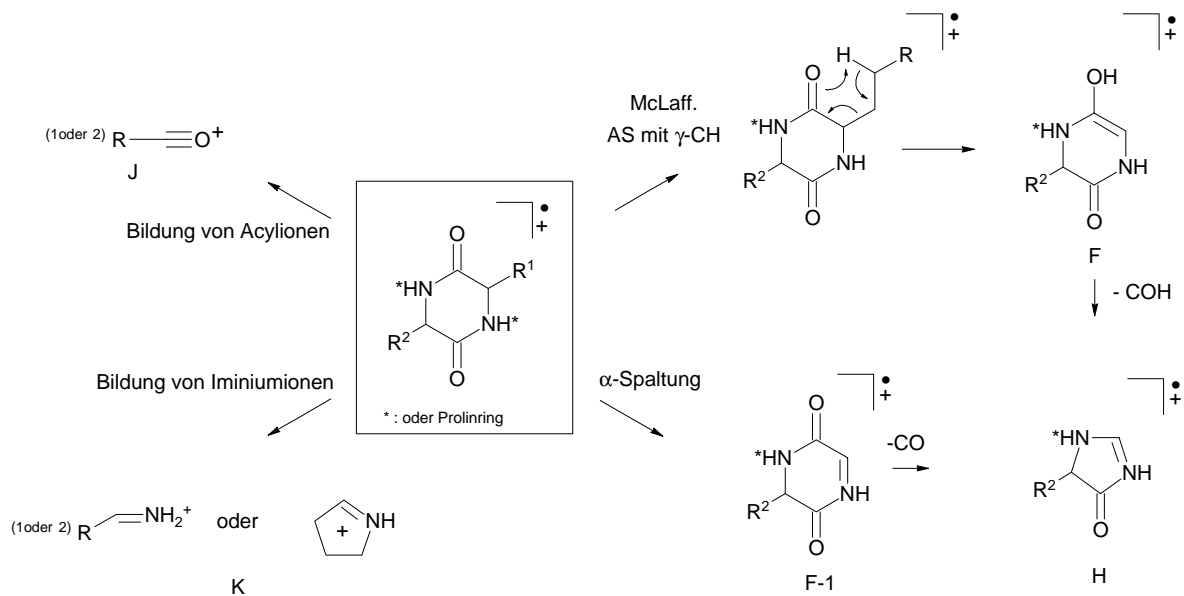


Abbildung 51 Fragmentierungsschema der Diketopiperazine

Anhand des Fragmentierungsmusters ließen sich die Massenspektren der Diketopiperazine leicht interpretieren.

In Abbildung 52 und Abbildung 53 ist das Massenspektrum von Pro-Ileu- und Pro-Phe-Diketopiperazin wiedergegeben.

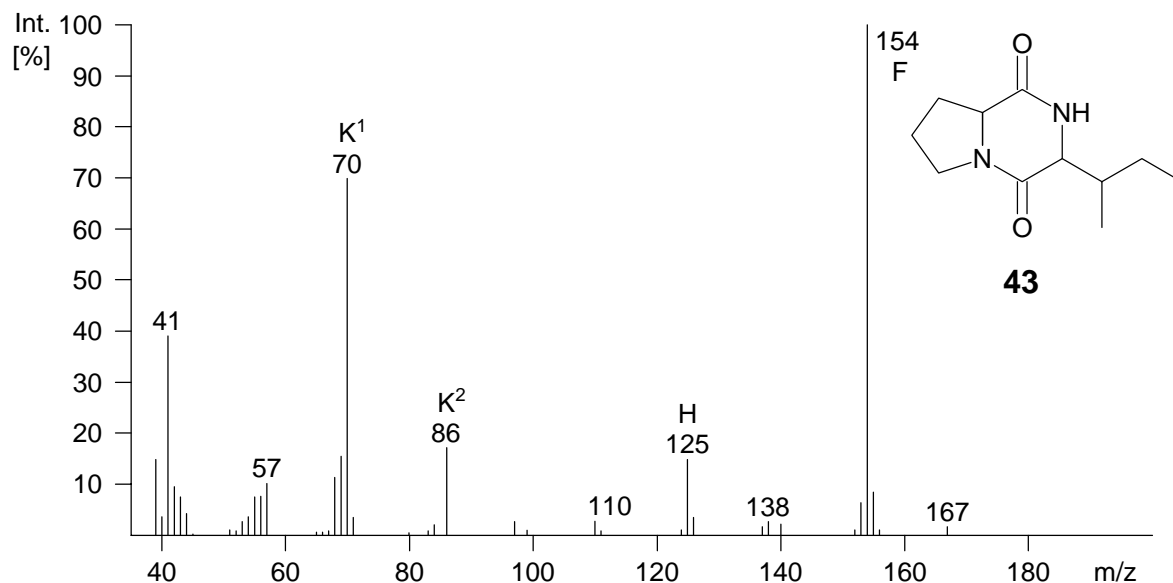


Abbildung 52 Massenspektrum von Pro-Ileu-Diketopiperazin (43)

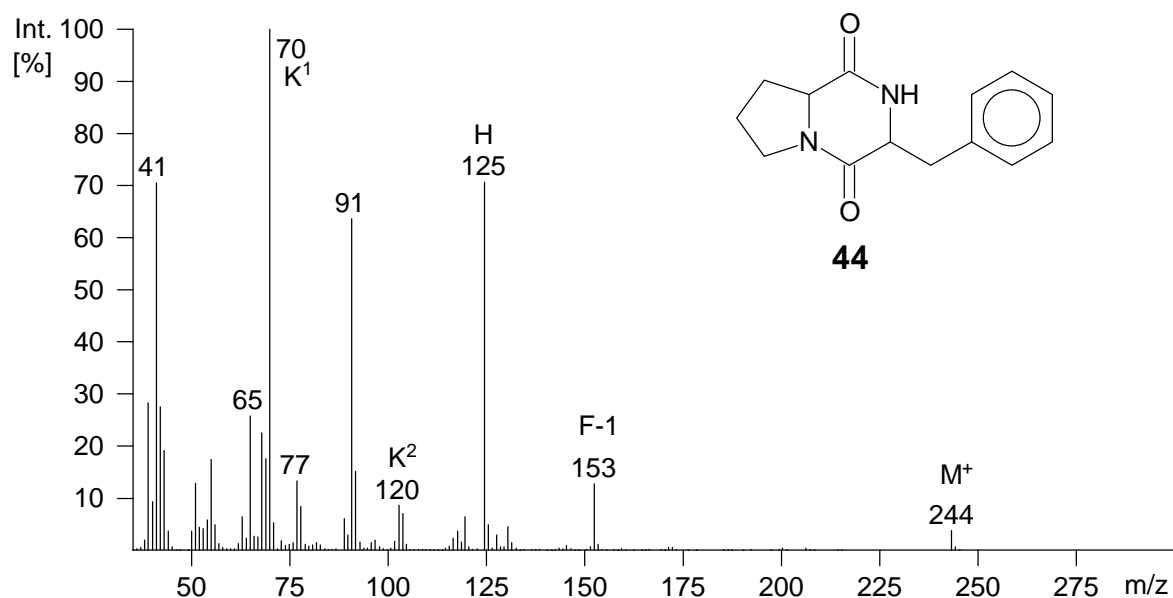


Abbildung 53 Massenspektrum von Pro-Phe-Diketopiperazin (44)

Der Basepeak m/z 154 (F) im Massenspektrum von **43** entsteht durch eine McLafferty-Umlagerung mit der Isoleucinseitenkette. Das Massenspektrum von Pro-Phe-Diketopiperazin (**41**) zeigt hingegen das Ion m/z 153 (F-1), das aus einer Abspaltung des Benzylrestes entsteht. Das Fragment m/z 125 (H) entsteht aus dem Fragment m/z 153 (F-1) bzw. m/z 154 (F), durch Abspaltung von Kohlenmonoxid bzw. Kohlenmonoxid und eines Protons [100].

Die Fragmente m/z 86 (K^2) bzw. m/z 120 (K^2) und m/z 70 (K^1) sind Imminiumionen und charakteristisch für die jeweilige Seitenkette. Das Ion m/z 86 (K^2) entsteht aus Isoleucin- oder Leucin, m/z 120 (K^2) aus Phenylalanin und m/z 70 (K^1) aus Prolin. Aufgrund der guten Ladungsstabilisierung des stickstoffhaltigen Fünfrings ist das Fragment m/z 70 (K^1) in den Spektren der Prolin haltigen Diketopiperazine sehr intensiv.

In Tabelle 1 sind die Fragmente wiedergegeben, die sich auf Grund des beschriebenen Fragmentierungsschemas für die Massenspektren der Verbindungen **39** - **50** ergeben. Die Massenspektren der Substanzen sind im Anhang wiedergegeben.

Diketopiperazine		M+	F1 oder F1-1	H	R1K	R2K	R1J	R2J
R1	R2							
Pro	Val (39)	196	154	125	70	72	69	71
Pro	Ala (40)	168	154	125	70	44	69	43
Pro	Pro (41)	194	154		70	70	69	69
Pro	Leu (42)	210	154	125	70	86	69	85
Pro	Ileu (43)	210	154	125	70	86	69	85
Pro	Phe (44)	244	153	125	70	120	69	119
Ala	Leu (45)	184	128	99	44	86	43	85
Ala	Ileu (46)	184	128	99	44	86	43	85
Ala	Val (47)	170	128	99	44	72	43	71
Leu	Leu (48)	226	170	141	86	86	85	85
Ileu	Leu (49)	226	170	141	86	86	85	85
Ileu	Ileu (50)	226	170	141	86	86	85	85

Tabelle 1 Fragmentionen der Diketopiperazine

5.3.6 Die Nukleoside

In den Ovarienextrakten zählen die Nukleoside N-Methyluridin **57** und N-Methylinosin **58** zu den Hauptkomponenten.

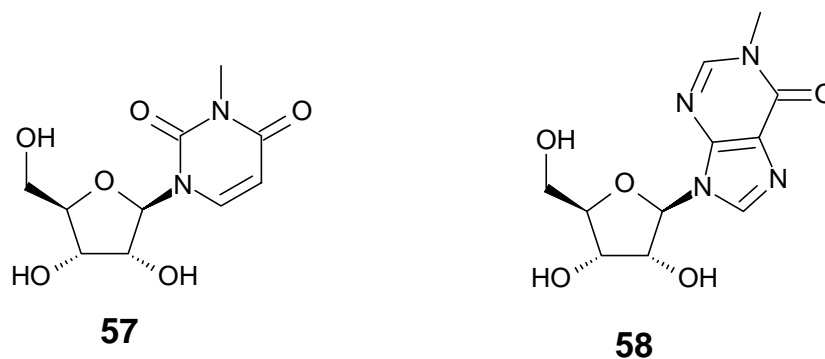


Abbildung 54 Strukturen der Methylnukleoside in den Ovarien von *Crangon crangon*

Zur Identifizierung der Verbindungen wurden verschiedene Ribo- und Desoxyribonukleoside sowie methylierte Inosine silyliert und ihre Massenspektren und Retentionszeiten verglichen. Die massenspektroskopische Untersuchung ergab, dass sich die silylierten Ribo- und Desoxyribonukleoside, ebenso wie die am Zucker oder an der Base methylierten Nukleoside durch charakteristische Fragmente unterscheiden (siehe Tabelle 2). Vergleichsspektren wurden der Wileydatenbank entnommen [103].

Nukleoside	M ⁺ m/z	M ⁺ - CH ₃ m/z	M ⁺ -HOSi(CH ₃) ₃ m/z	M ⁺ -Base m/z	M ⁺ -Base- HOSi(CH ₃) ₃ m/z
tri-TMS-Adenosin	483	468	393	348	259
tetra-TMS-Inosin			466	348	259
di-TMS-Desoxyuridin	372	357	282	261	171
di-TMS-Thymidin	386	371	296	261	171
tri-TMS-N-Methylinosin	498	483	408	348	259
tri-TMS-O-Methylinosin	498	483	408	290	259

Tabelle 2 Fragmentionen der silylierten Nukleoside

5.3.7 Ethanolamide

In den Antennendrüsen und den Ovarien wurden eine Reihe von Ethanolamiden verschiedener Fettsäuren gefunden. Das Ethanolamid der Palmitinsäure bildet die Hauptkomponente dieser Verbindungsklasse. Korrespondierend zu den Ethanolamiden wurden auch die N,N-Dimethyl-2-aminoethylester derselben Fettsäuren gefunden.

Das Massenspektrum von Hexadecansäureethanolamid ist in Abbildung 55 dargestellt.

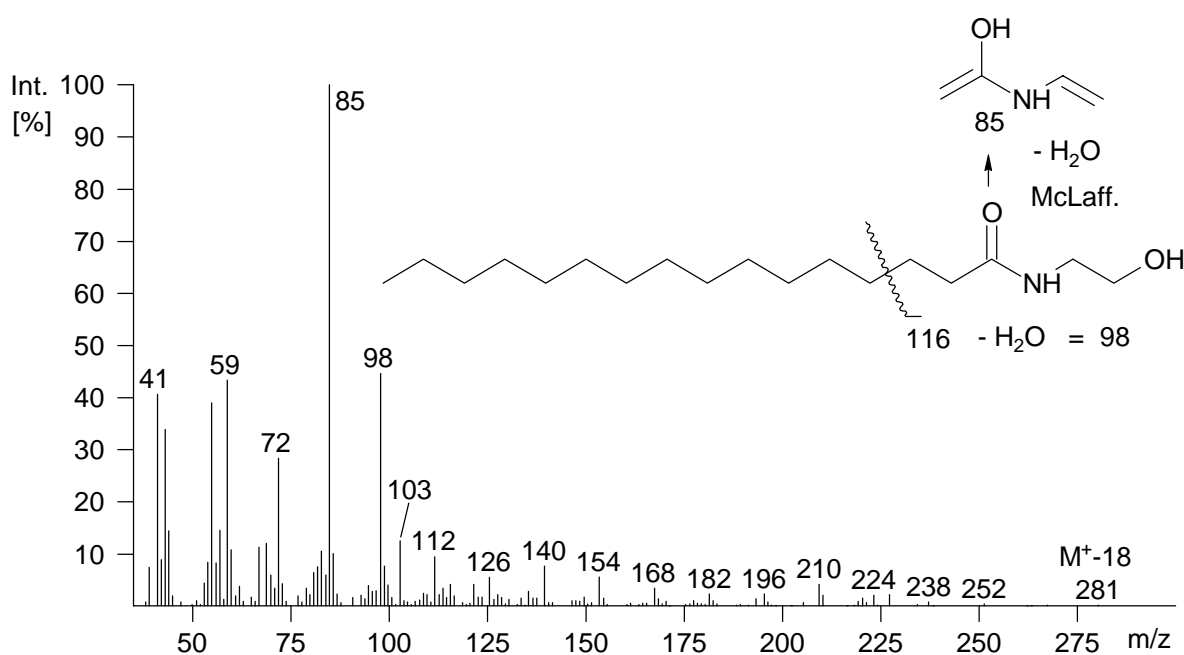


Abbildung 55 Massenspektrum von Hexadecansäureethanolamid (59)

Die Massenspektren der Ethanolamide zeichnen sich durch den Basepeak m/z 85 und das intensive Ion m/z 98 aus. Das Fragment m/z 85 entsteht nach der Abspaltung von Wasser und einer McLafferty-Umlagerung an der Carbonylgruppe. Das Ion m/z 98 bildet sich durch eine Spaltung am β -Kohlenstoff mit anschließender Wassereliminierung.

Die Synthese ist am Beispiel von Hexadecansäureethanolamid in Abbildung 56 dargestellt.

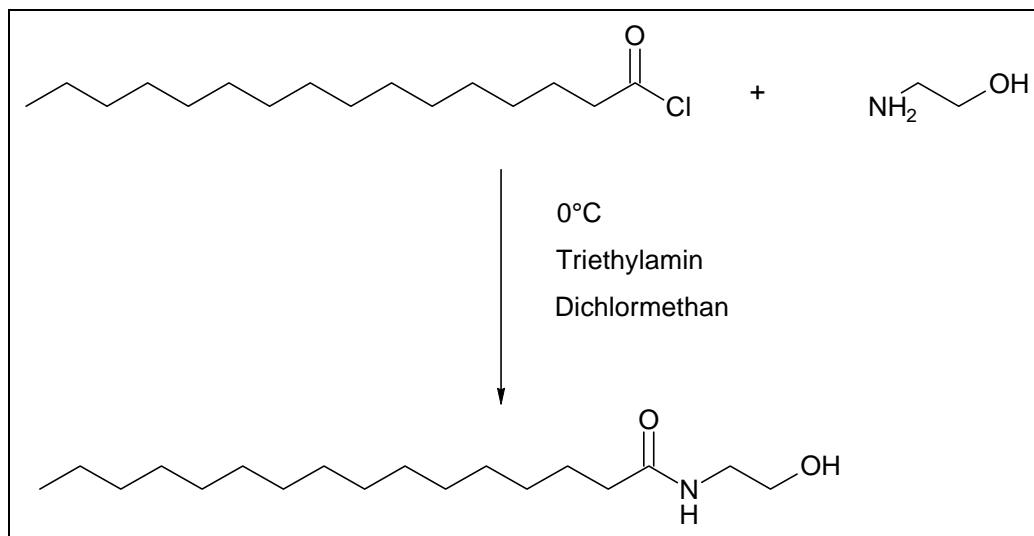


Abbildung 56 Synthese von Hexadecansäureethanolamid (59)

Die Darstellung erfolgte durch Umsetzung des Carbonsäurechlorids mit 2-Aminoethanol in Dichlormethan und Triethylamin. Die N,N-Dimethyl-2-aminoethylester, lassen sich aus den Ethanolamiden gewinnen, indem man diese mit Tetrachlorkohlenstoff und Triphenylphosphin in Acetonitril in die 2-Aminoethylester konvertiert und dann mit Dimethylsulfat methyliert [104].

5.4 Ergebnisse aus der Untersuchung von Männchen und Weibchen in verschiedenen Entwicklungsstadien

Aus der Beobachtung des Paarungsverhaltens von *Crangon crangon* erschien es sinnvoll die Inhaltstoffe von Männchen, attraktiven Weibchen und nicht attraktiven (juvenilen) Weibchen miteinander zu vergleichen. Da es sich bei den attraktiven Weibchen immer um frisch gehäutete Tiere handelt, wurden zum Vergleich ebenfalls frisch gehäutete Männchen und frisch gehäutete juvenile Weibchen herangezogen.

Weibchen mit voll ausgebildeten Ovarien, die noch vor der Reifehäutung standen, wurden zusätzlich untersucht. Sie produzieren möglicherweise bereits Sexuallockstoffe oder deren Vorstufen.

Des Weiteren wurden das Wasser aus den Antennendrüsen sowie die mittlere Rückenpartie von attraktiven Weibchen mit Mikrofestphasenextraktion untersucht [84].

Um frisch gehäutete Tiere zu erhalten, wurden die Tiere nach Geschlecht und Reifestadium sortiert und separat gehalten.

Reife Weibchen wurden anhand der Größe ihrer Ovarien eingeteilt.

Männchen wurden anhand des Endopoditen des 2. Pleopoden ihrem Geschlecht zugeordnet.

Die Hälterungsbecken wurden alle 6-8 Stunden kontrolliert und die gehäuteten Tiere herausgenommen und extrahiert.

Regelmäßig wurden Stichproben auf die Attraktivität der gehäuteten Weibchen durchgeführt. Dazu wurde ein gehäutetes reifes bzw. juveniles Weibchen zusammen mit 3-4 Männchen in ein Becken gesetzt. Die Stichproben ergaben, dass alle Weibchen mit voll ausgereiften Ovarien bei den Männchen Paarungsverhalten auslösten, von den juvenilen Weibchen jedoch keines.

5.4.1 Probennahme

Um Naturstoffe aus biologischen Materialien zu isolieren, können verschiedene Methoden angewendet werden. Im Rahmen der eigenen Diplomarbeit [74], sind bereits Cuticulaextrakte von *Crangon crangon* mit unpolaren Lösemitteln, wie Pentan und Dichlormethan sowie CLSA-Analysen durchgeführt worden. Die Ergebnisse wurden in der Einleitung dargestellt.

Zur Extraktion polarer organischer Verbindungen aus wässrigen Medien hat sich die Festphasenextraktion (SPE Solid-Phase-Extraktion) auf C₁₈-Phasen besonders bewährt.

Mit Hilfe dieser Methode konnten bereits chemische Signalstoffe isoliert werden, z.B. von Fischen und von Chaoboruslarven [88]. Aus diesem Grund wurde diese Extraktionsmethode zur Anreicherung von Naturstoffen aus Männchen und Weibchen verschiedener Entwicklungsstadien ausgewählt.

Es wurden wässrige Extrakte der ganzen Tiere erstellt und die Naturstoffe anschließend auf C₁₈-Phasen angereichert und zuerst mit Methanol und dann mit Dichlormethan eluiert. Die Methanolextrakte wurden säulenchromatographisch über Kieselgel fraktioniert, um einzelne Substanzklassen besser detektieren zu können.

Um die polaren Substanzen gaschromatographisch trennen zu können, wurden einige dieser Fraktionen entweder silyliert, methyliert oder acetyliert. Zur Mikroderivatisierung von Amiden wurde eine Methode entwickelt, die diese Verbindungen mit Hilfe von Acetanhydrid und Pyridin zu den gut chromatographierbaren Nitrilen umsetzt. Diese Methode wird im folgenden als Dehydratisierung bezeichnet. Die unpolaren Extrakte konnten direkt der GC/MS-Untersuchung zugeführt werden.

Die wässrige Umgebung attraktiver Weibchen wurde mittels Mikrofestphasen-Extraktion (SPME) untersucht, ebenso wie die Cuticula im Übergangsbereich zwischen Cephalothorax und Abdomen, der bei paarungsbereiten Weibchen auf Männchen besonders attraktiv wirkt.

Des weiteren wurde der wässrige Extrakt reifer ungehäuteter Weibchen mit Mikrofestphasen untersucht.

Tabelle 3 und Tabelle 4 enthalten eine Auflistung der durchgeführten Extraktions- und Derivatisierungsmethoden.

Tiere	Methode	Lösemittel	Derivatisierung
♀ attraktiv gehäutet	Festphasen Extraktion	Methanol säulenchromatographische Fraktionierung: -Pentan -Dichlormethan -Methanol	methyliert silyliert acetyliert + dehydratisiert
	Festphasen Extraktion	Dichlormethan	
♀ reif ungehäutet	Festphasen Extraktion	Methanol säulenchromatographische Fraktionierung: -Pentan -Dichlormethan -Methanol	methyliert silyliert acetyliert + dehydratisiert
	Festphasen Extraktion	Dichlormethan	
♀ unreif gehäutet	Festphasen Extraktion	Methanol säulenchromatographische Fraktionierung -Pentan -Dichlormethan -Methanol	methyliert silyliert acetyliert + dehydratisiert
	Festphasen Extraktion	Dichlormethan	
♂ gehäutet	Festphasen Extraktion	Methanol säulenchromatographische Fraktionierung -Pentan -Dichlormethan -Methanol	methyliert

Tabelle 3 Probenmaterial, Extraktionsmethoden und Derivatisierungen

Mikrofestphasen-Untersuchung der Körpermitte und der wässrigen Umgebung der Antennen attraktiver Weibchen und des wässrigen Extraktes reifer ungehäuteter Weibchen.

Mitte	SPME polar	Antennen	SPME polar	♀ reif ungehäutet	SPME polar
	SPME unpolar		SPME unpolar		

Tabelle 4 Proben, die mit SPME genommen wurden

Die Ergebnisse der gaschromatographischen und massenspektroskopischen Analyse sind in tabellarischer Form dargestellt. Zur Bezeichnung der Naturextrakte werden Abkürzungen in den Spaltenköpfen verwendet. Die identifizierten Verbindungen sind nach Substanzklassen in Kohlenwasserstoffe, Alkohole, Amine, Aldehyde, Ketone, Carbonsäuren, Methylester, Amide, Hydroxysäureamide, Hydroxysäuren, Isoprenoide Verbindungen, Diketopiperazine, Aromaten, Heterocyclen, Aminosäuren und unbekannte Verbindungen unterteilt. Für die unbekanntes Verbindungen wurde der Basepeak bzw. charakteristische Fragmente der Massenspektren angegeben. Strukturvorschläge, die anhand der Massenspektren und Retentionszeiten postuliert wurden, sind hinter den Fragmentangaben in Klammern wiedergegeben. Die Inhaltsstoffe wurden halbquantitativ anhand ihrer Peakflächen oder -höhen in den FID- bzw. Totalionenstromchromatogrammen in Haupt-, Neben-, Unter-, Rest- und Spurenkomponenten eingeteilt.

In den abgebildeten Gaschromatogrammen erfolgt die Zuordnung der Peaks durch Kurzformeln oder Ziffern, wobei die zu den Ziffern gehörigen Verbindungen in Substanzlisten aufgeführt sind. Artefakte wurden durch ein X bezeichnet.

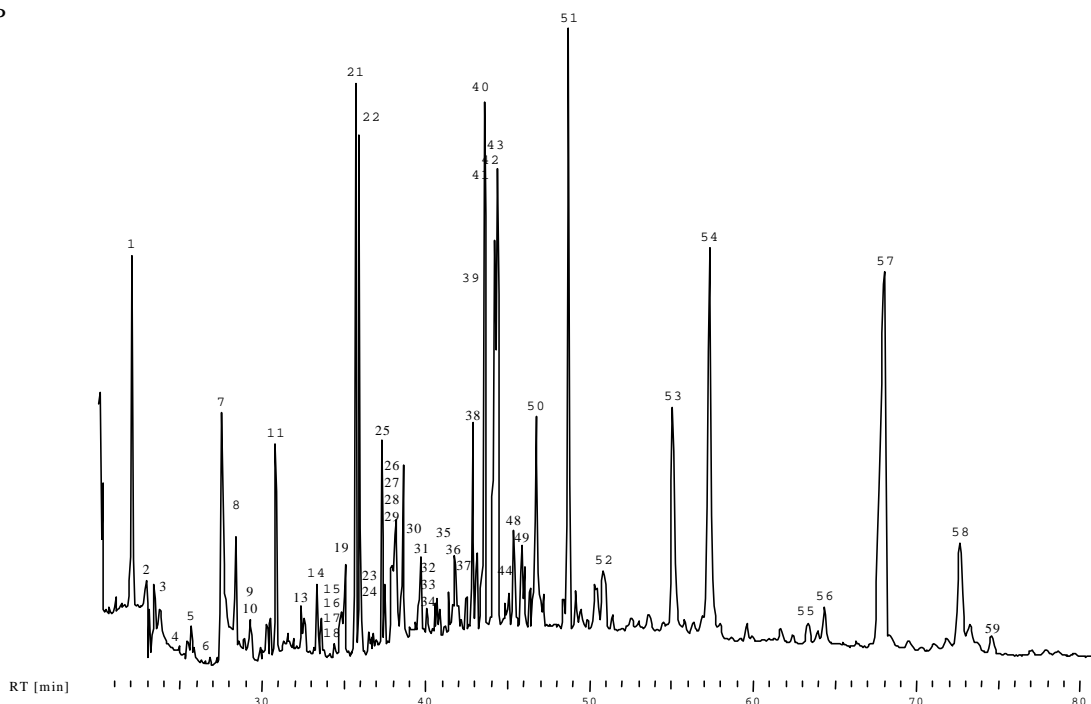
5.4.2 Chromatogramme der untersuchten Proben

In Abbildung 57 und Abbildung 58 sind die Chromatogramme der Methanoleluate aus der Festphasenextraktion dargestellt. Bei den abgebildeten Chromatogrammen handelt es sich um Messungen an FFAP-Phasen.

♀ reif (ungehäutet)

SPE MEOH

FFAP



♀ attraktiv (gehäutet)

SPE MEOH

FFAP

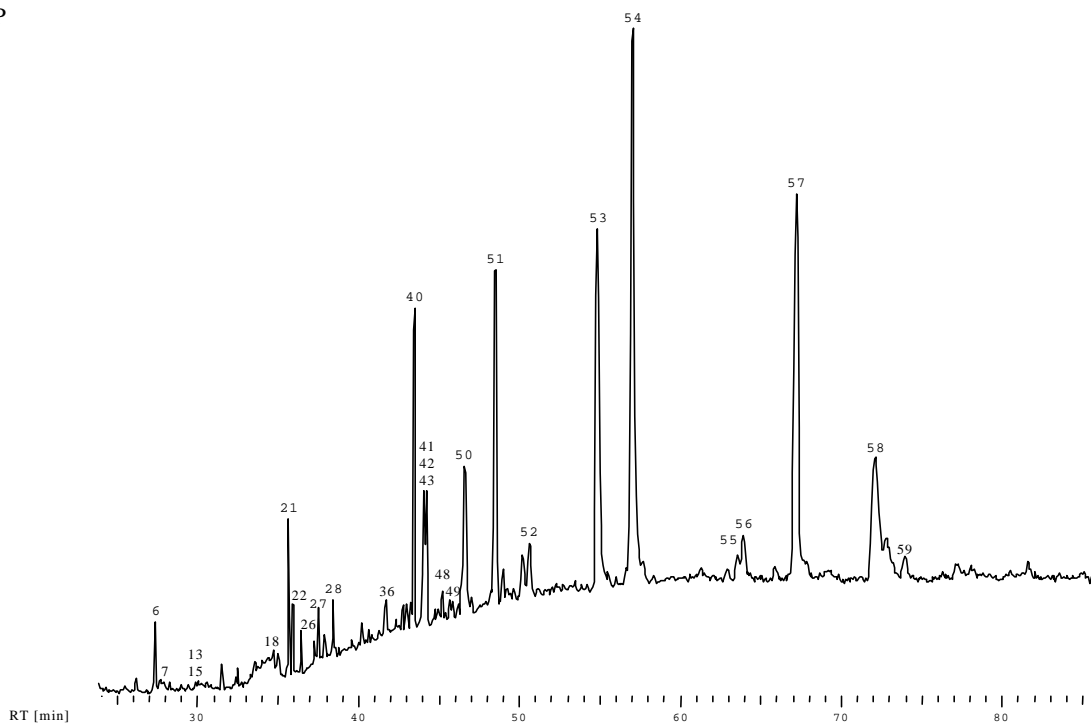


Abbildung 57 Chromatogramme von Extrakten reifer, ungehäuteter und attraktiver Weibchen

♀ juvenil gehäutet
SPE MEOH
FFAP

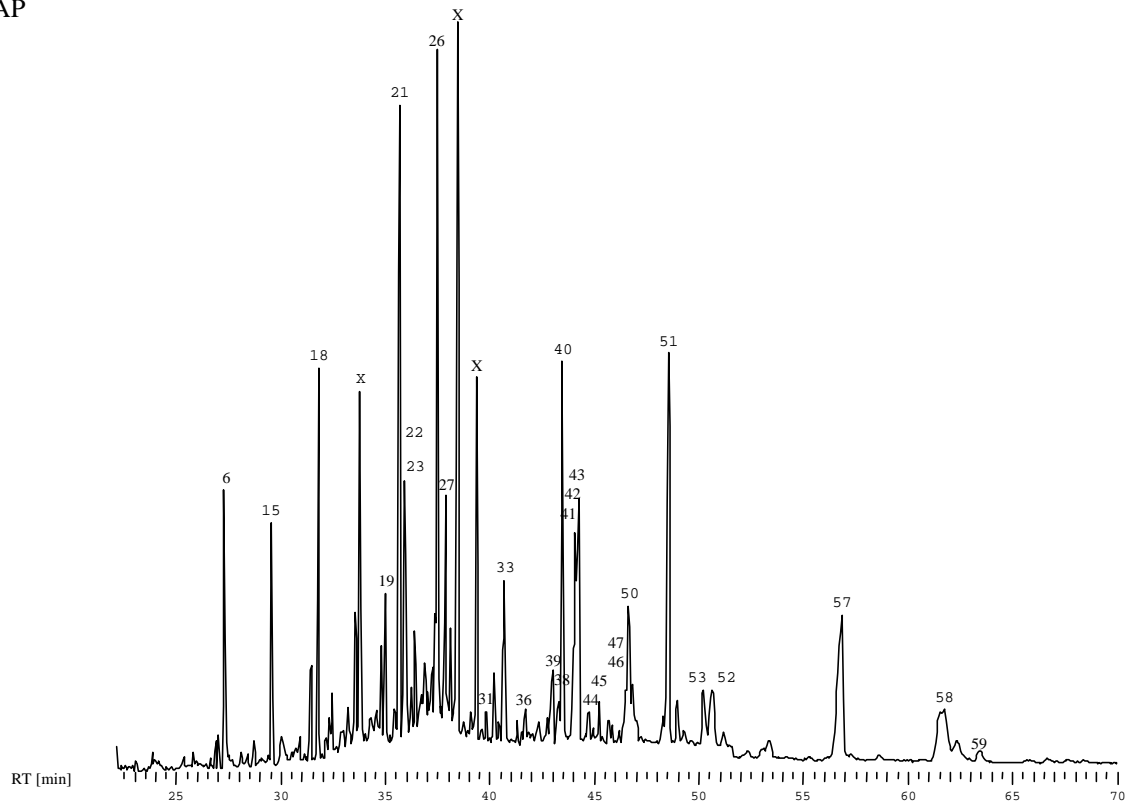


Abbildung 58 Chromatogramm von einem Extrakt juveniler gehäuteter Weibchen

Liste der Inhaltsstoffe aus den Chromatogrammen der Methanoleluate der Festphasenextraktion attraktiver Weibchen, reifer Weibchen und juveniler gehäuteter Weibchen:

- | | |
|---|---|
| 1. m/z 41/56 | 22. (5E,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on |
| 2. Pyridin | 23. m/z 141 |
| 3. N-Methylpyrrolidin | 24. Pyrrolidin-2-on |
| 4. Dimethyltrisulfid | 25. γ -Hexadecanlacton |
| 5. 2-Nonanon | 26. Hexadecansäuremethylester |
| 6. Dimethylformamid | 27. (Z)-Hexadec-9-ensäuremethylester |
| 7. Essigsäure | 28. 2-Methylheptansäureamid |
| 8. Benzaldehyd | 29. ϵ -Caprolactam |
| 9. Buttersäure | 30. Decansäure |
| 10. Furfurylalkohol | 31. Octansäureamid |
| 11. Isovaleriansäure | 32. 8-Methyloctansäureamid |
| 12. N-Methylpyrrolidon | 33. (Z)-Octadec-9-ensäuremethylester |
| 13. Acetamid | 34. 7-Methyloctansäureamid |
| 14. Capronsäure | 35. Indol |
| 15. m/z 141 | 36. Dodecansäure |
| 16. o-Methylphenol | 37. Nonansäureamid |
| 17. Hexansäureamid | 38. (E)-2-Octensäureamid |
| 18. m/z 127 | 39. 4-Methyldecansäureamid |
| 19. (5Z,8Z)-Tetradeca-5,8-dien-2-on | 40. Decansäureamid |
| 20. (5E,8Z)-Tetradeca-5,8-dien-2-on | 41. Decensäureamid |
| 21. (5Z,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on | |

42. Decensäureamid
43. Decensäureamid
44. (E)-4-Methyl-2-decensäureamid
45. 9-Methyldecensäureamid
46. 8-Methyldecensäureamid
47. (E)-9-Methyldec-2-ensäureamid
48. (5Z,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-triensäureamid
49. (5E,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-triensäureamid
50. Tetradecensäure
51. (E)-2-Decensäureamid
52. Hexadecensäureamid
53. Hexadecensäure
54. (Z)-9-Hexadecensäure
55. 3-Hydroxy-8-methylnonensäureamid
56. 3-Hydroxy-4-methyldecensäureamid
57. 3-Hydroxydecensäureamid
58. 3-Hydroxy-9-methyldecensäureamid
59. 3-Hydroxy-8-methyldecensäureamid

In Abbildung 59 ist das Chromatogramm des Methanoleluats der Festphasenextraktion reifer Weibchen, gemessen an einer Innowaxphase, wiedergegeben.

♀ reif (ungehäutet)
SPE MEOH
Inowax

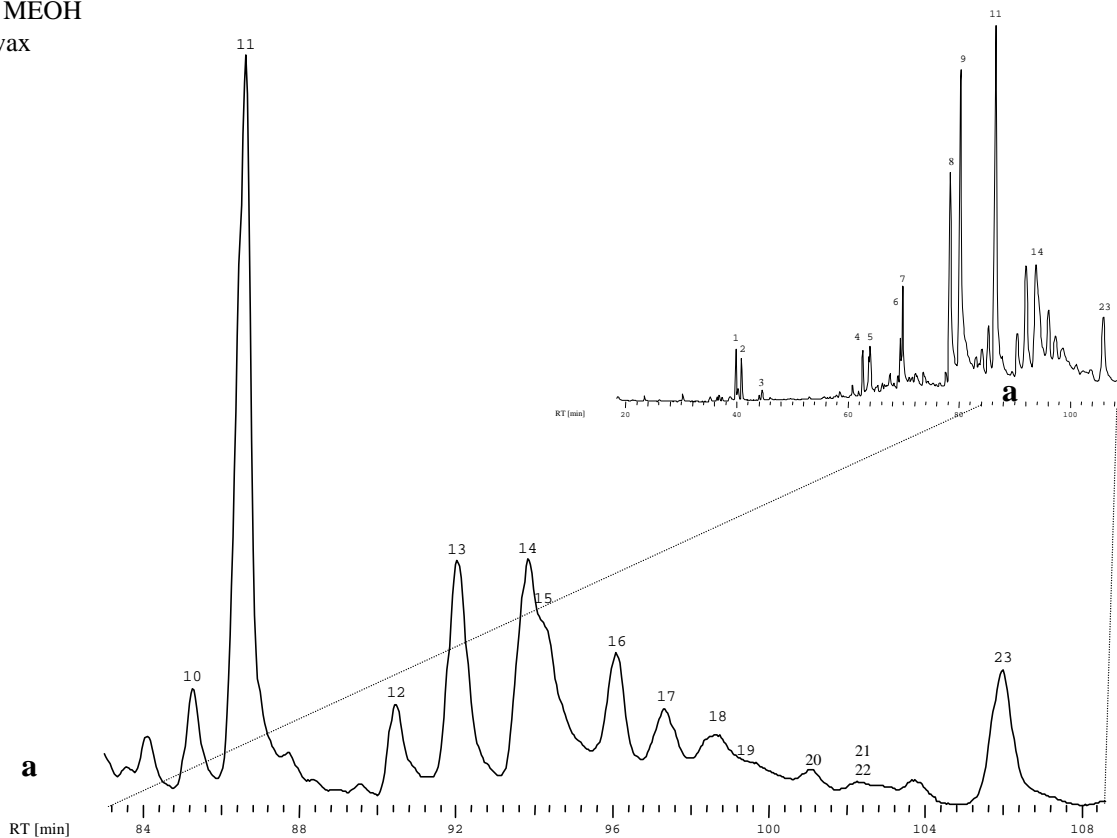


Abbildung 59 Chromatogramm eines Extraktes reifer Weibchen

- | | |
|--|-------------------------------|
| 1. (5Z,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on | 13. Pro,Ala-Diketopiperazin |
| 2. (5E,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on | 14. (Z)-9-Octadecensäure |
| 3. γ -Hexadecalacton | 15. Pro,Leu-Diketopiperazin |
| 4. Decansäureamid | 16. Pro,Ileu-Diketopiperazin |
| 5. Decensäureamid | 17. Pro,Pro-Diketopiperazin |
| 6. Tetradecansäure | 18. Ala,Leu-Diketopiperazin |
| 7. (E)-2-Decensäureamid | 19. Ala,Ileu-Diketopiperazin |
| 8. Hexadecansäure | 20. Leu,Leu-Diketopiperazin |
| 9. (Z)-9-Hexadecensäure | 21. Ileu,Ileu-Diketopiperazin |
| 10. Pro,Val-Diketopiperazin | 22. Ileu,Leu-Diketopiperazin |
| 11. 3-Hydroxydecansäureamid | 23. Phe,Pro-Diketopiperazin |
| 12. Ala,Val-Diketopiperazin | |

In der Abbildung 60 ist das Chromatogramm des Dichlormethaneluats der Festphasenextraktion attraktiver Weibchen gemessen an einer FFAP-Phase wiedergegeben.

? attraktiv (gehäutet)

SPE DCM

FFAP

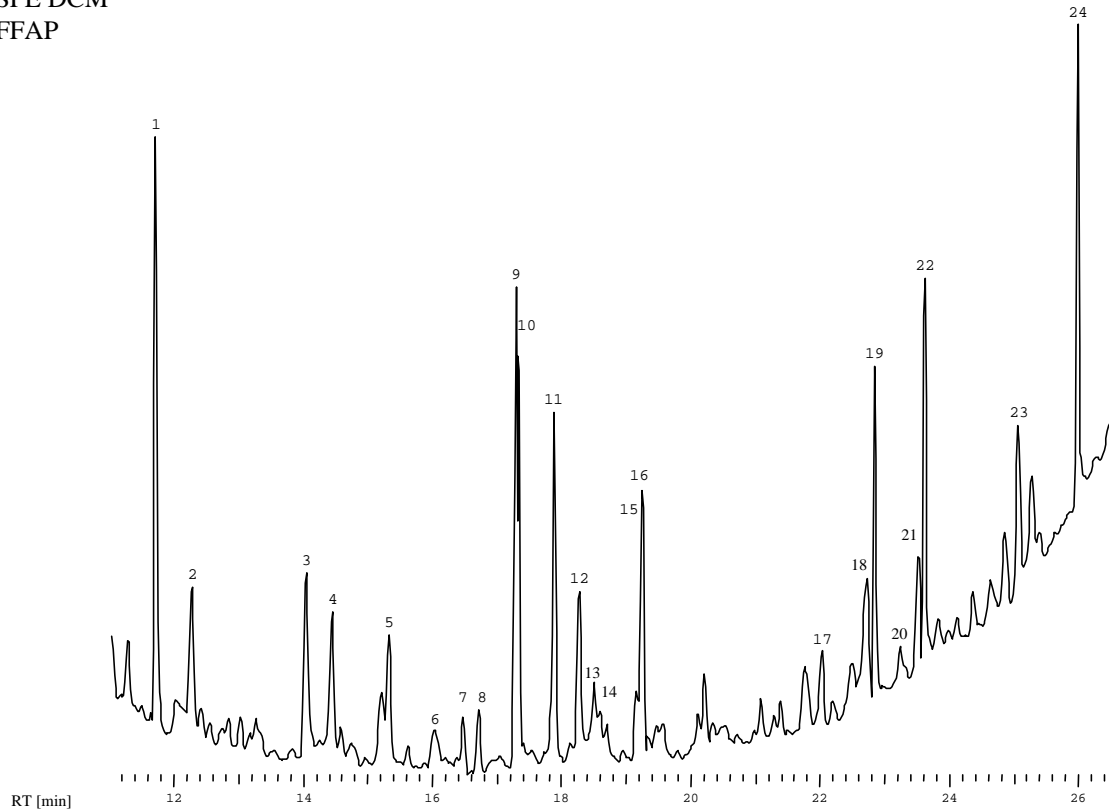


Abbildung 60 Chromatogramm eines Extraktes attraktiver Weibchen

- | | |
|-------------------------------|-------------------------------|
| 1. Pent-3-en-2-ol | 13. Octanol |
| 2. Pyridin | 14. Ameisensäure |
| 3. 3-Octenal | 15. (3E,5E)-3,5-Octadien-2-on |
| 4. 2-Hexanol | 16. m/z 57 |
| 5. Dimethylformamid | 17. (2E,4Z)-2,4-Decadienal |
| 6. Nonanal | 18. (2E,4E)-2,4-Decadienal |
| 7. Methyltrifluoracetamid | 19. Decatrienal |
| 8. Hexanol | 20. Capronsäure |
| 9. Essigsäure | 21. Undecatrien-2-on |
| 10. (2E,4Z)-2,4-Heptadienal | 22. m/z 141 |
| 11. (2E,4E)-2,4-Heptadienal | 23. m/z 127 |
| 12. (3E,5Z)-3,5-Octadien-2-on | 24. m/z 141 |

In Abbildung 61 ist das Chromatogramm der Pentanfraktion des an Kieselgel getrennten Methanoleluats aus der Festphasenextraktion attraktiver Weibchen wiedergegeben.

♀ **attraktiv (gehäutet)** SPE MEOH
Pentanfraktion DB5MS

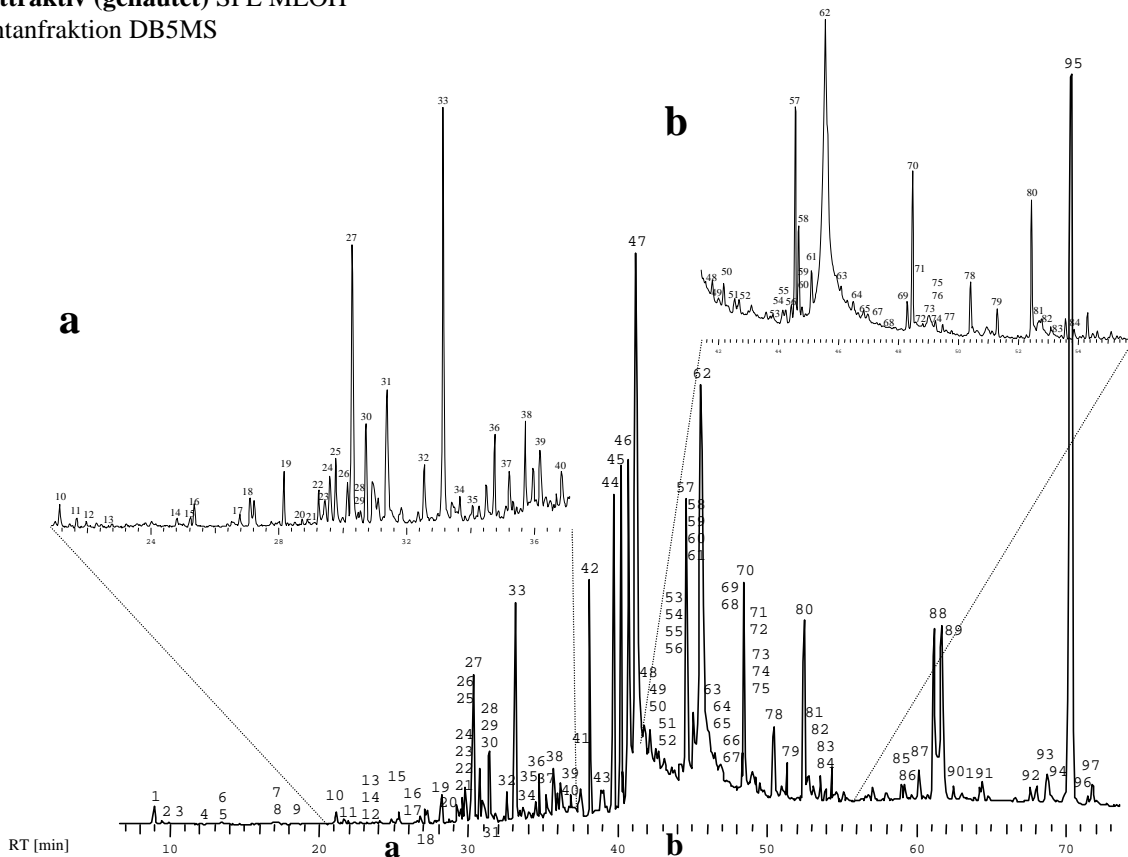


Abbildung 61 Chromatogramm der Pentanfraktion attraktiver Weibchen

- | | |
|---|---|
| 1. Decan | 23. Decensäureamid |
| 2. 3-Octanol | 24. Decensäureamid |
| 3. Diisopropyldisulfid | 25. Decensäureamid |
| 4. (3E,5Z)-3,5-Octadien-2-on | 26. (5Z,8Z)-Tetradeca-5,8-dien-2-on |
| 5. Undecan | 27. (5Z,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on |
| 6. Nonanal | 28. γ -Pentadecanlacton |
| 7. Dodecan | 29. (5E,8Z)-Tetradeca-5,8-dien-2-on |
| 8. Decanal | 30. (5E,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on |
| 9. Benzothiazol | 31. (E)-2-Decensäureamid |
| 10. Tridecatetraen | 32. m/z 99, 112 |
| 11. m/z 141 | 33. 3-Hydroxydodecansäuremethylester |
| 12. Decansäuremethylester | 34. γ -Hexadecanlacton |
| 13. ϵ -Caprolactam | 35. 2-Pentadecanon |
| 14. m/z 127 | 36. Tetradecansäuremethylester |
| 15. Tetradecan | 37. Dodecensäureamid |
| 16. m/z 127 | 38. Octadecan |
| 17. 3-Hydroxydecansäuremethylester | 39. (E)-2-Dodecensäureamid |
| 18. γ -Tetradecanlacton | 40. Ω_3 -Hexadecatriensäuremethylester |
| 19. m/z 141 | 41. Pentadecansäuremethylester |
| 20. Dodecansäuremethylester | 42. 6,10,14-Trimethylpentadecan-2-on |
| 21. 3-Hydroxy-9-methyldecansäuremethylester | 43. 14-Methylpentadecansäuremethylester |
| 22. Decensäureamid | |

- | | |
|---|--|
| 44. (Z)-Hexadec-9-ensäuremethylester | 75. (ω_3)-Eicosatriensäuremethylester |
| 45. Hexadecensäuremethylester | 76. Eicosensäuremethylester |
| 46. (Z)-9-Hexadecensäure | 77. Eicosansäuremethylester |
| 47. Hexadecensäure | 78. Tetramethylheptadeca- γ -lacton |
| 48. 15-Methylhexadecensäuremethylester | 79. Dodecylacetat |
| 49. 14-Methylhexadecensäuremethylester | 80. (4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-Docosa-
4,7,10,13,16,19-hexensäuremethylester |
| 50. (Z)-Heptadec-9-ensäuremethylester | 81. Docosapentaensäuremethylester |
| 51. Hexadecensäureisopropylester | 82. 9,10-Dihydroxyoctadecensäuremethylester |
| 52. Heptadecensäuremethylester | 83. Docosensäuremethylester |
| 53. (ω_6)-Octadecatriensäuremethylester | 84. Docosansäuremethylester |
| 54. 16-Methylheptadecensäuremethylester | 85. (Z)-9-Octadecensäureamid |
| 55. (ω_6)-Methyloctadecatetraensäuremethylester | 86. Nonacosan |
| 56. (9Z,12Z)-Octadeca-9,12-diensäuremethylester | 87. Squalen |
| 57. (Z)-Octadec-9-ensäuremethylester | 88. m/z 137 |
| 58. (Z)-Octadec-11-ensäuremethylester | 89. m/z 137 |
| 59. (ω_3)-Octadecadiensäuremethylester | 90. Cholesta-4,6-dien-3-ol |
| 60. (Z)-Octadec-15-ensäuremethylester | 91. Tricontan |
| 61. Octadecensäuremethylester | 92. Hentricontan |
| 62. (Z)-9-Octadecensäure | 93. Cholest-5,22-dien-3-ol |
| 63. (Z)-9-Hexadecensäureamid | 94. α -Tocopherol |
| 64. 18-Methylnonadecensäuremethylester | 95. Cholesterin |
| 65. 17-Methylnonadecensäuremethylester | 96. Dotricontan |
| 66. Nonadecensäuremethylester | 97. Cholest-5,24-dien-3-ol |
| 67. Octadecylacetat | |
| 68. Nonadecensäuremethylester | |
| 69. (5Z,8Z,11Z,14Z)-Eicosa-5,8,11,14-
tetraensäuremethylester | |
| 70. (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-Eicosa-5,8,11,14,17-
pentaensäuremethylester | |
| 71. (ω_6)*-Eicosatriensäuremethylester | |
| 72. (ω_3)-Eicosatriensäuremethylester | |
| 73. Eicosensäuremethylester | |
| 74. (ω_6)-Eicosadiensäuremethylester | |

* Bei der hier verwendeten *Fettsäurenomenklatur* ω_3 bzw. ω_6 , bezeichnet die Ziffer die Stellung der letzten Doppelbindung von mehreren homokonjugierten Doppelbindungen vom *Ende* der ω -Seitenkette aus gesehen. Hier und im folgenden wurde diese Bezeichnungen in Klammern angegeben, weil die Lage der Doppelbindungen anhand von gaschromatographischen Retentionszeiten und dem Vergleich mit Massenspektren aus der Wiley-Datenbank postuliert wurden und nicht durch Vergleichsmessungen synthetischer Analoga.

In Abbildung 62 ist das Chromatogramm der Pentanfraktion des an Kieselgel getrennt Methanoleluats aus der Festphasenextraktion reifer Weibchen wiedergegeben.

♀ reif (ungehäutet)

SPE MEOH Pentanfraktion DB5MS

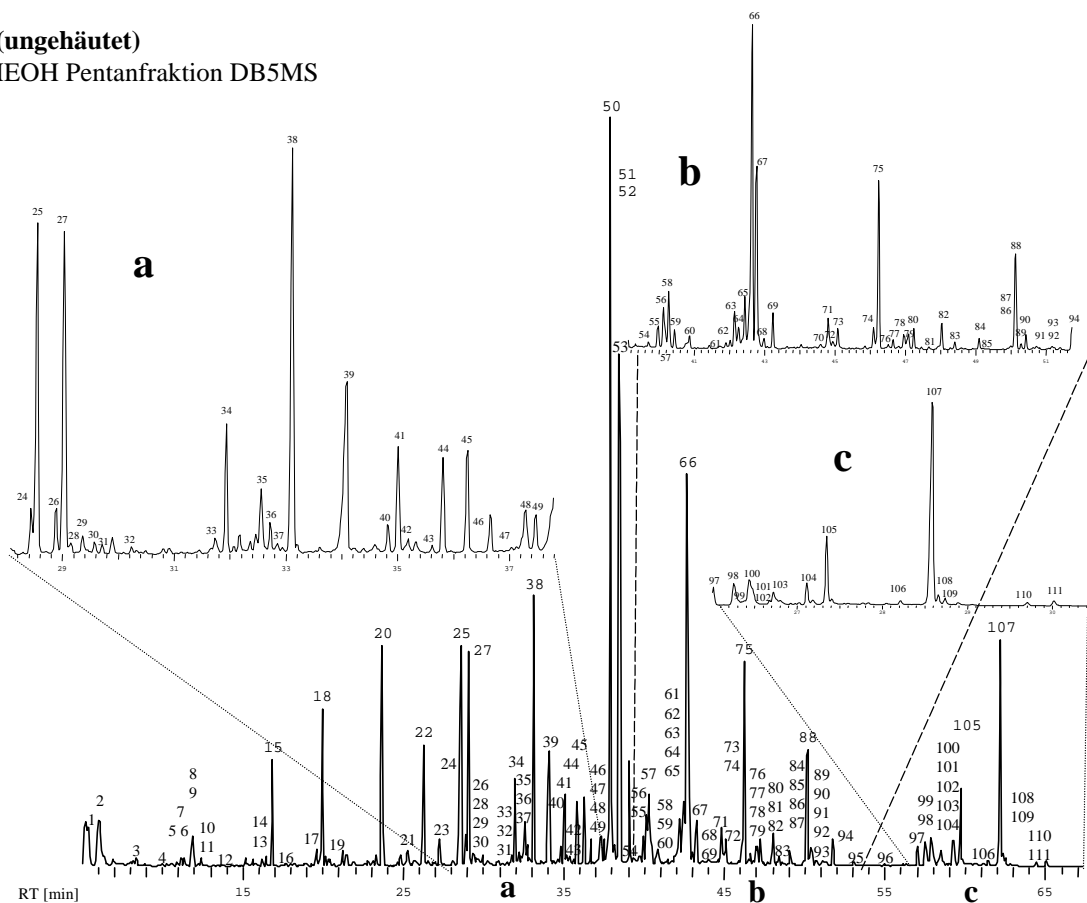


Abbildung 62 Chromatogramm der Pentanfraktion reifer Weibchen

- | | |
|------------------------------------|--|
| 1. Benzaldehyd | 23. Dodecansäuremethylester |
| 2. 2-Methylundecan | 24. (5Z,8Z)-5,8-Tetradecadien-2-on |
| 3. Undecan | 25. (5Z,8Z,11Z)-5,8,11-Tetradecatrien-2-on |
| 4. 3-Acetoxybuttersäuremethylester | 26. (5E,8Z)-5,8-Tetradecadien-2-on |
| 5. (3E,5Z)-3,5-Octadien-2-on | 27. (5E,8Z,11Z)-5,8,11-Tetradecatrien-2-on |
| 6. Dodecen | 28. 3-Butoxyoctansäuremethylester |
| 7. Dodecen | 29. Tridecatriensäuremethylester |
| 8. Benzoesäuremethylester | 30. Pentadecan |
| 9. (3E,5E)-3,5-Octadien-2-on | 31. Tridecatriensäuremethylester |
| 10. Dodecan | 32. Tridecansäuremethylester |
| 11. Nonanal | 33. 4-Hexadecanolid |
| 12. Octansäuremethylester | 34. Diisobutylhexanoat |
| 13. Tridecan | 35. Octadecan |
| 14. Decanal | 36. Tetrdecensäuremethylester |
| 15. m/z 127 | 37. Pentadecanal |
| 16. Nonansäuremethylester | 38. Tetrdecensäuremethylester |
| 17. Undecan-2-on | 39. Dodecansäureamid |
| 18. m/z 141 | 40. 13-Methyltetrdecensäuremethylester |
| 19. Decansäuremethylester | 41. 12-Methyltetrdecensäuremethylester |
| 20. m/z 127 | 42. Pentadecensäuremethylester |
| 21. 3-Hydroxydecansäuremethylester | 43. Hexadecanal |
| 22. m/z 141 | 44. Pentadecensäuremethylester |

45. 4,10,14-Trimethylpentadeca-2-on
46. 10-Hexadecanolid
47. 9-Hexadecanolid
48. (Z)-Hexadec-7-ensäuremethylester
49. 14-Methylpentadecansäuremethylester
50. (Z)-Hexadec-9-ensäuremethylester
51. (Z)-Hexadec-11-ensäuremethylester
52. Octadecanal
53. Hexadecansäuremethylester
54. (Z)-Heptadec-7-ensäuremethylester
55. 15-Methylhexadecansäuremethylester
56. Eicosen
57. 14-Methylhexadecansäuremethylester
58. (Z)-Heptadec-9-ensäuremethylester
59. Hexadecylacetat
60. Heptadecansäuremethylester
61. 10-Octadecanolid
62. Octadecatriensäuremethylester
63. Octadecatetraensäuremethylester
64. 9-Octadecanolid
65. Octadeca-9,11-diensäuremethylester
66. (Z)-Octadec-9-ensäuremethylester
67. (Z)-Octadec-11-ensäuremethylester
68. (Z)-Octadec-15-ensäuremethylester
69. Octadecansäuremethylester
70. 2-Eicosanol
71. 1-Eicosanol
72. Nonadecensäuremethylester
73. Octadecylacetat
74. (Z5,Z8,Z11,Z14)-Eicosa-5,8,11,14-tetraensäuremethylester
75. (Z5,Z8,Z11,Z14,Z17)-Eicosa-5,8,11,14,17-pentaensäuremethylester
76. (ω_6)-Eicosatriensäuremethylester
77. (ω_3)-Eicosatetraensäuremethylester
78. (ω_6)-Eicosadiensäuremethylester
79. Eicosensäuremethylester
80. Eicosensäuremethylester
81. Eicosensäuremethylester
82. Pentamethylnonadecansäure- γ -lacton
83. Heneicosa-5,8,11,14,17-pentaensäuremethylester
84. Tetracosan
85. 19-Methyleicosensäuremethylester
86. Eicosensäuremethylester
87. (ω_6)-Docosapentaensäuremethylester
88. (Z4,Z7,Z10,Z13,Z16,Z19)-Docosa-4,7,10,13,16,19-hexaensäuremethylester
89. (ω_6)-Docosatetraensäuremethylester
90. (ω_3)-Docosapentaensäuremethylester
91. Docosadiensäuremethylester
92. Docosensäuremethylester
93. Docosensäuremethylester
94. Docosansäuremethylester
95. Hexacosan
96. 3,5-Cholestadien
97. Squalen
98. m/z 137
99. 2,4-Cholestadien
100. m/z 137
101. 4,6-Cholestadien-3-ol
102. Cholesterylester
103. m/z 167
104. m/z 137
105. m/z 167
106. 5,22-Colestadien-3-ol
107. Cholesterin
108. α -Tocopherylacetat
109. 5,24-Cholestadien-3-ol
110. Cholest-4-en-3-on
111. Cholesta-4,6-dien-3-on

In Abbildung 63 ist das Chromatogramm der Pentanfraktion des an Kieselgel getrennten Methanoleluats aus der Festphasenextraktion gehäuteter Männchen wiedergegeben.

♂ gehäutet
SPE MEOH Pentanfraktion
DB5MS

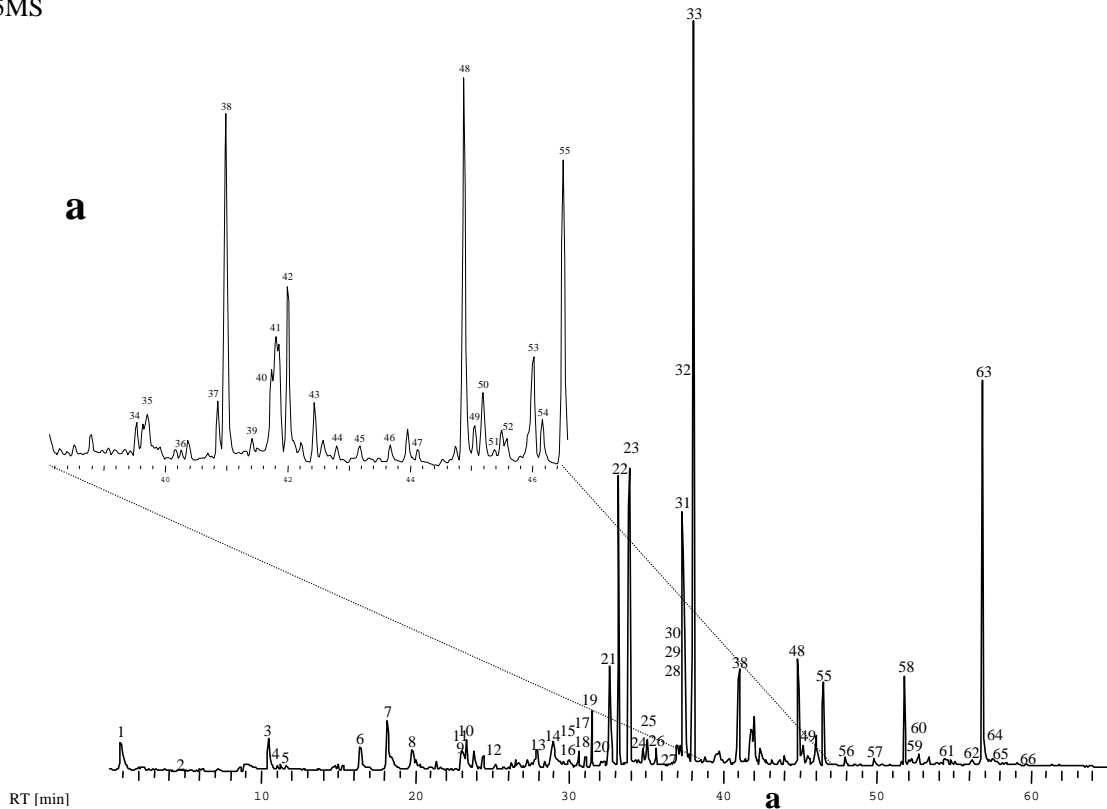


Abbildung 63 Chromatogramm der Pentanfraktion gehäuteter Männchen

- | | |
|--|---|
| 1. 2-Pentanol | 21. (Z)-Hexadec-9-ensäuremethylester |
| 2. Nonanal | 22. Hexadecansäuremethylester |
| 3. 1-(2-Butoxyethoxy)ethanol | 23. Phthalat |
| 4. Decanal | 24. 15-Methylhexadecansäuremethylester |
| 5. m/z 127 | 25. 14-Methylhexadecansäuremethylester |
| 6. Octansäureamid | 26. (Z)-Heptadec-9-ensäuremethylester |
| 7. (E)-2-Octensäureamid | 27. Heptadecansäuremethylester |
| 8. Nonansäureamid | 28. 16-Methylheptadecansäuremethylester |
| 9. Decansäureamid | 29. 15-Methylheptadecansäuremethylester |
| 10. (5Z,8Z,11Z)-5,8,11-Tetradecatrien-2-on | 30. Octadiensäuremethylester |
| 11. (5E,8Z,11Z)-5,8,11-Tetradecatrien-2-on | 31. (Z)-Octadec-9-ensäuremethylester |
| 12. Hexadecan | 32. (Z)-Octadec-11-ensäuremethylester |
| 13. Tetradecansäuremethylester | 33. Octadecansäuremethylester |
| 14. Dodecansäureamid | 34. 17-Methyloctadecansäuremethylester |
| 15. 13-Methyltetradecansäuremethylester | 35. 16-Methyloctadecansäuremethylester |
| 16. 12-Methyltetradecansäuremethylester | 36. Nonadecansäuremethylester |
| 17. Methylpentadecansäuremethylester | 37. (Z5,Z8,Z11,Z14)-Eicosa-5,8,11,14-tetraensäuremethylester |
| 18. 6,10,14-Trimethylpentadecan-2-on | 38. (Z5,Z8,Z11,Z14,Z17)-Eicosa-5,8,11,14,17-pentaensäuremethylester |
| 19. Phthalat | |
| 20. 14-Methylpentadecansäuremethylester | |

39. (ω_6)-Eicosatriensäuremethylester
40. Eicosadiensäuremethylester
41. Eicosensäuremethylester
42. Eicosensäuremethylester
43. Eicosensäuremethylester
44. m/z 99 (4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olid)
45. (ω_3)-Heneicosapentaensäuremethylester
46. Hexandisäuredioctylester
47. Eicosylacetat
48. (Z4,Z7,Z10,Z13,Z16,Z19)-Docosa-4,7,10,13,16,19-hexaensäuremethylester
49. (ω_6)-Docosatetraensäuremethylester
50. (ω_3)-Docosapentaensäuremethylester
51. Docosadiensäuremethylester
52. Docosadiensäuremethylester
53. Silicon Artefakt
54. Docosensäuremethylester
55. Phthalat
56. Tetracosensäuremethylester
57. Tetracosensäuremethylester
58. Squalen
59. m/z 137
60. m/z 137
61. m/z 167
62. 5,22-Cholestadien-3-ol
63. Cholesterin
64. 5,24-Cholestadien-3-ol
65. Desmosterol
66. Cholest-4,6-dien-3-on

In Abbildung 64 ist das Chromatogramm der Dichlormethanfraktion des an Kieselgel getrennten Methanoleluats der Festphasenextraktion attraktiver Weibchen wiedergegeben.

♀ attraktiv (gehäutet)
SPE Dichlormethanfraktion
DB5MS

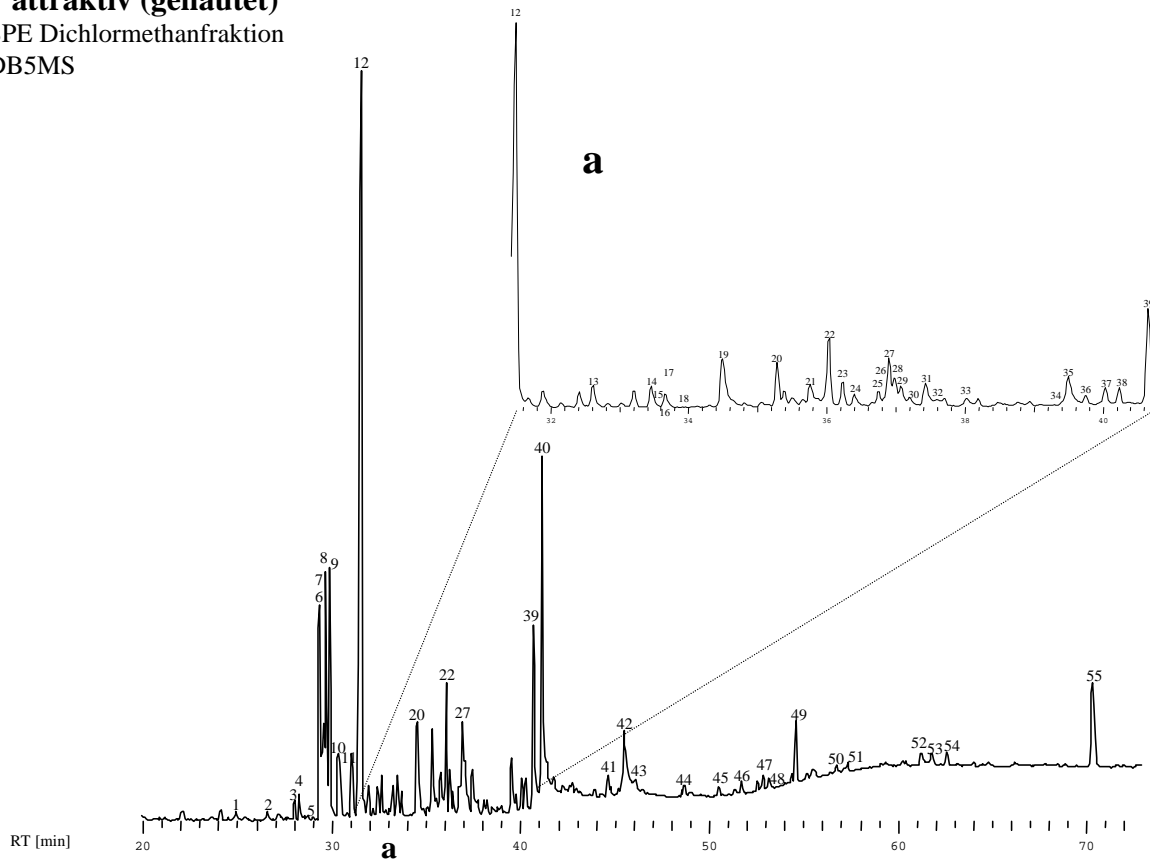


Abbildung 64 Chromatogramm der Dichlormethanfraktion attraktiver Weibchen

- | | |
|--|--|
| 1. (E)-2-Octensäureamid | 20. Dodecensäureamid |
| 2. Nonansäureamid | 21. Tetradecansäure |
| 3. Siliconartefakt | 22. tris-(2-Chlorethyl)phosphat |
| 4. (E)-2-Nonensäureamid | 23. Methyltridecensäureamid |
| 5. (E)-4-Methyl-2-decensäureamid | 24. 9-Methyl-3-hydroxydecensäureamid |
| 6. Decensäureamid | 25. m/z 57/75/79 (Tetradecatrienylpropionat) |
| 7. Decensäureamid | 26. m/z 85/67 (γ -Octadecenlacton) |
| 8. Decensäureamid | 27. m/z 57/75/79 (Tetradecatrienylpropionat) |
| 9. Decensäureamid | 28. m/z 85/67 (γ -Octadecenlacton) |
| 10. Undecensäureamid | 29. m/z 85/67 (γ -Octadecenlacton) |
| 11. Decadiensäureamid | 30. m/z 101/128 |
| 12. (E)-2-Decensäureamid | 31. m/z 101/128 |
| 13. m/z 99/112 | 32. 2-Dodecensäureamid |
| 14. (E)-9-Methyl-2-decensäureamid | 33. 6,10,14-Trimethylpentadecan-2-on |
| 15. γ -14-Methylhexadecanlacton | 34. m/z 79/85 (γ -Eicosatetraenlacton) |
| 16. γ -13-Methylhexadecanlacton | 35. 3-Hydroxydodecensäureamid |
| 17. (E)-8-Methyl-2-decensäureamid | 36. Hexadec-9-ensäuremethylester |
| 18. Tetradecansäuremethylester | 37. m/z 79/85/108 (γ -Eicosatrienlacton) |
| 19. 3-Hydroxydecensäureamid | 38. Hexadecansäuremethylester |

- 39. (Z)-9-Hexadecensäure
- 40. Hexadecensäure
- 41. (Z)-Octadec-9-ensäuremethylester
- 42. (Z)-9-Octadecensäure
- 43. 9-Hexadecensäureamid
- 44. Silikonartefakt
- 45. m/z 99 (4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olid)
- 46. Silikonartefakt
- 47. m/z 117/131
- 48. m/z 117/130
- 49. Triphenylphosphinoxid
- 50. Triphenylphosphinsulfid
- 51. Silikonartefakt
- 52. m/z 137
- 53. m/z 137
- 54. Cholesta-4,6-dien-3-ol
- 55. Cholesterin

In Abbildung 65 sind die Chromatogramme der Dichlormethanfraktion des an Kieselgel getrennten Methanoleluats der Festphasenextraktion gehäuteter Männchen, gemessen auf einer DB5- und einer FFAP-Phase, wiedergegeben.

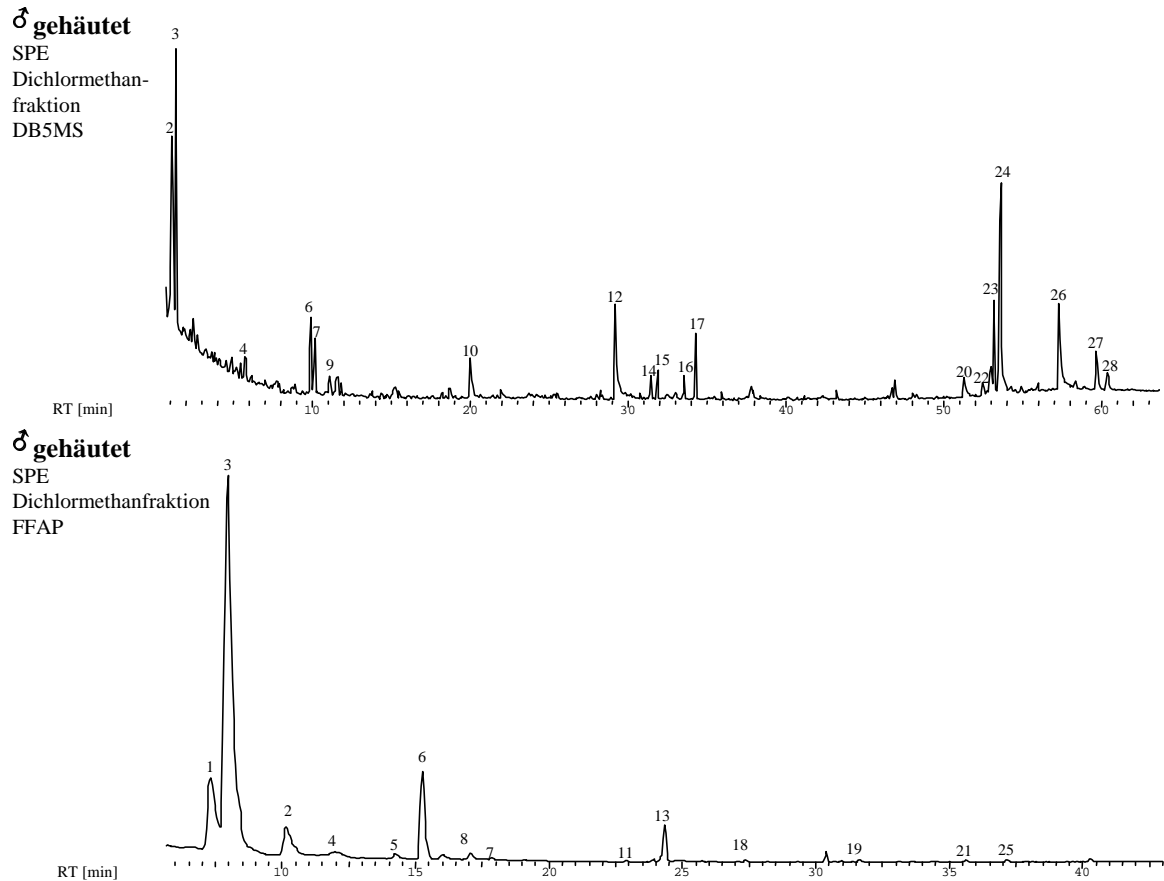


Abbildung 65 Chromatogramme der Dichlormethanfraktion gehäuteter Männchen

- | | |
|--------------------------------------|--------------------------------|
| 1. 3-Pentanol | 15. Phthalat |
| 2. 3-Penten-2-ol | 16. Tetradecansäuremethylester |
| 3. 2-Pentanol | 17. Phthalat |
| 4. Pentan-2,5-dion | 18. 2-Decenal |
| 5. Pentanol | 19. 2-Undecenal |
| 6. 3-Epoxy-pentan-2-on | 20. Cholesta-3,5-dien |
| 7. 3-Epoxy-pentan-2-on | 21. 2-Dodecenal |
| 8. 4-Methylpentan-2-ol | 22. Cholesta-2,4-dien |
| 9. 3-Epoxy-pentan-2-ol | 23. Cholesta-4,6-dien-3-ol |
| 10. m/z 147 | 24. Cholesterylester |
| 11. 2-Nonenal | 25. 1,5-Pentandiol |
| 12. Tri(2-Chlorethyl)phosphat | 26. Cholesterin |
| 13. 2-Pentanol-4-on | 27. Cholest-4-en-3-on |
| 14. 6,10,14-Trimethylpentadecan-2-on | 28. Cholest-4,6-dien-3-on |

In Abbildung 66 ist das Chromatogramm der Methanolfraktion des über Kieselgel gesülten Methanoleluats der Festphasenextraktion attraktiver Weibchen wiedergegeben.

♀ attraktiv (gehäutet)
Methanolfraktion
DB5MS

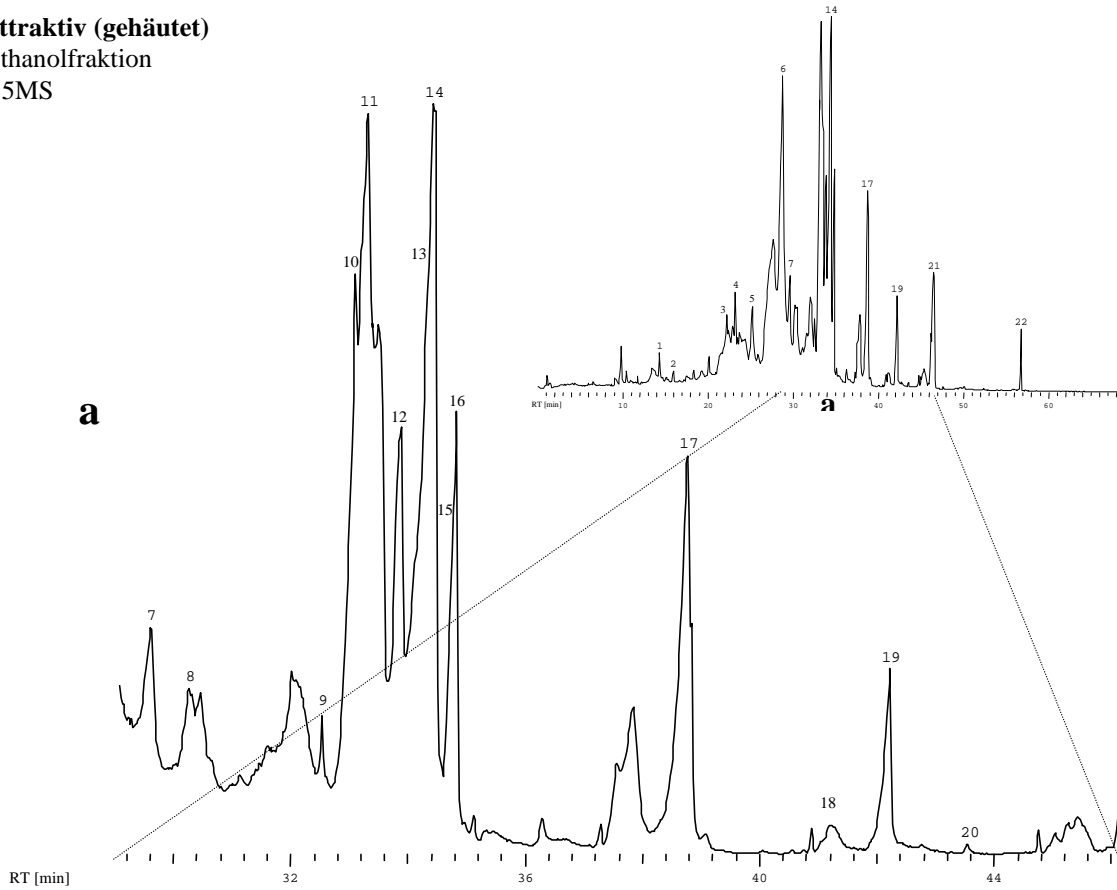


Abbildung 66 Chromatogramm der Methanolfraktion attraktiver Weibchen

- | | |
|---|--|
| 1. Indol | 13. Pro-Leu-Diketopiperazin |
| 2. Decansäureamid | 14. 9-Hexadecensäure |
| 3. 5-Methoxy -1-H-Indol | 15. Pro-Ileu-Diketopiperazin |
| 4. (5Z,8Z,11Z)-5,8,11-Tetradecatrien-2-on | 16. Hexadecansäure |
| 5. (E)-2-Decensäureamid | 17. 9-Octadecensäure |
| 6. 3-Hydroxydecansäureamid | 18. (Z5,Z8,Z11,Z14)-Eicosa-5,8,11,14-tetraensäure |
| 7. Tetradecansäure | 19. (Z5,Z8,Z11,Z14,Z17)-Eicosa-5,8,11,14,17-pentaensäure |
| 8. Pro-Val-Diketopiperazin | 20. Pro-Phe-Diketopiperazin |
| 9. Pro-Ala-Diketopiperazin | 21. Triphenylphosphinoxid |
| 10. Hexadecansäuremethylester | 22. Cholesterin |
| 11. 3-Hydroxydodecadiensäureamid | |
| 12. (Z)-7-Hexadecensäure | |

In Abbildung 67, Abbildung 68, Abbildung 69 und Abbildung 70 sind die Chromatogramme der acetylierten und dehydratisierten Methanolfractionen aus den an Kieselgel getrennten Methanoleluaten von reifen, attraktiven und juvenilen Weibchen sowie von Männchen wiedergegeben.

♀ reif (ungehäutet) Methanolfraction acetyliert und dehydratisiert
DB5MS

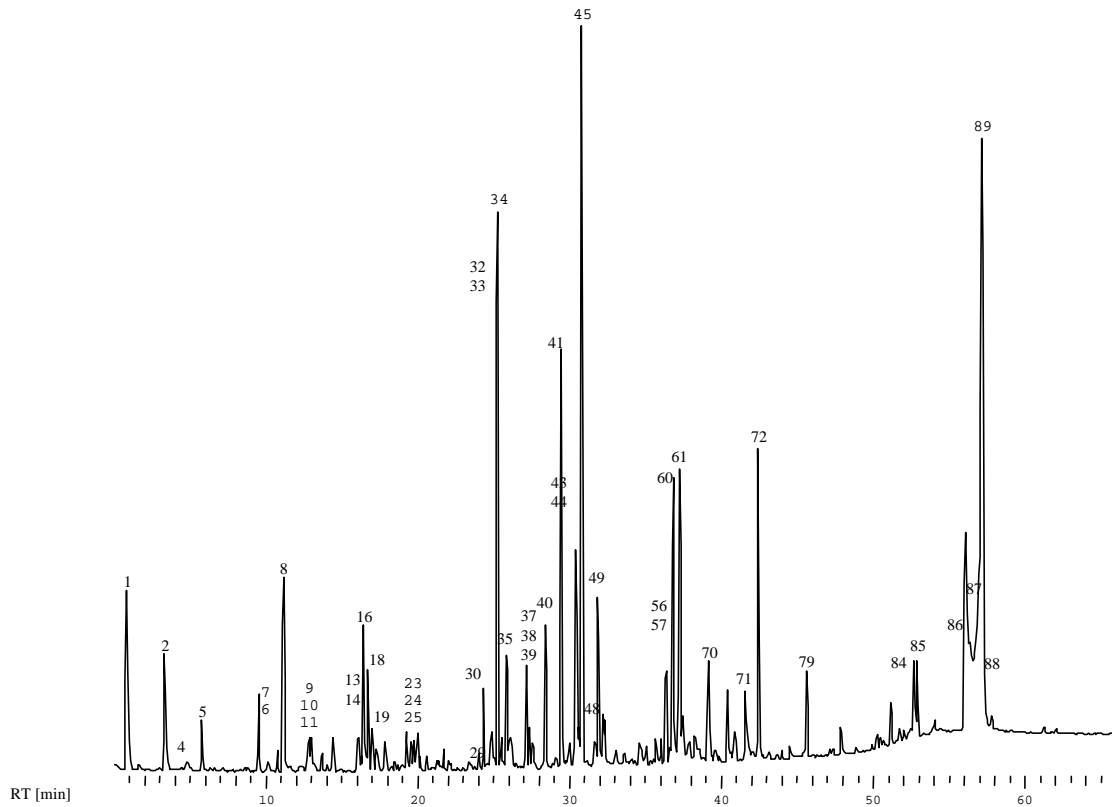


Abbildung 67 Chromatogramm eines derivatisierten Extractes reifer Weibchen

♀ **attraktiv (gehäutet)** Methanolfraction acetyliert und dehydratisiert
DB5MS

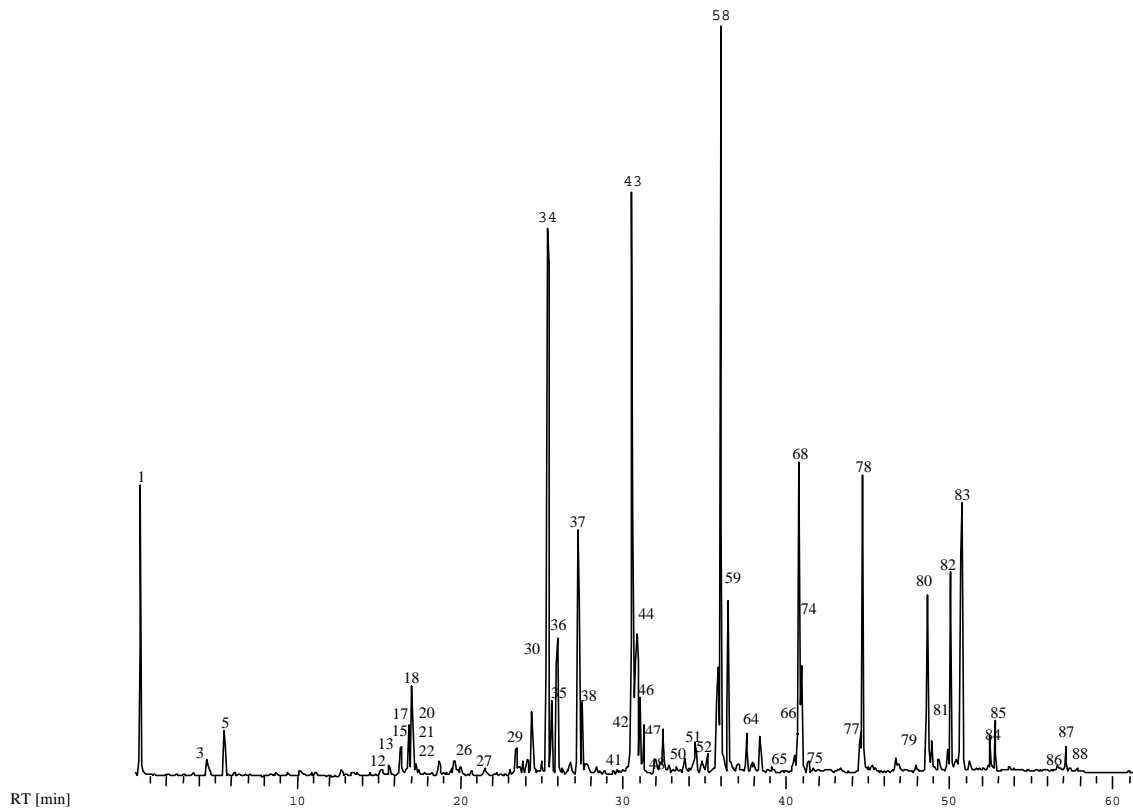


Abbildung 68 Chromatogramm eines derivatisierten Extraktes attraktiver Weibchen

♀ **juvenil gehäutet** Methanolfraction acetyliert und dehydratisiert
DB5MS

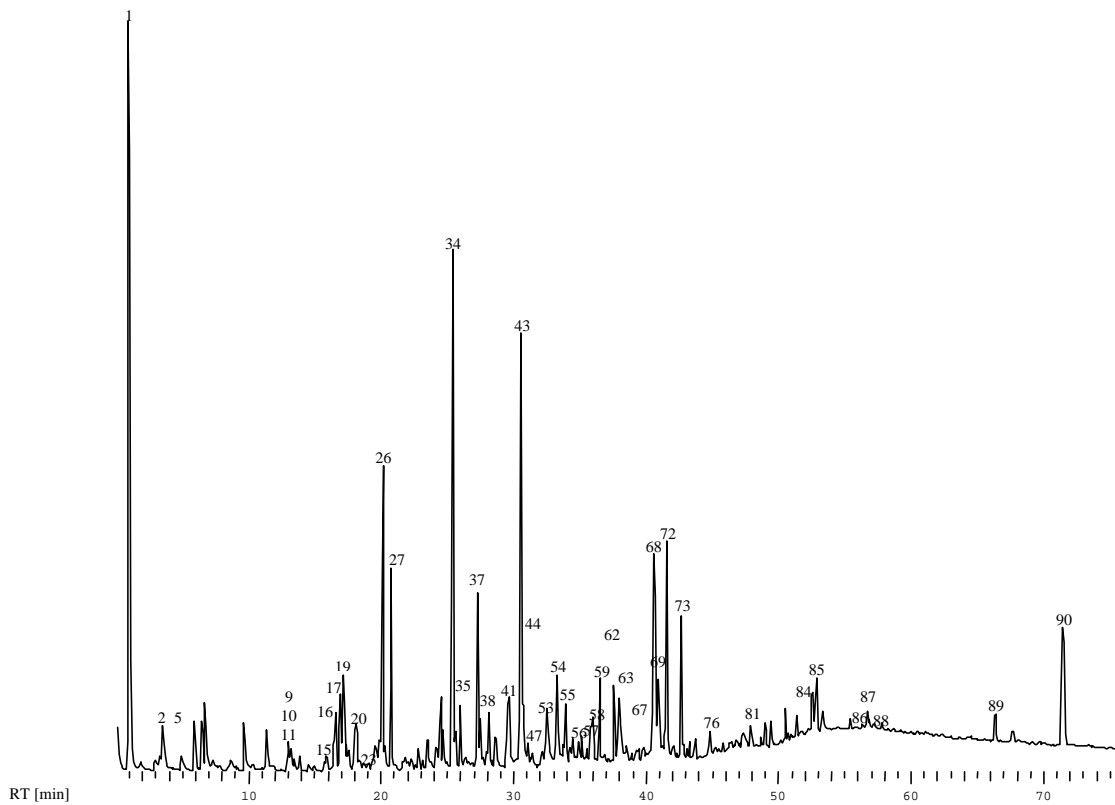


Abbildung 69 Chromatogramm eines derivatisierten Extraktes juveniler Weibchen

♂ gehäutet Methanolfraction acetyliert und dehydratisiert
DB5MS

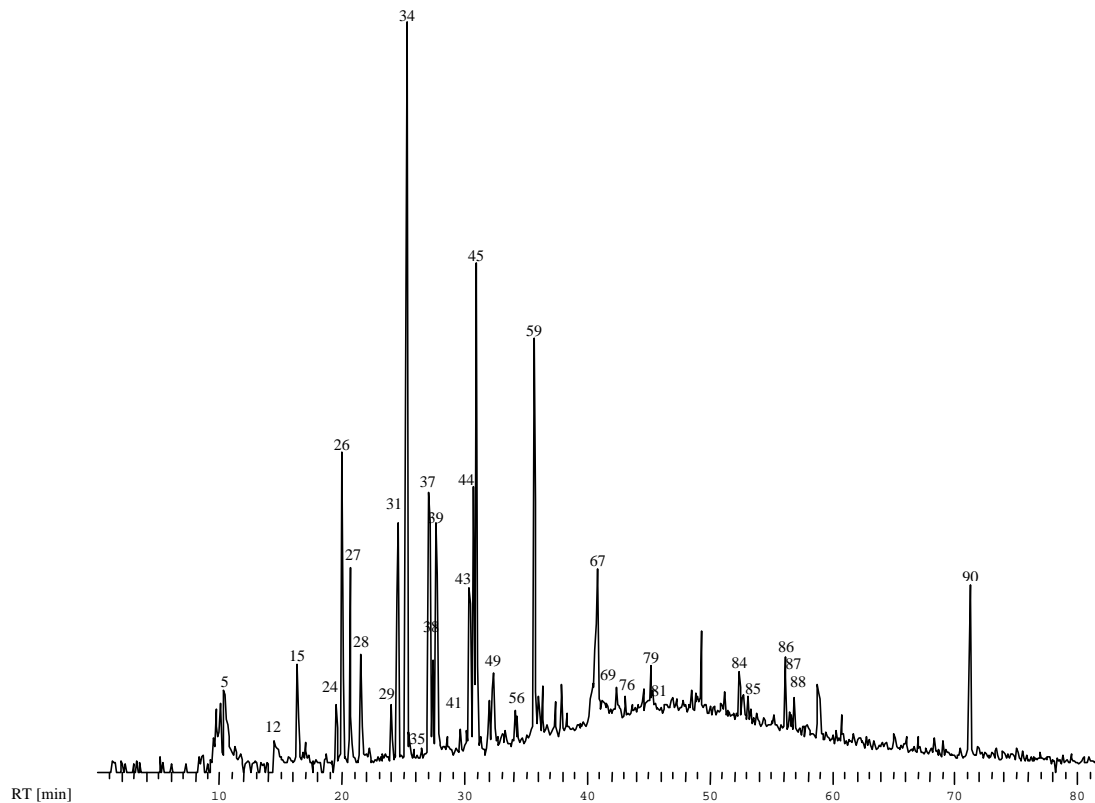


Abbildung 70 Chromatogramm eines derivatisierten Extraktes gehäuteter Männchen

Liste der Inhaltsstoffe aus den Chromatogrammen aus den acetylierten und dehydratisierten Methanolfraction der gesäuften methanolischen Festphasenextrakte attraktiver Weibchen, reifer Weibchen, gehäuteter Männchen und juveniler gehäuteter Weibchen:

- | | |
|-------------------------------------|---|
| 1. Ethanal | 24. Decansäure |
| 2. Benzaldehyd | 25. Glyceryltriacetat |
| 3. m/z 43/86/103 | 26. m/z 127/141 |
| 4. 1,1-Ethandioldiacetat | 27. m/z 127/141 |
| 5. Hexa-5-onylacetat | 28. 3-Acetyl-2,6-dimethyl-4-H-pyran-4-on- |
| 6. Decannitrilaldehyd | 29. 8-Methyl-3-acetoxydecensäurenitril |
| 7. Phenylpropan-2-on | 30. m/z 43/98/102 |
| 8. Indol | 31. m/z 43/141/183 |
| 9. m/z 43/68/153 | 32. 3-Acetoxydecensäurenitril |
| 10. 2-Butendioldiacetat | 33. 3-Acetoxydecensäurenitril |
| 11. m/z 43/68/153 | 34. 3-Acetoxydecensäurenitril |
| 12. 3-Acetoxyoctensäuremethylester | 35. 4-Methyl-3-acetoxydecensäurenitril |
| 13. Nonansäure | 36. m/z 43/85/102 |
| 14. (E)-4-Methyl-2-nonensäurenitril | 37. 9-Methyl-3-acetoxydecensäurenitril |
| 15. Decensäurenitril | 38. 8-Methyl-3-acetoxydecensäurenitril |
| 16. m/z 43/84/126 | 39. N-Acetylphenylalaninmethylester |
| 17. Decensäurenitril | 40. (Z)-N-Acetyl-2-aminozimtsäure |
| 18. m/z 43/84/126 | 41. (E)-N-Acetyl-2-aminozimtsäure |
| 19. (E)-2-Decensäurenitril | 42. Hexandisäurediisobutylester |
| 20. (E)-4-Methyl-2-decensäurenitril | 43. (Z)-3-Acetoxydodec-5-ensäurenitril |
| 21. 4-Methyldecensäurenitril | 44. (E)-3-Acetoxydodec-5-ensäurenitril |
| 22. 9-Methyldecensäurenitril | 45. Phthalat |
| 23. p-Acetoxybenzaldehyd | 46. N-Acetylphenylalaninmethylester |

47. Tetradecansäuremethylester
48. 3-Acetyldodecansäurenitril
49. Tetradecansäure
50. 3-Acetyltridecadiensäuremethylester
51. Pentaensäuremethylester
52. N-Acetylphenylalanin
53. m/z 43/60/72
54. m/z 70/91/155
55. Siliconartefakt
56. 3-Acetyltetradeca-5,8,11-triensäurenitril
57. Tetradecansäurenitril
58. (Z)-Hexadec-9-ensäuremethylester
59. Hexadecansäuremethylester
60. (Z)-9-Hexadecensäure
61. Hexadecansäure
62. Phtalat
63. Siliconartefakt
64. (Z)-Heptedec-9-ensäuremethylester
65. ω_6 -Octadecatriensäuremethylester
66. ω_6 -Octadeca-9,12-diensäuremethylester
67. (Z)-9-Hexadecensäurenitril
68. (Z)-Octadec-9-ensäuremethylester
69. Hexadecansäurenitril
70. Phenolderivat
71. (Z)-9-Octadecensäure
72. Artefakt
73. Artefakt
74. (Z)-Octadec-11-ensäuremethylester
75. Octadecansäuremethylester
76. Octadecylacetat
77. (Z5,Z8,Z11,Z14)-Eicosa-5,8,11,14-tetraensäuremethylester
78. (Z5,Z8,Z11,Z14,Z17)-Eicosa-5,8,11,14,17-pentaensäuremethylester
79. Sphingosyltriacetat
80. (Z4,Z7,Z10,Z13,Z16,Z19)-Docosa-4,7,10,13,16,19-hexaensäuremethylester
81. Glyceryldiacetytetradecanoat
82. m/z 43/59/79 (3-Acetoxyeicosatetraensäuremethylester)
83. Triphenylphosphoran Artefakt
84. (Z)-Glyceryldiacetoxyhexadec-9-enoat
85. Glyceryldiacetoxyhexadecanoat
86. (Z)-Glyceryldiacetoxyoctadec-9-enoat
87. (Z)-Glyceryldiacetoxyoctadec-11-enoat
88. Glyceryldiacetoxyoctadecanoat
89. Artefakt
90. Cholesterylacetat

In Abbildung 71, Abbildung 72, Abbildung 73 und Abbildung 74 sind die Chromatogramme aus der Untersuchung der Rückenpartie und der Antennendrüsenausscheidungen attraktiver Weibchen mit Mikrofestphasen (SPME) wiedergegeben.

♀ Antennen SPME unpolar

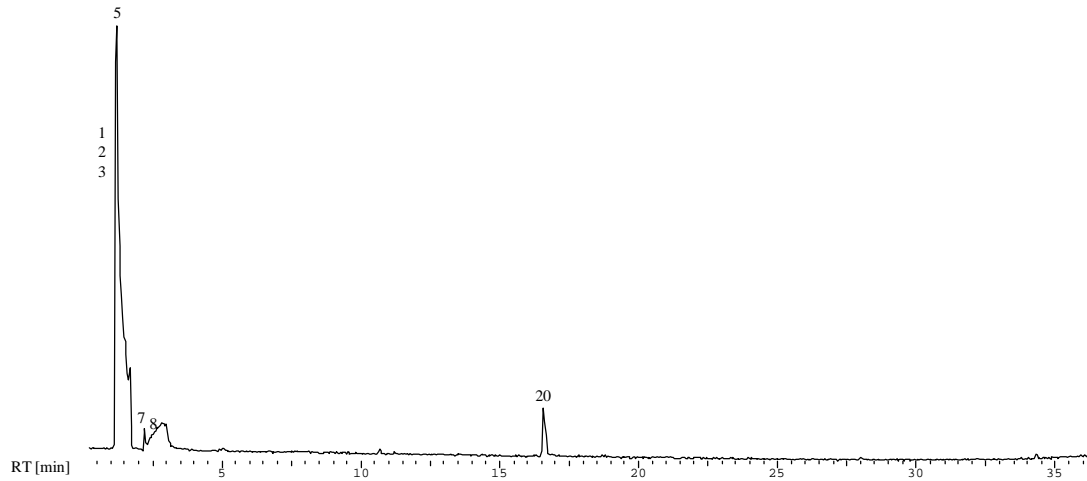


Abbildung 71 Chromatogramm aus einer Mikrofestphasenextraktion in der Umgebung der Antennendrüse

♀ Rücken SPME unpolar

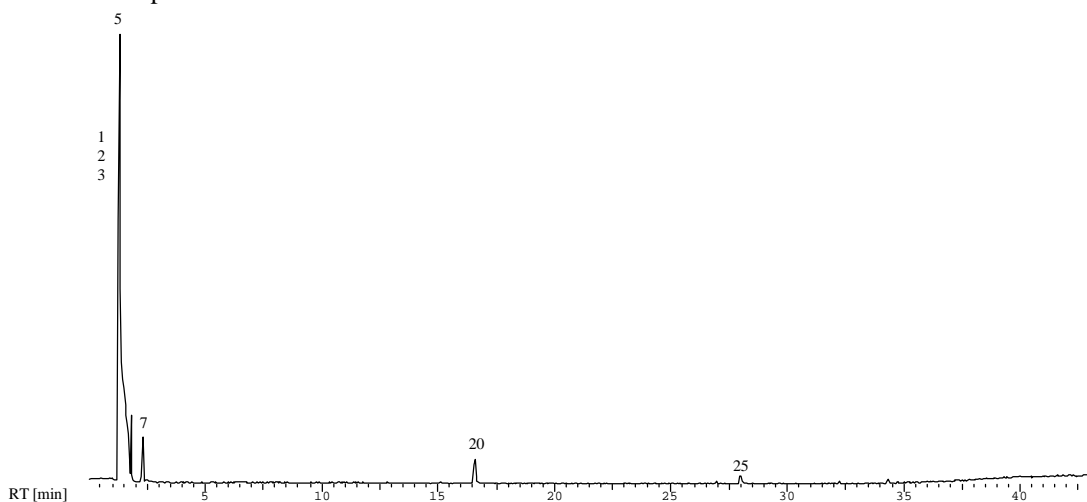


Abbildung 72 Chromatogramm aus einer Mikrofestphasenextraktion des Rückenbereichs

♀ Rücken SPME polar

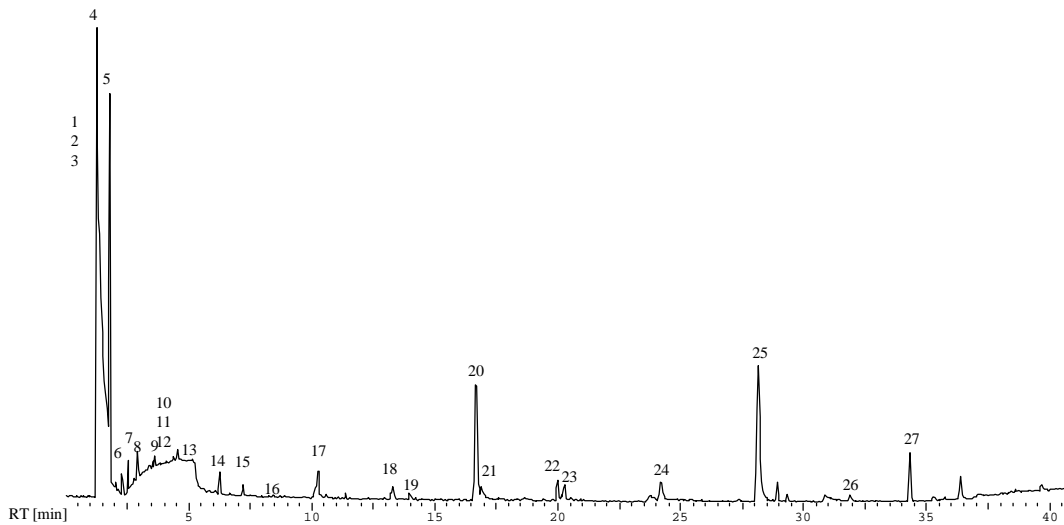


Abbildung 73 Chromatogramm aus einer Mikrofestphasenextraktion des Rückenbereichs

Liste der Inhaltsstoffe aus den Chromatogrammen der Untersuchung der Rückenpartie und der Antennendrüsenausscheidung attraktiver Weibchen mit Mikrofestphasen (SPME) :

- | | |
|------------------|---------------------------|
| 1. Pentan | 14. Styrol |
| 2. Diethylether | 15. 1,4-Dioxan |
| 3. m/z 101/103 | 16. Octanal |
| 4. 2-Propanol | 17. Nonanal |
| 5. Dichlormethan | 18. 2-Ethylhexanol |
| 6. 2-Butylamin | 19. Benzaldehyd |
| 7. Chloroform | 20. Butyrolacton |
| 8. Toluol | 21. 2-Nonenal |
| 9. Hexanal | 22. m/z 45/102 |
| 10. o-Xylol | 23. m/z 58/89 |
| 11. m-Xylol | 24. 4-Decylmorpholin |
| 12. p-Xylol | 25. 4-Dodecylmorpholin |
| 13. Heptanal | 26. 4-Tetradecylmorpholin |
| | 27. m/z 55/173 |

In Abbildung 74 ist das Chromatogramm der SPME-Untersuchung des wässrigen Extraktes von reifen Weibchen wiedergegeben.

♀ reif (ungehäutet)
SPME polar

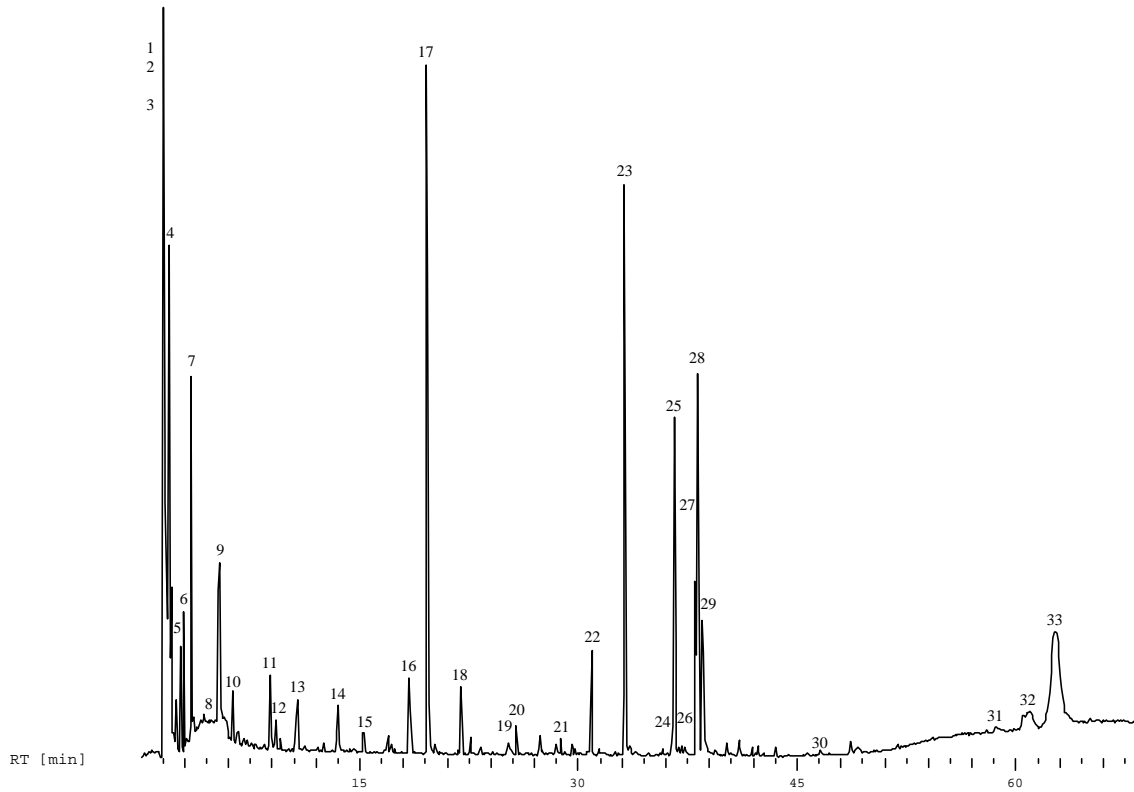


Abbildung 74 Chromatogramm einer Mikrofestphasenextraktion

- | | |
|-----------------------------|---|
| 1. Diethylether | 18. (3E,5Z)-3,5-Octadien-2-on |
| 2. 2-Propanamin | 19. Benzacetaldehyd |
| 3. Schwefelkohlenstoff | 20. m/z 79/120 |
| 4. Ethylacetat | 21. 4-Ethylanilin |
| 5. Chloroform | 22. m/z 127 |
| 6. Toluol | 23. m/z 141 |
| 7. Hexanal | 24. (5Z,8Z)-Tetradeca-5,8-dien-2-on |
| 8. Kohlendioxid | 25. m/z 127 |
| 9. Heptanal | 26. (5E,8Z)-Tetradeca-5,8-dien-2-on |
| 10. m/z 81/138 | 27. (5Z,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on |
| 11. Octanal | 28. m/z 141 |
| 12. 1-Octen-3-on | 29. (5E,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on |
| 13. m/z 43/79/108 | 30. Indol |
| 14. Nonanal | 31. 3-Hydroxydecansäureamid |
| 15. 2-Octenal | 32. Phe,Pro-Diketopiperazin |
| 16. (2E,4Z)-2,4-Heptadienal | 33. Cholesterin |
| 17. Benzaldehyd | |

5.4.3 Identifizierte Inhaltsstoffe von Männchen und Weibchen in verschiedenen Entwicklungsstadien

♀ rf ug	: Weibchen mit reifen Ovarien vor der Häutung	+++	: Hauptkomponente
♀ rf gh	: frisch gehäutete attraktive Weibchen	++	: Nebenkomponekte
♂ gh	: frisch gehäutete Männchen	+	: Unterkomponente
♀ ur gh	: frisch gehäutete nicht attraktive Weibchen	(+)	: Restkomponente
		s-sss	: Spurenkomponente

Tabelle 5 Inhaltsstoffe von Männchen und Weibchen in verschiedenen Entwicklungsstadien

Substanzen	♀ rf ug	♀ rf gh	♂ gh	♀ ur gh
Kohlenwasserstoffe				
Decan	s	s		
9-Methyldecan	s			
8-Methyldecan	s			
Undecan	s			
m/z 79/91/108/176 (Tetraentridecan)		s		
Dodecan	s	s		s
Tetradecan	s	s		s
13-Methyltetradecan				s
12-Methyltetradecan				s
Pentadecan	s	s		s
7-Hexadecen	s			
6-Hexadecen	s			
Hexadecan	s	s		s
Heptadecan	s	s		
Octadecan	s	s		
Eicosan	s	s		
Aldehyde				
Ethanal	++	+		+++
Propanal				
(2E,4Z)-2,4-Heptadienal	s	s		
(2E,4E)-2,4-Heptadienal	s	s		
Octanal		s		
Octenal		s		
2-Octenal	s		s	
Nonanal		s	ss	
2-Nonenal			ss	
Decanal	s	s	ss	
2-Decenal		s	s	
(2E,4E)-2,4-Decadienal		s		
(2E,4Z)-2,4-Decadienal		s		
Decatrienal		s		
Undecanal	s			
2-Undecenal			ss	
Hexadecanal	s			
Heptadecanal	s			
Heterocyclen				

Substanzen	♀ rf ug	♀ rf gh	♂ gh	♀ ur gh
Fufurylmethanol	s			
Pyridin	s	+		s
N-Methylpyrrolidin	s			s
Indol	s	s		
Benzothiazol		s		
Aromaten				
Benzoessäure	s			
3-Phenylpropenal	s			
Phenyllessigsäure	s			
4-Methoxyphenol				
Benzaldehyd	+			+
Benzylmethylketon				
4-Hydroxybenzaldehyd	s			+
Alkohole				
Dimethyltrisulfid	s	s		
2-Butanol	s			
3-Pentanol			+	
2-Pentanol	s		+++	
3-Penten-2-ol	++	s	(+)	
Pentanol			s	
2-Hexanol		s		
Hexanol		s		
2-Heptanol	s			
Octanol		s		
3-Epoxy-2-pentanol (4 Isomere)			s	
5-Hexanon-1-ol	+	+	+	+
2,4-Pentandiol		s		
1,5-Pentandiol			s	
Octadecanol			s	s
2-Eicosanol	ss			
1-Eicosanol	s			
Ketone				
3,5-Diacetyl-2,6-dimethyl-4-H-pyran-4-on			++	
3,5-Dimethyl-4-H-pyran-4-on			++	
2,4-Pentadion			s	
3-Epoxy-2-pentanon		s	++	
4-Methyl-3-penten-2-ol			s	
3-Epoxy-2-pentanon		s	s	
Pentan-2-ol-4-on		s	+	
(3E,5Z)-3,5-Octadien-2-on	s	ss		
(3E,5E)-3,5-Octadien-2on	ss	s		
2-Methyloctan-3-on		s		
3-Methyloctan-2-on		s		
Nonan-2-on	s	ss		
Deca-2-on	s	ss		
Undeca-2-on	s	s		
Undecatrien-2-on		s		
Trideca-2-on	s	s		
(5Z,8Z)-5,8-Tetradecadien-2-on	s	ss	ss	(+)
(5E,8Z)-5,8-Tetradecadien-2-on	s	ss		s
(5Z,8Z,11Z)-5,8,11-Tetradecatrien-2-on	+++	+	s	+++
(5E,8Z,11Z)-5,8,11-Tetradecatrien-2-on	+++	(+)	s	++
Pentadecan-2-on		s		

Substanzen	♀ rf ug	♀ rf gh	♂ gh	♀ ur gh
Heptadecan-2-on		s		
6,10,14-Trimethylpentadecan-2-on	(+)	+	s	(+)
Amide				
Dimethylformamid	s	s		s
Dimethylacetamid		s		s
N-Methyl-2-Pyrolidon				s
2-Pyrolidon	s	(+)		
Acetamid	s			s
ε-Caprolactam	s			s
Octansäureamid	s		s	s
7-Methyloctansäureamid	s			s
2-Octensäureamid	s	s	(+)	s
8-Methylnonansäureamid	s	s		s
Nonansäureamid	s	s	s	s
4-Methyl-2-Nonensäureamid		s		
Decensäureamid	++	+		+
Decensäureamid	+	s		(+)
Decensäureamid	+++	+		+
Decensäureamid	+++	+	s	++
2-Decensäureamid	+++	+++	s	++
4-Methyl-2-Decensäureamid	+	s		s
4-Methyldecensäureamid	s	s		(+)
9-Methyldecensäureamid	s	s		
8-Methyldecensäureamid	ss			s
9-Methyl-2-decensäureamid	s	s		
8-Methyl-2-decensäureamid	s	s		
3-Dodecensäureamid		s		
Dodecensäureamid	s	s	s	(+)
2-Dodecensäureamid		s		
5,8,11-Tetradecatriensäureamid	s			s
5,8,11-Tetradecatriensäureamid	ss			
Tetradecensäureamid	s	+	+	s
Hexadecensäureamid	s		s	+
Hexadecensäureamid	s		++	++
(Z)-9-Octadecensäureamid	s			
(Z)-7-Octadecensäureamid	ss			
Octadecensäureamid	s			
Benzylidensäureamid	++			
Hydroxysäureamide				
3-Hydroxy-4-methylnonansäureamid		s		
3-Hydroxy-8-methylnonansäureamid	s	s		s
(3S)-3-Hydroxydecensäureamid	+++	+++	+	+++
3-Hydroxy-4-methyldecensäureamid	s	+	s	s
3-Hydroxy-9-methyldecensäureamid	+	++	s	++
3-Hydroxy-8-methyldecensäureamid	s	+	s	s
3-Hydroxyundecensäureamid	s	s		
3-Hydroxydodecensäureamid	s	++	s	(+)
3-Hydroxydodecensäureamid	+++	+++	+	+++
(3S)-3-Hydroxydodecensäureamid	s	+		
(3S)-(5Z,8Z,11Z)-3-Hydroxytetradeca-5,8,11-triensäureamid	s	+	s	s
Aminosäuren				
Leucin	s			

Substanzen	♀ rf ug	♀ rf gh	♂ gh	♀ ur gh
Isoleucin	s			
Phenylalaninmethylester		++		
Phenylalanin	s	s		
(E)-2-Aminozimtsäure	+++	s	+	++
(Z)-2-Aminozimtsäure	++	s		
Hydroxysäuren				
5-Methyl-3-hydroxyhexansäure	s	s	s	s
4-Methyl-3-hydroxyhexansäure		s	s	s
6-Methyl-3-hydroxyheptansäure			s	
5-Methyl-3-hydroxyheptansäure			s	
(3S)-3-Hydroxyoctansäure	s	s	s	s
(3S)-3-Hydroxydecansäure	s	s		
m/z _{Ac/Me} 43/59/79/103/210 (3-Hydroxydodecansäure)	s	s		
(3S)-3-Hydroxydodecansäure		+		
m/z _{Ac/Me} 43/59/79/103/221 (3-Hydroxytridecadiensäure)		s		
9,10-Dihydroxyoctadecansäure		ss		
Säuren				
Ameisensäure	s	ss		
Essigsäure	++	s		s
Buttersäure	s	s		s
Isovaleriansäure	++	sss		s
Valeriansäure				s
Capronsäure	s	s		s
Heptansäure/Önanthsäure				s
Octansäure/Caprylsäure	s			s
Nonansäure/Pelargonsäure	s	s		s
Decansäure/Caprinsäure	+	s		
Dodecansäure/Laurinsäure	(+)			s
Tetradecansäure/Myristinsäure	++	+		+
14-Methylpentadecansäure	s	++		
13-Methylpentadecansäure		s		
Pentadecansäure	s			
9-Hexadecansäure/Palmitinoleinsäure	+++	+++	s	s
Hexadecansäure/Palmitinsäure	+++	+++	++	s
9,12-Octadecadiensäure		+		
Z-9-Octadecensäure/Ölsäure	++	++		
Z-7-Octadecensäure	s			
Z-11-Octadecensäure	s			
Octadecansäure/Stearinsäure				s
(5Z,8Z,11Z,14Z)-Eicosa-5,8,11,14-tetraensäure		s		
(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-Eicosa-5,8,11,14,17-pentaensäure	+	+		
Eicosatriensäure (Ω_6)		s		
Eicosatetraensäure (Ω_3)		s		
(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-Docosa-4,7,10,13,16,19-hexaensäure		+		
Lactone				
4-Tetradecanolid	s	s		
4-Pentadecanolid.		s		
4-Hexadecanolid	++	s		
m/z 99 (6,10,14,18-Tetramethylheptadecan-4-olid)	s			
m/z 85/67 (γ -Octadecenlacton)		s		
m/z 85/67 (γ -Octadecenlacton)		s		

Substanzen	♀ rf ug	♀ rf gh	♂ gh	♀ ur gh
m/z 85/67 (γ -Octadecenlacton)		s		
m/z 79/85/108 (γ -Eicosatrienlacton)		s		
m/z 79/85/108 (γ -Eicosatetraenlacton)		s		
10-Hexadecanolid	ss			
9-Hexadecanolid	ss			
10-Octadecanolid	ss			
9-Octadecanolid	ss			
Ester				
Decylacetat	ss			
Dodecylacetat	ss			
Hexadecylacetat	s			s
Octadecylacetat	s	s		
Docosylacetat		(+)		
Hexandisäurediisobutylester	s	s		
Tetradecatrienylpropionat		s		
Tetradecatrienylpropionat		s		
Tetradecansäureisopropylester				s
Hexadecansäureisopropylester		s		
Ameisensäuremethylester	s			
Octansäuremethylester	s	ss		
Nonansäuremethylester				
Decansäuremethylester	s	s		
Dodecansäuremethylester	s	s		
Tridecatriensäuremethylester	s			
Tridecatriensäuremethylester	s			
Tridecansäuremethylester				
Tetradecansäuremethylester				
13-Methyltetradecansäuremethylester	s	s		s
12-Methyltetradecansäuremethylester	s	s		s
Pentadecatriensäuremethylester ($\omega 3$)		s		
Pentadecansäuremethylester	(+)	s		s
14-Methylpentadecansäuremethylester	s	s		
Hexadecatriensäuremethylester ($\omega 6$)	ss	s		
Hexadecatriensäuremethylester ($\omega 3$)	ss	s		
Hexadec-7-ensäuremethylester				
(9Z)-Hexadec-9-ensäuremethylester	+++	+++	+	+
Hexadec-11-ensäuremethylester	s	s		
Hexadecansäuremethylester	++	++	+++	+++
Heptadec-7-ensäuremethylester	s		s	s
15-Methylhexadecansäuremethylester	s	s		s
14-Methylhexadecansäuremethylester	s	s		s
Heptadec-9-ensäuremethylester	s	s		
Heptadecansäuremethylester		+	s	
16-Methylheptadecansäuremethylester		s		s
15-Methylheptadecansäuremethylester				s
Octadeca-6,9,12-triensäuremethylester	s	s		
Octadecatetraensäuremethylester ($\omega 3$)	s	s		
Octadeca-9,12-diensäuremethylester	s	(+)	s	s
Octadeca-9,12,15-triensäuremethylester	sss	s		
(9Z)-Octadec-9-ensäuremethylester	++	+++	++	+
(11Z)-Octadec-11-ensäuremethylester	+	+	s	s
Octadecadiensäuremethylester ($\omega 3$)	ss	ss		
Octadec-15-ensäuremethylester	s	s		

Substanzen	♀ rf ug	♀ rf gh	♂ gh	♀ ur gh
Octadecansäuremethylester	s	s	+++	s
17-Methyloctadecansäuremethylester		sss		
16-Methyloctadecansäuremethylester		sss		
(5Z,8Z,11Z,14Z)-Eicosa-5,8,11,14-tetraensäuremethylester	s	(+)		
(5Z,8Z,11Z,14Z)-Eicosa-5,8,11,14,17-pentaensäuremethylester	+	+++	+	
Eicosatriensäuremeester (ω6)	ss	s		
Eicosatetraensäuremethylester (ω3)	s	s		
Eicosadiensäuremethylester (ω6)	s	s		
Eicos-11-ensäuremethylester	s	s	+	
Eicosatriensäuremethylester (ω3)		ss		
Eicosansäuremethylester	s	s		
Heneicosansäuremethylester	ss			
Docosapentaensäuremethylester (ω6)	s			
(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-Docosa-4,7,10,13,16,19-hexaensäuremethylester	(+)	++	+	
Docosatetraensäuremethylester (ω6)	s	s		
Docosapentaensäuremethylester (ω3)	s			
Docosadiensäuremethylester (ω6)	s			
13-Docosensäuremethylester	s	s		
16-Docosensäuremethylester	s	s		
Docosansäuremethylester		s		
Tetradocosansäuremethylester		s		
Glyceride				
Dihydroxypropyltetradecanoat	s	s	s	s
Dihydroxypropylhexadec-9-enoat	s	s	s	s
Dihydroxypropylhexadecanoat	s	s	s	s
Dihydroxypropyltetradec-9-enoat	s	s	(s)	s
Dihydroxypropyltetradec-7-enoat	s	s	(s)	s
Dihydroxypropyltetradecanoat	s	s	(s)	s
Isoprenoide				
Squalen	s	s	s	
3,5-Cholestadien	s		s	
m/z 137/402/419/462 (Tocopherolderiv.acetat)	s	+		
2,4-Cholestadien	s		+	
m/z 137/402/419/462 (Tocopherolderiv.acetat)	s	+		
Cholesta-4,6-dien-3ol	s	s	+	
Cholesta-4,5-dien-3ol			ss	
Cholestadien	s		+++	
m/z 167/278/306 (Tocopherolderiv.)	s			
m/z 137/401/316 (Tocopherolderiv.)	s			
m/z 167/278/306 (Tocopherolderiv.)	s			
m/z .167/278/306 (Tocopherolderiv.)	s			
Cholesta-5,22-dien-3ol	s	s		
α-Tocopherol	s	s		
Cholesterin	+	+++	++	
α-Tocopherolacetat	s			
Cholesta-5,24-dien-3ol	s	s		
Cholest-4-en-3-on	s		s	
Cholest-4,6-dien-3on	s		s	
Desmossterol				
Diketopiperazine	s			
Pro-Ala-Diketopiperazin	s			

Substanzen	♀ rf ug	♀ rf gh	♂ gh	♀ ur gh
Pro-Val-Diketopiperazin	s	s		
Pro-Phe-Diketopiperazin	sss	s		
Pro-Phe-Diketopiperazin	s	s		
Pro-Pro-Diketopiperazin	s	s		
Pro-Leu-Diketopiperazin	s	s		
Pro-Ileu-Diketopiperazin	s	s		
m/z 44/72/128 (Val-Ala-Diketopiperazin)	s			
m/z 44/86/128 (Leu-Ala-Diketopiperazin)	s			
m/z 44/86/128 (Ileu-Ala-Diketopiperazin)	s			
m/z 86/170 (Leu-Leu-Diketopiperazin)	s			
m/z 86/170 Leu-Ileu-Diketopiperazin)	s			
m/z 86/170 (Ileu-Ileu-Diketopiperazin)	s			
Unbekannte Verbindungen				
m/z 43/85/100			+++	+
m/z 43/85/100			++	(+)
m/z 43/85/127/141.			+++	+++
m/z 43/85/127/141			+++	++
m/z 43/80/136/179				+
m/z 127	+			s
m/z 141	+	s		+
m/z 127	+	s		s
m/z 141	+	s		+

Ac : Acetylierte Verbindung

Me : Methylierte Verbindung

Es konnten 289 verschiedene Substanzen in den Extrakten nachgewiesen werden, davon 16 Kohlenwasserstoffe, 17 Alkohole, 18 Aldehyde, 23 Ketone, 38 Carbonsäuren, 65 Carbonsäureester und 14 Lactone, 48 Amide, 19 Isoprenoide, 23 Heterocyklen und 7 Aromaten.

Bis auf einige Alkane [89] und ein Teil der Fettsäuren [74], wurden alle Substanzen das erste Mal in *Crangon crangon* nachgewiesen. 6 Hydroxysäureamide und 4 makrocyclische Lactone sind neue Naturstoffe und bisher nicht in der Literatur beschrieben worden.

In Tabelle 6 Inhaltsstoffe der Mikrofestphasenextraktionen sind die Inhaltsstoffe aus den Mikrofestphasenuntersuchungen (SPME) aufgeführt.

Ant. SPME unpolar	: unpolare Mikrofestphasenextrakte von Wasser aus den Antennendrüsen attraktiver Weibchen	+++	: Hauptkomponente
Ant. SPME polar	: polare Mikrofestphasenextrakte von Wasser aus den Antennendrüsen attraktiver Weibchen	++	: Nebenkompone
Rück. SPME polar	: polare Mikrofestphasenextrakte von der Rückenmitte attraktiver Weibchen	+	: Unterkompone
♀ reif polar	: polare Mikrofestphasenextrakte von Wasserextrakt reifer (ungehäuteter) Weibchen	(+)	: Restkomponente
		s-sss	: Spurenkompone

Tabelle 6 Inhaltsstoffe der Mikrofestphasenextraktionen

Substanzen	Ant. SPME unpolar	Ant. SPME polar	Rück. SPME polar	♀ reif SPME polar
Alkane/Ether/Alkohole/ Halogenalkane				
Pentan	+	+	+	
Diethylether	+	+	+	
2-Propanol			+++	
Chloroform	+	+	+	(+)
2-Ethylhexanol			(+)	
Aromaten				
Toluol	s	s	+	(+)
o-Xylol			s	
m-Xylol			s	
p-Xylol			s	
Styrol			(+)	
Benzaldehyd			s	+++
Benzacetaldehyd				s
p-Ethylanilin				s
Heterocyklen				
Butyrolacton	++	++	++	
Indol				s
4-Decylmorpholin			(+)	
4-Dodecylmorpholin			+++	
4-Tetradecylmorpholin			s	
1,4-Dioxan				
Pro-Phe-Diketopiperazin				+
Aldehyde/Ketone				
Hexanal			(+)	++
Heptanal			s	+
Octanal			s	(+)
1-Octen-3-on				s
Nonanal			+	(+)
(2E)-2-Octenal				s
(2E)-2-Nonenal			s	
(2E,4Z)-2,4-Heptadienal				+

Substanzen	Ant. SPME unpolar	Ant. SPME polar	Rück. SPME polar	♀ reif SPME polar
(3E,5Z)-3,5-Octadien-2-on				+
(5Z,8Z)-Tetradeca-5,8-dien-2-on				ss
(5E,8Z)-Tetradeca-5,8-dien-2-on				ss
(5Z,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on				+
(5E,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on				+
Isoprenoide				
Cholesterin				+++
Hydroxysäureamide				
3-Hydroxydecansäureamid				+
unbekannte Verbindungen				
m/z 101/103	+	+	+	
m/z 43/79/108				(+)
m/z 79/120				(+)
m/z 45/102			(+)	
m/z 58/89			(+)	
m/z 127				+
m/z 141				+++
m/z 127				++
m/z 141				++
m/z 55/173			(+)	

5.4.4 Hauptkomponenten

Die Hauptkomponenten in den Extrakten bilden die Carbonsäuren und Carbonsäuremethylester, sowie die hydroxylierten Amide. Hexadecan- und Palmitoleinsäure bilden die Hauptkomponente aus der Gruppe der Carbonsäuren, (S)-3-Hydroxydecansäureamid bildet die Hauptkomponente aus der Gruppe der Amide. Die Hauptkomponenten sind in Tabelle 7 aufgeführt.

♀ rf ug	: Weibchen mit reifen Ovarien vor der Häutung
♀ rf gh	: frisch gehäutete attraktive Weibchen
♂ gh	: frisch gehäutete Männchen
♀ ur gh	: frisch gehäutete nicht attraktive Weibchen

Tabelle 7 Hauptkomponenten in den Extrakten von Männchen und Weibchen

♀ rf gh	♀ rf ug	♂ gh
(2E)-2-Decensäureamid (25)	(S)-3-Hydroxydecansäureamid (17)	2-Acetylpyrazin
(S)-3-Hydroxydecansäureamid (17)	(5Z)-3-Hydroxy-5-dodecensäureamid	2-Pentanol
(5E)-3-Hydroxy-5-dodecensäureamid	(2E)-2-Aminozimtsäure	Methylhexadecanoat
(5Z)-3-Hydroxy-5-dodecensäureamid	(5Z,8Z,11Z)-5,8,11-Tetradecatrien-2-on (27)	Methyloctadecanoat
Palmitinoleinsäure	(5E,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on (28)	m/z 43/85/100
Hexadecansäure	Decensäureamid	m/z 43/85/127/141
Methyl-(9Z)-hexadecenoat	Decensäureamid	m/z 43/85/127/141
Methyl-(9Z)-octadecenoat	(2E)-2-Decensäureamid (25)	
Methyl-5,8,11,14,17-eicosapentaenoat	Palmitinoleinsäure	
Cholesterin	Hexadecansäure	
	Methyl-(9Z)-hexadecenoat	
♀ ur gh		
(5Z,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on (27)		
(S)-3-Hydroxydecansäureamid (17)		
(Z)-3-Hydroxy-5-dodecensäureamid		
Methylhexadecanoat		
m/z 43/85/127/141		

Für unbekannte Verbindungen wurden die intensivsten oder charakteristischsten Fragmente des Massenspektrums angegeben.

Es fällt auf, dass bei den Männchen und den juvenilen Weibchen die gesättigten Carbonsäuren, bei den reifen Weibchen hingegen die ungesättigten überwiegen.

Während die (E)- und (Z)-Isomere des 3-Hydroxy-5-dodecensäureamids bei den Weibchen zu den Hauptkomponenten zählen, sind sie in den Männchenextrakten nur in Spuren vorhanden.

5.4.5 Unterschiede zwischen den untersuchten Gruppen

Die Extrakte unterscheiden sich größtenteils in den Spurenkomponenten. Die Männchen weisen insgesamt einen geringen Anteil an Säureamiden auf.

Homologe Carbonsäuren mit Methylverzweigung in der *iso*- oder *anteiso*-Position kommen bei den Männchen fast gar nicht vor, das gleiche gilt auch für die homologen Carbonsäureamide.

In Tabelle 8 sind die Komponenten aufgeführt, die in jeweils nur einer Gruppe gefunden wurden.

Unterstreichung: Es handelt sich um eine Hauptkomponente

- ♀ **rf ug** : Weibchen mit reifen Ovarien vor der Häutung
- ♀ **rf gh** : frisch gehäutete attraktive Weibchen
- ♂ **gh** : frisch gehäutete Männchen
- ♀ **ur gh** : frisch gehäutete nicht attraktive Weibchen

Tabelle 8 Inhaltstoffe, die nur in einem der Entwicklungsstadien vorkamen

Substanzen	♀ rf gh	♀ rf ug	♂ gh	♀ ur gh
Kohlenwasserstoffe				
m/z 79/91/108/176 (Tetraentridecan)	+			
Aldehyde				
(2E,4E)-Deca-2,4-dienal (29)	+			
(2E,4Z)-Deca-2,4-dienal (30)	+			
2-Undecenal			+	
Decatrienal	+			
Undecanal		+		
Hexadecanal		+		
Heptadecanal		+		
Ketone				
2-Methyloctan-3-on	+			
3-Methyloctan-2-on	+			
Undecatrien-2-on	+			

Substanzen	♀ rf gh	♀ rf ug	♂ gh	♀ ur gh
2-Heptadecanon	+			
2-Pentadecanon	+			
Alkohole				
2-Butanol		+		
<u>3-Pentanol</u>			+	
Pentanol			+	
1,5-Pentandiol			+	
2,4-Pentandiol	+			
4-Methyl-3-penten-2-ol			+	
2-Hexanol	+			
Hexanol	+			
Octanol	+			
2-Heptanol		+		
2-Eicosanol		+		
1-Eicosanol		+		
Carbonsäuren und Ester				
Valeriansäure				+
6-Methyl-3-hydroxyheptansäure			+	
5-Methyl-3-hydroxyheptansäure			+	
Heptansäure				+
m/z _{Ac/Me} 43/59/79/103/221 (3-Hydroxytridecadiensäure)	+			
Pentadecansäure			+	
13-Methylpentadecansäure		+		
9,12-Octadecadiensäure	+			
Pentadecatriensäuremethylester ω3	+			
Eicosatriensäuremethylester ω3	+			
Docosensäuremethylester	+			
3-Hydroxydodecansäure	+			
9,10-Dihydroxyoctadecansäure	+			
Leucin		+		
Isoleucin		+		
Ameisensäuremethylester		+		
Phenylalaninmethylester	+			
Tridecatriensäuremethylester		+		
Tridecatriensäuremethylester		+		
Tridecansäuremethylester		+		

Substanzen	♀ rf gh	♀ rf ug	♂ gh	♀ ur gh
17-Methylheptadecansäuremethylester	+			
16-Methylheptadecansäuremethylester	+			
15-Methylheptadecansäuremethylester				+
Heneicosansäuremethylester		+		
Docosansäuremethylester	+			
Docosadiensäuremethylester ω_6		+		
Tetracosansäuremethylester	+			
Docosapentaensäuremethylester ω_6		+		
Decylacetat		+		
Dodecylacetat		+		
Docosylacetat	+			
Hexadecansäureisopropylester		+		
Tetradecansäureisopropylester				+
Docosapentaensäuremethylester ω_3		+		
Lactone				
10-Hexadecanolid		+		
9-Hexadecanolid		+		
10-Octadecanolid		+		
9-Octadecanolid		+		
m/z 85/67 (γ -Octadecenlacton)	+			
m/z 85/67 (γ -Octadecenlacton)	+			
m/z 85/67 (γ -Octadecenlacton)	+			
m/z 79/85/108 (γ -Eicosatrienlacton)	+			
m/z 79/85/108 (γ -Eicosatetraenlacton)	+			
Carbonsäureamide				
3-Dodecensäureamid	+			
3-Hydroxy-4-methylnonansäureamid	+			
Octadecensäureamid		+		
Benzylidensäureamid		+		
(2E)-Dodec-2-ensäureamid	+			
5,8,11-Tetradecatriensäureamid		+		
9-Octadecensäureamid		+		
7-Octadecensäureamid		+		
Diketopiperazine				
Pro-Ala-Diketopiperazin (40)		+		
m/z 44/72/128 (Val-Ala-Diketopiperazin) (47)		+		
m/z 44/86/128 (Leu-Ala-Diketopiperazin) (45)		+		

Substanzen	♀ rf gh	♀ rf ug	♂ gh	♀ ur gh
m/z 44/86/128 (Ileu-Ala-Diketopiperazin) (46)		+		
m/z 86/170 (Leu-Leu-Diketopiperazin) (48)		+		
m/z 86/170 Leu-Ileu-Diketopiperazin) (49)		+		
m/z 86/170 (Ileu-Ileu-Diketopiperazin) (50)		+		
Heterocyclen				
Benzothiazol	+			
<u>2-Acetylpyrazin</u>			+	
4-H-Pyranon-3,5-diacetyl-2,6-dimethyl (Acetylierungsprodukt von Acetaldehyd)			+	
Unbekannte Verbindungen				
m/z 167/278/306 (Tocopherolderiv.)		+		
m/z 137/401/316 (Tocopherolderiv.)		+		
m/z 167/278/306 (Tocopherolderiv.)		+		
m/z 167/278/306 (Tocopherolderiv.)		+		

Tabelle 8 Inhaltstoffe, die nur in einem der Entwicklungsstadien vorkamen

Von besonderem Interesse sind die Verbindungen, die ausschließlich bei attraktiven Weibchen gefunden wurden. Es wurde hier eine Reihe ungesättigter Verbindungen im Spurenbereich gefunden, für die aufgrund ihrer geringen Konzentration zum Teil nur Strukturpostulate gemacht werden konnten. Es handelt sich hier in erster Linie um ein Tetradecatrien (solche Verbindungen sind bei Braunalgen als Pheromone bekannt [15,16,17,18]), und um verschiedene mehrfach ungesättigte Carbonylverbindungen

Bei reifen Weibchen, die die entscheidende Häutung noch nicht durchlaufen haben, findet man diese Verbindungen nicht dafür aber ähnliche ebenfalls mehrfach ungesättigte Verbindungen, wie zwei isomere Methyltetradecatrienoate.

Bei Männchen und juvenilen Weibchen spielen mehrfach ungesättigte Verbindungen eher eine untergeordnete Rolle (siehe auch 3-Hydroxytetradecatriensäureamid (18) in Tabelle 3).

Sowohl bei attraktiven Weibchen als auch bei reifen ungehäuteten Weibchen finden sich im Retentionsbereich der Steroide sechs relativ hoch konzentrierte (Unterkomponenten) Substanzen. Es handelt sich hier möglicherweise um Tocopherolderivate.

Es fällt auf, dass vier dieser homologen Substanzen nur in den noch nicht gehäuteten Tieren vorkommen, die anderen beiden konnten in beiden Stadien nachgewiesen werden, sind aber bei den attraktiven Weibchen deutlich höher konzentriert. Man könnte spekulieren, dass diese zwei Substanzen aus den vier anderen im Laufe der Reifung gebildet werden.

5.5 Ergebnisse aus der Untersuchung verschiedener Körpersektionen von *Crangon crangon*

Die Untersuchung von Tieren unterschiedlichen Geschlechts hat gezeigt, dass die Hauptkomponenten der Festphasenextrakte bei allen Geschlechtern vorkommen.

Primäre Hydroxysäureamide sind bisher nicht als Naturstoffe beschrieben worden und ihre physiologische Bedeutung ist noch völlig unbekannt [101,102].

In diesem Abschnitt wurden verschiedene Körperteile von *Crangon crangon* untersucht, um festzustellen, wo diese Substanzen vorkommen. Außerdem sollte durch schnelle und schonende Aufarbeitung sichergestellt werden, dass die 3-Hydroxysäureamide tatsächlich in den Tieren vorkommen.

5.5.1 Probengewinnung

Aus Cephalothorax, Muskeln und ganzen Tieren wurden Extrakte mit der Verwendung von C18-Phasen hergestellt, wie unter Probennahme für die Untersuchung verschiedener Geschlechter und Reifestadien beschrieben.

Dazu wurden wässrige Extrakte der ganzen Tiere erstellt und die Naturstoffe anschließend auf C18-Phasen angereichert und zuerst mit Methanol und dann mit Dichlormethan eluiert.

Um die polaren Substanzen gaschromatographisch (GC) trennen und massenspektroskopisch (MS) detektieren zu können, wurden Teile der Methanoleluate silyliert und methyliert.

Die wässrigen Extrakte des Muskelgewebes wurde zudem mittels Mikrofestphasenextraktion (SPME) untersucht.

Außerdem wurden die Ovarien reifer Weibchen präpariert und die wässrigen Extrakte des homogenisierten Gewebes gefriergetrocknet.

Eine Charge von Tieren ohne Ovarien und eine Charge von Tieren mit Ovarien wurde jeweils in flüssigem Stickstoff homogenisiert und anschließend gefriergetrocknet. Die Rückstände aus der Gefrier Trocknung wurden in Pentan aufgenommen oder mit Methanol extrahiert und mit Silylierungsreagenz umgesetzt. Tabelle 9 enthält eine Auflistung der durchgeführten Extraktions- und Derivatisierungsmethoden.

Körperteil	Methode	Lösemittel	Derivatisierung
Ovarien	gefriergetrocknet gefriergetrocknet gefriergetrocknet gefriergetrocknet	Methanol Pentan Pentan Methanol	silyliert KOH gewaschen silyliert
Tiere bei denen die Ovarien entfernt wurden	gefriergetrocknet Festphasen Extraktion Festphasen Extraktion	Pentan Methanol Dichlormethan	 silyliert acetyliert
Ganzes Tier	Festphasen Extraktion	Methanol	silyliert methyliert
Muskel	Festphasen Extraktion Festphasen Extraktion Mikrofestphasen Extraktion	Methanol Dichlormethan	methyliert
Cephalothorax	Festphasen Extraktion Festphasen Extraktion	Methanol Dichlormethan	methyliert
Antennendrüsen ♀ bzw. ♂	flüssig-flüssig Mikrofestphasen Extraktion	Dichlormethan	

Tabelle 9 Probenmaterial, Extraktionsmethoden und Derivatisierungen

5.5.2 Chromatogramme aus der Untersuchung verschiedener Körpersektionen

In Abbildung 75 ist das Chromatogramm des Methanoleluats der Festphasenextraktion der wässrigen Muskelextrakte von *Crangon crangon* wiedergegeben.

Muskel SPE RPE Methanol
FFAP

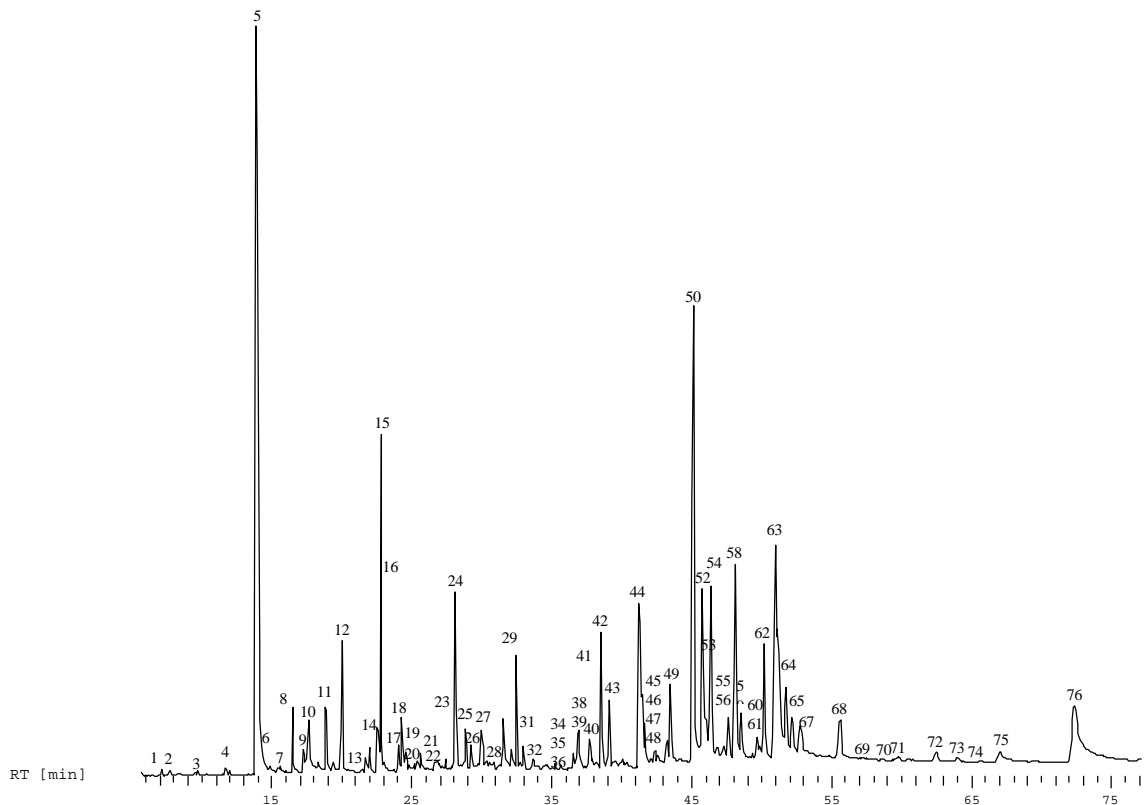


Abbildung 75 Chromatogramm eines Extraktes von Muskeln von *Crangon crangon*

- | | |
|-----------------------------------|--------------------------------------|
| 1. Pyridin | 18. Capronsäure |
| 2. N,N-Dimethylelessigsäurenitril | 19. m/z 141 |
| 3. Formamid | 20. Isovaleriansäureamid |
| 4. Dimethylacetamid | 21. Heptansäure |
| 5. Essigsäure | 22. m/z 127 |
| 6. Prolin | 23. Phenol |
| 7. Benzaldehyd | 24. Pyrrolidin-2-on |
| 8. Propionsäure | 25. m/z 141 |
| 9. Isobuttersäure | 26. Octansäure |
| 10. 2-Pentylamin | 27. m/z 141 |
| 11. N-Methylpyrrolidin-2-on | 28. ϵ -Caprolactam |
| 12. Isovaleriansäure | 29. Hexadecansäuremethylester |
| 13. Valeriansäure | 30. o-Aminobenzoesäuremethylester |
| 14. Acetamid | 31. (Z)-Hexadec-9-ensäuremethylester |
| 15. Polyetherartefakt | 32. Decansäure |
| 16. Isobuttersäureamid | 33. Heptadecansäuremethylester |
| 17. N-Butylformamid | 34. m/z 160/217 |

35. Tetradecanol
 36. Octadecansäuremethylester
 37. Indol
 38. (Z)-Octadec-9-ensäuremethylester
 39. (Z)-Octadec-11-ensäuremethylester
 40. Dodecansäure
 41. 3-Hydroxyoctansäureamid
 42. Phthalat
 43. o-Formylaminobenzoensäuremethylester
 44. Phthalat
 45. Tetradecansäure
 46. Decansäureamid
 47. m/z 127
 48. Pentadecansäure
 49. (Z5,Z8,Z11,Z14,Z17)-Eicosa-5,8,11,14,17-pentaensäuremethylester
 50. Hexadecansäure
 51. 3-Hydroxynonansäureamid
 52. 9-Hexadecensäure
 53. Pyridin-3-carbonsäureamid
 54. tris-(2-Chloroethyl)-Phosphat
 55. 8-Methyl-3-hydroxynonansäureamid
 56. 4-Methyl-3-hydroxydecansäureamid
 57. Val-Pro-Diketopiperazin
 58. 3-Hydroxydecansäureamid
 59. (Z4,Z7,Z10,Z13,Z16,Z19)-Docosa-4,7,10,13,16,19-hexaensäuremethylester
 60. 9-Methyl-3-hydroxydecansäureamid
 61. 3-Hydroxydecensäureamid
 62. Leu-Pro-Diketopiperazin
 63. Octadec-9-ensäure
 64. Octadec-11-ensäure
 65. Ileu-Pro-Diketopiperazin
 66. Pro-Pro-Diketopiperazin
 67. Octadeca-9,12-diensäure
 68. 3-Hydroxydodecensäureamid
 69. Tryptophanmethylester
 70. m/z 135
 71. m/z 70/125
 72. His-Pro-Diketopiperazin
 73. m/z 141
 74. m/z 114
 75. (Z5,Z8,Z11,Z14,Z17)-Eicosa-5,8,11,14,17-pentaensäure
 76. (Z4,Z7,Z10,Z13,Z16,Z19)-Docosa-4,7,10,13,16,19-hexaensäure

In Abbildung 76 und Abbildung 77 sind die Chromatogramme der Methanoleluate aus den Festphasenextraktionen des Cephalothorax von *Crangon crangon* gemessen an einer FFAP-Phasen wiedergegeben.

Cephalothorax SPE RPB Methanol
FFAP

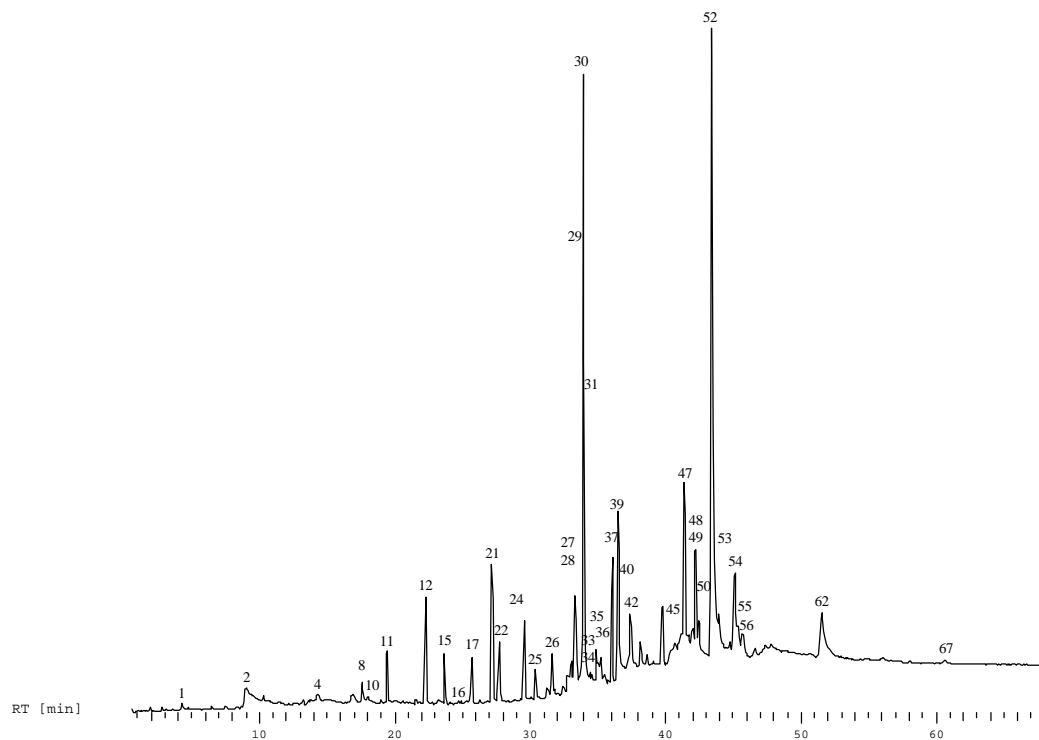


Abbildung 76 Chromatogramm eines Extraktes des Cephalothorax von *Crangon crangon*

Cephalothorax SPE RP18 Methanol
FFAP

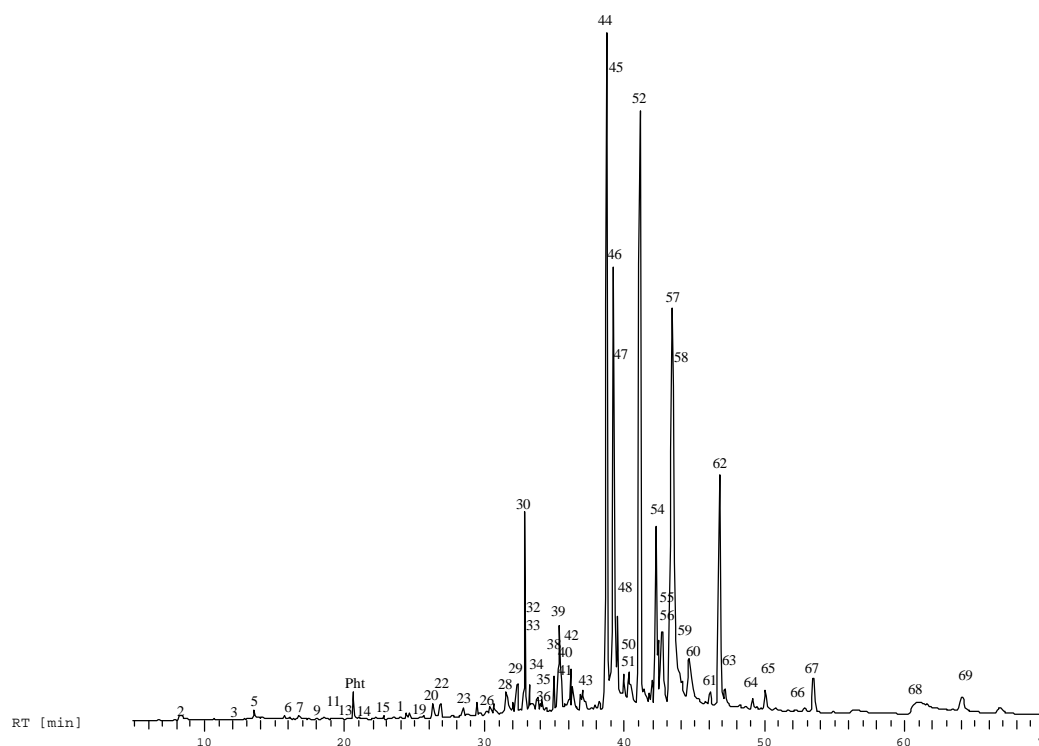


Abbildung 77 Chromatogramm eines Extraktes des Cephalothorax von *Crangon crangon*

Liste der Inhaltsstoffe der Festphasenextrakte des Cephalothorax von *Crangon crangon* :

1. N,N-Dimethylformamid
2. Essigsäure
3. Buttersäure
4. N-Methylpyrrolidin-2-on
5. Fufurylalkohol
6. 2-Hexen-4-Hydroxylacton
7. Acetamid
8. m/z 127
9. N-Pentylformamid
10. Propionsäureamid
11. m/z 141
12. m/z 127
13. Isovaleriansäure
14. 2-Pyrrolidinon
15. m/z 141
16. m/z 127
17. m/z 160
18. 6,10,14-Trimethylpentadecanon
19. 4-Hydroxyheptanlacton
20. Nonansäure
21. Hexadecansäuremethylester
22. Isopropylhexadecanoat
23. Indol
24. m/z 160
25. Tetradecanol
26. (Z)-Octadec-9-ensäuremethylester
27. m/z 127
28. Decansäureamid
29. Decensäureamid
30. Decensäureamid
31. Decensäureamid
32. Decadiensäureamid
33. 2-Octensäureamid
34. m/z 41/56
35. Decadiensäureamid
36. Decadiensäureamid
37. Phthalat
38. Tetradecensäure
39. 2-Decensäureamid
40. m/z 127
41. m/z 141
42. Dodecadiensäureamid
43. Pentadecensäure
44. Hexadecensäure
45. 3-Hydroxynonansäureamid
46. 9-Hexadecensäure
47. tris(2-Chlorethyl)-Phosphat
48. 8-Methyl-3-hydroxynonansäureamid
49. m/z 165/223
50. 4-Methyl-3-hydroxydecensäureamid
51. Heptadecensäure
52. 3-Hydroxydecensäureamid
53. 3-Hydroxydecensäureamid
54. 9-Methyl-3-hydroxydecensäureamid
55. 3-Hydroxydecensäureamid
56. 8-Methyl-3-hydroxydecensäureamid
57. 9-Octadecensäure
58. 11-Octadecensäure
59. Hexadecensäureamid
60. 9,12-Octadecadiensäure
61. 3-Hydroxydodecensäureamid
62. 3-Hydroxydodecensäureamid
63. 3-Hydroxydodecensäureamid
64. 3-Hydroxydodecadiensäureamid
65. 3-Hydroxydodecadiensäureamid
66. His-Pro-Diketopiperazin
67. m/z 141
68. Docosahexaensäure
69. 3-Hydroxytetradeca-5,8,11-triensäureamid

In Abbildung 78 ist das Chromatogramm des Methanoleluats der Festphasenextraktion ganzer Garnelen (*Crangon crangon*), gemessen an einer DB5-Phase wiedergegeben.

Ganze Tiere SPE Methanol
DB5MS

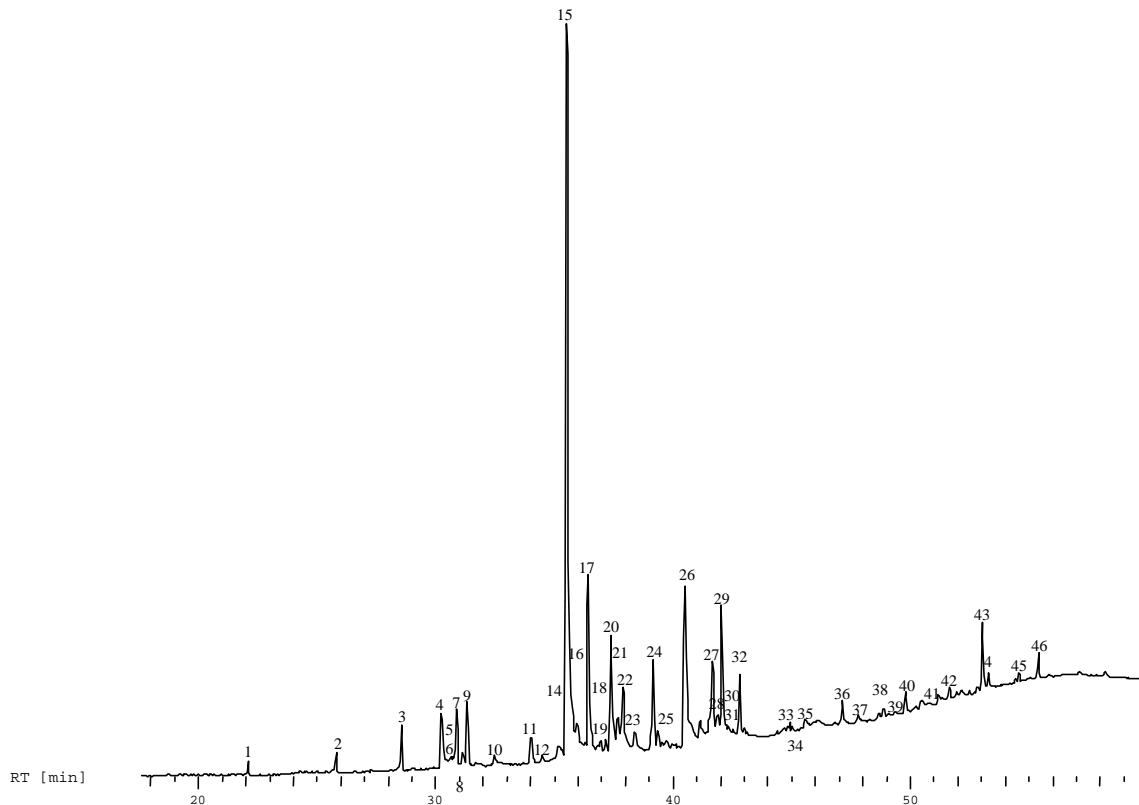


Abbildung 78 Chromatogramm eines Extraktes ganzer Garnelen

- | | |
|---|--|
| 1 m/z 141 | 26 3-Hydroxydodecensäureamid |
| 2 m/z 127 | 27 Pro-Leu-Diketopiperazin |
| 3 m/z 141 | 28 Phthalat |
| 4 Decensäureamid | 29 Pro-Ileu-Diketopiperazin |
| 5 (5Z,8Z)-Tetradeca-5,8-dien-2-on | 30 m/z 58 |
| 6 Decensäureamid | 31 m/z 58 |
| 7 (5Z,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on | 32 Pro,Pro-Diketopiperazin |
| 8 (5E,8Z)-Tetradeca-5,8-dien-2-on | 33 (Z)-Octadec-9-ensäuremethylester |
| 9 (5E,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on | 34 (Z)-Octadec-11-ensäuremethylester |
| 10 2-Decensäureamid | 35 3-Hydroxy-(5Z,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-triensäureamid |
| 11 Hexandisäurediisobutylester | 36 Hexadecensäureamid |
| 12 Val-Ala-Diketopiperazin | 37 m/z 44/91/ (Ala,Phe-Diketopiperazin) |
| 13 8-Methyl-3-Hydroxynonensäureamid | 38 m/z 91 (Phe,Phe-Diketopiperazin) |
| 14 3-Hydroxydecensäureamid | 39 (Z5,Z8,Z11,Z14,Z17)-Eicosa-5,8,11,14,17-pentaensäuremethylester |
| 15 3-Hydroxydecensäureamid | 40 m/z 70/154 (Met,Pro-Diketopiperazin) |
| 16 4-Methyl-3-Hydroxydecensäureamid | 41 m/z 59/73 |
| 17 Ala,Pro-Diketopiperazin | 42 m/z 59/73 |
| 18 Leu,Ala-Diketopiperazin | 43 Pro,Phe-Diketopiperazin |
| 19 Ala,Pro-Diketopiperazin | 44 m/z 179/291 |
| 20 9-Methyl-3-hydroxydecensäureamid | 45 Phthalat |
| 21 8-Methyl-3-hydroxydecensäureamid | 46 m/z 179/291 |
| 22 m/z 70 (Diketopiperazin) | |
| 23 m/z 141 | |
| 24 Val,Pro-Diketopiperazin | |
| 25 Phthalat | |

In Abbildung 79 und Abbildung 81 sind die Chromatogramme der silylierten Methanolextrakte der gefriergetrockneten ganzen Tiere und Ovarien, gemessen an einer DB5-Phasen, wiedergegeben.

Ganze Tiere gefriergetrocknet und silyliert
DB5MS

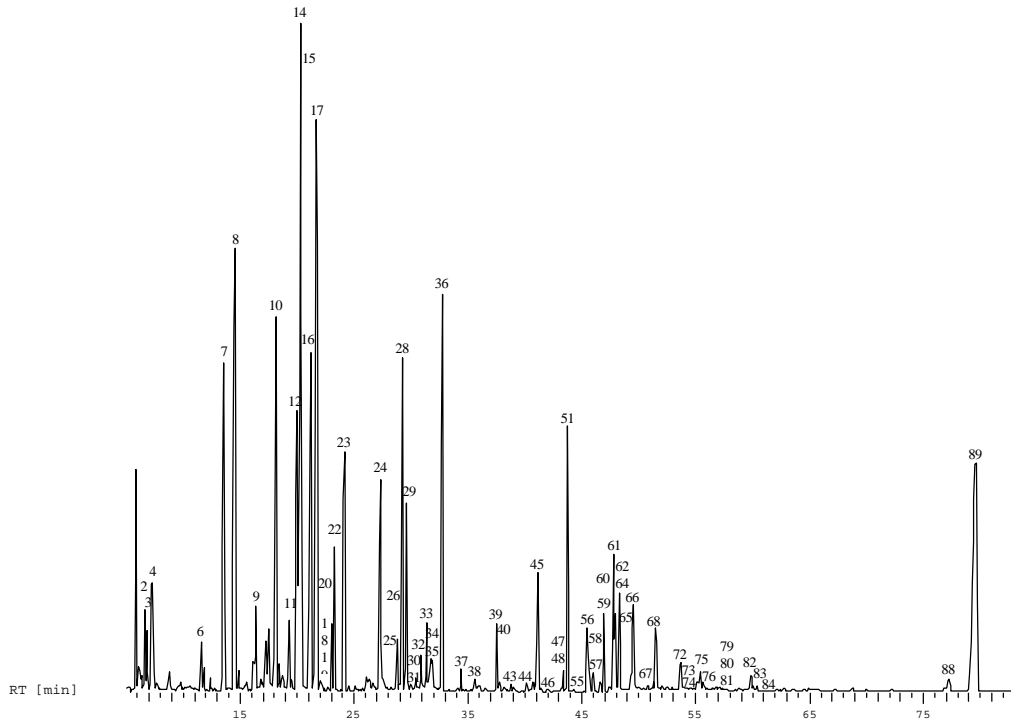


Abbildung 79 Chromatogramm eines silylierten Extraktes ganzer Tiere

Ovarien gefriergetrocknet silyliert
DB5MS

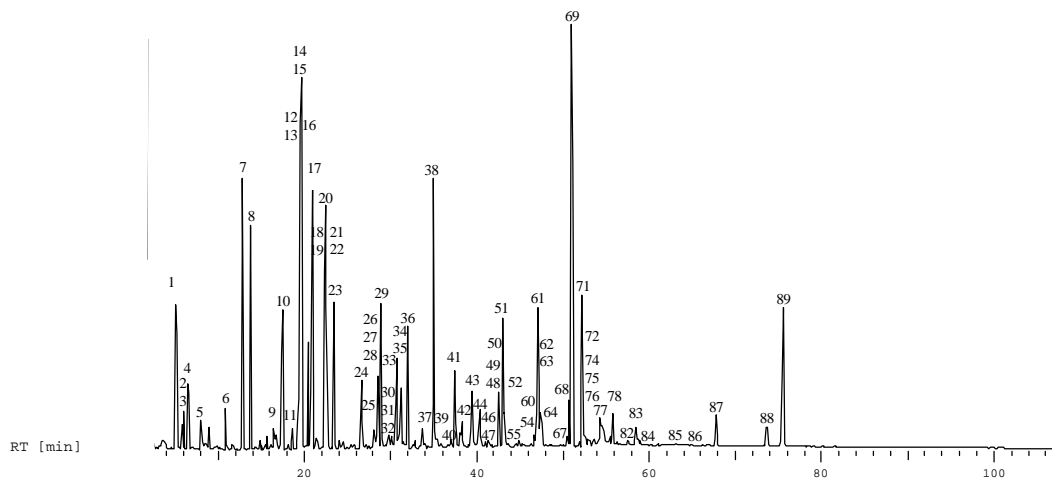


Abbildung 80 Chromatogramm eines silylierten Extraktes von Ovarien

Liste der Inhaltstoffe der silylierten Methanolextrakte aus der Gefriertrocknung der ganzen Tiere und der Ovarien :

1. N-TMS-Glycin-TMS-ester
2. N-Methyl-2-aminoessigsäure-TMS-ester
3. N,N-bisTMS-ethanamin
4. BisTMS-Carbodiimid
5. TrisTMS-Etanolamin
6. TMS-Milchsäure-TMS-ester
7. N-TMS-alanin-TMS-ester
8. Glycin-TMS-ester
9. N-TMS-2-Aminobuttersäure-TMS-ester
10. N-TMS-Norleucin-TMS-ester
11. Dodecansäure-TMS-ester
12. N-TMS-Cystein-TMS-ester
13. Tris-TMS-Glycerin
14. N-TMS-Leucin-TMS-ester
15. Tris-TMS-Phosohat
16. N-TMS-Isoleucin-TMS-ester
17. N-TMS-Prolin-TMS-ester
18. Bis-TMS-Butandisäure
19. 2,3-Bis(trimethylsilyloxy)propionsäure-TMS-ester
20. Bis-O,O-TMS-Uracil
21. 2-Carboxy-TMS-Pyridin
22. N-TMS-O-TMS-Serin-TMS-ester
23. N,O-bisTMS-Threonin-TMS-ester
24. N-TMS-2-Aminomalonsäure-bisTMS-ester
25. m/z 58/71
26. N-TMS-Asparaginsäure-TMS-ester
27. 2,3,4-Tris(trimethylsilyloxy)buttersäure-TMS-ester
28. N-TMS-Methionin-TMS-ester
29. N-TMS-Glutaminsäurelactam-TMS-ester
30. N-TMS-2-Aminohexansäure-TMS-ester
31. 2-Trimethylsilyloxy-pentandisäure-bis-TMS-ester
32. Phenylalanin-TMS-ester
33. m/z 186
34. 2,5-Bis(trimethylsilyl)aminopentansäure-TMS-ester
35. N-TMS-Glutaminsäure-bis-TMS-ester
36. N-TMS-Phenylalanin-TMS-ester
37. Bis-TMS-Lysin-TMS-ester
38. Bis-TMS-Glyceryl-bis-TMS-Phosphat
39. 3-Trimethylsilyloxydecansäureamid-TMS
40. Pro-Val-Diketopiperazin
41. N-TMS-O-TMS-Purinbase
42. Tetradecansäure-TMS-ester
43. Thyrosin-TMS-ester
44. (Z)-Hexadec-9-ensäuremethylester
45. Hexadecansäuremethylester
46. Ileu-Pro-Diketopiperazin
47. Leu-Pro-Diketopiperazin
48. Nleu-Pro-Diketopiperazin
49. 7-Hexadecensäure-TMS-ester
50. 9-Hexadecensäure-TMS-ester
51. Hexadecansäure-TMS-ester
52. Hexa-TMS-Inositol
53. 9-Heptadecensäure-TMS-ester
54. Heptadecansäure-TMS-ester
55. Octadecadiensäuremethylester
56. (Z)-Octadec-9-ensäuremethylester
57. (Z)-Octadec-11-ensäuremethylester
58. Octadecansäuremethylester
59. m/z 299
60. Octadecadiensäure-TMS-ester
61. 9-Octadecensäure-TMS-ester
62. 11-Octadecensäure-TMS-ester
63. N-TMS-Tryptophan-TMS-ester
64. Octadecansäure-TMS-ester
65. ω_6 -Eicosatetraensäuremethylester
66. ω_3 -Eicosapentaensäuremethylester
67. ω_6 -Eicosatetraensäure-TMS-ester
68. ω_3 -Eicosapentaensäure-TMS-ester
69. Tris-TMS-ribo-N-Methyluracil
70. Tris-TMS-ribo-N-Methyluracil
71. Tris-TMS-Uridin
72. ω_3 -Docosahexaensäuremethylester
73. Pro-Phe-Diketopiperazin
74. 1,3-Bis-TMS-Glyceryl-2-tetradecanoat
75. 2,3-Bis-TMS-Glyceryl-1-hexadec-9-enoat
76. 2,3-Bis-TMS-Glyceryl-1-hexadecanoat
77. ω_3 -Docosahexaensäure-TMS-ester
78. 58/71
79. 1,3-Bis-TMS-Glyceryl-2-octadec-9-enoat
80. 1,3-Bis-TMS-Glyceryl-2-octadec-11-enoat
81. 1,3-Bis-TMS-Glyceryl-2-octadecanoat
82. 2,3-Bis-TMS-Glyceryl-1-octadec-9-enoat
83. 2,3-Bis-TMS-Glyceryl-1-octadec-11-enoat
84. 2,3-Bis-TMS-Glyceryl-1-octadecanoat
85. 2,3-Bis-TMS-Glyceryl-1-eicosatetraenoat
86. 2,3-Bis-TMS-Glyceryl-1-eicosapentaenoat
87. Tris-TMS-N-Methylinosin
88. α -Tocopherol-TMS
89. Cholesterin-TMS

In Abbildung 81, Abbildung 82 und Abbildung 83 sind die Chromatogramme aus den Mikrofestphasenextraktionen der wässrigen Antennendrüsensextrakte von Männchen und reifen gehäuteten Weibchen, gemessen auf FFAP-Phasen wiedergegeben.

♀ reif gehäutet, Antennendrüsens,
 SPME polar
 FFAP

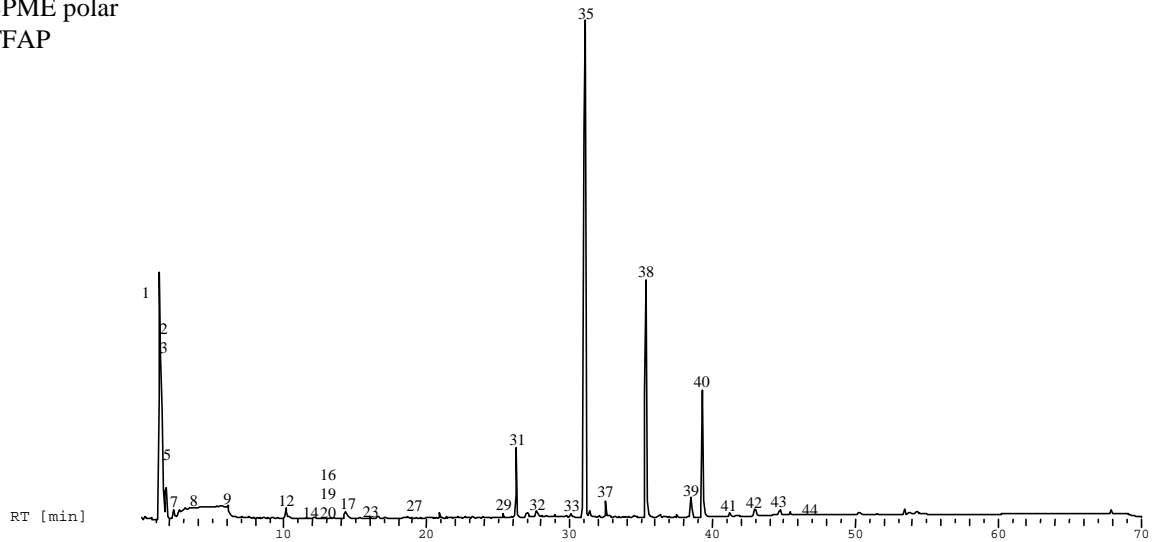


Abbildung 81 Chromatogramm der Mikrofestphasenextraktion von Antennendrüsens attraktiver Weibchen

♀ reif gehäutet, Antennendrüsens,
 SPME unpolar
 FFAP

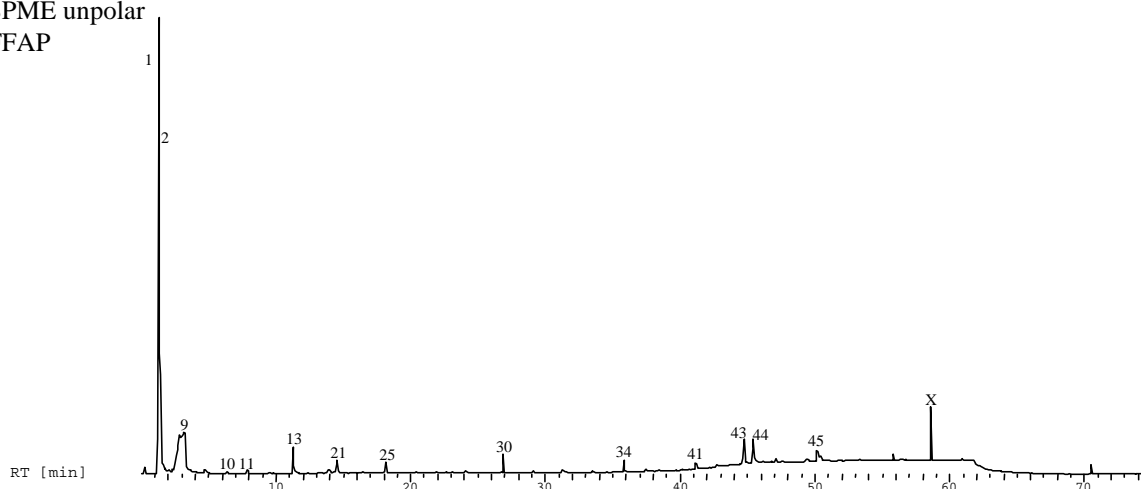


Abbildung 82 Chromatogramm der Mikrofestphasenextraktion von Antennendrüsens attraktiver Weibchen

♂ Antennendrüsen
 SPME polar
 FFAP

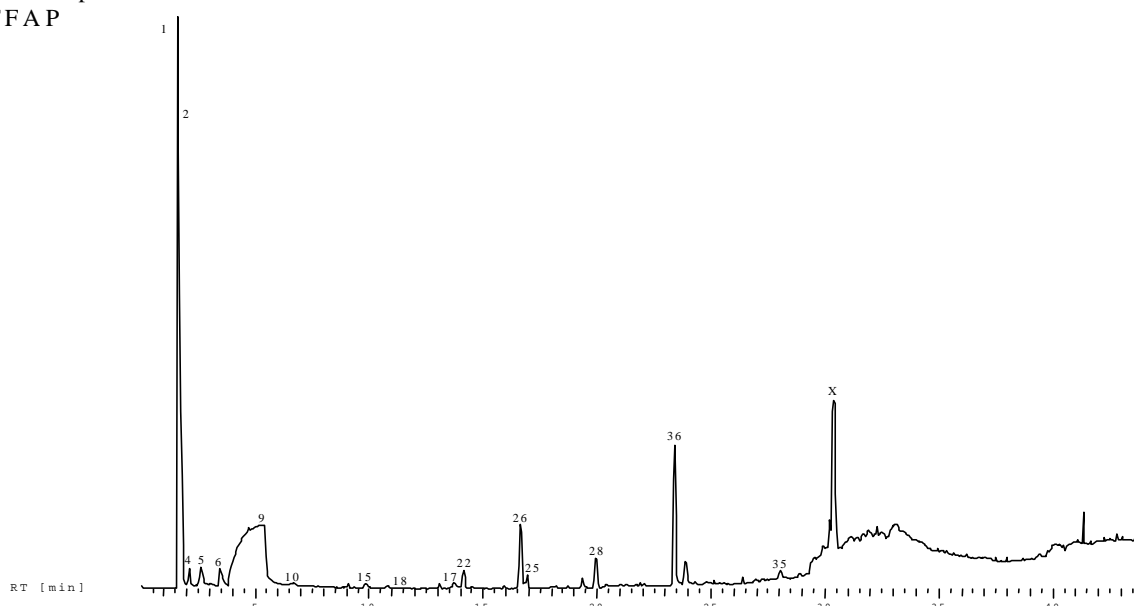


Abbildung 83 Chromatogramm der Mikrofestphasenextraktion männlicher Antennendrüsen

Liste der Inhaltstoffe aus den Chromatogrammen der Mikrofestphasenextraktion wässriger Antennendrüsenextrakte von Männchen und reifen gehäuteten Weibchen:

- | | |
|-----------------------------|------------------------------------|
| 1. Dimethylamin | 23. (E3,Z5)-3,5-Octadien-2-on |
| 2. Trimethylamin | 24. (E3,E5)-3,5-Octadien-2-on |
| 3. Kohlendisulfid | 25. Butyrolacton |
| 4. 2-Butanon | 26. Harnstoff |
| 5. 3-Methylbutanal | 27. Pyrrol |
| 6. Aziridin | 28. N-Ethyl, N,N-Dimethylharnstoff |
| 7. Chloroform | 29. 1-Ethyl,3-methylharnstoff |
| 8. Toluol | 30. m/z 45/99 |
| 9. Kohlendioxid | 31. 4-Decylmorpholin |
| 10. Pyridin | 32. N,N-Dimethylhexadecanamin |
| 11. Octanal | 33. N,N-Dimethylharnstoff |
| 12. Dimethyldisulfid | 34. m/z 45/73 |
| 13. Nonanal | 35. 4-Dodecylharnstoff |
| 14. N,N-Dimethylacetamid | 36. Methylethylcarbonat |
| 15. N,N-Dimethylformamid | 37. Isopropylhexadecanoat |
| 16. 3-Methylthiopropional | 38. 4-Tetradecylmorpholin |
| 17. Essigsäure | 39. Tetradecansäure |
| 18. 1N,3N-Dimethylharnstoff | 40. m/z 173 |
| 19. (E2,Z4)-2,4-Heptadienal | 41. 4-Hexadecylmorpholin |
| 20. (E2,E4)-2,4-Heptadienal | 42. 4-Octadecylmorpholin |
| 21. Decanal | 43. Hexadecansäure |
| 22. 1,2-Ethylidiformiat | 44. (Z)-Hexadec-9-ensäure |
| | 45. (Z)-Octadec-9-ensäure |

5.5.3 Tabellarische Auflistung der Inhaltsstoffe der verschiedenen Körpersektionen von *Crangon crangon*

Ovarien	: Ovarien von reifen und juvenilen Weibchen
g. Tiere	: ganze Tiere ohne Ovarien und ganze Tiere mit Ovarien bzw. Testis
Muskel	: Pleonmuskel von Männchen und Weibchen
Cephalothorax	: Cephalothorax mit Verdauungstrakt von Männchen und Weibchen
♂ Ant. Drüsen	: Antennen und Antennendrüse von Männchen
♀ Ant. Drüsen	: Antennen und Antennendrüse von gehäuteten reifen Weibchen

- +++ : Hauptkomponente
 ++ : Nebenkompente
 + : Unterkompente
 (+) : Restkomponente
 s-sss : Spurenkomponente

Tabelle 10 Inhaltstoffe der einzelnen Körperpartien von *Crangon crangon*

Substanzen	Ovarien	g. Tiere	Muskel	Cephalothorax	♂ Ant. Drüsen	♀ Ant. Drüsen
Alkane/Alkene/Bromalkane						
Chloroform						s
Octadecanbromid	+					
Decan	s					
Undecatetraen	s					
m/z 79/121/150 (Undecatrien)	s					
m/z 79/91/148 (Undecatetraen)	s					
m/z 79/121/150 (Undecatrien)	s					
m/z 79/91/148 (Undecatetraen)	s					
Undecan	s					
Dodecan	s					
m/z 91/120/176 (Tridecatetraen)	s					
m/z 79/91/147/176 (Tridecatetraen)	s					
m/z 79/92/176 (Tridecatetraen)	s					
Tridecan	s					
m/z 79/134/190 (Tetradecatetraen)	s					
m/z 79/92/176 (Tridecatetraen)	s					
m/z 79/108/176 (Tridecatetraen)	s					
m/z 79/105/190 (Tetradecatetraen)	s					
Tetradecan	s					
m/z 79/204 (Pentadecatetraen)	s					
Pentadecan	s					
m/z 79/108/ (Hexadecatetraen)	s					
Hexadecan	s					

Substanzen	Ovarien	g. Tiere	Muskel	Ceph alotho rax	♂ Ant. Drüsen	♀ Ant. Drüsen
Heptadecan	s					
Octadecan	s					
Nonadecan	s					
Nonadecan	s					
Eicosan	s					
Heneicosan	s					
Docosan	s					
Tricosan	s					
Tetracosan	s					
Pentacosan	s					
Hexacosan	s					
Heptacosen	s					
Heptacosan	s					
Octacosen	s					
Octacosan	s					
Nonacosan	s					
Heterocyclen						
Pyridin			s		s	
N-Methyl-Pyrrolidin-2-on			s	s		
Dioxan					s	
Pyrrolidin-2-on			s	s		
Chinolin	s					
Isochinolin	s					
2-Methylbenzothiazol	s					
1-(4-Acetylphenyl)-ethanon	s					
1,2-Benzodicarbonsäuredimethylester	s					
Indol				s		
Morpholin	s					
N-Decylylmorpholin						+
N-Doddecylylmorpholin						+++
N-Tetradecylylmorpholin						++
N-Hexadecylylmorpholin						+
N-Octadecylylmorpholin						s
Aromaten						
Toluol						s
Benzoesäure				s		
Benzaldehyd			s			
Phenol			s			
Dihydropropyren	s					
Pyren	s					
Methylpyren	s					
Ketone/Aldehyde						
2-Butanon					s	
Propenal					s	
3-Methylbutanal					s	
Cyclohexanon	s					
2,4-Pentandion	s					
3-Epoxyentan-2-on	s					
3-(Methylthio)-popanal						s
2,3-Octandion	s					
(2E,4Z)-2,4-Heptadienal	s				ss	s

Substanzen	Ovarien	g. Tiere	Muskel	Ceph alotho rax	♂ Ant. Drüsen	♀ Ant. Drüsen
(2E,4E)-2,4-Heptadienal	s				ss	s
(3E,5Z)-3,5-Octadien-2-on					ss	s
(3E,5E)-3,5-Octadien-2-on					ss	s
3-Heptanon	s					
6-Methyl-5-hepten-2-on	s					
2-Octenal	s					
2-Nonenal	s					
Nonanal	(+)					
2-Decenal	s					
m/z 79/121/150 (Decatrienal)	s					
(2E,4Z)-2,4-Decadienal	s					
(2E,4E)-2,4-Decadienal	s					
Decanal	s					
2-Undecenal	s					
2-Dodecenal	s					
(5Z,8Z)-Tetradeca-5,8-dien-2-on		s				
(5Z,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on		(+)				
(5E,8Z)-Tetradeca-5,8-dien-2-on		s				
(5E,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on		(+)				
6,10,14-Trimethylpentadecan-2-on				s		
2-Tetradecenal	s					
Hexadecan-2-on	s					
Alkohole						
Furfurylalkohol				s		
2-Pentanon-4-ol	s					
2-Pentanol	s					
Ethandiol	s					
1-Pentanol	s					
2-Hexanol					s	
1-Octen-3-ol					s	
N,N-Dimethylethanolamin	s					
1-Propanol-3-Methoxy	s					
Glycerin	s			+		
m/z 79/108/176 (Tridecatrien-1-ol)	s					
m/z 79/108/190 (Tetradecatrien-1-ol)	s					
1,2,3,4,5-Pentahydroxypentan	s					
1,2,3,4,5-Pentahydroxypentan	s					
1,2,3,4,5-Pentahydroxypentan	s					
2,3-Dihydroxypropylphosphat	++	s				
Inositol	s					
2,3-Dihydroxypropyloctadecylther	s					
Tetradecanol			s	s		
Amine						
Dimethylamin					+++	+++
Trimethylamin					+	+
2-Propylamin					+++	+++
1-Propylamin					++	++
1-Vinylaziridin					s	
1-H-2,5-Dimethylpyrrol	s					
Pyrrol						s
4-Hexylpyrimidin	s					

Substanzen	Ovarien	g. Tiere	Muskel	Ceph alotho rax	♂ Ant. Drüsen	♀ Ant. Drüsen
Methylamin	s					
Ethylamin	s	(+)				
2-Pentylamin			s			
N,N-Dimethylhexadecanamin					s	
Carbonsäuren						
Essigsäure			+++	s	+	s
Dithioessigsäure					s	
Propionsäure			+			
Buttersäure				s		
Isobuttersäure			s	s		
Isovaleriansäure			s		s	
Valeriansäure			s			
Capronsäure			s			
Heptansäure			s			
Octansäure			s			
Nonansäure				s		
Decansäure			s	s		
Dodecansäure			s	s		
Tetradecansäure	s		+	s	s	
Pentadecansäure	s		s	s		
(Z)-Hexadec-7-ensäure	s	s				
(Z)-Hexadec-9-ensäure	+	(+)	+	++	+	+
Hexadecansäure	+++	+	+++	+++	+++	+++
(Z)-Heptadec-9-ensäure	s			s		
Heptadecansäure	s			s		
(9Z,12Z)-Octadeca-9,12-diensäure	s	s	s	(+)		
(Z)-Octadec-9-ensäure	+	+	++	+++		
(Z)-Octadec-11-ensäure	s	s	+	++		
Octadecansäure	s	s	s	(+)		
(5Z,8Z,11Z,14Z)-Eicosa-5,8,11,14-tetraensäure	s	s		s		
(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-Eicosa-5,8,11,14,17-pentaensäure	s	s	s	+		
(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-Docosa-4,7,10,13,16,19-hexaensäure	s	s	+	(+)		
Oxygenierte Säuren						
Milchsäure	(+)	(+)				
3-Hydroxydecansäure				+		
9-Methyl-3-Hydroxydecansäure				s		
8-methyl-3-Hydroxydecansäure				s		
Hydroxyessigsäure	s					
4-Hydroxybuttersäure					s	
2,3-Dihydroxypropansäure	s					
2,3,4-Trihydroxybuttersäure	s					
2-Hydroxypentandisäure	s					
Ribonsäure-gamma-Lacton	s					
2-Keto-3,4,5,6-tetrahydroxysäure (2-Ketogluconsäure)	s					
Dicarbonensäuren						
Butandisäure	s	s		s		
Pentandisäure				s		
Ester						
Methyltryptophanoat			s			
Octansäuremethylester	s					

Substanzen	Ovarien	g. Tiere	Muskel	Cephalothorax	♂ Ant. Drüsen	♀ Ant. Drüsen
Nonansäuremethylester	s					
Decansäuremethylester	s					
Undecansäuremethylester	s					
Dodecansäuremethylester	s					
Tridecansäuremethylester	s					
Tetradecansäuremethylester	s	s		s		
13-Methyltetradecansäuremethylester	(+)					
12-Methyltetradecansäuremethylester	s					
Pentadecansäuremethylester	s			s		
(Z)-Hexadec-7-ensäuremethylester	s					
(Z)-Hexadec-9-ensäuremethylester	(+)	s	s	+		
(Z)-Hexadec-11-ensäuremethylester	s					
Hexadecansäuremethylester	++	+	+	+++		
15-Methylhexadecansäuremethylester	s			s		
14-Methylhexadecansäuremethylester	s			s		
(Z)-Heptadec-9-ensäuremethylester	s					
Heptadecansäuremethylester	s					
(9Z,12Z)-Octadeca-9,12-diensäuremethylester	++	s				
(Z)-Octadec-9-ensäuremethylester	+++	s	s	+		
(Z)-Octadec-11-ensäuremethylester	++	s	s			
Octadecansäuremethylester	(+)	s	s	++		
Nonadecansäuremethylester	s					
Nonadecansäuremethylester	s			s		
Eicosansäuremethylester	s			s		
(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-Eicosa-5,8,11,14,17-pentaensäuremethylester	++	s	s			
(5Z,8Z,11Z,14Z)-Eicosa-5,8,11,14-tetraensäuremethylester	+	s				
Eicosadiensäuremethylester	s					
(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-Docosa-4,7,10,13,16,19-hexaensäuremethylester	+	s	s			
Leucinmethylester	s					
Isopropylester						
Tetradecansäureisopropylester	s					
Hexandisäurebis-(2-methylpropyl)-ester	+++	s				
Hexadecansäureisopropylester	s			(+)		s
Octylester						
Hexadecansäureoctylester	s					
Octadecansäureoctylester	s					
Tetradecansäureoctylester	+					
Acetate/Formiate/Carbonate						
Hexadecanylacetat	(+)					
Pentylacetat	s					
1,2-Diethylbisformiat					s	
Ethyl-methylcarbonat					+	
Lactone						
2-Hexen-4-olid				s		
γ-Heptalacton				s		
γ-Eicosansäurelacton	s					
γ-Eicosansäurelacton	s					
γ-Docosansäurelacton	s					

Substanzen	Ovarien	g. Tiere	Muskel	Ceph alothorax	♂ Ant. Drüsen	♀ Ant. Drüsen
Nitrile/Schwefelverbindungen						
Schwefelkohlenstoff					s	s
Dimethyltrisulfid						s
N,N-Dimethylacetonitril			s			
Octadecensäurenitril	s					
Säureamide						
N,N-Dimethylformamid				s	s	s
Formamid			s		s	
N,N-Dimethylacetamid			s			s
Acetamid			s	s		
1,3-Dimethylharnstoff					s	s
Harnstoff					+	
1,1-Dimethyl-3-ethylharnstoff					(+)	s
N,N-Dimethylharnstoff					s	s
Propionsäureamid				s		
Isobuttersäureamid			s	s		
N-Butylformamid			s			
Isovaleriansäureamid			s			
ε-Caprolactam			s			
Decensäureamid				s		
Decensäureamid		(+)		+++		
Decensäureamid				s		
Decansäureamid		s	s	(+)		
Decadiensäureamid				s		
(E)-2-Octensäureamid				s		
m/z 79/108 (Decadiensäureamid)				s		
m/z 79/108 (Decadiensäureamid)				s		
(E)-2-Decensäureamid		s		+		
2,5-Dodecadiensäureamid				(+)		
3-Hydroxynonansäureamid			s	s		
8-Methyl-3-Hydroxynonsäureamid		s	s	s		
3-Hydroxydecensäureamid		s	s	s		
3-Hydroxydecensäureamid				(+)		
(S)-3-Hydroxydecansäureamid		+++	+	+++		
4-Methyl-3-hydroxydecansäureamid		s	s	s		
9-Methyl-3-Hydroxydecansäureamid		+	s	+		
8-Methyl-3-Hydroxydecansäureamid		s	s	(+)		
(E)-3-Hydroxydodec-5-ensäureamid				s		
(Z)-3-Hydroxydodec-5-ensäureamid		+	s	++		
(S)-3-Hydroxydodecansäureamid				s		
3-Hydroxydodecadiensäureamid				(+)		
3-Hydroxydodecadiensäureamid				(+)		
(S)-(5Z,8Z,11Z)-3-Hydroxytetradeca-5,8,11-triensäureamid				s		
Hexadecensäureamid		(+)				
Eicosansäuresäureamid	s					
Ethanolamine						
2-(N,N-dimethylamin)-ethylhexadecanoat	s					
2-(N,N-dimethylamin)-ethyl-9-octadecenoat	s					
2-(N,N-dimethylamin)-ethyl-11-octadecenoat	s					
2-(N,N-dimethyl)-ethyleicosanoat	s					

Substanzen	Ovarien	g. Tiere	Muskel	Cephalothorax	♂ Ant. Drüsen	♀ Ant. Drüsen
Ethanolamide	s					
Pentadecansäureethanolamid	s					
(Z9)-Hexadecensäureethanolamid	s					
Hexadecansäureethanolamid	+				s	++
(Z9)-Octadecensäureethanolamid	s					
Octadecansäureethanolamid	s					
Aminosäuren						
N-Metylaminoessigsäure	s	(+)				
Glycin	++	++				
Alanin	++	++				
2-Aminobuttersäure	s	(+)				
2-Piperidincarbonsäure	s					
N-Acetylprolin	+	(+)				
β-Alanin	s	s				
Norvalin	+	++		s		
Cystein	s	++				
Leucin	+++	+++				
Isoleucin	+	++				
Prolin	++	+++	s			
Pyridin-4-carbonsäure	s		s			
Serin	+	+				
Threonin	+	+				
Aminomalonsäure	(+)	+				
Asparaginsäure	s	s				
Methionin	(+)	++				
Glutaminsäurelactam	+	+		s		
Norleucin	s	s				
Phenylalanin	++	++				
5-Hydroxypiperidin-2-carbonsäure	s	s				
Ornithin	s	s				
Glutaminsäure	(+)	s				
Asparagin	s	s				
Lysin	s	s				
Thyrosin	(+)	s				
Pantothensäure	s	s				
Tryptophan	(+)		s			
Isoprenoide						
6,10-Dimethyl-5,9-undecadien-2-on	s					
6,10,14-Trimethylpentadecan-2-on	s					
4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olid	s					
Squalen	+					
Cholesta-3,5-dien	s					
Cholesta2,4-dien	s					
Cholesta-4,6-dien-3-ol	s					
Choletsterin	+++	++				
Vitamin E	+++	(+)				
Cholest-7-en-3-on	s					
m/z 260 (Cholesterinester)	s					
m/z 260 (Cholesterinester)	s					
Cholest-4-en-3-on	s					
4,6-Cholestadien-3on	s					

Substanzen	Ovarien	g. Tiere	Muskel	Ceph alotho rax	♂ Ant. Drüsen	♀ Ant. Drüsen
Kohlenhydrate						
Aldopentosepyranosid	s					
Xylulose	s					
Aldohexose	s					
Aldohexose	s					
Aldohexose	s					
2-Acetamidoaldohexopyranosid	s					
Purin- und Pyrimidinbasen						
Uracil	++					
Dehydrouracil	s					
Cytosin	s					
Hypoxanthin	s					
Nukleoside						
N-Methyluridin	+++					
Uridin	+					
N-Methylinosin	+					
Glyceride						
1,3-Dihydroxypropylhexadecanoat	s	s				
2,3-Dihydroxypropyl-9-hexadecanoat	s	s				
2,3-Dihydroxypropylhexadecanoat	s	s				
2,3-Dihydroxypropylheptadecanoat	s	s				
1,3-Dihydroxypropyl-9-octadecanoat	s	s				
1,3-Dihydroxypropyl-11-octadecanoat	s	s				
1,3-Dihydroxypropyloctadecanoat	s	s				
2,3-Dihydroxypropyl-9-octadecanoat	s	s				
2,3-Dihydroxypropyl-11-octadecanoat	s	s				
2,3-Dihydroxypropyloctadecanoat	s	s				
2,3-Dihydroxypropylonadecanoat	s	s				
2,3-Dihydroxypropyl-(5Z,8Z,11Z,14Z)-eicosa-5,8,11,14-tetraenoat	s					
2,3-Dihydroxypropyl-(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-eicosa-5,8,11,14,17-pentaenoat	s					
Diketopiperazine						
Val,Ala-Diketopiperazin		ss				
L-Ala,L-Pro-Diketopiperazin		+				
Ileu,Ala-Diketopiperazin		ss				
L-Val,L-Pro-Diketopiperazin	ss	(+)	+			
L-Leu,L-Pro-Diketopiperazin	ss	(+)	+			
Ileu,Pro-Diketopiperazin	ss	+	+			
Norleu,Pro-Diketopiperazin	ss	s				
Leu,Pro-Diketopiperazin		ss				
Pro,Pro-Diketopiperazin		(+)	+			
Ala,Phe-Diketopiperazin		s				
Phe,Phe-Diketopiperazin		s				
Pro,Met-Diketopiperazin		(+)				
Phe,Pro-Diketopiperazin	ss	+	+			
Anorganische Verbindungen						
Phosphorsäure	++	+		+++		
Unbekannte Verbindungen						
m/z 54/79/150	s					

Substanzen	Ovarien	g. Tiere	Muskel	Ceph alotho rax	♂ Ant. Drüsen	♀ Ant. Drüsen
m/z 54/79/150	s					
m/z 79/94/108	s					
m/z 79/94/108	s					
m/z 43/79 (Acetat)	s					
m/z 124/137/180	s					
m/z 141		s	s			
m/z 127		s	s	s		
m/z 141		s	s	s		
m/z 141		s	s	s		
m/z 127			s			
m/z 141			s	s		

Tabelle 10 Inhaltstoffe der einzelnen Körperpartien von *Crangon crangon*

Es konnten 350 verschiedene Substanzen in den Extrakten nachgewiesen werden, davon 24 Kohlenwasserstoffe, 18 Alkohole, 16 Aldehyde, 13 Ketone, 40 Carbonsäuren, 65 Carbonsäureester und 5 Lactone, 38 Amide, 14 Isoprenoide, 21 Heterocyklen und 10 Aromaten, 30 Aminosäuren, 3 Nukleoside und 5 Zucker.

Bis auf einige Alkane [89] und ein Teil der Fettsäuren [74], wurden alle Substanzen das erste Mal für diese Art beschrieben.

5.5.4 Charakteristische Substanzen in den einzelnen Körpersegmenten

In der Tabelle 11 sind die Unterschiede in den Extrakten der einzelnen Körpersegmente aufgeführt.

Tabelle 11 Charakteristische Substanzen in den einzelnen Körperpartien

Substanzen	Ovarien	Muskel	Cephalotho rax	Antennen drüse	Tiere ohne Ovarien	ganze Tiere
Uridin	+					
N-Methyl-inosin	+					
N-Methyl-uridin	+++					
Uracil	++					
Cytosin	s					
Hexadecansäureethanolamid	+			++		
Pro-Phe- Diketopiperazin	ss	+				
Pro-Ala-Diketopiperazin		ss				
Pro-Leu-Diketopiperazin	ss	+			(+)	(+)
Pro-Pro-Diketopiperazin		+			(+)	(+)
Pro-Ileu-Diketopiperazin	ss	+			+	+
Pro-Val-Diketopiperazin	ss	+			(+)	(+)
*3-Hydroxy-8-methyl nonansäureamid		s	s		s	s
(S3)-3-Hydroxydecansäureamid		+	+++		+++	+++
3-Hydroxydodec-5-ensäureamid		s	++		+	+

Substanzen	Ovarien	Muskel	Cephalothorax	Antennen drüse	Tiere ohne Ovarien	ganze Tiere
*3-Hydroxy-4-methyldecansäureamid		s	s		s	s
*3-Hydroxy-8-methyldecansäureamid			(+)		s	s
*3-Hydroxy-9-methyldecansäureamid		s	+		+	+
(Z5,Z8,Z11)-(S3)-3-Hydroxytetradecatriensäureamid			s			
(S3)-3-Hydroxydecansäure			+			
3-Hydroxy-9-methyl-decansäure			s			
Decansäureamid		s	(+)		s	s
2-Methylheptansäureamid			s			
7-Methylnonansäureamid						
Decensäureamid						
2-Decensäureamid			+		s	s
Decadiensäureamid			s			
9-Methyldecansäureamid			s			
Dodecadiensäureamid			(+)			
3-(Methylthio)-propanal				s		
(2E,4E)-2,4-Heptadienal	s			ss		
(3E,5E)-3,5-Octadien-2-on				ss		
(5Z,8Z)-Tetra deca-5,8-dien-2-on					s	s
(5E,8Z)-5,8-Tetra decadien-2-on					s	s
(5Z,8Z,11Z)-5,8,11 Tetradecatrien-2-on					(+)	(+)
(5E,8Z,11Z)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on					(+)	(+)
Dimethylamin				+++		
Trimethylamin				+		
2-Propylamin				+++		
1-Propylamin				++		
Harnstoff				+		
1,3-Dimethyl-harnstoff				+		
1,1-Dimethyl-3-ethylharnstoff				+		
N,N-Dimethyl-harnstoff				s		

Tabelle 11 Charakteristische Substanzen in den einzelnen Körperpartien

Die Ergebnisse zeigen, dass es charakteristische Substanzen für die einzelnen Körpersektionen gibt. Besonders interessant ist die hohe Konzentration an Nukleosiden in den Ovarien: Sie sind auch gleichzeitig charakteristisch für dieses Organ. Im Vergleich dazu findet man die Nukleoside in den Ganztierextrakten ohne Ovarien gar nicht oder nur in sehr geringer Konzentration.

Der Muskel zeichnet sich durch den hohen Anteil an Diketopiperazinen aus, sie gehören in den anderen Körperteilen nur zu den Spurenkomponenten. Sie entstehen möglicherweise aus den Muskelproteinen.

Die Extrakte aus dem Cephalothorax von *Crangon crangon* enthalten als Hauptkomponenten

die Amide und 3-Hydroxysäureamide. Diketopiperazine konnten in diesem Bereich nicht nachgewiesen werden.

Die Antennendrüsen enthielten Amine und Harnstoffderivate aber auch ungesättigte Aldehyde und einige Schwefelverbindungen.

Der große Anteil an Aminen und Harnstoffderivaten in diesen Extrakten, erklärt sich dadurch, dass aus der Antennendrüse der Urin abgegeben wird.

5.6 Diskussion zur Identifizierung von Naturstoffen bei *Crangon crangon*

In den Extrakten von *Crangon crangon* konnte eine Vielzahl von Substanzen identifiziert werden. In diesem Abschnitt erfolgt eine Aufstellung der Substanzen, die als Sexuallockstoffe in Frage kommen könnten.

Die charakteristischen Substanzklassen der Extrakte von *Crangon crangon* werden anhand ihres Vorkommens in anderen Organismen und ihrer Biosynthese diskutiert.

Die Derivatisierungsmethode für die 3-Hydroxysäureamide wird mit anderen Methoden der Mikroderivatisierung verglichen.

Potentielle Sexualpheromone bei *Crangon crangon*

Die Partnererkennung spielt bei allen zweigeschlechtlichen Organismen eine außerordentlich wichtige Rolle. In vielen Fällen sind chemische Botenstoffe daran beteiligt. Eine Reihe von Insekten- und Crustaceenarten finden ihren Geschlechtspartner nahe zu ausschließlich über Sexuallockstoffe [105,106].

Um Irrtümer bei der Partnerwahl zu vermeiden, wird zum Teil ein hoher physiologischer Aufwand betrieben. So besitzen z.B. viele Schmetterlinge für die Erkennung der Lockstoffe ihrer Partner Rezeptoren, die ausschließlich das Sexualpheromon erkennen können [107,108]. Auch bei *Crangon crangon* kann man davon ausgehen, dass chemische Botenstoffe für die Partnererkennung verantwortlich sind. Aus dem Ablauf der Paarung läßt sich schließen, dass die weiblichen Sexuallockstoffe nur von gehäuteten reifen Weibchen abgegeben werden. Es ist zu berücksichtigen, dass diese Substanzen auch in reifen ungehäuteten Weibchen vorhanden sein können, von diesen aber erst nach der Häutung abgegeben werden.

Des weiteren sind die Substanzen, die ausschließlich in den Ovarien und den Antennendrüsen gefunden wurden als potentielle Sexuallockstoffe zu berücksichtigen. So wurde bei Hummern der Spezies *Homarus americanus* vermutet, dass die weiblichen Pheromone in den Ovarien sezerniert werden [49]. Bei verschiedenen Krabbenarten (Brachyura) konnte außerdem gezeigt werden, dass die Sexuallockstoffe mit dem Urin über die Antennendrüsen abgegeben werden [48,83]

Zu den Substanzen, die nur in den Extrakten attraktiver Weibchen gefunden wurden, gehören (2E,4E)-2,4-Decadienal (**29**) und (2E,4Z)-2,4-Decadienal (**30**).

Das (2E,4E)-2,4-Decadienal (**29**) ist seit langem als Bestandteil des Tomatenaromas bekannt [109,110], und wurde kürzlich als Hauptbestandteil des Sekretes der Preorbitaldrüsen (Vorausendrüsen) von Antilopenmännchen der Spezies *Damaliscus dorcas dorcas* identifiziert. Bei einer verwandten Antilopenart *Damaliscus dorcas phillipsi* ist es der Hauptbestandteil des weiblichen Preorbitaldrüsensekretes [111,112].

Eine Verbindung, die dem (2E,4Z)-2,4-Decadienal (**30**) strukturell sehr ähnlich ist, das Methyl-(E,Z)-2,4-decadienoat, bildet zusammen mit einem Spiroacetal das Pheromon-Bukett des Borkenkäfers *Pityogenes chalcographus* [113].

Zu der selben Gruppe von konjugiert ungesättigten Carbonylverbindungen, die bei *Crangon crangon* nur in den Antennendrüsen reifer gehäuteter Weibchen gefunden werden konnten, gehören (2E,4E)-2,4-Heptadienal (**31**) und (3E,5E)-3,5-Octadien-2-on (**33**).

In Ganztierextrakten attraktiver Weibchen und reifer ungehäuteter Weibchen, wurden neben diesen Verbindungen auch (2E,4Z)-2,4-Heptadienal (**32**) und (3E,5Z)-3,5-Octadien-2-on (**34**) gefunden. In den Extrakten gehäuteter juveniler Weibchen und gehäuteter Männchen treten sie nicht auf.

Diese Verbindungen sind unter anderem als Aromabestandteile von schwarzem Tee [114,115], verschiedener Süß- und Salzwasserfische sowie von Austern beschrieben worden [116,117].

Für die Biosynthese kurz- und mittelkettiger unverzweigter Carbonylverbindungen sind im Rahmen von Stoffwechseluntersuchungen verschiedenen Wege gefunden worden. Die Ausgangsprodukte sind zumeist Fettsäuren, wie Stearinsäure, Linolsäure oder Linolensäure. Die Fettsäuren werden entweder gezielt an einem Kohlenstoffatom der Kette gespalten oder durch β -Oxidation successive abgebaut.

Charakteristisch für den Geruch frisch gefangener Fische ist eine Reihe C₈- und C₉-Alkohole und Aldehyde, wie z.B. 2,5-Octadien-1-ol, 1,5-Octadien-3-ol, 2,6-Nonadienal und 2-Nonenal [116,117,118,122]. Diese Verbindungen entstehen ebenso wie der "Grüne Geruch" vieler Pflanzen [119] und das typische Aroma von Pilzen durch die enzymatische Spaltung ungesättigter Fettsäuren [120,121].

Ausgehend von Linolensäure oder Linolsäure werden diese Substanzen durch Einwirkung einer Lipoxygenase über eine 13- bzw. 9-Hydroperoxidsäure generiert, die dann von einer Hydroperoxidlyase gespalten wird [126,127,128].

Die gezielte Oxidation eines Kohlenstoffatoms in der Fettsäurekette leitet außerdem die Biosynthese der Prostaglandine aus Arachidonsäure ein. Allerdings erfolgt im Anschluss an diesen Angriff keine Spaltung der Fettsäure [129].

Untersuchungen zur Biosynthese der Fischaromastoffe, haben ergeben, dass 3,5-Octadien-2-on, 2,4-Heptadienal und 2,4-Decadienal unter Einwirkung von Peroxiden auf Fischhomogenisate entstehen können. Weiterführende Studien mit gezielten Lipoxygenase- und Hydroperoxidlyasehemmern führten zu dem Ergebnis, dass diese Verbindungen bei Fischen zunächst nicht durch reine Autooxidation, sondern über den Angriff einer Lipoxygenase und anschließende oxidativer Spaltung aus Linol- bzw. Linolensäure gebildet werden [130]. In Abbildung 84 ist die Generierung von (2E,4Z)-2,4-Decadienal (**30**) bei Fischen und die rein enzymatische Bildung von (Z)-3-Nonenal in grünen Pflanzen dargestellt.

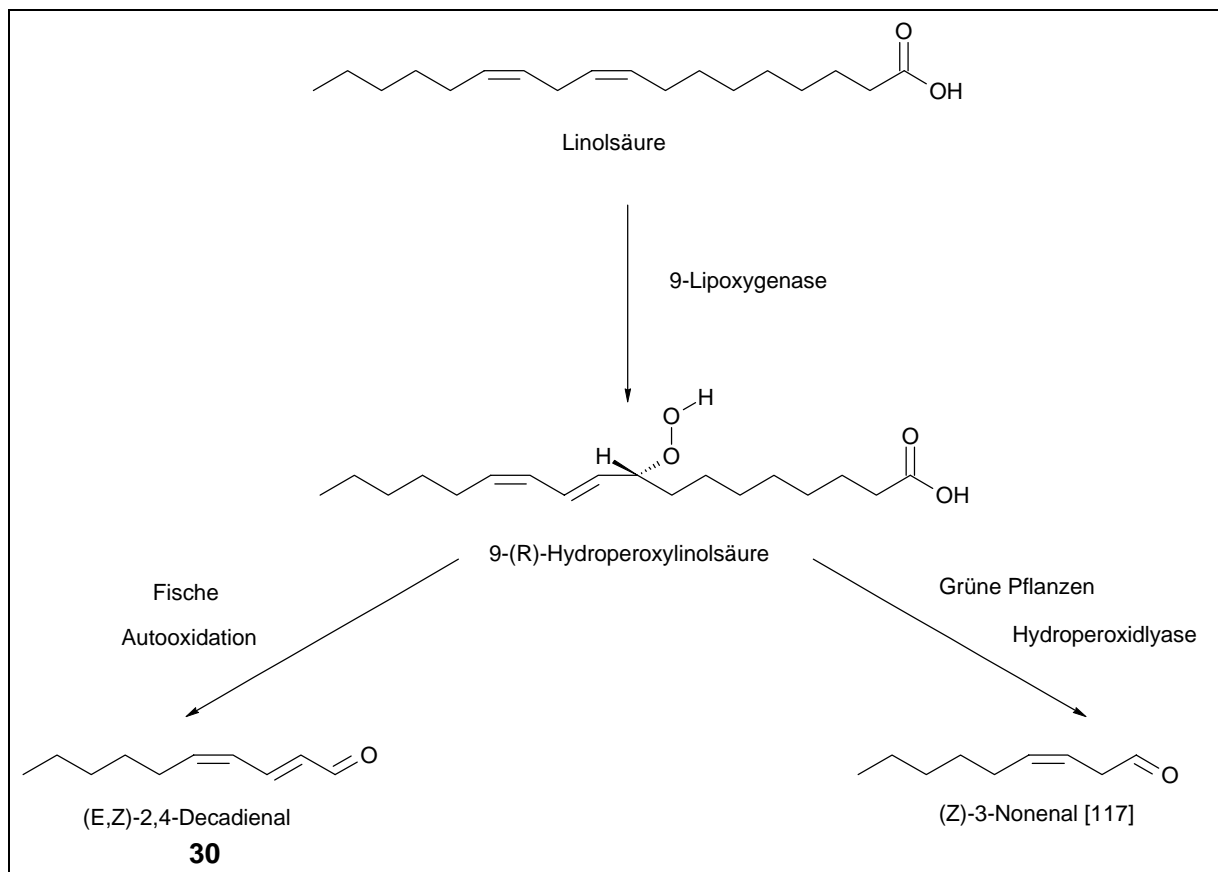


Abbildung 84 Biosynthese von (Z)-3-Nonenal bei Pflanzen und von (E,Z)-2,4-Decadienal **30** bei Fischen

Über die Biosynthese der 2,4-Decadienale bei Crustaceen liegen bisher keine umfassenden Untersuchungen vor. Es ist anzunehmen, dass in der Natur sowohl die autooxidative als auch die rein enzymatische Bildung dieser Verbindungen stattfinden.

Zu den Verbindungen, die ausschließlich in Extrakten attraktiver Weibchen gefunden wurden, gehören neben den eben beschriebenen ungesättigten Carbonylverbindungen noch ein Tetradecatrien und drei ungesättigte γ -Lactone der Kettenlängen C₁₆, C₁₈ und C₂₀, deren Strukturen nicht abschließend geklärt werden konnten. Der ungesättigte Kohlenwasserstoff ist möglicherweise eng verwandt mit den Undecatrienen, die als Pheromone von Braunalgen bekannt sind. [15,16,17,19].

9- und 10-Hexadecanolid (35,36) sowie 9- und 10-Octadecanolid (37,38) wurden ausschließlich bei reifen ungehäuteten Weibchen gefunden. Sie entstehen vermutlich aus Palmitinoleinsäure bzw. Ölsäure. Es ist möglich, dass diese Verbindungen mit dem Abschluß des Reifeprozesses der Weibchen in Zusammenhang stehen. Da sie in den Extrakten attraktiver Weibchen nicht nachgewiesen werden konnten, kommen sie wahrscheinlich nicht als Sexualpheromone in Frage.

In der Natur sind ähnliche Lactone in den Metasternaldrüsensekreten des Eukalyptus-Bockkäfers *Phoracantha synonyma* gefunden worden. Das (Z)-4-Decen-9-olid und das 9-Decanolid bilden die Hauptkomponenten des Sekretes [127].

Bei Schmetterlingen der Art *Euploea sylvester* ist 9-Decanolid Bestandteil der männlichen Haarpinsel und bei der Art *Tirumala petiverana* kommen 5-Tetradecen-13-olid und 5-Dodecen-11-olid in Pinseln und Flügeltaschen vor [128,129].

In einem Cyanobakterium, der Grün-Blaualge *Geotrichia* (J. C. Agardh 1842) wurde ein 9-Hydroxylacton mit einer mehrfach ungesättigten Alkylkette gefunden, das möglicherweise aus α -Linolensäure gebildet wird [130].

In den Ovarien wurden hohe Konzentrationen an Nukleosiden, die gleichzeitig charakteristisch für dieses Organ sind, gefunden. Im Vergleich dazu findet man die Nukleoside in den Ganztierextrakten ohne Ovarien gar nicht und in Ganztierextrakten mit Ovarien nur in sehr geringen Konzentrationen.

Die Hauptkomponenten der Nukleoside sind 1-Methylinosin (56) und 3-Methyluridin (57). Inosin ist bereits als Sexualpheromon von Seeringelwürmern *Platynereis dumerilii* bekannt, wo es die Abgabe der weiblichen Gameten induziert [131].

Methylierte Nukleoside sind außerdem typisch für die t-RNA und tragen zu der kleeblattartigen Struktur dieses Makromoleküls bei [132].

Möglicherweise sind Nucleoside oder deren Abbauprodukte auch bei *Crangon crangon* als Sexuallockstoffe von Bedeutung.

Im Reifezyklus der Ovarien, werden die Nucleoside zunächst zum Aufbau der Keimzellen-DNA benötigt. Wenn die Ovarien ausgereift sind, werden diese Substanzen nicht mehr gebraucht. Die überschüssigen Nucleoside könnten dann abgebaut oder ausgeschieden werden. Die Nucleoside oder die Abbauprodukte von Nucleosiden könnten somit einem Männchen signalisieren, dass es sich bei dem Emitter um ein paarungsbereites Weibchen handelt.

2-Hydroxyethylhexadecansäureamid (**58**) wurde sowohl in den Ovarien, als auch in den Antennendrüsen reifer gehäuteter Weibchen gefunden. Das deutet darauf hin, dass diese Verbindung möglicherweise im Zusammenhang mit dem Paarungsablauf von *Crangon crangon* steht.

Als Naturstoffe sind Ethanolamide unter anderem aus Samen und Blättern von *Entada phaseoloides* (Leguminosae) isoliert worden, von denen das *trans*-N-(2-Hydroxyethyl)-3-methylthiopropensäureamid und das N-(2-Hydroxyethyl)-3,3-bis-methylthiopropensäureamid entzündungshemmende Wirkung haben [133,134].

Des Weiteren wurde ausschließlich in den Antennendrüsen reifer gehäuteter Weibchen 3-Methylthiopropional gefunden. Es entsteht möglicherweise aus Methionin, durch Decarboxylierung und anschließende Oxidation. Es konnte in keinem anderen der Extrakte nachgewiesen werden, auch nicht in den SPME-Untersuchungen der Ausscheidung der Antennendrüsen. Dass sie auch in den Ganztierextrakten attraktiver Weibchen nicht gefunden werden konnte, deutet möglicherweise daraufhin, dass es sich bei dieser Verbindung um ein Artefakt handelt.

3-Hydroxysäureamide in *Crangon crangon*

Die 3-Hydroxysäureamide gehören zu den Hauptkomponenten der Ganztierextrakte von *Crangon crangon*. Da aber nur reife gehäutete Weibchen bei den Männchen das Paarungsverhalten auslösen, ist es eher unwahrscheinlich, dass diese Verbindungen als Sexualpheromon in Frage kommen. Diese Substanzklasse wurde bisher nur sehr selten als Naturstoff beschrieben

Aus Pilzen konnten 3-Hydroxysäureamide, die mit Aminosäuren verestert waren und cytotoxische Eigenschaften besaßen, identifiziert werden [101,102].

Ein 3-Hydroxydodecansäureamid, das mit einem Tripeptid bestehend aus Arginin, Glutamin und Leucin, verestert ist, wurde in dem Pilz *Penicillium fellutanum* gefunden, der sich unter anderem auf Meeresfischen ansiedelt. Diesem konnte die (R)-Konfiguration an der Hydroxygruppe zugeordnet werden [101], wogegen alle Hydroxysäureamide, die in dieser Arbeit aus *Crangon crangon* identifiziert werden konnten, S-Konfiguration besaßen.

Ein mit Serin verestertes 3-Hydroxydecansäureamid wurde bereits 1955 aus einem Organismus der *Serratia*-Gruppe identifiziert. Diese Verbindung zeigte in den durchgeführten Untersuchungen keine pharmakologische Wirkung. Die Stereochemie konnte nicht aufgeklärt werden [102].

Homologe Verbindungen, wie die 3-Hydroxysäuren wurden in den Tarsaldrüsen der Hummel *Bombus terrestris* gefunden. Es wurde vermutet, dass diese Verbindungen eine herbizide Wirkung haben [95].

Für diese Hummel wird beschrieben, dass die 3-Hydroxysäuren hauptsächlich als (S)-Enantiomer vorliegen, der (R)-Enantiomerenanteil aber mit zunehmender Kettenlänge zunimmt und die 3-Hydroxytetradecansäure bereits racemisch vorliegt.

Eine zunehmende Racemisierung mit längerem Kohlenstoffgerüst konnte bei den 3-Hydroxysäureamiden, die in *Crangon crangon* gefunden wurden, hingegen nicht festgestellt werden. Das R-Enantiomer konnte weder bei dem 3-Hydroxydecan-, -dodecan- noch dem -tetradecatriensäureamid nachgewiesen werden.

Von der 3-Hydroxyoctan- und der 3-Hydroxydecansäure, die in sehr geringen Konzentrationen, bei *Crangon crangon* gefunden wurden, konnten ebenfalls nur die (S)-Enantiomere nachgewiesen werden.

Biosynthese der 3-Hydroxysäureamide durch β -Oxidation

Die außergewöhnlich hohen Konzentrationen an 3-Hydroxysäureamiden in *Crangon crangon* deuten darauf hin, dass diese Verbindungen für die Garnele von physiologischer Bedeutung sind.

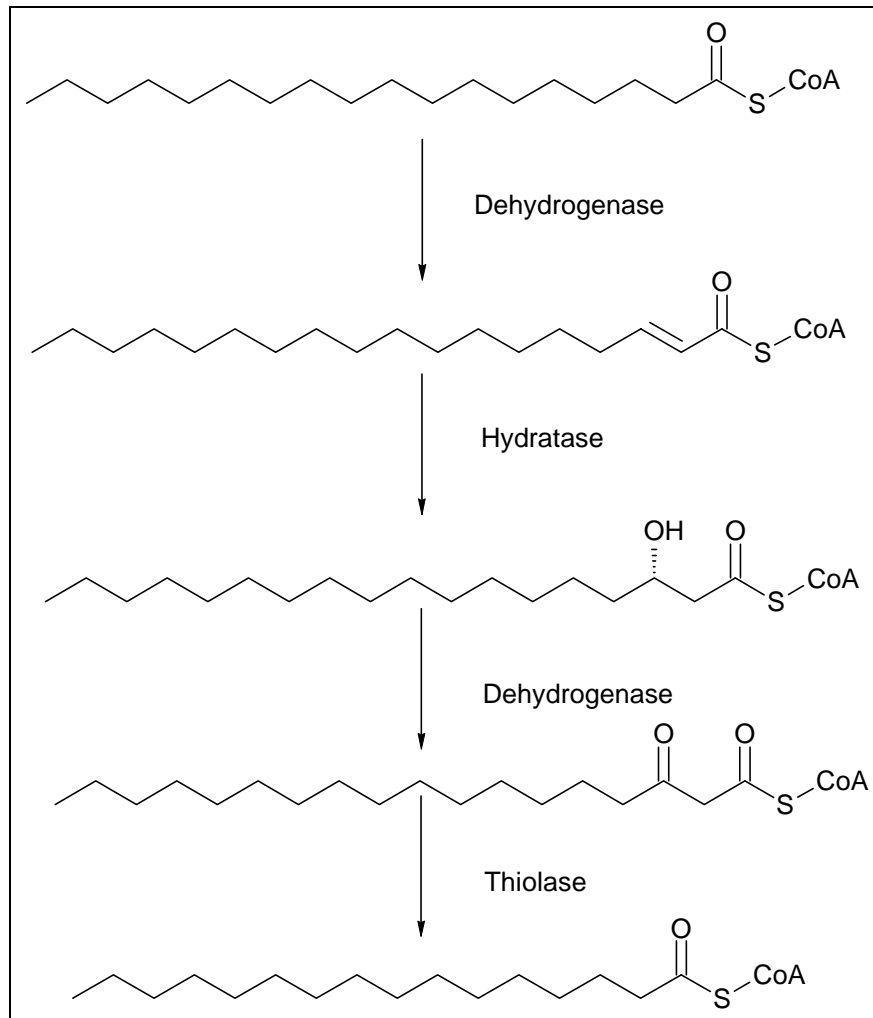


Abbildung 85 β -Oxidation am Beispiel von Stearinsäure

Die Biosynthese dieser Verbindungen erfolgt vermutlich durch den Abbau von Fettsäuren. Es ist bekannt, dass 3-Hydroxygruppen als Zwischenprodukte der β -Oxidation entstehen.

Bei der β -Oxidation wird zunächst eine Fettsäure mit Acetyl-CoA aktiviert. Dann erzeugt eine Dehydrogenase eine α,β -ungesättigte Fettsäure, die anschließend an der β -Position hydroxyliert wird. Eine L-3-Hydroxyacetyl-CoA-Dehydrogenase setzt daraufhin die Hydroxygruppe zum Keton um, und eine Thiolase spaltet die Acetylgruppe ab (Abbildung 85).

Die Hydratase, die im Zyklus der β -Oxidation aktiviert wird, bildet ausschließlich (S)-3-

Hydroxyverbindungen, während die Hydratase, die beim Fettabbau die Hydroxygruppe einfügt nur die (R)-3-Enantiomere generiert [135].

Das spricht dafür, dass die in den Extrakten von *Crangon crangon* gefundenen (S)-3-Hydroxysäureamide Produkte der Hydroxylase aus der β -Oxidation stammen.

Die 3-Hydroxydecanhomologe: (S)-3-Hydroxydekansäureamid, 8-Methyl-3-hydroxydekansäureamid und 9-Methyl-3-hydroxydekansäureamid könnten z. B. aus Palmitinsäure, 14-Methylhexadecansäure und 15-Methylhexadecansäure entstehen. Diese Säuren wurden ebenfalls in den Extrakten von *Crangon crangon* gefunden, und kommen in ähnlichen Konzentrationsverhältnissen wie die 3-Hydroxydecanhomologe vor. So gehört Palmitinsäure zu den Hauptkomponenten der Extrakte und die methylverzweigten Homologe sind deutlich geringer konzentriert.

Das 4-Methyl-3-hydroxydekansäureamid müsste demnach aus einer 10-Methylhexadecansäure entstanden sein. Fettsäuren mit Methylverzweigung in der Mitte der Kohlenstoffkette sind jedoch nicht gefunden worden. Möglicherweise waren ihre Konzentrationen in den Extrakten zu gering.

Das (Z5)-3-Hydroxydodec-5-ensäureamid könnte durch β -Oxidation aus Palmitoleinsäure nach Abbau von zwei Acetyleinheiten entstehen.

Palmitoleinsäure gehört genau wie Palmitinsäure zu den Hauptbestandteilen der Ganztierextrakte.

In Abbildung 86 sind Vorschläge für die Abbauege dargestellt, die zu den oben aufgezählten 3-Hydroxysäureamiden führen.

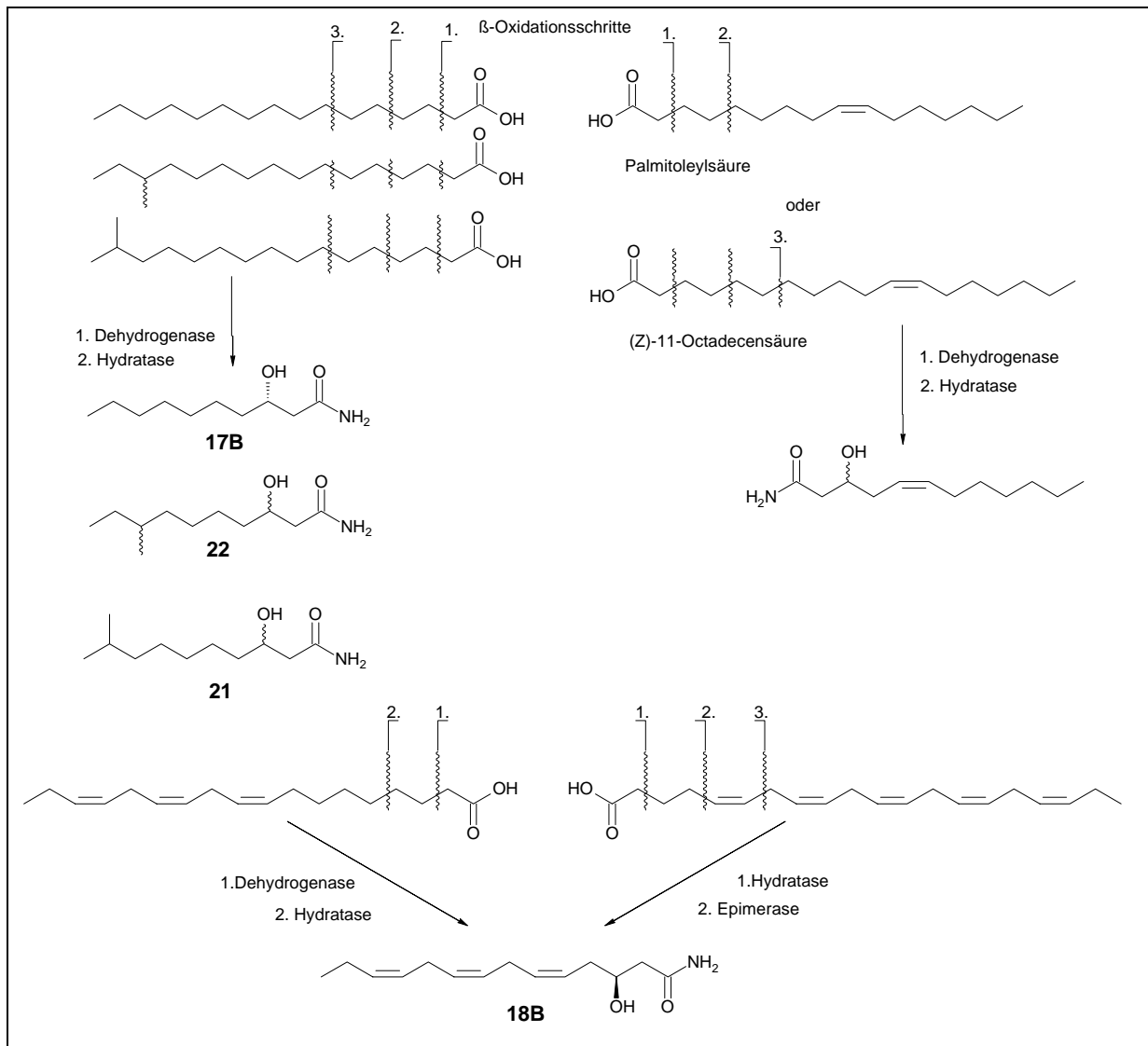


Abbildung 86 Biosynthese der 3-Hydroxysäureamide durch β -Oxidation

Zunächst werden die Säuren durch zwei bzw. drei β -Oxidationsschritte abgebaut. Dann erfolgt die Einführung der Hydroxygruppe mit Hilfe der Dehydrogenase und der Hydratase. Im Anschluss wird die Aktivierungsgruppe durch eine Aminogruppe ersetzt, und das 3-Hydroxysäureamid wird freigesetzt.

Als Ausgangsverbindungen für (Z5,Z8,Z11)-(S3)-3-Hydroxytetradeca-5,8,11-triensäureamid kommen nur Fettsäuren in Frage die mindestens drei homokonjugierte Doppelbindungen ausgehend von der ω_3 -Position haben, wie z.B. α -Linolensäure.

So könnte das (Z5,Z8,Z11)-(S3)-3-Hydroxytetradeca-5,8,11-triensäureamid sowohl aus α -

Linolensäure, als aus ω_3 -Eicosapentaensäure oder ω_3 -Docosahexaensäure entstanden sein.

In den Extrakten wurde α -Linolensäure allerdings nur in sehr geringen Mengen ausschließlich bei den Weibchen gefunden. Dafür lagen in allen Proben hohe Konzentrationen von ω_3 -Eicosapentaensäure und ω_3 -Docosahexaensäure vor.

Die Bildung von (Z5,Z8,Z11)-(S)-3-Hydroxytetradeca-5,8,11-triensäureamid aus ω_3 -Eicosapentaensäure oder ω_3 -Docosahexaensäure erfordert den Abbau der homokonjugierten Doppelbindungen.

Der Abbau von mehrfach ungesättigten Fettsäuren erfolgt bei vielen Organismen zusätzlich über eine Isomerase und eine Epimerase. Die Isomerase kann eine cis- β,γ -Doppelbindung in eine trans- α,β -Doppelbindung umwandeln. Die Epimerase kann eine (R)-3-Hydroxygruppe in das (S)-Enantiomer umwandeln. Die (R)-3-Hydroxygruppen entstehen bei der Hydratisierung von cis-Doppelbindungen durch die Enoyl-CoA-Hydratase und können ohne die Epimerisierung nicht weiter abgebaut werden (siehe auch Abbildung 86).

Wenn man davon ausgeht, dass das (Z5,Z8,Z11)-(S)-3-Hydroxytetradeca-5,8,11-triensäureamid aus ω_3 -Eicosapentaensäure oder ω_3 -Docosahexaensäure entsteht, stellt sich die Frage, warum in den Extrakten das (S)- und nicht das (R)-Enantiomer gefunden wurde. Wenn die Verbindung nicht weiter abgebaut wird, erscheint es auf den ersten Blick nicht sinnvoll, die Konfiguration an der Hydroxygruppe mit Hilfe der Epimerase zu ändern.

Dies ist möglicherweise ein Indiz dafür, dass das (Z5,Z8,Z11)-(S)-3-Hydroxytetradeca-5,8,11-triensäureamid nicht aus ω_3 -Eicosapentaensäure oder ω_3 -Docosahexaensäure gebildet wird. Es könnte aber auch daraufhin deuten, dass die (S)-Konfiguration der 3-Hydroxygruppe für die Aufgaben, die diese Verbindungen im Stoffwechsel wahrnehmen, notwendig ist.

Die Tetradecatrienverbindungen

(Z5,Z8,Z11)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on (**28**) und (E5,Z8,Z11)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on (**27**) gehören zu den charakteristischen Substanzen für die Festphasenextrakte von *Crangon crangon*. Sie treten immer zusammen mit dem (5Z,8Z)- und (5E,8Z)-Tetradeca-5,8-dien-2-on auf, die in deutlich geringeren Konzentrationen vorliegen.

Beide Verbindungen **28** und **27** sind im Aroma kleiner Garnelen nachgewiesen worden. Sie sind für das spezielle Meeresfrüchtearoma der gekochten Tiere verantwortlich [136,137]. Es wurde bereits versucht die Entstehung dieser Substanzen zu klären. Dabei konnte ausgeschlossen werden, dass es sich um Produkte der Autoxidation der Lipidfraktionen

handelt [42,137,138]. Bisher wurde angenommen, dass diese Verbindungen hauptsächlich in Folge des Kochens der Tiere gebildet werden. Die hier durchgeführten Untersuchungen zeigten, dass sich die Verbindungen bei *Crangon crangon* auch ohne Wärmeeinwirkung bilden. So befinden sie sich z.B. auch in den Mikrofestphasenextrakten (SPME), die ohne Lösemittel und bei Raumtemperatur durch Adsorption auf Mikrofestphasen gewonnen werden und direkt der GC/MS-Untersuchung zugeführt wurden. Da diese Substanzen nicht zu dem Bukett roher Garnelen gehören [139], ist davon auszugehen, dass sie in Folge der Homogenisierung des Gewebes entstehen, auch wenn nicht auszuschließen ist, dass diese Substanzen auch in geringeren Konzentrationen in unverletztem Gewebe vorhanden sind.

Durch die Zerstörung des Gewebes werden Substrat und Enzyme zusammengeführt und erzeugen in großen Mengen diese "Wundsubstanzen". Vergleichbare Vorgänge sind die Freisetzung von C₆- und C₉-Aldehyden und Alkoholen beim Schnitt grüner Pflanzen oder die Emission von Octenolen bei Pilzen [121,123].

In der Natur haben Substanzen, die durch Verwundungen entstehen, meist vielfältige Bedeutung. Oft sind sie mikrobizid und schützen die Wunde vor Parasitenbefall [140,141] oder sie wirken als Alarmpheromon und signalisieren Artgenossen, sich rechtzeitig vor einer Gefahr zu schützen [142].

Nachdem die Entstehung dieser Substanzen durch Autoxidation nahezu ausgeschlossen werden konnte, wurde vermutet, dass sie durch die Einwirkung von Lipoxygenasen und Hydroperoxidlyasen aus ω_3 -Eicosapentaensäure und ω_3 -Docosahexaensäure entstehen [143]. Allerdings konnten Untersuchungen mit bekannten Lipoxigenasehemmern, wie Zinkchlorid diese Vermutungen nicht untermauern. Ob an der Bildung dieser Substanzen Cytochrom P450 oder ähnliche Enzyme beteiligt sind wurde in dieser Studie nicht untersucht [144].

Es ist anzunehmen, dass (Z5,Z8,Z11)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on (**28**) und (E5,Z8,Z11)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-on (**27**) sowie (Z5,Z8)-Tetradeca-5,8-dien-2-on und das (E5,Z8)-Tetradeca-5,8-dien-2-on in *Crangon crangon* aus auf ω_3 -Eicosapentaensäure und ω_3 -Docosahexaensäure sowie Arachidonsäure entstehen, da diese in hohen Konzentrationen in den Extrakten vorlagen.

Ein möglicher Entstehungsweg durch Einwirkung einer ω_{15} -Lipoxygenase, die in der Lage ist, eine Hydroperoxidgruppe am sechsten Kohlenstoff der ω_3 -Eicosapentaensäure bzw. der Arachidonsäure einzuführen, ist in Abbildung 87 dargestellt.

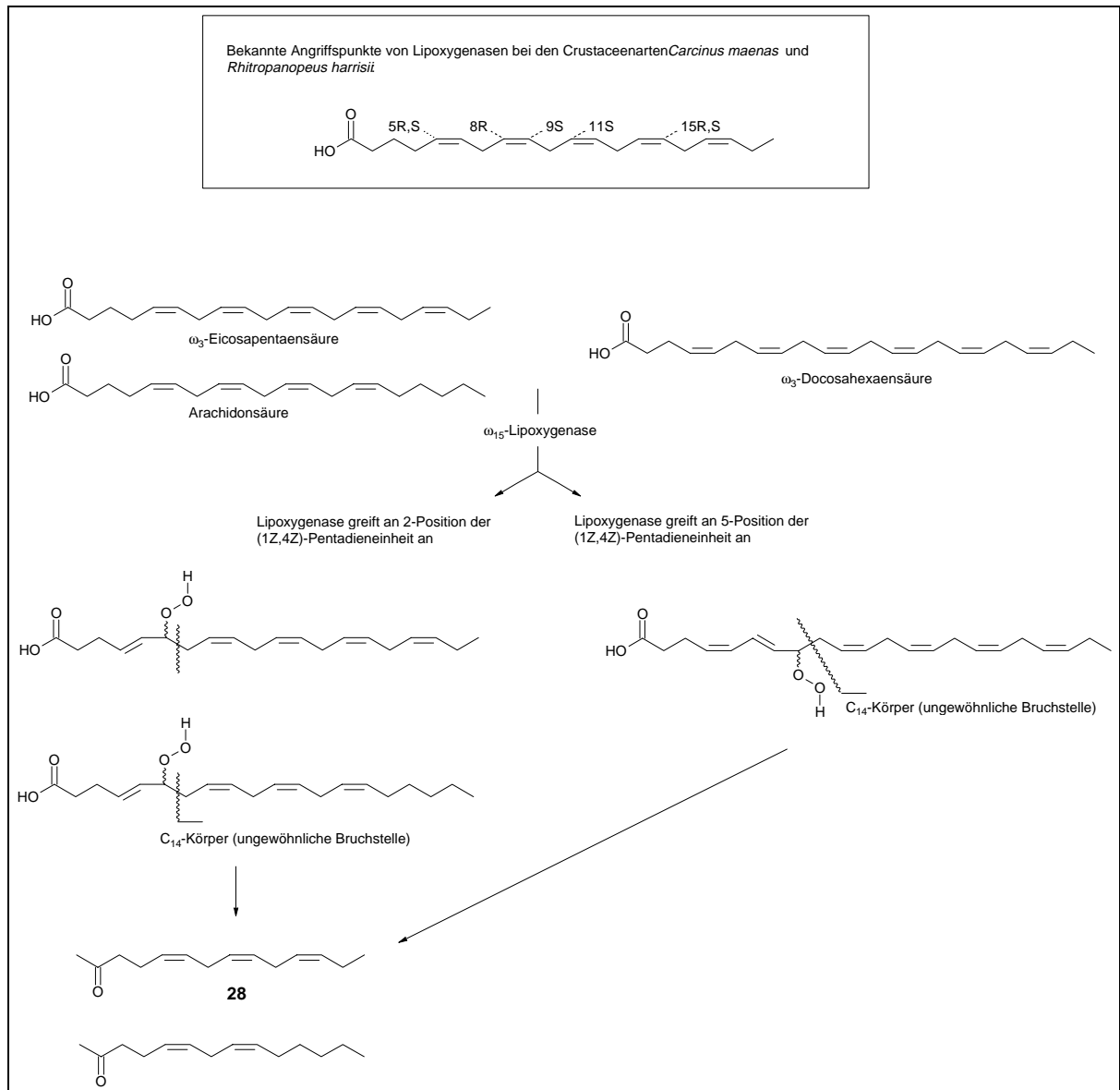


Abbildung 87 Lipoxygenasen bei Crustaceen und zwei Varianten der Biosynthese der C_{14} -Verbindungen durch Lipoxygenasen

Dieser Angriff muß allerdings als ungewöhnlich bezeichnet werden, da die meisten Lipoxygenasen, als Zielstruktur eine (1Z,4Z)-Pentadieneinheit einer mehrfach ungesättigten Fettsäuren erkennen und die Hydroperoxidgruppe unter Umlagerung der Doppelbindung an einem der Kohlenstoffe 1 oder 5 eingeführt wird (Abbildung 88) [145,146].

Ausnahmen sind z.B. die 10-Lipoxygenasen von Pilzen, die eine Hydroperoxidgruppe in der 2-Position der ersten Pentadieneinheit von α -Linolensäure einführen und zur Bildung des typischen Pilzaromas beitragen [120].

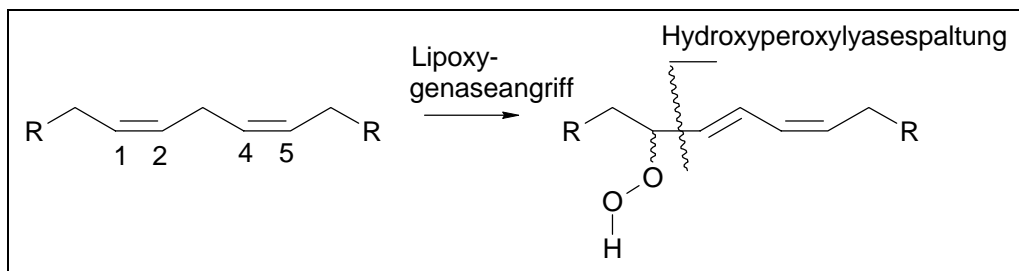


Abbildung 88 Angriff der Lipoxygenase auf die (Z1,Z4)-1,4-Pentadieneinheit

Daneben besteht die Möglichkeit, dass die Tetradecatrien-2-one und Tetradecadien-2-one aus den C₂₂-Polyensäuren entstehen. Eine ω₆-Docosapentaensäure konnte aber in den Extrakten von *Crangon crangon* nicht nachgewiesen werden.

Bisher gibt es keine Hinweise dafür, dass die oben beschriebenen Enzyme bei *Crangon crangon* existieren. Untersuchungen zur Prostaglandinsynthese der Crustaceen *Carcinus maenas* und *Rhitropanopeus harrisi* haben außerdem ergeben, dass Lipoxygenasen dieser Tiere ω₃-Eicosapentaensäure und Arachidonsäure bevorzugt am achten und etwas weniger am fünften, neunten, elften, zwölften und fünfzehnten Kohlenstoff angreifen [147,148] (Abbildung 87). In diesem Zusammenhang wäre es wichtig zu klären, welche Säuren die Vorgängersubstanzen der Tetradecatrien-2-one (**27,28**) und Tetradecadien-2-one sind.

Die Spaltung der Hydroperoxidfettsäuren zu den Tetradecatrien-2-onen und Tetradecadien-2-onen könnte über eine enzymatisch katalysierte Umlagerung der Hydroperoxidgruppe erfolgen. Solche Spaltungen sind zwar selten beschrieben, dennoch gibt es eindeutige Hinweise darauf, dass es Hydroxyperoxidlyasen gibt, die die Kette zwischen der Hydroperoxidgruppe und dem gesättigten Kohlenstoff spalten. Zu diesen Ergebnis führten intensive Studien der Lyaseprodukte der Grünalge *Acrosiphonia coalita* [149,150].

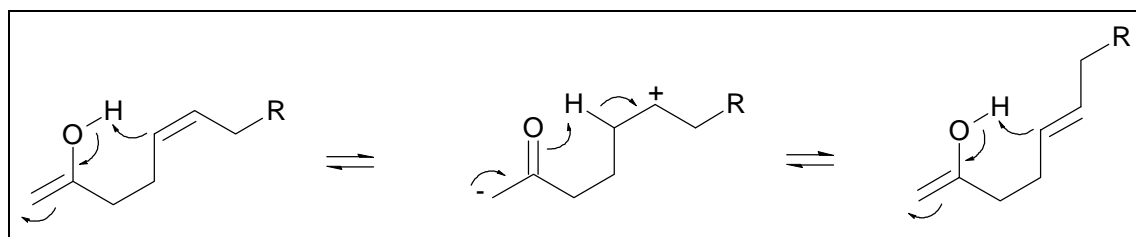


Abbildung 89 Denkbare Isomerisierung der 5Z-Doppelbindung

Die Tetradecatrien-2-one (**27,28**) und Tetradecadien-2-one liegen im Gegensatz zu (5Z,8Z,11Z)-(S)-3-Hydroxytetradeca-5,8,11-triensäureamid (**18B**) als (5Z)- und (5E)-Isomere vor. Dies deutet möglicherweise daraufhin, dass bei ihrer Entstehung zunächst das Enol gebildet wird, welches durch Protonenumlagerung die Doppelbindung isomerisiert (Abbildung 89).

Amide in *Crangon crangon*

Die nächste Besonderheit, die bei der Betrachtung der Inhaltstoffe von *Crangon crangon*, ist die große Zahl an Amiden.

Es ist nicht anzunehmen, dass es sich bei den Amiden um Aufarbeitungsartefakte handelt. Dies wurde z.B. für ein Hexadecansäureamid, das in dem Baum *Equisetum telmateia* gefunden wurde, vermutet [151]. Im Gegensatz zu der Extraktion mit heißem Ammoniak, die bei der Isolierung der Bauminhaltsstoffe angewendet wurde, ist die Festphasenextraktion, die in dieser Arbeit durchgeführt wurde, eine extrem milde Methode.

Auch in den Extrakten, die durch Gefriertrocknung der in flüssiger Luft homogenisierten Tiere erhalten wurden, konnte die ganze Bandbreite der Amide nachgewiesen werden.

Nur bei den 2-Alkensäureamiden, die in den Extrakten von *Crangon crangon* gefunden wurden, handelt es sich möglicherweise zum Teil um Artefakte. Proben, die spät aufgearbeitet wurden, enthielten einen deutlich höheren Anteil an 2-Alkensäureamiden, als die früher untersuchten.

Geringe Mengen an 2-Alkensäureamiden, die zunächst in den Proben gefunden wurden, sind möglicherweise mit den 3-Hydroxysäureamiden verknüpft. Die Konzentrationszunahme der 2-Alkensäureamide im Laufe der Lagerzeit ist vermutlich auf eine Eliminierung der Hydroxygruppe aus den 3-Hydroxysäureamiden zurückzuführen.

In der Literatur werden einige Amide mit sehr interessanter physiologischer Bedeutung beschrieben. So wurde von einem Mikroorganismus aus Taiwan das (Z5,Z8,Z11)-5,8,11-Tetradecatriensäureamid, das auch in den Extrakten reifer Weibchen von *Crangon crangon* vorkommt, isoliert [152,153]. In der Studie konnte gezeigt werden, dass das Tetradecatriensäureamid Phospholipasen A₂ hemmt und damit vermutlich auch entzündungshemmende Wirkung hat. Es konnte zusätzlich die phospholipasehemmende Eigenschaft von Ölsäureamid, Arachidonsäureamid, γ -Linolensäureamid und anderer

Fettsäureamide nachgewiesen werden. Interessanter Weise zeigten nur die freien Amide diese Wirkung. Die N-Methylamide inhibierten die getesteten Phospholipasen nicht.

Ähnlich interessant ist die Wirkung von Ölsäureamid auf das Einschlafverhalten verschiedener Säugetiere. Es wurde beschrieben, dass diese Verbindung im Kreislauf schläfriger Katzen zirkuliert und in der Schlafphase wieder abgebaut wird. Versuche mit Ratten haben gezeigt, dass Ölsäureamid bei diesen den Schlaf herbei führen kann [154,155].

Über die physiologische Bedeutung der Amide bei *Crangon crangon* ist hingegen noch nichts bekannt.

Polyenfettsäuren in *Crangon crangon*

Die Extrakte von *Crangon crangon* enthalten bemerkenswert hohe Konzentrationen von ω_3 -Eicosapentaensäure und ω_3 -Docosahexaensäure.

Die große Anzahl an mehrfach ungesättigten Fettsäuren ist typisch für Fische und andere aquatische Organismen [156]. Sie wurden aber auch in hohen Konzentrationen in den Haarpinseln der Nachtfalterarten *Amauris ochlea* und *Amauris albimaculata* gefunden [128]. Die Haarpinsel, die nur bei den Männchen dieser Arten ausgebildet werden, dienen zur Abgabe der männlichen Sexualpheromone.

Die Einführung von Doppelbindungen in Fettsäuren stellt für einen Organismus einen nicht unerheblichen energetischen Aufwand dar. Zudem muß der Organismus in der Lage sein, die Oxidation der Doppelbindung, die als Nebenreaktion der Atmung auftritt, zu verhindern oder rückgängig zu machen.

Neben ihrer Funktion, als Bestandteil von Membranlipiden die Fluidität der Membran auch bei niedrigen Temperaturen aufrecht zu erhalten und andere Austauschprozesse zu unterstützen, sind sie Ausgangsprodukt für viele wichtige Hormone und chemische Botenstoffe. Einer dieser Botenstoffe, die 10,11,12-Trihydroxy-5,8,14,17-eicosatetraensäure **8** ein Pheromon der Seepocke *Balanus balanoides* wurde bereits in der Einleitung erwähnt [41,124,157]. Arachidonsäure ist das Ausgangsprodukt der Biosynthese von Prostaglandinen und anderer sogenannter Eicosanoide [125].

Bei Menschen sind ω_3 -Eicosapentaensäure und ω_3 -Docosahexaensäure Antagonisten der Arachidonsäure, was eine Untersuchung zur Erklärung der langen Blutungszeiten bei Eskimos eindrucksvoll gezeigt hat. Die Prostaglandinhomologe, die aus ω_3 -Eicosapentaensäure und ω_3 -Docosahexaensäure entstehen, führen im Gegensatz zu den Arachidonsäureabkömmlingen nicht zu einer Thrombozytenaggregation [158,159].

Eine Untersuchung bei Fischen hat ergeben, dass diese in hohem Maße Prostaglandine aus ω_3 -Eicosapentaensäure und ω_3 -Docosahexaensäure bilden [160,161,162].

In *Crangon crangon* spielen sie vermutlich bei Membranprozessen eine wichtige Rolle.

Methylester in *Crangon crangon*

Nach der säulenchromatographischen Fraktionierung der Methanolextrakte wurde eine große Zahl an Fettsäuremethylestern gefunden. Der gleiche Methylierungsvorgang konnte auch bei der Aufarbeitung von Drüsenextrakten von Schafen festgestellt werden [163]. Eine vergleichbare Veresterung zu den Fettsäureethylestern wurde bei Algenextrakten die in Ethanol aufbewahrt wurden, festgestellt [164].

Die Methylierung der Fettsäuren bei *Crangon crangon* erfolgt wahrscheinlich spontan auf Kieselgel bei einem Überschuß an Methanol. Bei den absolut gesehen geringen Konzentrationen der Fettsäuren, erfolgt die Umsetzung sogar quantitativ.

Diketopiperazine in *Crangon crangon*

Die in dieser Arbeit beschriebenen Diketopiperazine sind als Kondensationsprodukte zweier Aminosäuren zu betrachten.

Seit einigen Jahren hat die Anzahl der Veröffentlichungen über diese Verbindungen als Inhaltsstoffe verschiedener Organismen stark zugenommen. Sie sind sowohl in Pilzkulturen als auch in Schwämmen gefunden worden [165,166]. Sie haben eine schwach fungizide Wirkung und werden z.B. von dem Pilz *Tyridiomyces formicarum*, der von Ameisen der Art *Cyphomyrmex minutus* angebaut wird, zur Abwehr anderer Pilzarten eingesetzt.

Mikroderivatisierung der 3-Hydroxysäureamide

Mikroderivatisierungen ermöglichen, polare organische Spurensubstanzen reproduzierbar mit gaschromatographischen Methoden zu untersuchen [85,86,167]. Zudem liefern sie zum Teil wichtige Strukturinformationen über die derivatisierten Substanzen.

N-Alkylsäureamide werden nur in seltenen Fällen derivatisiert. Eine gängige Derivatisierungsmethode für Amide, ist die Umsetzung mit Trifluoressigsäure zu dem gemischten Diimid [86]. Die Umwandlung von Amidn zu Nitrilen wird nur selten als Mikroderivatisierungsmethode beschrieben, eine bekannte Variante ist die Umsetzung der Amide im Inlet des Gaschromatographen mit Phosphorsäure [85,86]. Nachteile dieser Methode sind die umständliche Handhabung und die schlechte Reproduzierbarkeit.

Die Derivatisierung von Hydroxysäureamiden mit trockenem Acetanhydrid und trockenem Pyridin zu den Acetoxynitrilen, die vermutlich erstmals im Rahmen dieser Arbeit angewendet wurde [169], lieferte hingegen bei allen Proben gleichbleibend gute Ergebnisse. Sie lassen erwarten, dass diese Methode noch vielseitiger anwendbar ist.

6 Zusammenfassung

Deutsche Fassung

Die Kenntnisse über marine Naturstoffe sind bedeutend geringer, als die von Naturstoffen aus terrestrischen Systemen. Oft ist die wesentlich weniger erforschte allgemeine Biologie von Meeresorganismen dafür verantwortlich.

Crustaceen gehören zu den wichtigsten Klassen der Meereslebewesen und sind ebenfalls mit einer Reihe von Arten auf dem Land vertreten.

Garnelen, die eine Unterordnung der Crustaceen bilden und zu denen auch die in dieser Arbeit untersuchte Nordseekrabbe *Crangon crangon* gehört, verfügen über eine große Vielfalt an Chemorezeptoren, die über den ganzen Körper verteilt sind und haben außerdem ein separates Riechorgan. Die Sinneswahrnehmung dieser Tiere wird zu einem großen Teil von chemischen Signalen bestimmt. Aufgrund dieser Voraussetzungen bilden sie ein ideales Forschungsobjekt der chemischen Ökologie.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde zunächst die Biologie mit dem Schwerpunkt der Fortpflanzung von *Crangon crangon* untersucht. Außerdem wurden Verhaltenstests zur Wahrnehmung chemischer Reize durchgeführt.

Der Ablauf der Paarung von *Crangon crangon* konnte mit Hilfe von Videoaufnahmen intensiv studiert werden. Die Auswertungen ergaben, dass eine Pheromonabgabe von gehäuteten reifen Weibchen im Übergangsbereich zwischen Cephalothorax und erstem Körpersegment als sehr wahrscheinlich anzunehmen ist.

Mit verschiedenen Aminosäuren konnte gezeigt werden, dass *Crangon crangon* auch auf einzelne Nahrungsinhaltsstoffe reagiert. Die Mischung der Substanzen führte in den meisten Fällen zu einem synergistischen Effekt.

Den Kern der Arbeit bildet die Identifizierung der Inhaltstoffe von *Crangon crangon*.

Zum einen wurden Männchen und Weibchen in unterschiedlichen Entwicklungsstadien untersucht und die identifizierten Substanzen verglichen, zum anderen wurden verschiedene Körperteile von *Crangon crangon* examiniert und die Ergebnisse gegenüber gestellt.

Es konnten über 400 Substanzen identifiziert werden, von denen fast alle erstmals für diese Art beschrieben wurden. Darunter sind die Substanzklassen der Kohlenwasserstoffe, Alkohole, Aldehyde, Ketone, Carbonsäuren, Carbonsäureamide, Ester, Lactone, Steroide, Diketopiperazine, Nukleoside, Aminosäuren und Aromaten vertreten.

Sechs Hydroxysäureamide und vier makrocyclische Lactone sind neue Naturstoffe und in der Literatur bisher nicht beschrieben worden.

Charakteristisch für *Crangon crangon* sind vor allem die Amide, von denen die 3-Hydroxysäureamide in diesem Umfang noch nicht als Naturstoff beschrieben sind. Das 3-Hydroxydecansäureamid ist die Hauptkomponente der homologen Hydroxysäureamide.

Durch stereoselektive Synthese und enantioselektive Gaschromatographie konnte gezeigt werden, dass es sich bei den 3-Hydroxysäureamiden um die S-Enantiomere handelt.

(Z5,Z8,Z11)-(S3)-Hydroxytetradeca-5,8,11-triensäureamid (**18B**), (E)- und (Z)-3-Hydroxydodec-5-ensäureamid (**60**), 8-Methyl-3-hydroxydecansäureamid, 9-Methyl-3-hydroxydecansäureamid und 4-Methyl-3-hydroxydecansäureamid sind neue Naturstoffe und bisher nicht in der Literatur beschrieben worden. Die Stereochemie der zuletzt genannten Verbindungen konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht aufgeklärt werden.

Um eine optimale Analyse der 3-Hydroxysäureamide mittels GC/MS zu ermöglichen, wurde eine neue Mikroderivatisierungsmethode für die Hydroxysäureamide entwickelt, bei der diese in die acetylierten Nitrile überführt werden. Die acetylierten Nitrile lassen sich einwandfrei chromatographieren und ihre charakteristischen Massenspektren leichter interpretieren.

Die (Z5,Z8,E11)- und (Z5,Z8,Z11)-Tetradeca-5,8,11-trien-2-one, die in den Extrakten von *Crangon crangon* identifiziert werden konnten, sind möglicherweise charakteristische Inhaltstoffe kleiner Garnelen. Es konnte gezeigt werden, dass diese Substanzen, die typisch für das Aroma gekochter Garnelen dieses Typs sind, auch ohne Hitzeeinwirkung beim Homogenisieren entstehen. Möglicherweise sind sie als Alarmpheromone von Bedeutung.

Die 9- und 10-Octadecanolide und 9- und 10-Hexadecanolide, die in den Extrakten reifer Weibchen gefunden wurden, sind noch nicht als Naturstoffe beschrieben worden. Sie reihen sich in eine Gruppe makrocyclischer Lactone ein, die schon bei Käfern und Schmetterlingen gefunden wurden, deren physiologische Bedeutung aber nicht vollständig geklärt ist. Alle

diese Substanzen konnten durch die Synthese von Vergleichssubstanzen identifiziert werden. Die Darstellung der 10- und 11-Ringlactone gelang in akzeptablen Ausbeuten, obwohl die Bildung dieser Ringgrößen energetisch besonders ungünstig ist.

Der Vergleich zwischen den Extrakten paarungsbereiter Weibchen, unreifen Weibchen und Männchen ergab, dass die Hauptkomponenten der Extrakte zu denen die Hydroxysäureamide, die Amide und einige Fettsäuren zählen, in beiden Geschlechtern vorkommen. Unterschiede zeigen sich im Bereich der Nebenkomponten. So zeichnen sich die Extrakte attraktiver Weibchen durch einen hohen Anteil ungesättigter Carbonylverbindungen aus, von denen einige als Sexualpheromone in Frage kommen.

Die Männchen enthalten deutlich weniger ungesättigte Verbindungen als die Weibchen. Die makrozyklischen Lactone konnten nur bei reifen aber noch nicht gehäuteten Weibchen gefunden werden.

Die Untersuchung der Körpermitte attraktiver Weibchen mit Mikrofestphasenextraktion ergab keine reproduzierbaren Ergebnisse. An dieser Stelle wäre eine weitergehende Studie wünschenswert.

Es konnte gezeigt werden, dass sich die einzelnen Körperabschnitte von *Crangon crangon* (Ovarien, Muskeln, Antennendrüsen und Cephalothorax) anhand charakteristischer Inhaltstoffe unterscheiden lassen.

Charakteristisch für die Antennendrüsenextrakte waren vor allem Harnstoffderivate und Amine.

Die Muskelextrakte enthielten als Hauptkomponente Fettsäuren und einen großen Anteil an Diketopiperazinen. Typisch für die Cephalothoraxextrakte waren die 3-Hydroxysäureamide, die zusammen mit den Fettsäuren in diesen Extrakten die am stärksten vertretenen Substanzklassen bildeten.

Besonders hervorzuheben ist, dass Nukleoside fast ausschließlich in den Ovarien nachgewiesen werden konnten und dort die Hauptkomponenten der Extrakte bilden. Sie sind somit als potentielle Sexuallockstoffe von außerordentlichem Interesse.

Abstract English Version

The knowledge about the chemistry in marine life is very small. Much more is known about natural products in terrestrial organisms. The main reason for that is the ignorance about marine in total.

Crustaceans are one of the most important classes of marine invertebrates. There are also crustacean species settled in terrestrial habitats.

The brown shrimps *Crangon crangon* belong to an infraorder of crustaceans which sensory perception highly depends on chemical signals. Their chemo receptors are of extraordinary diversity and located nearly all over their body. Therefore these animals are excellent subjects of chemical ecology research work.

Within the scope of this work the biology and especially the copulation of *Crangon crangon* have been observed. Additional behavioural experiments with food stimuli were carried out. With the help of video films the copulation was studied in detail. The evaluation of the film material indicated that ripe molted female shrimps release a pheromone in the region between the cephalothoraxes and the first body segment.

Essays with different amino acids showed that *Crangon crangon* is attracted by single components of food aroma. Mixtures of these substances produced synergistic effects.

The main subject of this thesis is the identification of natural compounds in *Crangon crangon*. On the one hand male and female of different age and molt stage were studied and the identified substances were compared, on the other hand different body sections were examined and the results were compared as well.

400 different substances have been identified, most of them for the first time described for this species. The list of compounds comprises alkanes, alkenes, alcohols, aldehyde, ketons, carbonic acids, carbonic acid amides, esters, lactones, steroids, diketopiperazines, nucleosides and amino acids. Four hydroxycarbonic acid amides and four macro cyclic lactones are new natural products and haven not been described before.

The carbonic acid amides and especially the 3-hydroxyamides are characteristic compounds in the extracts of *Crangon crangon*. 3-hydroxydecanoic acid amide is the major compound of the homologous hydroxyamide. All of the 3-hydroxycarbonic acid amides have (S)-configuration. This has been proved by stereoselective synthesis and enantioselective gaschromatography.

(Z5,Z8,Z11)-(S)-hydroxytetradeca-5,8,11-tetradecanoic acid amide, (E)- and (Z)-3-hydroxydodec-5-enoic acid amide, 8-methyl-3-hydroxydecanoic acid amide, 9-methyl-3-hydroxydecanoic acid amide and 4-methyl-3-hydroxydecanoic acid amide are new natural products and have not been described in literature yet.

The gas chromatographic properties of the 3-hydroxycarbonic acid amide were improved by developing a new microderivatization method. These substances were converted to the acetoxy carbonic acid nitriles, which exhibit characteristic mass spectra and excellent gas chromatographic properties.

(Z5,Z8,Z11)- and (E5,Z8,Z11)-tetradeca-5,8,11-trienone were identified in the extracts of *Crangon crangon*. They seem to be characteristic for small shrimps. These described substances are typical for the aroma of cooked small shrimps. In this thesis these substances were found even in extracts of uncooked *Crangon crangon*. Maybe they are alarm pheromones.

9- and 10-octadecanolide and 9- and 10-hexadecanolide which could be identified in the extracts of ripe unmolted female haven't been described as natural products yet. They belong to a group of macro cyclic lactones that have been found in some beetles and butterflies. Their biological function is not completely classified.

The two first mentioned substances have been synthesised to use them as reference compounds. They were obtained in acceptable yield, although these 10- and 11-membered rings are unfavourably generated.

The extracts of both sexes did not differ much regarding the main components, which being mainly hydroxycarbonic acid amide, carbonic acid amide and fatty acids. But they varied in the lesser concentrated components. As a result a number of unsaturated ketones and aldehydes could be detected only in the extract of attractive female. They are possibly sexual pheromones. The male extracts contained significant less unsaturated substances compared to the female extracts. Macro cyclic lactones were found only in ripe unmolted female.

The examination of the middle of the bag of attractive female gave irreproducible results. This could be the subject of further investigation.

The extracts of the different body sections showed very different patterns of substances, each part (ovaries, mussels, antennal glands and cephalothorax) contained characteristic compounds. The mussel had fatty acids as main substances and above all Diketopiperazines. The antennal glands contained Urea and a number of amines. Typical for the cephalothorax were hydroxycarbonic acid amides and some fatty acids. It is remarkable that nucleosides

where found only and in high concentration in the ovaries. These compounds come in question as sexual pheromones and are maybe of utmost importance.

7 Experimenteller Teil

7.1 Allgemein

Die gaschromatographischen Analysen wurden mit Hilfe eines Gerätes vom Typ Carlo Erba Vega 2001 durchgeführt, das mit einem split/splitless Injektor ausgerüstet war. Als Trennsäulen wurden fused-silica Kapillaren von 30-50 m Länge verwendet, die mit unpolaren DB-5- oder polaren FFAP-Trennphasen belegt waren. Als Trägergas dienten Helium oder Wasserstoff. Die Detektion erfolgte durch einen Flammenionisationsdetektor.

Die Trennung optisch aktiver Verbindungen erfolgte auf 40 m Quarzkapillarsäulen, die mit Heptakis-O-(6-TBDMS-2,3-methyl)- β -cyclodextrin belegt waren.

Die massenspektrometrischen Untersuchungen wurden an GC/MS-Kopplungen VG 70-70 und Fisons MD800 durch Electron Impact Ionisation bei 70 eV durchgeführt. Die Gaschromatographen waren entweder mit split/splitless-Injektor oder On-Column-Injektor ausgestattet. Als Trennsäulen wurden fused-silica Kapillaren von 30-50 m Länge verwendet, die mit unpolaren Trennphasen wie DB-5-, Optima-5 oder Phasen wie polarer FFAP-, Innowax belegt waren. Als Trägergas diente Helium.

Die NMR-Spektren wurden an den Geräten AMX 400 (400 MHz für ^1H ; 101 MHz für ^{13}C) und DRX 500 (500 MHz für ^1H und 125 MHz für ^{13}C) der Firma Bruker aufgenommen. Die Angabe der chemischen Verschiebung erfolgt in ppm und wurde auf Tetramethylsilan als innerem Standard bezogen (TMS, $\delta = 0$). Als Lösemittel wurde CDCl_3 oder C_6D_6 verwendet. Für die Signalformen werden folgende Abkürzungen verwendet: s = Singulett, br.s = breites Singulett, d = Duplett, t = Triplett, br. t = breites Triplett, q = Quartett, m = Multiplett und br. m = breites Multiplett.

Die Bestimmung der Drehwerte optisch aktiver Verbindungen erfolgte mit einem Polarimeter vom Typ Perkin-Elmer 243 in 10 cm Küvetten bei 589 nm oder 578 nm.

Dünnschichtchromatographische Trennungen wurden auf Kieselgel-Folie der Firma Merck 60 F₂₅₄ mit verschiedenen Laufmitteln durchgeführt. Die Detektion erfolgte durch UV-Absorption, Schwefelsäure/Methanol- oder Schwefelsäure/Methanol/Eisessig/Anisaldehyd-Tauchreagenzien.

Die Synthesen mit hydrolyseempfindlichen Substanzen wurden in ausgeheizten Apparaturen unter Stickstoff- oder Argonatmosphäre durchgeführt. Die Chemikalien wurden von den Firmen Merck, Aldrich, Acros, Fluka und Sigma bezogen, oder waren als Syntheseprodukte in der Arbeitsgruppe vorhanden und wurden ohne weitere Aufarbeitung verwendet. Diethylether wurde über Calciumhydroxid vorgetrocknet, über Lithiumaluminiumhydrid destilliert und über Molekularsieb gelagert. Dichlormethan wurde über Calciumhydrid getrocknet, destilliert und ebenfalls über Molekularsieb aufbewahrt. Andere Lösemittel, die in wasserfreien Zustand eingesetzt werden mußten, waren kommerziell erhältlich [168]. Pentan, Methanol und Dichlormethan zur Extraktion der Naturproben wurden von der Firma Merck bezogen und waren vom Reinheitsgrad der für die organische Spurenanalytik geeignet (SupraSolv®).

Säulenchromatographische Trennungen wurden an Kieselgel 60 (70-230 mesh, ATM, Fa. Merck) unter Normaldruck oder als Flash-Chromatographie an Kieselgel 60 (240-400 mesh, ATM, Fa. Merck) mit verschiedenen Laufmitteln durchgeführt.

Die Videoaufnahmen wurden mit einer Infrarotkamera und Infrarotdioden der Firma Conrad Elektronik durchgeführt.

7.2 Gewinnung der Naturextrakte

7.2.1 Allgemein

Die Tiere wurden entweder von Elbfischern oder von der biologischen Anstalt Helgoland lebend bezogen. Sie wurden in Aquariumsanlagen der Biologischen Anstalt Helgoland auf Helgoland und auf Sylt in Becken mit sandigem Boden gehalten, die kontinuierlich mit filtriertem Nordseewasser durchströmt wurden. Die Tiere wurden täglich mit Miesmuscheln, Stintfleisch oder Seeschnecken gefüttert.

Die Tiere, die im Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg gehalten wurden, lebten in Aquarien, deren Boden ebenfalls mit Sand bedeckt war. Die Aquarien waren zusätzlich mit einer Strömungspumpe Aqua Power 300 und einem Kühler ausgestattet, der mit einem Kryostaten verbunden war, und das Wasser bei einer Temperatur von 15 C° hielt. Die Aquarien wurden kontinuierlich von einer Aquariumspumpe mit Luft durchströmt, die

zuvor durch einen Biofilter, bestehend aus Kies und Sand, geleitet wurde.

Die Tiere wurden täglich mit tiefgefrorenen, roten Zuckmückenlarven gefüttert.

Die Anreicherung der Naturstoffe mit Festphasen (SPE) erfolgte mit einem Octadecyl-Sorbens (C₁₈) der Firma Merck und einer Absaugapparatur der Firma J.T.Backer. Die Gewebeproben wurden mit einem elektrischen Ultrathurax, mit flüssigem Stickstoff gefroren und gemörsert oder mit einem Handhomogenisator zerkleinert. Das Wasser, das zur Extraktion der homogenisierten Gewebefractionen verwendet wurde, stammte aus einer Reinstwasseraufbereitungsanlage der Firma Micropore. Zum Zentrifugieren wurde ein Gerät der Firma Eppendorf verwendet

7.2.2 Festphasenextraktion

Extraktion reifer gehäuteter Weibchen

Die gehäuteten Tiere wurden anhand der Exuvie in ihrem Becken erkannt und entnommen. Zwei bis drei Tiere wurden gleichzeitig mit Hilfe eines Ultrathurax und 20 mL Wasser homogenisiert. Anschließend wurden die festen Bestandteile abzentrifugiert und das Filtrat durch eine Festphasenkartusche gesogen. Die Festphase wurde mit 20 mL Wasser gewaschen und die Substanzen anschließend zuerst mit 20 mL Methanol und dann mit 20 mL Dichlormethan eluiert. Die Festphasenkartuschen wurden für eine weitere Extraktion wiederverwendet.

Auf diese Weise wurden insgesamt 13 Tiere extrahiert. Die Extrakte gleicher Lösemittel wurden vereinigt und auf einem Sandbad auf 50 µL eingengt.

Extraktion reifer ungehäuteter Weibchen

Die Extraktion erfolgte wie für die reifen Weibchen beschrieben. Es wurden Extrakte von 25 Tieren hergestellt.

Extraktion unreifer gehäuteter Weibchen

Die Extraktion erfolgte wie für die reifen Weibchen beschrieben. Es wurden Extrakte von 6 Tieren hergestellt.

Extraktion gehäuteter Männchen

Die Extraktion erfolgte, wie für die reifen Weibchen beschrieben. Es wurden Extrakte von 4 Tieren hergestellt.

7.3 Derivatisierung der Naturextrakte

7.3.1 Derivatisierung mit Dimethyldisulfid (DMDS)

10-20 μL der methanolischen Festphasenextrakte wurden zur Trockne eingengt und in Pentan aufgenommen. Diese wurde dann mit 50 μL Schwefelkohlenstoff, 50 μL Dimethyldisulfid und 5 μL Jodlösung (60 mg I_2 in 1 mL Diethylether) versetzt und über Nacht in einem gasdichten Schraubgläschen bei 60°C erwärmt. Anschließend wurden 300 μl Pentan zugegeben und das überschüssige Jod mit 50-100 μL Natriumthiosulfatlösung (0,5 g in 10 mL H_2O) zerstört. Nach Zugabe einer Spatelspitze Natriumchlorid wurde die organische Phase abgetrennt, in einen Kapillarkolben überführt und konzentriert [87].

7.3.2 Methylierung der Naturextrakte

10 μL des Naturextraktes wurden mit 10 μL Diazomethanlösung in Pentan versetzt und anschließend konzentriert.

7.3.3 Silylierung der Naturextrakte

10 μL Naturextrakt wurden mit 1-2 μL Bis-(trimethylsilyl)-acetamid versetzt und nach 30 min. Reaktionsdauer konzentriert.

7.3.4 Hydrierung der Naturextrakte

Zur Hydrierung wurde der Extrakt in 1-2 mL Pentan aufgenommen und zusammen mit wenigen Milligramm 10% Palladium/Aktivkohle in ein mit Magnetührstäbchen und Septumdeckel versehenes 5 mL Schraubgläschen gegeben. Anschließend wurde das Glas bei nicht vollständig geschlossenem Deckel mit Hilfe einer durch das Septum gestochenen Nadel zunächst mit Stickstoff und dann mit Wasserstoff gespült. Dann wurde der Deckel geschlossen und der Extrakt bei einem Überdruck von etwa 0,5 bar eine Stunde lang hydriert. Nach Ende der Reaktion wurde die Lösung durch Watte filtriert und in einem Kapillarkolben bei 40°C eingengt.

7.3.5 Acetylierung und Dehydratisierung der Naturextrakte

Es wurden 10-20 μL des Naturextraktes zur Trockne eingengt in 10 μL absolutem Dichlormethan aufgenommen und anschließend mit 10 μL absolutem Pyridin und 10 μL absolutem Acetanhydrid versetzt. Der Derivatisierungsansatz wurde zwei Tage in einem gasdichten Schraubgläschen bei 60°C erwärmt. Anschließend wurden 10 mL Pentan zugegeben und zweimal mit 50 mL Wasser gewaschen. Das Wasser wurde noch zweimal mit je 1 mL Pentan extrahiert und die vereinigten Pentanextrakte in einem Kapillarkolben bei 40°C eingengt.

7.4 Synthese der Vergleichssubstanzen

7.4.1 Darstellung von Octansäureamid

Es wurden 2 mL Octansäurechlorid (12 mmol) in ca. 30 mL Dichlormethan gelöst und in die Vorlage einer Destillationsapparatur gegeben. In den Destillationskolben wurden 250 mL konzentrierter Ammoniak gefüllt und unter geringer Erwärmung Ammoniak in die Vorlage überdestilliert. Das Reaktionsgemisch wurde dabei mit Eiswasser gekühlt.

Nach etwa einer Stunde wurde die Reaktion abgebrochen und das Reaktionsgemisch über wenig Kieselgel filtriert. Das Lösemittel wurde abdestilliert und ein weißer Feststoff erhalten.

Es wurden 1,431 g (10 mmol) Octansäureamid erhalten, entsprechend einer Ausbeute von 85,6%.

MS:

m/z (%): 41(15), 43 (11), 59 (100), 72 (36), 86 (11), 128 (0.15), 143 (0.46 M^+)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 0.88 (t, 3H, CH_3); 1.3 (m, 8H, CH_2); 1.65 (q, 2H, C^βH_2); 2.24 (t, 2H, $\text{C}^\alpha\text{H}_2$); 5.5 (s, 2H, NH_2)

7.4.2 Darstellung von Nonansäureamid

Die Darstellung von Nonansäureamid erfolgte wie unter 7.4.1 für Octansäureamid beschrieben.

Es wurden 2g (11,4 mmol) Nonansäurechlorid umgesetzt und 1,5 g (9,5 mmol) Nonansäureamid erhalten, was einer Ausbeute von 84% entspricht.

MS:

m/z (%): 41 (19), 43 (19), 44 (21), 55 (12), 59 (100), 72 (23), 86 (6), 100 (1), 114 (4), 128 (2), 142 (0.5), 157 (0.3, M⁺)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 0.88 (t, 3H, CH₃); 1.27 (m, 10H, CH₂); 1.65 (quin, 2H, C^βH₂); 2.24 (t, 2H, C^αH₂); 5.5 (s, 2H, NH₂)

7.4.3 Darstellung von Decansäureamid

Die Darstellung von Decansäureamid erfolgte wie unter 7.4.1 für Octansäureamid beschrieben.

Es wurden 2 g (10,5 mmol) Decansäurechlorid umgesetzt und 1,2 g (7 mmol) Decansäureamid erhalten, was einer Ausbeute von 66% entspricht.

MS:

m/z (%) : 39 (22), 41 (12), 44 (63), 55 (20), 59 (100), 72 (43), 86 (11), 114 (3), 128 (1), 142 (0.8), 171 (0.4 M⁺)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 0.81 (t, 3H, CH₃); 1.20 (br. s, 12H, CH₂); 1.56 (quin, 2H, C^βH₂); 2.19 (t, 2H, C^αH₂); 6 (br. s, 2H, NH₂)

¹³C-NMR (100MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 14.50 (CH₃); 23.05 (CH₂); 25.90 (CH₂); 29.57 (CH₂); 29.65 (CH₂); 29.70 (CH₂); 29.81 (CH₂); 32.25 (CH₂); 36.08 (CH₂); 176.92 (C¹ONH₂)

7.4.4 Darstellung von Dodecansäureamid

Die Darstellung von Dodecansäureamid erfolgte wie unter 7.4.1 für Octansäureamid beschrieben.

Es wurden 2g (9,8 mmol) Dodecansäurechlorid umgesetzt und 1,4 g (7,6 mmol) Dodecansäureamid erhalten, was einer Ausbeute von 77% entspricht.

MS:

m/z (%): 41 (19), 43 (20), 44 (16), 55 (14), 59 (100), 72 (27), 86 (7), 100 (2), 114 (4), 128 (3), 156 (2), 199 (0.4 M⁺)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 0.88 (t, 3H, CH₃), 1.27 (s, 16H, CH₂); 1.66 (m, 2H, C^βH₂); 2.27 (t, 2H, C^αH₂); 6 (br. s, 1H, NH₂)

7.4.5 Darstellung von (E)-3-Hexensäureamid

Es wurden 1,9 g (16,8 mmol) (E)-3-Hexensäure in 10 mL Dichlormethan gelöst und mit Eiswasser gekühlt. Dann wurden 2,2 mL (16,8 mmol) Oxalylchlorid und eine Spatelspitze Dimethylaminopyridin (DMAP) dazugegeben. Es wurden noch drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde das Lösemittel vollständig am Rotationsverdampfer abdestilliert. Die Umsetzung zum Amid erfolgte wie unter 7.4.1 für das Octansäureamid beschrieben.

Es wurde 1g (8,9 mmol) (E)-3-Hexensäureamid erhalten, das entspricht einer Ausbeute von 53 %. Als Nebenprodukt entstand 1 % (E)-2-Hexensäureamid.

MS:

m/z (%): 39 (40), 41 (100), 42 (49), 44 (91), 53 (12), 55 (78), 59 (80), 69 (12), 70 (16), 98 (11), 113 (21, M⁺)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 1.00 (t, 3H, CH_3); 2.09 (quin, 2H, C^5H_2); 2.95 (dd, 2H, C^2H_2);
5.55 (m, 1H, $J = 15,3$ Hz, CH); 5.70 (m, 1H, $J = 15,3$ Hz, CH)

MS (E)-2-Hexensäureamid:

m/z (%): 39 (43), 40 (11), 41 (74), 42 (24), 43 (12), 44 (61), 53 (13), 55 (100), 56 (10),
59 (44), 68 (11), 69 (17), 70 (10), 72 (23), 81 (12), 85 (19), 97 (22), 98 (52), 113 (21, M^+)

7.4.6 Darstellung von (E)-2-Octensäureamid

Es wurden 1,65 g (11,7 mmol) (E)-2-Octensäure in 10 mL Dichlormethan gelöst und mit Eiswasser gekühlt. Dann wurde 1 mL (11,7 mmol) Oxalylchlorid und eine Spatelspitze Dimethylaminopyridin (DMAP) dazugegeben. Es wurden noch drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde das Lösemittel vollständig am Rotationsverdampfer abdestilliert. Die Umsetzung zum Amid erfolgte wie unter 7.4.1 für das Octensäureamid beschrieben.

Es wurden 800 mg (5,7 mmol) (E)-2-Octensäureamid erhalten, das entspricht einer Ausbeute von 48,5%.

MS:

m/z (%): 40 (11), 41 (71), 42 (22), 43 (25), 44 (54), 53 (15), 55 (100), 56 (22), 59 (79),
68 (21), 69 (21), 72 (59), 81 (14), 85 (17), 86 (15), 98 (72), 99 (10), 112 (12), 125 (5),
126 (5, $\text{M}^+ - 15$), 141 (1.5, M^+)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 0.89 (t, 3H, C^8H_3); 1.3 (m, 4H, C^{6+7}H_2); 1.48 (m, 2H, C^5H_2);
2.25 (quin, 2H, C^4H_2); 5.99 (d, 1H, $J = 15,8$ Hz, C^2H); 7.07 (m, 1H, $J = 15,8$ Hz, C^3H)

7.4.7 Darstellung von *rac.*-2-Methylheptansäureamid (26)

Darstellung von *rac.*-2-Methylheptansäure

Unter Schutzgasatmosphäre wurden 0,27 g (11.1 mmol) Magnesium mit trockenem Diethylether überschichtet. Dann wurden zwei Tropfen 1,2-Dibromethan und anschließend

eine Lösung von 2 g (11.17 mmol) 2-Bromheptan in 25 mL trockenem Diethylether dazu getropft. Dabei wurde darauf geachtet, dass der Ether nicht zu Sieden begann und das Reaktionsgemisch gegebenenfalls mit einem Wasserbad gekühlt.

Das Reaktionsgemisch wurde noch zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde der Ansatz auf 0°C gekühlt. Über eine Destillationsbrücke wurde anschließend CO₂ aus einem mit Trockeneis gefüllten und mit einem Trockeneis/Ethanol-Kältebad gekühlten Kolben in das Reaktionsgefäß geleitet. Es wurde noch zwei Stunden bei 0°C CO₂ eingeleitet. Dann wurde das Reaktionsgemisch mit 10 mL einer 10%igen Salzsäurelösung hydrolysiert. Die wässrige Phase wurde 2 x mit je 30 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen und mit 25 mL 2N Natriumhydroxid-Lösung extrahiert. Der alkalische Extrakt wurde mit Diethylether gewaschen und anschließend mit 10 mL konzentrierter Salzsäure angesäuert. Dann wurde die saure Lösung dreimal mit je 50 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Magnesiumsulfat wurde abfiltriert und das Lösemittel am Rotationsverdampfer abdestilliert.

Es wurden 540 mg (3.74 mmol) *rac.*-2-Methylheptansäure erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 34%.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 0.89 (t, 3H, CH₃); 1.18 (d, J = 7.12 Hz, 3H, CH₃); 1.23-1.37 (m, 6H, CH₂); 1.38-1.49 (m, 1H, C³H₂); 1.62-1.75 (m, 1H, C³H₂); 2.46 (q, J = 7,12 Hz, 1H, C²H)

Darstellung von *rac.*-2-Methylheptansäureamid (26)

Die Umsetzung von 540 mg (3.74 mmol) 2-Methylheptadecansäure zum Amid erfolgte wie unter 7.4.1 für das Octansäureamid beschrieben.

Es wurden 270 mg (1.9 mmol) *rac.*-2-Methylheptansäureamid (26) erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 52 %.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 0.88 (t, 3H, CH₃); 1.16 (d, 3H, CH₃); 1.30 (m, 8H, CH₂); 2.28 (sext, 1H, CH)

MS :

m/z (%): 41 (24), 43 (16), 44 (19), 57 (12), 72 (16), 73 (100), 86 (23), 100 (5), 128 (2), 143 (0.3, M⁺), 144 (0.3, M⁺+1)

7.4.8 Darstellung von *rac.*-3-Hydroxydecansäureamid (17)

Darstellung von *rac.*-3-Hydroxydecansäurenitril

Es wurden 34,5 mL (55 mmol) einer 1,6 molaren Lösung von n-Butyllithium in Hexan unter Argon in 35 mL trockenem THF bei -78°C gelöst. Dann wurden 2,6 mL (50 mmol) Acetonitril in 50 mL THF dazugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde eine Stunde bei -78°C gerührt. Zu der entstandenen weißen Suspension wurde eine Lösung von 7,81 mL (50 mmol) Octanal in 50 mL THF gegeben. Das Kältebad wurde entfernt, die Lösung 10 Minuten lang weiter gerührt und dann in eine Eiswasser-Salzsäure-Mischung gegeben (4,6 mL HCl 37% bzw. 0,005 mol). Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit je 50 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, und über Magnesiumsulfat getrocknet. Anschließend wurde das Lösemittel im Vakuum abdestilliert.

Es wurden 7,45g (0,044 mol) *rac.*-3-Hydroxydecansäurenitril erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 88%

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 0.88 (t, 3H, CH₃); 1.30 (br. s, 10H, CH₂); 1.60 (m, 2H, CH₂); 2.55 (m, 2H, CH₂); 3.95 (m, 1H, CH)

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 13.61 (CH₃); 22.16 (CH₂); 24.93 (CH₂); 25.15 (CH₂); 28.67 (CH₂); 28.82 (CH₂); 31.27 (CH₂); 36.13 (CH₂); 67.40 (CH); 117.23 (CN)

IR (cm⁻¹) = 3452 (OH); 2924/2855 (CH₃/CH₂); 2253 (CN); 1462 (CH₂/CH₃); 1415 (OH)

Darstellung von *rac*-3-Hydroxydecansäureamid (17)

Es wurden 4,9 mL einer 30% H₂O₂-Lösung (44 mmol) mit 485 mL absolutem Ethanol verdünnt. Anschließend wurden 7,45 g (44 mmol) 3-Hydroxydecansäurenitril dazugegeben und eine Stunde gerührt. Anschließend wurde das Lösemittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Es wurde ein weißer Feststoff erhalten, der noch zu 30 % das Edukt enthält. Das Rohprodukt wurde durch HPLC an einer Kieselgelphase mit dem Laufmittelgemisch Isopropanol und Heptan 1:1 getrennt.

Es wurden 3 mg (0,016 mmol) *rac*-3-Hydroxydecansäureamid (17) erhalten, das entspricht einer Ausbeute von 0,036 %.

¹H-NMR (400 MHz CDCl₃):

δ [ppm] = 0.88 (t, 3H, J = 7.1 Hz, CH₃); 1.30 (br. s, 10H, CH₂); 1.45 (m, 2H, CH₂); 2.36 (dq, 2H, J = 15.26 Hz, CH₂); 3.23 (br, 1H, OH); 4.01 (m, 1H, CH)

¹³C-NMR (101 MHz CDCl₃):

δ [ppm] = 13.64 (CH₃); 22.20 (CH₂); 25.06 (CH₂); 28.79 (CH₂); 29.05 (CH₂); 31.35 (CH₂); 36.45 (CH₂); 41.55 (CH₂); 68.04 (CHOH); 174.47 (CONH₂)

MS :

m/z (%) : 39 (10), 41 (37), 42 (16), 43 (42), 44 (32), 55 (13), 59 (49), 112 (2), 126 (1), 129 (2), 140 (0.8), 152 (0.28), 169 (0.57, M⁺-18), 186 (0.3, M⁺-1), 187 (0.03, M⁺)

7.4.9 Darstellung von (S)-3-Hydroxydecansäureamid (17B)

Darstellung von (S)-1,2-Nonadiol

Es wurden 77 mL frisch destilliertes tert.-Butanol mit 87 mL Wasser versetzt. Unter Kühlung mit einem Eisbad wurden 3 mL (2,14 g/17,3 mmol) 1-Nonen und 24,3 g α-AD-Mix hinzugegeben [88]. Dann wurde die Reaktionslösung 19 Stunden im Eisbad gerührt.

Danach wurde zu der weißen, trüben Lösung 26 g Natriumdisulfit gegeben. Hierbei kam es zu einer leichten Gasentwicklung und die Lösung wurde klar und bräunlich. Diese wurde dreimal mit je 30 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden fünfmal mit 1 M KOH gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das

Lösemittel am Rotationsverdampfer abgetrennt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgemisch aus Petrolether und Essigester im Verhältnis 5:1 gereinigt und anschließend mit einem Laufmittelgemisch aus Petrolether und Essigester im Verhältnis 1:5 von der Säule eluiert. Das Produkt wurde als weißlich gelber Feststoff erhalten.

Es wurden 2 g (12,48 mmol) (S)-1,2-Nonandiol erhalten, was einer Ausbeute von 72 % entspricht.

Drehwert : $[\alpha]_D^{20^\circ\text{C}} = +15,6$ (c = 2,5 in CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 0.88 (t, 3H, CH_3); 1.24-1.35 (m 9H, CH_2); 1.38-1.48 (m, 3H, CH_2); 2.6 (br. s, 2H, -OH); 3.45 (dd, 1H, CH); 3.64 (dd, 1H, CH_2); 3.67-3.73 (m, 1H, CH_2)

Darstellung von (S)-1-(p-Tosyl)-nonan-2-ol

Es wurden 2 g (12,48 mmol) (S)-1,2-Nonandiol in 40 mL Pyridin gelöst. Bei 0°C wurden 2,38 g (12,48 mmol) p-Toluolsulfonsäure hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde 5 Stunden bei 0°C gerührt und über Nacht im Eisschrank aufbewahrt.

Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung in mit verdünnter Salzsäure angesäuertes Eiswasser (pH 5) gegeben und mit 50 mL Diethylether versetzt. Die wässrige Phase wurde viermal mit 100 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organische Phasen wurden zur Entfernung des Pyridins viermal mit 100 mL Wasser und dreimal mit Kupfersulfat-Lösung gewaschen. Die wässrigen Phasen wurden zweimal mit 100 mL Diethylether extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgemisch aus Petrolether und Essigester im Verhältnis 1:1 gereinigt.

Es wurden 2,9 g (9,22 mmol) (S)-1-(p-Tosyl)-nonan-2-ol erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 74%.

Drehwert : $[\alpha]_D^{20^\circ\text{C}} = +4,41$ (c = 3,2 in CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 0.87 (t, 3H, CH_3); 1.15-1.30 (m, 9H, CH_2); 1.40-1.45 (m, 3H, CH_2); 2.27 (br. s, 1H, -OH); 2.45 (s, 3H, CH_3); 3.86-3.79 (m, 1H, CHOH); 3.89 (dd, 1H, CH_2); 4.04 (dd, 1H, CH_2); 7.32 (m, 2H, CH); 7.75 (m, 2H, CH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 14.64 (CH_3); 22.05 (CH_3); 23.01 (CH_2); 25.24 (CH_2); 29.51 (CH_2); 29.61 (CH_2); 31.36 (CH_2); 32.05 (CH_2); 69.87 (CH); 74.43 (CH_2); 128.31 (CH); 128.37 (CH); 130.34 (CH); 130.34 (CH)

Darstellung von (S)-3-Hydroxydecansäurenitril

Es wurden 1 g (3.21 mmol) (S)-1-(p-Tosyl)-nonan-2-ol und 0,207 g (4.23 mmol) Natriumcyanid in DMSO aufgenommen und bei Raumtemperatur vier Tage gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde danach auf Eiswasser gegossen und dreimal mit 50 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Trockenmittel wurde abfiltriert und das Lösemittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgemisch aus Petrolether und Essigester im Verhältnis 2:1 gereinigt.

Es wurden 350 mg (2.07 mmol) (3S)-3-Hydroxydecansäurenitril erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 64 %.

MS :

m/z (%) : 39 (43), 41 (100), 42 (77), 43 (80), 44 (28), 53 (10), 54 (59), 55 (27), 56 (51), 57 (52), 67 (15), 68 (14), 69 (86), 70 (33), 71 (10), 81 (11), 84 (25), 95 (12), 111 (5), 122 (5), 126 (3), 129 (2), 136 (1), 140 (0.8), 150 (0.5), 154 (0.1)

Darstellung von (S)-3-Hydroxydecansäureamid (17B)

Die Darstellung erfolgte wie unter 7.4.8 für die racemische Verbindung beschrieben.

Es wurden 3 mg (0,016 mmol) (S)-3-Hydroxydecansäureamid (17B) erhalten, das entspricht einer Ausbeute von 0,7%.

Drehwert : $[\alpha]_D^{20^\circ\text{C}} = +20,01^\circ$ (c = 0,3 in CHCl_3)

Die spektroskopischen Daten sind mit denen des *rac.*-3-Hydroxydecansäureamid (7.4.8) identisch.

7.4.10 Darstellung eines Rasters bestehend aus (S)-3-Hydroxyhexansäureamid, *rac.*-3-Hydroxyoctansäureamid, (R)-3-Hydroxydecansäureamid (17A), (S)-3-Hydroxydecansäureamid (17B) und (S)-3-Hydroxydodecansäureamid

Es wurden 4,3 mg (3S)-3-Hydroxyhexansäure, 4,2 mg *rac.*-3-Hydroxyoctansäure, 3,4 mg (3S)-3-Hydroxydodecansäure, 2 mg (3R)-3-Hydroxydecansäure und 4 mg (3S)-3-Hydroxydecansäure eingewogen und wie unter 7.4.5 für die Darstellung (3E)-3-Hexensäureamid beschrieben, umgesetzt.

(S)-3-Hydroxyhexansäureamid

MS :

m/z (%) : 39 (23), 41 (52), 43 (62), 44 (63), 45 (34), 55 (36), 56 (11), 59 (100), 71 (14), 88 (82), 98 (3), 99 (3), 113 (12, $\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 131 (0.05, M^+), 132 (0.24, $\text{M}^+ + 1$)

***Rac.*-3-Hydroxyoctansäureamid**

MS :

m/z (%) : 39 (23), 41 (52), 43 (62), 44 (63), 45 (34), 55 (36), 56 (11), 59 (100), 71 (14), 88 (82), 98 (3), 99 (3), 112 (2), 126 (1), 141 (1, $\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 142 (0.25), 158 (0.20), 159 (0.05, M^+), 160 (0.24, $\text{M}^+ + 1$)

(S)- und (R)-3-Hydroxydecansäureamid (17B/A)

MS :

m/z (%) : 41 (30), 42 (11), 43 (30), 44 (24), 45 (14), 55 (19), 59 (67), 69 (11), 88 (100), 98 (3), 112 (2), 126 (1), 140 (1), 152 (0.25), 154 (0.20), 169 (0.4, M⁺ -H₂O), 186 (0.21), 188 (0.45, M⁺ +1)

(S)-3-Hydroxydodecansäureamid

MS :

m/z (%) : 41 (61), 42 (21), 43 (62), 44 (35), 45 (20), 55 (36), 56 (11), 57 (17), 59 (91), 69 (12), 71 (12), 88 (100), 98 (3), 112 (2), 126 (1), 140 (1), 154 (1), 168 (1), 172 (0.3), 197 (0.4, M⁺ -H₂O), 216 (0.3, M⁺ +1)

7.4.11 Darstellung von (5Z,8Z,11Z)-rac.-3-Hydroxytetradeca-5,8,11-triensäurenitril

Darstellung von rac.-4-(2-Hydroxyethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan

Es wurden 5,8 g (54,7 mmol) *rac.*-Butan-1,2,4-triol unter Schutzgasatmosphäre in 100 mL trockenem Aceton gelöst. Anschließend wurden 20 g (125 mmol) wasserfreies Kupfer(II)-sulfat und eine Spatelspitze Toluol-4-sulfonsäure-Monohydrat zugegeben. Daraufhin ließ man über Nacht bei Raumtemperatur rühren.

Dann wurde eine Spatelspitze Kaliumcarbonat zu dem Reaktionsansatz gegeben und noch 20 min gerührt. Das Carbonat wurde abfiltriert und das Filtrat am Rotationsverdampfer eingengt. Das zurückbleibende braune Öl wurde im Ölpumpenvakuum destilliert. Das Produkt wurde als farbloses Öl erhalten.

Es wurden 2,15 g (14,7 mmol) *rac.*-4-(2-Hydroxyethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 27%.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 1.37 (s, 3H, CH₃); 1.43 (s, 3H, CH₃); 1.83 (td, 2H, CH₂); 3.6 (dd, 1H, CH₂-O); 3.80 (t, 2H, CH₂-OH); 4.1 (dd, 1H, CH₂-O); 4.28 (m, 1H, CH-O)

MS :

m/z (%) : 39 (12), 41 (29), 42 (19), 43 (100), 44 (4), 57 (4), 59 (14), 61 (5), 71 (42), 72 (19), 85 (4), 101 (4), 131 (22, M⁺-15)

Darstellung von *rac*.-4-(Formylmethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan

Unter Schutzgas wurden 1,9 mL (1,5 eq. 21,6 mmol) Oxalylchlorid in 75 mL absolutem Dichlormethan gelöst, mit 3 g Natriumhydrogencarbonat versehen auf -80°C gekühlt. Anschließend versetzte man mit 3,1 mL (3 eq., 43,2 mmol) Dimethylsulfoxid (DMSO) und ließ 15 Minuten rühren.

Danach wurde eine Lösung von 2,11 g (14,4 mmol) *rac*.-4-(Formylmethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan in 5 mL Dichlormethan zugetropft, wobei sich die Lösung trübte. Man ließ eine Stunde bei -70°C rühren und gab im Anschluss daran 12 mL (6 eq., 86,4 mmol) Triethylamin zu, woraufhin sich der Reaktionsansatz gelb färbte. Danach ließ man das Reaktionsgemisch sich erwärmen. Der Ansatz wurde mit 50 mL Petrolether (30/50) verdünnt und mit 100 mL gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung neutralisiert. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase dreimal mit je 50 mL Petrolether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und abfiltriert. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer abdestilliert und das Rohprodukt säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgemisch Petrolether und Essigester im Verhältnis 5:1 gereinigt. Das Produkt wurde als gelbes Öl erhalten.

Es wurden 500 mg (3,5 mmol) *rac*.-4-(Formylmethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 16 %.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 1.36 (s, 3H, CH₃); 1.42 (s, 3H, CH₃); 2.65 (ddd, 1H, C¹H₂); 2.85 (ddd, 1H, C¹H₂); 3.59 (dd, 1H, C⁵H₂-O); 4.19 (dd, 1H, C⁵H₂-O); 4.54 (quin, 1H, C⁴H-O); 9.81 (t, 1H, HC=O)

Darstellung von *rac*.-4-((2Z,5Z,8Z)-2,5,8-Undecatrienyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan

Unter Schutzgasatmosphäre wurden 3 mL Nonadienyltriphenylphosphoniumbromid-Lösung (0.486 mmol) auf -40°C gekühlt und mit 0,3 mL (0.486 mmol) n-Butyllithium deprotoniert. Nach ca. 10 Minuten wurde eine Lösung von 50 mg (0.34 mmol) *rac*.-4-(Formylmethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan in 1 mL trockenem THF zugetropft. Nach 10 Minuten wurde das

Kältebad entfernt und der Ansatz bei Raumtemperatur eine Stunde gerührt. Dann wurde die Reaktion durch die Zugabe von wenig Wasser abgebrochen. Die wässrige Phase wurde dreimal mit je 50 mL Petrolether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und anschließend über Kieselgel filtriert.

Es wurden 60 mg (0.24 mmol) *rac.*-4-((2Z,5Z,8Z)-2,5,8-Undecatrienyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 71%.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 0.98 (t, 3H, CH₃); 1.37 (s, 3H, CH₃); 1.42 (s, 3H, CH₃); 2.05 (quin, 2H, CH₂); 2.31 (ddd, 1H, C¹H₂); 2.43 (ddd, 1H, C¹H₂); 2.82 (m, 4H, CH₂); 3.54 (dd, 1H, C⁵H₂-O); 4.03 (dd, 1H, C⁵H₂-O); 4.14 (quin, 1H, C⁴H-O); 5.27-5.55 (m, 6H, HC=CH)

Darstellung von *rac.*-(5Z,8Z,11Z)-5,8,11-Tetradecatrien-1,2-diol

Es wurden 60 mg (0.24 mmol) *rac.*-4-((2Z,5Z,8Z)-2,5,8-Undecatrienyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan in 2 mL Methanol und wenigen Tropfen Wasser gelöst und mit Amberlite IR120 (stark sauer) zwei Nächte lang gerührt. Dann wurde das Amberlite abfiltriert und das Filtrat mit wenig NaHCO₃-Lösung versetzt und viermal mit je 30 mL Diethylether extrahiert. Anschließend wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel abdestilliert. Es wurde ein gelbes Öl erhalten.

Es wurden 50 mg (0.23 mmol) *rac.*-(5Z,8Z,11Z)-5,8,11-Tetradecatrien-1,2-diol erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 99%.

Das Produkt wurde ohne weitere Charakterisierung umgesetzt.

Darstellung von *rac.*-(5Z,8Z,11Z)-2-Hydroxytetradeca-5,8,11-trienyl-1-toluylsulfonat

Unter Schutzgasatmosphäre wurden 50 mg (0.23 mmol) *rac.*-(5Z,8Z,11Z)-5,8,11-Tetradecatrien-1,2-diol in 3 mL absolutem Pyridin gelöst und im Eisbad gekühlt. Anschließend wurden 68 mg (1,5 eq.) p-Toluolsulfonsäurechlorid hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde 12 Stunden bei 0°C gerührt und anschließend mit Wasser versetzt. Die wässrige Lösung wurde dreimal mit je 10 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Produkt wurde als oranges Öl erhalten.

Es wurden 80 mg (0.22 mmol) (5Z,8Z,11Z)-*rac.*-2-Hydroxytetradeca-5,8,11-trienyl-1-p-tosylat erhalten. Das entspricht einer Ausbeute 96%.

MS :

m/z (%) : 39 (71), 40 (11), 41 (100), 42 (13), 43 (23), 53 (28), 54 (11), 55 (39), 65 (24), 66 (15), 67 (68), 69 (12), 77 (55), 78 (26), 79 (95), 80 (19), 81 (15), 91 (77), 92 (16), 93 (25), 95 (26), 105 (34), 117 (15), 119 (11), 131 (8), 133 (4), 145 (4), 161 (2)

Darstellung von *rac.*-(5Z,8Z,11Z)-3-Hydroxytetradeca-5,8,11-triensäurenitril

Es wurden 80 mg (0.22 mmol) (5Z,8Z,11Z)-*rac.*-2-Hydroxytetradeca-5,8,11-trienyl-1-p-tosylat in 3 mL absolutem DMSO gelöst und mit 18 mg (0.44 mmol) Natriumcyanid versetzt. Nach 90 Stunden wurde mit Eiswasser hydrolysiert und dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Anschließend wurde das Lösemittel abdestilliert. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgemisch aus Petrolether und Essigester im Verhältnis 4:1 gereinigt.

Es wurden 5,5 mg (0.025 mmol) (5Z,8Z,11Z)-*rac.*-3-Hydroxytetradeca-5,8,11-triensäurenitril erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 11%. 7,5 mg (0.021 mmol) des Eduktes konnten ebenfalls zurückgewonnen werden.

Die massenspektrometrische Analyse erfolgte nach der Acetylierung des (5Z,8Z,11Z)-*rac.*-3-Hydroxytetradeca-5,8,11-triensäurenitril zum (5Z,8Z,11Z)-*rac.*-3-Acetoxytetradeca-5,8,11-triensäurenitril. Die Acetylierung erfolgte wie unter 1.3.5 beschrieben.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃)

δ [ppm] = 0.98 (t, 3H, C¹⁴H₃); 2.07 (quin, 2H, C¹³H₂); 2.43 (ddd, 2H, C⁴H₂);
2.55 (dd, 2H, C²H₂); 2.84 (m, 4H, C¹⁰⁺⁷H₂); 3.99 (quin, 2H, CH-OH); 5.27-
5.48 (m, 5H, HC=CH); 5.65 (m, 1H, =CH)

IR :

cm⁻¹ (%) : 3452 (37 OH); 3012 (28 HC=CH); 2964/2931/2875 (24/32/43 CH₃/CH₂);
2252 (68 CN); 1417 (49 CH₂/CH₃); 1070 (31)

MS ((5Z,8Z,11Z)-*rac.*-3-Acetoxytetradeca-5,8,11-triensäurenitril):

m/z (%) : 39 (17), 41 (30), 43 (100), 53 (10), 55 (11), 67 (27), 77 (17), 79 (40), 91 (30),
93 (14), 95 (40), 105 (25), 117 (14), 131 (6), 132 (7), 144 (8), 145 (7), 158 (4), 161 (2),
172 (4), 201 (4, M⁺-60), 261 (0.2, M⁺)

7.4.12 Darstellung von (5Z,8Z,11Z)-5,8,11-Tetradecatrien-2-on (28)

Darstellung von 2-Methyl-2-(3-butenyl)-1,3-dioxolan

Es wurden 480 mg (10 mmol) 5-Hexen-2-on und 1,93 g (31.1 mmol) Ethandiol in 50 mL Benzol gelöst und mit einer Spatelspitze p-Toluolsulfonsäure versehen. Die Lösung wurde 8 Stunden am Wasserabscheider unter Rückfluß erhitzt. Der Reaktionsansatz wurde abgekühlt und zweimal mit 10 mL 1 N NaOH-Lösung und zweimal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde im Wasserstrahlvakuum abdestiliert und das Produkt als klare Flüssigkeit erhalten.

Es wurden 800 mg (5,6 mmol) 2-Methyl-2-(3-butenyl)-1,3-dioxolan erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 56%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 1.33 (s, 3H, CH_3); 1.74 (dt, 2H, CH_2); 2.15 (m, 2H, CH_2); 3.94 (d, 4H, CH_2); 4.99 (dd, 2H, $=\text{CH}_2$); 5.40 (m, 1H, CH)

Darstellung von 2-Methyl-2-propionyl-1,3-dioxolan

Es wurden 100 mg NaHCO_3 in einem Lösemittelgemisch aus Dichlormethan und Methanol im Verhältnis 3:1 suspendiert und 670 mg (4,7 mmol) 2-Methyl-2-(3-butenyl)-1,3-dioxolan darin gelöst. Anschließend wurde die Lösung auf -75°C abgekühlt. Dann wurde 20 Minuten lang Ozon und Sauerstoff aus einem Ozonisator durch die Lösung geleitet, bis es zu einer leichten Blaufärbung der Lösung kam. Die Ozonolyse wurde durch die Zugabe von 438 mg (7.8 mmol) Dimethylsulfid beendet. Die Reaktionslösung wurde noch zwei Stunden bei -75°C weitergerührt und dann auf -10°C erwärmt. Es wurde dann noch zwei Stunden mit Eis-Kochsalzkühlung gerührt. Das Kältebad wurde entfernt, und der auf Raumtemperatur erwärmte Ansatz am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgemisch aus Petrolether und Essigester im Verhältnis 6,5:1 gereinigt.

Es wurden 300 mg (2.1 mmol) 2-Methyl-2-propionyl-1,3-dioxolan erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 45%.

^{13}C -NMR (126 MHz, C_6D_6):

δ [ppm] = 24.39 (CH_3); 29.49 (CH_2); 34.55 (CH_2); 64.99 (CH_2); 180.12 (C^2); 200.76 ($\text{C}=\text{O}$)

^1H -NMR (400 MHz, C_6D_6):

δ [ppm] = 1.22 (s, 3H, CH_3); 2.05 (t, 1H, CH_2); 2.13 (dt, 2H, CH_2); 2.42 (t, 1H, CH_2); 3.52 (s, 4H, CH_2); 9.46 (s, 1H, $\text{HC}=\text{O}$)

MS :

m/z (%): 43 (100), 55 (10), 85 (17), 87 (58), 129 (16), 145 (0.04, M^++1)

Darstellung von (5Z,8Z,11Z)-2-Methyl-2-tetradeca-5,8,11-trienyl-1,3-dioxolan

Unter Schutzgasatmosphäre wurden 3 mL (0.48 mmol) einer 0,162 molaren Lösung von Z,Z-3,6-Nonadienyltriphenylphosphoniumbromid in THF mit 5 mL trockenem THF gelöst und auf -30°C gekühlt. Dann wurden (0.48 mmol) Bisnatriumtrimethylsilylamid hinzugegeben. Anschließend wurden 60 mg (0.48 mmol) 2-Methyl-2-propionyl-1,3-dioxolan, in trockenem THF gelöst, dazugetropft. Nach fünf Minuten Rühren wurde das Kältebad entfernt und noch eine Stunde gerührt. Danach wurde das gleiche Volumen Wasser hinzugegeben und die wässrige Lösung dreimal mit je 5 mL eines Gemisches aus Diethylether und Petrolether im Verhältnis 1:2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde abdestilliert und das Rohprodukt säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgemisch aus Petrolether und Essigester im Verhältnis 9:1 gereinigt.

Es wurden 64 mg (0.256 mmol) (5Z,8Z,11Z)-2-Methyl-2-tetradeca-5,8,11-trienyl-1,3-dioxolan erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 53%.

^{13}C -NMR (101, MHz, C_6D_6):

δ [ppm] = 14.81 (CH_3); 21.26 (C^{11}H_2); 22.89 (C^2H_2); 24.48 ($\text{C}^{1''}\text{H}_2$); 26.29 (C^{5+8}H_2); 39.95 (C^1H_2); 65.08 (C^{4+5}H_2); 127.96 (CH); 128.89 (CH); 128.32 (CH); 129.05 (CH); 130.06 (CH); 132.43 (CH)

$^1\text{H-NMR}$ (400, MHz, C_6D_6):

δ [ppm] = 0.75 (t, 3H, $\text{C}^{12'}\text{H}_3$); 1.14 (s, 3H, $\text{C}^{1''}\text{H}_3$); 1.61 (dt, 2H, $\text{C}^{1'}\text{H}_2$);
1.86 (sext, 2H, $\text{C}^{11'}\text{H}_2$); 3.23 (m, 2H, $\text{C}^{2'}\text{H}$); 2.70 (dt, 4H, CH_2); 3.35 (s, 4H, C^{4+5}H_2); 5.24-
5.36 (m, 6H, $\text{HC}=\text{CH}$)

Darstellung von (5Z,8Z,11Z)-5,8,11-Tetradecatrien-2-on (28)

Es wurden 64 mg (0.256 mmol) 2-Methyl-2-tetradeca-(5Z,8Z,11Z)-5,8,11-trienyl-1,3-dioxolan in einem Gemisch aus 2 mL Diethylether und 2 mL THF gelöst und 2 mL 2,4 N HCl dazugegeben und 48 Stunden lang gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung gewaschen. Die Waschlösung wurde zweimal mit 10 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl -Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde abdestilliert und das Rohprodukt säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgemisch aus Petrolether und Essigester im Verhältnis 10:1 gereinigt.

Es wurden 33 mg (0.16 mmol) (5Z,8Z,11Z)-5,8,11-Tetradecatrien-2-on (28) erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 63%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz CDCl_3):

δ [ppm] = 0.97 (t, 3H, C^{14}H_3); 2.07 (m, 2H, C^{13}H_2); 2.14 (s, 3H, C^1H_3); 2.34 (m, 2H, C^4H_2);
2.49 (t, 2H, C^3H_2); 2.81 (quin, 4H, $\text{C}^{7+11}\text{H}_2$); 5.29-5.42 (m, 6H, $\text{HC}=\text{CH}$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz CDCl_3):

δ [ppm] = 14.67 (C^{14}H_3); 20.96 (CH_2); 22.07 (CH_2); 25.94 ($2\times\text{CH}_2$); 30.37 (C^1H_3);
43.86 (CH_2); 127.40 (CH); 128.24 (CH); 128.55 (CH); 129.04 (CH); 129.51 (CH);
132.48 (CH)

MS :

m/z (%) : 39 (14), 41 (34), 43 (100), 55 (15), 67 (27), 79 (69), 80 (19), 81 (10), 91 (28),
92 (15), 93 (16), 95 (14), 105 (17), 119 (13), 133 (4), 148 (12), 159 (2), 163 (1), 173 (1),
191 (0.11, M^+-15), 206 (0.03, M^+)

7.4.13 Darstellung von (5Z,8Z,11Z)- und (5E,8Z,11Z)-Tetradecatrien-2-on (28,27) Darstellung von (5Z,8Z,11Z)-2-Methyl-2-tetradeca-5,8,11-trienyl-1,3-dioxolan und 2-Methyl-2-tetradeca-(5E,8Z,11Z)-5,8,11-trienyl-1,3-dioxolan

Es wurden 2 mL (0.32 mmol) einer 0,162 molaren Lösung von Z,Z-3,6-Nonadienyltriphenylposphoniumbromid unter Schutzgasatmosphäre in 2 mL THF gelöst und auf -30°C gekühlt. Danach wurden 0,2 mL (0.324 mmol) einer 1,6 molaren n-Butyllithium-Lösung in Hexan hinzugegeben. Dann wurden 20,2 mg (0.14 mmol) Methyl-2-propionyl-1,3-dioxolan in 2 mL absolutem THF gelöst und zu dem Reaktionsgemisch gegeben. Nach 5 Minuten Rühren wurde das Kältebad entfernt und noch eine Stunde gerührt. Danach wurde das gleiche Volumen Wasser hinzugegeben und die wässrige Lösung dreimal mit je 5 mL eines Gemisches aus Diethylether und Petrolether im Verhältnis 1:2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde abdestilliert und das Rohprodukt säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgemisch aus Petrolether und Essigester im Verhältnis 9:1 gereinigt.

Es wurden 41,6 mg (0.17 mmol) (5Z,8Z,11Z)-2-Methyl-2-tetradeca-5,8,11-trienyl-1,3-dioxolan und 2-Methyl-2-tetradeca-(5E,8Z,11Z)-5,8,11-trienyl-1,3-dioxolan im Verhältnis 9:1 erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 53%. Das Verhältnis wurde anhand der Signalflächen der Substanzen im Gaschromatogramm ermittelt.

Die spektroskopischen Daten waren identisch mit denen unter 7.4.12

Darstellung von (5Z,8Z,11Z)-5,8,11-Tetradecatrien-2-on (28) und (5E,8Z,11Z)-5,8,11-Tetradecatrien-2-on (27)

Es wurden 41,6 mg (0.17 mmol) (5Z,8Z,11Z)-2-Methyl-2-tetradeca-5,8,11-trienyl-1,3-dioxolan und 2-Methyl-2-tetradeca-(5E,8Z,11Z)-5,8,11-trienyl-1,3-dioxolan im Verhältnis 9:1 in einem Gemisch aus 2 mL Diethylether und 2 mL THF gelöst. Dann wurden 2 mL 2,4 N HCl dazugegeben und 48 Stunden gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung gewaschen. Die Waschlösung wurde zweimal mit 10 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde abdestilliert und das Rohprodukt säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgemisch aus Petrolether und Essigester im Verhältnis 10:1 gereinigt.

Es wurden 29 mg (0.14 mmol) (5Z,8Z,11Z)-5,8,11-Tetradecatrien-2-on (28) und (5E,8Z,11Z)-5,8,11-Tetradecatrien-2-on (27) im Verhältnis 9:1 erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 85%.

Die spektroskopischen Daten waren identisch mit denen unter 7.4.12. Das Verhältnis der beiden Stereoisomere wurde auf einer FFAP-Phase anhand der Signalfächen der Substanzen im Gaschromatogramm gemessen ermittelt. Das (5Z,8Z,11Z)-5,8,11-Tetradecatrien-2-on (28) eluierte aufgrund seiner geringeren Polarität vor dem (5E,8Z,11Z)-5,8,11-Tetradecatrien-2-on (27).

7.4.14 Darstellung von (3E,5E)-3,5-Octadien-2-on (33)

Darstellung von (3E,5E)-3,5-Octadien-2-ol

Unter Schutzgasatmosphäre wurden 873 mg (7.9 mmol) (2E,4E)-2,4-Heptadienal (32) in 30 mL trockenem THF gelöst. Der Ansatz wurde in einem Kältebad aus Ethanol mit flüssigem Stickstoff auf -78°C gekühlt. Dann wurden 6 mL (9.9 mmol) einer 5%igen Methyllithium-Lösung in Hexan langsam dazugetropft. Nach Beendigung der Methyllithiumzugabe wurde das Kältebad entfernt und das Reaktionsgemisch bei Raumtemperatur eine Stunde gerührt. Dann wurde der Ansatz mit Eiswasser hydrolysiert. Nachdem sich kein Gas mehr entwickelte, wurde 5 mL Wasser hinzugegeben und weitere 10 min gerührt. Die wässrige Lösung wurde dreimal mit je 10 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer abdestilliert und das Produkt als hellgelbes Öl erhalten.

Es wurden 880 mg (6.99 mmol) (3E,5E)-3,5-Octadien-2-ol erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 88%.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 1.01 (t, 3H, CH_3); 1.28 (d, 3H, CH_3); 2.10 (m, 2H, CH_2); 4.33 (m, 1H, CH); 5.63 (m, 1H, CH); 5.75 (m, 1H, CH); 6.01 (m, 1H, CH); 6.18 (m, 1H, CH)

MS :

m/z (%) : 39 (40), 41 (50), 43 (100), 45 (14), 51 (10), 53 (16), 55 (41), 67 (28), 68 (41), 69 (21), 77 (18), 79 (17), 81 (12), 83 (12), 91 (13), 97 (37, M⁺-29), 108 (13, M⁺-18), 111 (13, M⁺-15), 126 (27, M⁺)

Darstellung von (3E,5E)-3,5-Octadien-2-on (33)

Unter Schutzgas wurden 860 mg (6.7 mmol) (3E,5E)-3,5-Octadien-2-ol in 70 mL trockenem Dichlormethan gelöst und mit 11,7 g (135 mmol) Mangandioxid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 24 Stunden gerührt. Anschließend wurden die entstandenen Mangansalze über Kieselgel abfiltriert und das Lösemittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgemisch aus Petrolether und Essigester im Verhältnis 50:4 gereinigt.

Es wurden 402 mg (3.2 mmol) (3E,5E)-3,5-Octadien-2-on (33) erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 47,5%.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 1.05 (t, 3H, CH₃); 1.22 (quin, 2H, CH₂); 2.27 (s, 3H, CH₃); 6.07 (d, 1H, CH); 6.24 (m, 2H, CH); 7.12 (dd, 1H, CH)

MS :

m/z (%) : 39 (28), 41 (22), 43 (53), 45 (14), 53 (21), 79 (39), 81 (60), 95 (100, M⁺-29), 109 (13, M⁺-15), 124 (20, M⁺)

7.4.15 Darstellung von rac.-9-Octadecanolid (37)

Darstellung von rac.-9-Hydroxyoctadecansäuremethylester

Unter Schutzgasatmosphäre wurden 2,5 g (13.8 mmol) 8-Formyloctansäuremethylester in 120 mL trockenem THF gelöst und auf -15°C gekühlt. Separat wurden 499 mg (20,7 mmol) Magnesiumspäne gegeben und im Vakuum ausgeheizt. Das Magnesium wurde anschließend unter Schutzgasatmosphäre mit 7 mL trockenem THF überschichtet und zwei Tropfen 1,2-Dibromethan zugegeben. Im Anschluß wurde eine Lösung von 4,32 g (20.82 mmol) 1-Bromnonan in 2 mL THF zu dem Ansatz getropft, der mit einem Bad aus kaltem Wasser

gekühlt wurde. Die durch ausgefallenes Grignardreagenz trübe Lösung wurde mit 40 mL trockenem THF aufgefüllt und dann zu der gekühlten Lösung des Aldehyds getropft. Nach 20 Minuten wurde das Kältebad entfernt und noch 20 Minuten bei 0°C gerührt. Dann wurde das Reaktionsgemisch auf Eiswasser gegossen und mit NH₄Cl neutralisiert. Die wässrige Lösung wurde dreimal mit Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit NaCl-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde abdestilliert und das Rohprodukt säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgemisch aus Petrolether und Essigester im Verhältnis 6:1 gereinigt.

Es wurden 1,27 g (4.18 mmol) *rac.*-9-Hydroxyoctadecansäuremethylester. Das entspricht einer Ausbeute von 30 %

MS :

m/z (%) : 41 (51), 42 (13), 43 (63), 55 (72), 57 (29), 67 (22), 74 (39), 81 (12), 83 (42), 87 (100), 97 (24), 98 (13), 101 (19), 109 (32), 115 (37), 129 (6), 155 (60), 187 (21), 246 (0,57, M⁺-18, -32), 265 (0.83), 281 (0.14), 283 (0.10, M⁺-31)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 0.88 (t, 3H, C¹⁸H₃); 1.28 (br. m, 24H, CH₂); 1.60 (m, 4H, C⁸⁺¹⁰H₂); 2.31 (t, 2H, C²H₂); 3.60 (m, 1H, C⁹H); 3.67 (s, 3H, C¹H₃)

Darstellung von *rac.*-9-Hydroxyoctadecansäure

Es wurden 1,27 g (4.18 mmol) *rac.*-9-Hydroxyoctadecansäuremethylester in 30 mL Methanol gelöst und mit 10 % KOH-Lösung versetzt. Der Reaktionsansatz wurde eine 1,5 Stunden unter Rückfluß erhitzt und auf Wasser gegossen. Die wässrige Phase wurde dreimal mit je 30 mL Diethylether gewaschen und mit 30 mL einer 10 %-igen HCl-Lösung angesäuert. Die saure Lösung wurde dreimal mit je 30 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde abdestilliert und das Produkt als weißer Feststoff erhalten.

Es wurden 531 mg (1,77 mmol) *rac.*-9-Hydroxyoctadecansäure erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 43 %.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 0.88 (t, 3H, C^1H_3); 1.28 (br. s, 24H, CH_2); 1.64 (br. t, 4H, $\text{C}^{8+10}\text{H}_2$);
2.34 (t, 2H, C^2H_2); 3.59 (m, 1H, C^9H)

Darstellung von *rac*.-9-Octadecanolid (37)

Unter Schutzgas wurden 416 mg (1,39 mmol) *rac*.-9-Hydroxyoctadecansäure in 2 mL Benzol gelöst und mit 398 mg (1,80 mmol) Dipyridinyldisulfid und 474 mg (1,80 mmol) Triphenylphosphin versetzt. Die gelbe Lösung wurde eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt und mit 200 mL Benzol verdünnt. Es wurden 3 g $\text{AgClO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ in 10 mL Toluol gelöst und bis auf 3 mL eingeeengt. Die AgClO_4 -Lösung wurde mit 200 mL Benzol verdünnt und unter Schutzgas zum Sieden gebracht. Dann wurde die Lösung der aktivierten Hydroxysäure über den Rückflußkühler mit einer Geschwindigkeit von ca. 200 μl pro Minute zu der siedenden Silberperchloratlösung getropft. Nach Beendigung der Zugabe wurde die Reaktionslösung noch eine Stunde unter Rückfluß erhitzt. Dann wurde das Lösemittel abdestilliert, und das Reaktionsgemisch dreimal mit je 10 mL Hexan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde abdestilliert und das Produkt als gelbes Öl erhalten.

Es wurden 7 mg (0.025 mmol) *rac*.-9-Octadecanolid erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 2 %.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 0.88 (t, 3H, C^{18}H_3); 1.28 (br. s, 24H, CH_2); 1.44-1.48 (m, 2H, C^{10}H_2);
2.00 (m, 1H, C^8H_2); 2.20 (hept, 1H, C^2H_2); 2.33 (m, 1H, C^{10}H_2); 2.50 (ddd, 1H, C^2H_2);
4.89 (m, 1H, C^9H)

MS :

m/z (%) : 41 (61), 42 (19), 43 (75), 55 (75), 56 (28), 57 (49), 68 (24), 69 (56), 70 (37),
71 (27), 82 (37), 83 (64), 84 (39), 85 (15), 96 (12), 97 (56), 98 (100), 99 (10), 109 (12),
111 (28), 127 (43), 155 (16), 264 (4, M^+-18), 282 (0.30, M^+)

7.4.16 Darstellung von *rac.*-10-Octadecanolid (38)

Darstellung von *rac.*-10,11-Epoxyundecansäureethylester

Zu einer im Eisbad gekühlten Lösung von 3,0 g (14 mmol) 10-Undecensäureethylester in 100 mL Dichlormethan und 20 mL einer 10 %igen Natriumhydrogencarbonatlösung wurden 2 Äquivalente 9,7 g (28 mmol) einer 80 %igen *m*-Chlorperbenzoesäure gegeben. Nach 2,5 Stunden wurden nochmal 2 Spatelspitzen *m*-Chlorperbenzoesäure hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde dann 3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die organische Phase abgetrennt und erst mit 50 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung, und anschließend mit 50 mL Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Produkt wurde als farblose Flüssigkeit erhalten.

Es wurden 3,1 g (13,6 mmol) *rac.*-10,11-Epoxyundecansäureethylester. Das entspricht einer Ausbeute von 97 %.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 1.26 (t, 3H, CH₃); 1.29-1.32 (m, 6H, CH₂); 1.41-1.55 (m, 4H, CH₂); 1.57-1.67 (m, 2H, C³H₂); 2.29 (t, 2H, C²H₂); 2.47 (dt, 1H, C¹¹H₂); 2.75 (t, 1H, C¹¹H₂); 2.87-2.95 (m, 1H, C¹⁰H); 4.13 (q, 2H, C²H₂)

Darstellung von 9-Formylnonansäureethylester

Zu einer Lösung von 3 g (13 mmol) *rac.*-10,11-Epoxyundecansäure in 100 mL Diethylether wurden 2 Äquivalente 6,7 g (29 mmol) Periodsäure gegeben. Dabei färbte sich die Lösung weiß und wurde trüb. Das Reaktionsgemisch wurde 3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wurde die Lösung mit 300 mL 2N Natronlauge neutralisiert. Die organische Phase wurde abgetrennt und dreimal mit 50 mL Wasser gewaschen. Dann wurde die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgemisch aus Petrolether und Essigester im Verhältnis 10:1 gereinigt.

Es wurden 1,2 g (5.65 mmol) 9-Formylnonansäureethylester erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 43 %.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 1.26 (t, 3H, $\text{C}^{2'}\text{H}_3$); 1.29-1.33 (m, 10H, CH_2); 1.58-1.67 (m, 2H, C^3H_2); 2.29 (t, 2H, C^2H_2); 2.42 (dt, 2H, C^9H_2); 4.13 (q, 2H, C^1H_2); 9.76 (t, 1H, C^{10}H)

Darstellung von *rac.*-10-Hydroxyoctadecansäureethylester

Die Synthese erfolgte, wie unter 7.4.15 für den *rac.*-9-Hydroxyoctadecansäuremethylester beschrieben. Es wurden 1,82 g (9,42 mmol) 1-Bromoctan mit 226 mg (9,42 mmol) Magnesiumspänen zum Grinardreagenz umgesetzt und mit 1,21 g (5,65 mmol) Decansäureethylesteraldehyd gekuppelt.

Es wurde 1 g (3 mmol) *rac.*-10-Hydroxyoctadecansäureethylester erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 53 %.

MS :

m/z (%) : 41 (52), 42 (12), 43 (50), 55 (83), 57 (40), 67 (25), 69 (53), 70 (13), 71 (13), 73 (17), 81 (30), 85 (10), 88 (57), 97 (17), 98 (11), 101 (78), 115 (13), 123 (10), 143 (31), 157 (24), 169 (100), 170 (10), 186 (30), 264 (2, $\text{M}^+ - 18 - 46$), 283 (2), 328 (0.01, M^+)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 0.88 (t, 3H, C^{18}H_3); 1.26 (t, 3H, $\text{C}^{2'}\text{H}_3$); 1.29 (br. m, 16H, CH_2); 1.43 (br. m, 6H, $\text{C}^{4+8+12}\text{H}_2$); 1.60 (m, 4H, $\text{C}^{10+11}\text{H}_2$); 2.29 (t, 2H, C^2H_2); 3.58 (m, 1H, C^{10}H); 4.14 (q, 3H, C^1H_2)

Darstellung von *rac.*-10-Hydroxyoctadecansäure

Es wurde 1 g (3 mmol) *rac.*-10-Hydroxyoctadecansäureethylester in 30 mL Ethanol gelöst, mit 3 mL 10 %iger KOH-Lösung versetzt und 5 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf Wasser gegossen und mit Diethylether gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit 1 mL konzentrierter Salzsäure angesäuert und dreimal mit je 30 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt.

Es wurden 430 mg (1,43 mmol) *rac.*-10-Hydroxyoctadecansäure erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 25 %.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 0.88 (t, 3H, C^1H_3); 1.28 (br. s, 24H, CH_2); 1.64 (br. t, 4H, $\text{C}^{9+11}\text{H}_2$);
2.34 (t, 2H, C^2H_2); 3.59 (m, 1H, C^{10}H)

Darstellung von *rac.*-10-Octadecanolid (38)

Die Synthese wurde wie unter 7.4.15 für das *rac.*-9-Octadecanolid (37) beschrieben, durchgeführt. Es wurden 430 mg (1.43 mmol) *rac.*-10-Hydroxyoctadecansäure eingesetzt.

Es wurden 10 mg (0,04 mmol) *rac.*-10-Octadecanolid (38) erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 3 %.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 0.88 (t, 3H, C^{18}H_3); 1.28 (br. s, 24H, CH_2); 1.44-1.48 (m, 2H, C^{11}H_2);
2.00 (m, 1H, C^9H_2); 2.20 (hept, 1H, C^2H_2); 2.33 (m, 1H, C^9H_2); 2.50 (ddd, 1H, C^2H_2);
4.88 (m, 1H, C^{10}H)

MS :

m/z (%) : 41 (72), 42 (15), 43 (42), 54 (10), 55 (69), 56 (19), 57 (21), 67 (36), 68 (23),
69 (49), 70 (22), 71 (22), 73 (26), 79 (20), 81 (66), 82 (27), 83 (40), 84 (36), 85 (12), 93 (19),
94 (22), 95 (24), 96 (18), 97 (39), 98 (100), 107 (17), 109 (10), 110 (15), 111 (38), 112 (18),
123 (11), 141 (26), 169 (19), 221 (3), 264 (5, M^+-18), 282 (0.9, M^+)

7.4.17 Darstellung von L-Pro-L-Phe-Diketopiperazin (44)

Darstellung von L-Phenylalaninmethylester

2,6 g (16 mmol) Phenylalanin und 1,2 mL (20 mmol) Thionylchlorid wurden in 20 mL Methanol gelöst und eine Stunde unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde das Lösemittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Hydrochlorid des Phenylalaninmethylesters wurde als weißer Feststoff erhalten, mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt und dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und eingeeengt.

Es wurden 2,5 g (14 mmol) Phenylalaninmethylester erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 90 %.

$^1\text{H-NMR-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 3.10 (dd, 1H, C^3H_2); 3.33 (dd, 1H, C^3H_2); 3.94 (s, 3H, C^1H_3); 3.98 (dd, 1H, C^2H); 7.40-7.56 (m, 5H, CH)

Darstellung von L-(N-Benzylcarbonylpropyl)-L-phenylalaninmethylester

Zu einer Lösung von 3,7 g (14 mmol) L-N-Benzylcarbonylprolin und 2,5 g (14 mmol) Phenylalaninmethylester in 70 mL Dichlormethan wurden in kleinen Portionen 3,3 g (15 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) hinzugefügt. Der Reaktionsansatz wurde eine Stunde lang gerührt. Dann wurden 2 mL Eisessig dazugegeben und der ausgefallene Dicyclohexylharnstoff abfiltriert. Das Produkt wurde als zähes Öl erhalten.

Es wurden 4,6 g (12 mmol) L-(N-Benzylcarbonylpropyl)-L-phenylalaninmethylester erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 86 %.

MS :

m/z (%): 65 (10), 70 (14), 91 (100), 92 (9), 160 (15), 204 (6), 275 (1, M^+-135), 410 (0.02, M^+)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 1.60 (m, 1H, $\text{C}^{\text{Pro}}\text{H}_2$); 1.71 (br. s, 1H, $\text{C}^{\text{Pro}}\text{H}_2$); 1.95 (br. s, 1H, $\text{C}^{\text{Pro}}\text{H}_2$);
2.23 (br. s, 1H, $\text{C}^{\text{Pro}}\text{H}_2$); 2.98 (br. s, 1H, $\text{C}^{\text{Pro}}\text{H}_2$); 3.15 (br. s, 1H, $\text{C}^{\text{Pro}}\text{H}_2$);
3.37 (br. m, 2H, $\text{C}^{3\text{Phe}}\text{H}_2$); 3.71 (br. s, 3H, OCH_3); 4.30 (br. m, 1H, $\text{C}^{2\text{Phe}}\text{H}$);
4.83 (q, 1H, $\text{C}^{2\text{Pro}}\text{H}$); 5.05 (br. m, 2H, $\text{C}^{2\text{Z}}\text{H}_2$); 7.18-7.4 (m, 10H, CH)

Darstellung von L,L-Prolylphenylalaninmethylester

Es wurden 4,6 g (12 mmol) L-(N-Benzylcarbonylpropyl)-L-phenylalaninmethylester in 200 mL Eisessig gelöst und mit 270 mg 10 % Palladium/Aktivkohle Katalysator versetzt. Der Reaktionsansatz wurde zunächst mit Stickstoff gespült und anschließend mit Wasserstoff geflutet. Es wurden 24 Stunden bei ca. 1,3 bar H_2 hydriert. Danach wurde der Katalysator abfiltriert und das Lösemittel im Vakuum abdestilliert. Das Produkt wurde als gelbes Öl erhalten.

Es wurden 2,6 g (10 mmol) L,L-Prolylphenylalaninmethylester erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 83 %.

MS :

m/z (%) : 41 (14), 43 (18), 68 (10), 70 (100), 71 (12), 91 (13), 103 (2), 118 (1), 128 (1), 217 (1, M⁺-59), 277 (0.2, M⁺+1)

Darstellung von L-Pro-L-Phe-Diketopiperazin (44)

Es wurden 2,6 g (10 mmol) L,L-Prolylphenylalaninmethylester in 30 mL Methanol gelöst und eine Stunde unter Rückfluß erhitzt. Das Produkt kristallisierte in gelben Nadeln aus.

Es wurden 1,2 g (5 mmol) L-Pro-L-Phe-Diketopiperazin (44) erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 50 %.

Drehwert : $[\alpha]_D^{20^\circ\text{C}} = -4,7^\circ$ (c = 0,25 in MeOH)

MS :

m/z (%) : 39 (28), 41 (71), 42 (27), 43 (19), 51 (13), 55 (17), 65 (26), 68 (22), 69 (18), 70 (100), 77 (13), 91 (64), 92 (15), 103 (9), 120 (6), 125 (71), 131 (4), 153 (12), 172 (1), 173 (1), 244 (4, M⁺)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 1.90 (m, 2H, C^{3+4Pro}H₂); 2.00 (m, 1H, C^{4Pro}H₂); 2.34 (m, 1H, C^{3Pro}H₂); 2.84 (dd, 1H, C^{3Phe}H₂); 3.54 (m, 1H, C^{5Pro}H₂); 3.64 (m, 1H, C^{5Pro}H₂); 4.07 (t, 1H, C^{2Pro}H); 4.56 (dd, 1H, C^{2Phe}H); 7.18-7.4 (m, 5H, C^{arom.}H)

7.4.18 Darstellung von L-Pro-D,L-Val-Diketopiperazin (39)

Darstellung von D,L-Valinmethylester

Die Synthese verlief wie unter 7.4.17 für L-Phenylalaninmethylester Hydrochlorid beschrieben.

Es wurden 2 g (12 mmol) D,L-Valinmethylester Hydrochlorid erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 70 %.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 0.81 (d, 6H, CH₃); 1.96 (q, 1H, C³H); 3.94 (s, 3H, C¹H₃); 3.50 (d, 1H, C²H)

Darstellung von L-(N-Benzylcarbonylpropyl)-D,L-valinmethylester

Die Synthese erfolgte wie unter 7.4.17 für den L-(N-Benzylcarbonylpropyl)-L-phenylalaninmethylester beschrieben. Es wurden 2,3 g (9 mmol) L-N-Benzylcarbonylprolin mit 1,16 g (8,9 mmol) D,L-valinmethylester Hydrochlorid umgesetzt

Es wurden 2,8 g (7,7 mmol) L-(N-Benzylcarbonylpropyl)-D,L-valinmethylester erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 86 %.

MS :

m/z (%) : 41 (12), 55 (10), 63 (2), 65 (17), 69 (4), 70 (22), 91 (100), 92 (15), 130 (5), 160 (44), 204 (15), 227 (4), 303 (0.4, M⁺-59), 362 (0.2, M⁺)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 0.81 (d, 6H, C^{val}H₃); 1.60 (m, 1H, C^{Pro}H₂); 1.71 (br. s, 1H, C^{Pro}H₂); 1.95-1.99 (br. s, 2H, C^{Pro}H₂+C^{3Val}H); 2.23 (br. s, 1H, C^{Pro}H₂); 2.98 (br. s, 1H, C^{Pro}H₂); 3.15 (br. s, 1H, C^{Pro}H₂); 3.71 (br. s, 3H, OCH₃); 4.09 (br. m, 1H, C^{2Val}H); 4.83 (q, 1H, C^{2Pro}H); 5.05 (br. m, 2H, C^{2Z}H₂); 7.18-7.4 (m, 5H, C^{arom.}H)

Darstellung von L-Prolyl-D,L-Valinmethylester

Die Synthese erfolgte wie unter 7.4.17 für L,L-Prolylphenylalaninmethylester beschrieben

Es wurden 2,16 g (9,5 mmol) L-Prolyl-D,L-Valinmethylester erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 79 %.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 0.81 (d, 6H, C^{val}H₃); 1.75 (m, 1H, C^{Pro}H₂); 1.90 (br. s, 1H, C^{Pro}H₂); 1.95-2.06 (br. s, 2H, C^{Pro}H₂+C^{3Val}H); 2.30 (br. s, 1H, C^{Pro}H₂); 3.55 (br. s, 1H, C^{Pro}H₂); 3.77 (br. s, 1H, C^{Pro}H₂); 3.71 (br. s, 3H, OCH₃); 4.09 (br. m, 1H, C^{2Val}H); 4.04 (q, 1H, C^{2Pro}H);

Darstellung von L-Pro-L,D-Val-Diketopiperazin (39)

Die Synthese erfolgte wie unter 7.4.17 für L-Pro-L-Phe-Diketopiperazin (44) beschrieben. Es wurden 2,16g (9,5 mmol) L-Prolyl-D,L-Valinmethylester umgesetzt.

Es wurden 588 mg (3 mmol) L-Pro-L,D-Val-Diketopiperazin (39) erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 34 %.

MS :

m/z (%) : 41 (26), 43 (9), 55 (15), 68 (11), 69 (18), 70 (100), 72 (47), 125 (31), 154 (87), 196 (0.7, M⁺)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 0,81 (m, 6H, C^{Val}H₃); 1,83-1,90 (m, 2H, C^{Pro}H₂); 1,96 (m, 1H, C^{3Val}H); 2,00-2,24 (m, 1H, C^{Pro}H₂); 2,34 (m, 1H, C^{Pro}H₂); 3,55 (m, 1H, C^{5Pro}H₂); 3,75 (m, 1H, C^{5Pro}H₂); 4,07 (t, 1H, C^{2Pro}H); 4,23 (d, 1H, C^{2Val}H)

7.4.19 Darstellung von L-Pro-L-Ala-Diketopiperazin (40)

Darstellung von L-Alaninmethylester

Die Synthese verlief wie unter 7.4.17 für L-Phenylalaninmethylester beschrieben. Es wurden 3 g (34 mmol) L-Alanin eingesetzt und 2,6 g (25 mmol) L-Alaninmethylester erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 74 %.

MS :

m/z (%) : 42 (21), 44 (100), 59 (3), 88 (1 M⁺-15), 103 (0.3, M⁺)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 1,78 (d, 3H, CH₃); 3,94 (s, 3H, CH₃); 4,10 (q, 1H, CH)

Darstellung von Darstellung von L-(N-Benzylcarbonylpropyl)-L-Alaninmethylester

Die Synthese erfolgte wie unter 7.4.17 für den L-(N-Benzylcarbonylpropyl)-L-phenylalaninmethylester beschrieben. Es wurden 6,27g (25 mmol) L-N-Benzylcarbonylprolin mit 2,6 g (25 mmol) L-Alaninmethylester umgesetzt. Es wurden 4,9 g (15 mmol) L-(N-Benzyl-carbonylpropyl)-L-alaninmethylester erhalten, was einer Ausbeute von 60 % entspricht.

MS :

m/z (%) : 41 (15), 43 (10), 44 (7), 59 (10), 65 (16), 70 (15), 91 (100), 92 (8), 102 (10), 160 (13), 204 (9)

Darstellung von L-Prolyl-L-Alaninmethylester

Die Synthese erfolgte wie unter 7.4.17 für L,L-Prolylphenylalaninmethylester beschrieben

Es wurden 1,9 g (9,5 mmol) L-Prolyl-L-Alaninmethylester erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 79 %.

Das Produkt wurde ohne weitere Charakterisierung umgesetzt.

Darstellung von L-Pro-L-Ala-Diketopiperazin (40)

Die Synthese erfolgte wie unter 7.4.17 für L-Pro-L-Phe-Diketopiperazin (44) beschrieben. Es wurden 1,9 g (9,5 mmol) L-Prolyl-L-alaninmethylester umgesetzt und 504 mg (3 mmol) L-Pro-L-Ala-Diketopiperazin (40) erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 34 %.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 1.10 (m, 3H, CH_3); 1.28 (m, 1H, CH_2); 1.60 (dt, 1H, CH_2); 1.72 (dt, 2H, CH_2); 1.92 (dd, 2H, CH_2); 3.40 (m, 1H, CH); 3.74 (m, 1H, CH_2)

7.4.20 Darstellung von D,L-rac.-Ileu-L-Pro-Diketopiperazin (43)

Darstellung von D,L-rac.-Isoleucinmethylester

Die Synthese erfolgte wie unter 7.4.17 für L-Phenylalaninmethylester beschrieben.

Es wurden 3,93 g (30 mmol) Isoleucin und 2,9 mL (40 mmol) Thionylchlorid umgesetzt und 3,6 g (25 mmol) D,L-rac.-Isoleucinmethylester erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 84 %

MS :

m/z (%) : 41 (31), 44 (30), 56 (31), 57 (28), 69 (20), 86 (100), 145 (1, M^+)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 0.95 (t, 3H, C^5H_3); 1.04 (d, 3H, C^6H_3); 1.33 (m, 1H, C^4H_2); 1.52 (m, 1H, C^4H_2); 2.02 (m, 1H, C^3H); 3.47 (m, 1H, C^2H); 3.78 (s, 1H, C^1H_3)

Darstellung von L-(N-Benzylcarbonylprolyl)-D,L-rac.-Isoleucinmethylester

Die Synthese erfolgte wie unter 7.4.17 für L-(N-Benzylcarbonylprolyl)-L-Phenylalaninmethylester beschrieben

Es wurden 6,27 g (25 mmol) L-N-Benzylcarbonylprolin und 3,6 g (25 mmol) D,L-*rac.*-Isoleucinmethylester umgesetzt und 4,51 g (12 mmol) L-(N-Benzylcarbonylprolyl)-D,L-*rac.*-Isoleucinmethylester erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 86 %

MS :

m/z (%) : 59 (6), 86 (1), 91 (100), 160 (12), 204 (7), 241 (2, M⁺-135)

Darstellung von L-Prolyl D,L-*rac.*-Isoleucinmethylester

Die Synthese erfolgte wie unter 7.4.17 für L-Prolyl-L-Phenylalaninmethylester beschrieben.

Es wurden 4,51 g (25 mmol) L-(N-Benzylcarbonylprolyl)-D,L-*rac.*-isoleucinmethylester umgesetzt und 2,3 g (9,5 mmol) L-Prolyl-D,L-*rac.*-isoleucinmethylester erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 79 %.

MS :

m/z (%) : 70 (100), 86 (2), 181 (1), 243 (1, M⁺+1)

Darstellung von L-Pro-D,L-*rac.*-Ileu-Diketopiperazin (43)

Die Synthese erfolgte wie unter 7.4.17 für L-Pro-L-Phe-Diketopiperazin (44) beschrieben

Es wurden 4,51 g (25 mmol) L-Prolyl-D,L-*rac.*-isoleucinmethylester umgesetzt und 670 mg (3 mmol) L-Pro-D,L-*rac.*-Ileu-Diketopiperazin (43) erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 34 %.

MS :

m/z (%) : 39 (21), 41 (56), 70 (76), 86 (14), 125 (17), 154 (100), 181 (1, M⁺-29)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 0,95 (t, 3H, C⁵IleuH₃); 1.04 (d, 3H C⁶IleuH₃); 1.17 (m, 1H, C⁴IleuH₂);
57 (m, 1H C⁴IleuH₂); 1.79 (m, 1H, C³IleuH); 1.83-1.90 (m, 2H, C^{Pro}H₂); 2.00-
2.24 (m, 1H, C^{Pro}H₂); 2.34 (m, 1H, C^{Pro}H₂); 3.55 (m, 1H, C⁵ProH₂); 3.75 (m, 1H, C⁵ProH₂);
4.09 (d, 1H, C²IleuH); 4.43 (t, 1H, C²ProH);

7.4.21 Darstellung von L-Pro-L-Pro-Diketopiperazin (41)

Es wurden 3 g (26 mmol) L-Prolin in 30 mL Ethylenglycol gelöst und 10 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Das Lösemittel wurde abdestilliert und das Produktgemisch in Wasser aufgenommen und über eine Octadecyl-Phase geleitet. Die Phase wurde mit Wasser gewaschen und das Produkt mit Methanol eluiert.

Es wurden 2 g (10 mmol) L-Pro-L-Pro-Diketopiperazin (41) erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 77 %.

MS :

m/z (%) : 39 (29), 40 (14), 41 (82), 42 (32), 55 (14), 68 (29), 69 (23), 70 (100), 83 (5), 96 (15), 110 (7), 138 (6), 194 (17, M⁺)

7.4.22 Darstellung von Myristinsäureethanolamid

Zu einer Lösung von 1,1 g (4 mmol) Myristinsäurechlorid in 150 mL Dichlormethan wurde bei 0°C eine Lösung von 0,25 mL (4 mmol) 2-Aminoethanol und 0,25 mL (3,5 mmol) Triethylamin in 20 mL Dichlormethan hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min bei 0°C und anschließend 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Phase wurde dreimal mit je 30 mL einer 10 % igen Salzsäurelösung und dreimal mit je 50 mL Wasser gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Produkt wurde als weißer Feststoff erhalten.

Es wurden 945 mg (3,83 mmol) Myristinsäureethanolamid erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 95 %.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 0,88 (t, 3H, C¹⁴H₃); 1.17-1,38 (br. s, 22H, C³⁻¹³H₂); 2,20 (t, 2H, C²H₂), 2,38 (br. t, 1H, OH); 3,43 (dt, 2H, C²H₂); 3,72 (t, 2H, C¹H₂); 6,01 (br. t, 1H, NH)

MS :

m/z (%) : 41 (19), 43 (23), 44 (8), 55 (11), 59 (26), 70 (10), 72 (12), 85 (100), 98 (35), 140 (8), 154 (6), 168 (2), 169 (3), 182 (1), 197 (1), 253 (0.24, M⁺-18)

7.4.23 Darstellung von Palmitinsäureethanolamid (58)

Die Synthese erfolgte wie unter 7.4.22 für Myristinsäureethanolamid beschrieben. Es wurde 1 g (3,63 mmol) Palmitinsäurechlorid eingesetzt.

Es wurden 900 mg (3,27 mmol) Palmitinsäureethanolamid (**58**) erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 90 %.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 0.88 (t, 3H, C^{14}H_3); 1.17-1.38 (br. s, 26H, $\text{C}^{3-13}\text{H}_2$); 2.20 (t, 2H, C^2H_2), 2.38 (br. t, 1H, OH); 3.43 (dt, 2H, C^2H_2); 3.72 (t, 2H, C^1H_2); 6.01 (br. t, 1H, NH)

MS :

m/z (%) : 41 (43), 43 (36), 44 (13), 55 (40), 57 (15), 59 (48), 60 (11), 67 (12), 69 (13), 72 (30), 83 (11), 85 (100), 86 (10), 98 (45), 103 (11), 112 (9), 114 (4), 116 (4), 122 (4), 126 (6), 128 (3), 136 (3), 140 (8), 154 (6), 168 (3), 182 (2), 196 (2), 210 (4), 224 (2), 228 (2), 268 (0.1, M^+-31)

8 Literatur

- [1] J.H. Law, F.E. Regnier, Pheromones, *Annu. Rev. Biochem.* **40** S. 533 (1971)
- [2] O.W. Thiele, Lipide, Isoprenoide mit Steroiden, Georg Thieme Verlag Stuttgart (1979)
- [3] R.W. Whittaker, P.P. Feeny, Allelochemicals: Chemical Interactions between Species, *Science* **171** S. 757-770 (1970)
- [4] W. Brown, T. Eisner, H. Whittaker, Allomones and Kairomones: Transpecific Chemical Messengers, *BioSciences* **20** S. 21-28 (1970)
- [5] E. O. Wilson, Chemical Communication in the Social Insects, *Science* **149** S. 1064-1071 (1965)
- [6] P. Karlson, A. Butenandt, Pheromones(ectohormones) in insects *Annu. Rev. Entomol.* **4** S. 39 - 58 (1959)
- [7] P. Karlson, M. Lüscher, Pheromones: a new Term for a Class of Biologically Active Substances, *Nature* **183** S. 55-56 (1959)
- [8] J. P. Vité, W. Francke, The Aggregation Pheromones of Bark Beetles: Progress and Problems, *Naturwiss.* **63** S. 550-555 (1976)
- [9] W. Francke, P. Sauerwein, J. P. Vité, D. Klimetzek The Pheromone Bouquet of *Ips amitinus*, *Naturwiss.* **67** S. 147-150 (1980)
- [10] D. Thiessen, Thermoenergetics and evolution of pheromone communication, *Prog. Physiobiol. Physiol. Psychol.* **7** J. Sparge, A. Epstein (Eds.), Academic Press, New York S. 92-183 (1977)
- [11] M. J. Stanhope, M. M. Connelly, B. Hartwick, evolution of an crustacean chemical communication channel: Behavioral and ecological genetic evidence for a habitat-modified, race specific pheromone, *J. Chem. Ecol.* **18** S. 1871-1887 (1992)
- [12] Charles Darwin, A Biographical Sketch of an Infant, First published in *Mind* **2** S. 285-294 (1877), Aus: Classics in the History of Psychology, An internet resource developed by C. D. Green York Universität, Toronto Ontario <http://psychclassics.yorku.ca/Darwin/infant.htm>
- [13] A. Butenandt, R. Beckmann, R. Stamm, E. Hecker, Über den Sexuallockstoff des Seidenspinners *Bombyx mori* Reindarstellung und Konstitution, *Z. Naturforsch.* **14b** S. 283-284 (1959)
- [14] A.J. Thierney, C. S. Thompson, D. W. Dunham, Site of Pheromone reception in the crayfish *Oreonectes propinquus*, *Journal of Crustacean Biology* **4(4)** S. 554-559 (1984)

- [15] W. Boland, P. Ney, L. Jaenicke, G. Gassmann, in Anal. Volatiles methodes Appl. Proc. Int. Workshop (1983) S. 371 (p. Schreier ed.) Walter de Gruyter & Co, Berlin New York (1984)
- [16] W. Boland, G. Pohnert, I. Maier, Pericyclische Reaktionen in der Natur - Inaktivierung von Algenpheromonen durch spontane Cope-Umlagerung, Angew. Chem. **104** S. 1717 (1995)
- [17] D. G. Müller, F. J. Marner, W. Boland, L. Jaenicke, G. Gassmann, Identification of a Volatile Gamete Secretion in *Spermatochnus paradoxus*, Naturwissenschaften **67** S. 476 (1981)
- [18] G. Gassmann, D. G. Müller, P. Fritz, Helgoländer Meeresuntersuchungen **49** S. 797-804 (1995)
- [19] D. G. Müller, M. N. Clayton, G. Gassmann, W. Boland, F.-J. Marner, T. Schotten, L. Jaenicke, Cystophorene und Hormosirene, Sperm Attractants in Australian Brown Algae, Naturwissenschaften **72** S.97-99 (1985)
- [20] W. Boland, L. Jaenicke, Synthese und spektroskopische Eigenschaften pflanzlicher all cis-Polyolefine, Liebigs Ann. Chem. (1981) S. 92-98
- [21] W. Boland, N. Schroer, C. Sieler, Stereospecific Syntheses and Spectroscopic Properties of Isomeric 2,4,6,8-Undecatetraens. New Hydrocarbons from the marine Brown Alga *Giffordia mitdellae*, Helv. Chim. Act. **70** S. 1025-1040 (1987)
- [22] P. Amon, E. Haas, M. Sumper, The Sex-inducing pheromone and wounding trigger the same set of genes in the multicellular green alga *Volvox*, Plant Cell **10** S. 781-789 (1998)
- [23] H. B. Bartels-Hardege, J. D. Hardege, E. Zeeck, C. T. Müller, B. C. Wu, M. Y. Zhu, Sex pheromones in marine polychaetes V: biologically active volatile compound from the coelomic fluid of female *Nereis japonica*, J. Exp. Mar. Biol. Ecol., **201** S. 275-284 (1996)
- [24] E. Zeeck, J. D. Hardege, H. D. Bartels-Hardege, G. Wesselmann, Sex pheromone in marine polychaete : Determination of the chemical structure, J. Exp. Zool. **246** S. 285-292 (1988)
- [25] J. D. Hardege, C. T. Müller, M. Beckmann, A waterborne female sex pheromone in the ragworm, *Nereis succinea* (Annelida, Polychaeta), Polychaete Res. **4** S. 5-10 (1997)
- [26] Dissertation Ulrich Papke: Identifizierung und Synthese biologisch aktiver Substanzen aus aquatischen Organismen, Universität Hamburg, Institut für organische Chemie (1997)
- [27] T. Harder, Isolation und Strukturaufklärung eines Sexualpheromons des marinen Polychaeten *Platnereis dumerilii* Dissertation CvO-Universität Oldenburg, F. B. Chemie (1996)

- [28] E. Zeeck, T. Harder, M. Beckmann, C. T. Müller, Marine gamete-release pheromones, *Nature (London)* **382** S. 214 (1996)
- [29] E. Zeeck, T. Harder, M. Beckmann, Uric acid : the sperm-release pheromone of marine polychaete *Platynereis dumerilii* *J. Chem. Ecol* **24** S. 13-22 (1998)
- [30] N. R. Howe, Y. M. Sheikh, Anthopleurine: a Sea Anemone Alarm Pheromone, *Science* **189** S. 386-388 (1975)
- [31] F. M. Priesnitz, Isolierung und Identifizierung von Pheromonen und mit Pheromonen interferierenden Substanzen bei *Platynereis dumerilii* (Annelida Polychaeta), Dissertation an der CvO Universität Oldenburg F. B. Chemie (2000)
- [32] J. Atema, Effect of oil on lobsters, *Oceanus* **20** S. 63-73 (1977)
- [33] I. Walter, F. Buchholz, Are changes in agonistic behavior of crude-oil-exposed juvenil lobsters (*Homarus gammarus*) caused by elevated serotonin levels in their neurosecretory cells?, Proc. 4th. Int. Crustacean Congress, Amsterdam S. 111 (1998)
- [34] D. E. G. Briggs, R. A. Fortey, The early radiation and relationship of the major arthropod groups, *Science* **246** S. 241-243 (1989)
- [35] M. Akam, Arthropods: Developmental diversity with in a (super)phylum. Proceedings of the National Academy of Sciences (USA) **97** S. 4438-4441 (2000)
- [36] M. Averof, M. Akam, Insect-crustacean relationships : Insight from comparative developmental and molecular studies, *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B Biological Sciences* **347** 293-303 (1995)
- [37] M. Averof, M. Akam, hox genes and the diversity of insect and crustacean body plans, *Nature* **376** S. 420-423 (1995)
- [38] W. Dohle, Are insects more closely related to the crustaceans than to the myriapods, *Entomologia Scandinavica Suppl.* **51** S. 7-16 (1997)
- [39] Settlement and Methamorphosis of Marine Invertebrate Larvae, an International Symposium by the Resaerch Development Cooperation of Japan, the marine Biological Association and the University Plymouth Programm and Abstracts 15-16 July (1996)
- [40] R. Diesel, Die soziale Organisation der jamaikanischen Bromelienkrabbe, *Metopaulias depressus*, Abst. 9. Crustaceologen Tagung Berlin S. 12 (1999)
- [41] D. L. Holland, J. East, K. H. Gibson, E. Clayton, A. Oldfield, Identification of the hatching factor of the barnacle *Balanus balanoides* as the novel eicosanoid 10,11,12-trihydroxy-5,8,14,17-eicosatetraenoic acid, *Prostaglandins* **29** S. 1012-1029 (1985)

- [42] E. M. Hill, D. L. Holland, K. H. Gibson, E. Clayton, A. Oldfield, Identification and hatching factor activity of monohydroxyeicosapentaenoic acid in homogenates of the barnacle *Eliminius modestus*, Proc. R. Soc. Lond. **B 234** S.455-461 (1988)
- [43] D. Rittschof, R. B. Forward, H. Erickson, Larval release in brachyuran Crustaceans functional similarity of peptide pheromone receptor ad catalytic site of trypsin J. Chem. Ecol. **16** S. 1359-1370 (1990)
- [44] R. G. Hartnoll, Mating in the Brachyura, Crustaceana **16** S. 161-181 (1969)
- [45] J. S. Kittredge, M. Therry, F. T. Takahshi, Sex pheromone activity of the molting hormone crustecdysone on male crabs, Fish. Bull. **69** S. 337-343 (1971)
- [46] R. B. Gagosian, J. Atema, Behavioral Responses of male Lobsters to Ecdysone Metabolites, Ma. Behav. Physiol. **2** S. 115-120 (1973)
- [47] R. A. Gleeson, Pheromone Communication in the reproductive Behavior of the Blue Crab *Callinectes sapidus*, Mar. Behav. Physiol. **7** S. 119-134 (1980)
- [48] N. Asai, N. Fusetani, S. Matsunaga, J. Sasaki, Sex pheromones of the hair crab *Erimacrus isenbeckii*. Part 1: Isolation and structures of novel ceramides, Tetrahedron **56** S.: 9895-9899 (2000)
- [49] D. W. McLeese, R. L. Praggins, K. Bose, B. N. Pramanik, chemical behavioral studies of the sex Attractant of the Lobster *Homarus americanus*, Mar. Behav. Physiol. **4** S. 219-232 (1977)
- [50] M. Imafuku, Sexual Discrimination in the hermit Crab *Pagurus geminus*, J. Ethol. **4** S. 39-47 (1986)
- [51] B.W.Ache, Chemoreception and thermoreception, in: Biology of Crustacea **3**, D.H.Bliss, H.L.Atwood, D.C.Sandeman (eds.), Academic Press, New York, 369-398, (1982)
- [52] D.M.Maynard, Organization of central ganglia, in Invertebrate Nervous Systems, C.A.G.Wiersma (ed.), University of Chicago Press, Chicago, 231-255, (1967)
- [53] J.Atema, Functional separation of smell and taste in fish and Crustacea, Olfaction Taste Proc. Int. Symp. **6**, 165-174, (1977)
- [54] G.Seelinger, Response characteristics and specificity of chemoreceptors in *Hemilepistus reaumuri*, J.Comp.Physiol. **152**, 219-229, (1983)
- [55] M.S.Laverack, On the Receptors of marine invertebrates, Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.**6**, 249-324, (1968)
- [56] W. E. S. Carr, C. D. Derby, Behavioral Chemoattractants for the shrimps *Palaemonetes pugio*: identification of active components in food extracts and evidence of synergistic mixture interaction, Chemical Senses **11/1** S. 49-64 (1986)

- [57] M. Giradot, C. D. Derby, Neural Coding of Quality of Complex Olfactory Stimuli in Lobsters, *Journal of Neurophysiologie* **60/1** S. 303-324 (1988)
- [58] D. W. McLeese, Olfactory Response and Fenitrothion Toxicity in American Lobsters (*Homarus americanus*), *Journal Fisheries Research Board of Canada* **31/6** S. 1127-1131 (1974)
- [59] R. C. Brusca, G. J. Brusca, *Invertebrates*. Sinauer Associates, Sunderland Massachusetts (1990)
- [60] L. G. Abele, Comparison of morphological and molecular phylogeny of Decapoda, *Memoirs of the queensland museum* **31** S. 101-108 (1991)
- [61] W. Kim, L. G. Abele, Molecular phylogeny of selected decapod crustaceans based on 18S rRNA nucleotide sequences, *Journal of crustacean Biology* **10(1)** S. 1-13 (1990)
- [62] L. G. Abele, B. E. Felgenhauer, phylogenetic and phenetic relationships among the lower decapoda, *journal of crustacean Biology* **6(3)** S. 385-400 (1986)
- [63] L. Nouvel, Observation de la couplement chez une espee de grevette *Crangon crangon* C. R. Acad. Sci. Paris **209** S. 639-641 (1939)
- [64] K. Tiews, Die biologische Grundlage der Büsumer Garnelenfischerei Ber. Dtsch. Wiss. Komm. Meeresforsch. **13(3)** S. 235-268 (1953)
- [65] R. Meixner, Experimentelle Untersuchungen zur Biologie der Nordseegarnele *Crangon crangon*, Diss. Uni Hamburg (1968)
- [66] R. Meixner, Wachstum, Häutung und Fortpflanzung von *Crangon crangon* bei Einzelaufzucht, Ber. Dtsch. Wiss. Komm. Meeresforsch. **20** S. 93-111
- [67] R. Boddeke, J. R. Bosschiet, P. C. Goudwaard, Sex Change, Mating, and Sperm Transfer in *Crangon crangon*, *Crustacean Sexual Biology*, edited by R. T. Bauer, J. W. Martin, Columbia University Press, New York S. 164-182 (1991)
- [68] Spiegel, Über Chemorezeption von *Crangon vulgaris* Fabr. *Z. vergl. Physiol.* **6(3/4)** S. 688-730 (1927)
- [69] E. Dahm, Untersuchung zum Nahrungserwerb von *Crangon crangon*, Dissertation Universität Hamburg (1971)
- [70] I. Pérez Farfante, Western atlantic shrimps of the genus *Penaeus*, *Fishery Bull. U. S. Fish Wild Serv.* **67(3)** S. 461-491 (1969)
- [71] I. Pérez Farfante, B. Kensley, Penaeoid and sergestoid shrimps and prawns of the world: keys and diagnoses for the families and genera. Editions of the National Museum of Natural History, Paris, France (1997)
- [72] P. Karlson, Schimalek, Notiz über die Isolierung von malonsäure-amid-[β -phenyl-ethylamid] aus Garneelen, *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.* **316** S. 83-86 (1959)

- [73] Ackermann, Über das Vorkommen von Spinacin in der Krabbe *Crangon vulgaris*, Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. **328** S. 275 (1962)
- [74] U. E. A. Jansen, Identifizierung flüchtiger Inhaltsstoffe von *Crangon crangon*, Diplomarbeit Universität Hamburg (1996)
- [75] S. A. Arnott, D. M. Neil, A. D. Ansell, Tail-flip mechanism and size-dependent kinematics of escape swimming in the brown shrimp, *Crangon crangon*, J. exp. Biol. **201** S. 1771-1784 (1998);
- [76] S. A. Arnott, D. M. Neil, A. D. Ansell, Escape trajectories of the brown shrimp, *Crangon crangon*, and a theoretical consideration of initial escape angles from predators J. exp. Biol. **202** S. 193-209 (1999)
- [77] W. Grosch, warum riecht Kaffee so gut?, Chemie in unserer Zeit, **3** S. 126-133 (1996)
- [78] W. Holscher, H. Steinhart, Investigation of roasted coffee freshness with an improved headspace technique, Z. Lebensm. Unters. Forsch. **195** S. 33-38 (1992)
- [79] U. Kils, N. Klages, Der Krill, Naturwissenschaftliche Rundschau **32/10** S.397-402 (1979)
- [80] G. Winkler, Zur Ökologie zweier interagierender Mysidaceenarten *Neomysis integer* (Leach 1814) *Praunus flexuosus* (Müller 1776) (Percarida, Mysidacea), Dissertation Universität Hamburg (2000)
- [81] N. H. Copp, Dominance hierarchies in the crayfish *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) and the question of learned individual recognition (Decapoda, Astacidea), Crustaceana **51**(1), S.9-24 (1986)
- [82] A. van den Nieuwenhuizen, *Procambarus clarkii*. DATZ **33**(10) S. 339-343 (1980)
- [83] P. Seifert, F. Buchholz, Sexualpheromone von *Carcinus maenas*, Verh. Dtsch. Zool. Ges. S. 316 (1980)
- [84] A.-K. Borg-Karlson, R. Mozuraitis, Solid Phase Micro Extraktion Technique Used for Collecting Semiochemicals. Identification of Volatiles Released by Signalling *Phyllonorycter sylvella* Moth, Z. Naturforsch. **51c** S. 599-602 (1996)
- [85] K. Blau, G.S.King, "Handbook of Derivatives", Heyden London (1977)
- [86] D. R. Knapp, "Handbook of Analytical Derivatization Reactions" John Wiley&Sons New York (1979)
- [87] M. Vincenti, G. Guglielmetti, G. Casani, C. Tonini, Determination of Double Bond Position in Diunsaturated compounds by Mass Spectrometry of Dimethyl Disulfid Derivatives Anal. Chem. **59** S. 694 (1987)
- [88] R. Tollrian, Dissertation Plön (1994)

- [89] K. Vandamme, Le profil d'alcane dans les biota de différents niveaux trophiques, *Revue de l'Agriculture* **5** S. 1185-1190 (1984)
- [90] P. J. Kocięski, C. Yeates, S. D. A. Street, S. F. Campbell, The 3,4-Dihydro-2H-pyran Approach to (+)-Milbemycin β_3 Part 1. An Alternative Synthesis of (2S,4S,6R,8R,9S)-2-Formylmethyl-4-(dimethyl-t-butylsilyloxy)-8,9-dimethyl-dioxaspiro[5.5]undecane, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* S. 2183-2187 (1987)
- [91] S. Schulz, Composition of the silk lipids of the spider *Nephila claripis*, *Lipids* **36** S. 637-647 (2001)
- [92] Dissertation Ernst Plaß, Identifizierung und Synthese von Insektenpheromonen, Universität Hamburg (1999)
- [93] H. R. Buser, H. Arn, P. Guerin, S. Rauscher, Determination of double bond position in mono-unsaturated acetates by mass spectrometry of dimethyl disulfid adducts, *Anal. Chem.* **55** S. 818-822 (1983)
- [94] R. A. Johnson, K. B. Sharpless, Catalytic Asymmetric Dihydroxylation in Catalytic Asymmetric Synthesis, VCH Weinheim S. 227-272 (1993)
- [95] Dissertation Timo Taghizadeh, Untersuchung flüchtiger Inhaltsstoffe von Hymenopteren, Universität Hamburg (1996)
- [96] M. Stoll, A. Rouvé, Vielgliedrige heterocyclische Verbindungen VIII Zur Kenntnis der hochgliedrigen Mono- und Polylactonringe *Helv.* **18** S. 1087-1125 (1935)
- [97] H. Gerlach, P. Künzeler, K. Oertle, Synthese von zwei natürlich vorkommenden Lactonen mit 10gliedrigen Ringen (+/-)-Phoracantholid J und I, *Helv. Chim. Acta* **61**(20) S. 1226 (1978)
- [98] M. Barta, J. Vilarrasa, Cyclisation of 9-substituted Decanoicacid Derivatives to 9-decanolid and 9-Decanolactam, *J. Org. Chem.* **56** S. 5132-5138 (1991)
- [99] A. Sattler, G. Haufe, Synthesis of Fluorinated (+/-)-Phoracantholide and Related Compounds: Regioselectiv Access to a Novel Class Monofluorinated Fatty Acide Derivatives, *Liebigs Ann. Chem.* S. 921-925 (1994)
- [100] J. Vokouň, Z. Peháček, Mass Spectra of Ergot Peptide Alkaloids, *Collection Czechoslov. Chem. Commun.* **40** S. 1761-1767 (1975)
- [101] H. Shigemori, S. Wakuri, K. Yazawa, T. Nakamura, T. Sasaki, J. Kobayashi, Fellutamides A and B, Cytotoxic Peptides from a Marine Fish-Possessing Fungus *Penicillium fellutanum*, *Tetrahedron* **47/40** S. 8529-8534 (1991)
- [102] N. J. Cartwright, Serratamic acid, a Derivative of L-Serin produced Organisms of the *Serratia* Group, *Bioch.* **60** S. 18-23 (1955)
- [103] The Wiley/NBS, Registry of Mass Spectral Data, ed. F. W. McLafferty, D. B. Stauffer, Jhon Wiley & Sons New York (1988)

- [104] P. K. Dutta, C. Chaudhuri, S. B. Mandal, A. K. Banerjee, S. C. Pakrashi, B. Achari, Acyl Migration from Nitrogen to Oxygen with Triphenylphosphine-tetrahalogenomethane Reagent : Synthesis of Esters from 2-Amino Alcohols, *J. Chem. Res. Miniprint*, EN **8** S.2180-2188 (1991)
- [105] W.J. Bell, R. T. Cardé (eds.), “ Chemical Ecology of Insects”, Chapman & Hall, New York, (1984)
- [106] H. Arn, M. Tóth, E. Priesner, “ List of Sex Pheromones of Lepidoptera and related Attractants”, 2nd edn. , International Organisation of Biological Control, West Palearctic Regional Section , Wädenswil (1992)
- [107] K.-E. Kaissling, “Recognition of Pheromones by Moth, especially in saturnids and *Bombyx mori*, in Chemical Ecology: Odour Communication in Animals, F. J. Ritter (ed.), Elsevier Amsterdam. S. 43-56 (1979)
- [108] J. Boeckh, “Neural Basis of Coding Chemosensory Quality at the Receptor cell Level, in Olfaction and Taste” Vol. 7, H. Van der Starre(ed.), IRL Press, London, S113-122 (1980)
- [109] R. Viani, J. Bricout, J. P. Marion, F. Müggler-Chavan, D. Reymond, R. H. Egli, Sur la composition de l'arôme de tomate, *Helv. Chem. Acta* Vol. **52**, Fasc, 4, S. 887-891 (1969)
- [110] R. G. Buttery, R. M. Seifert, Volatile tomato constituents: Identification of 2,6-Dimethylundeca-2,6-dien-10-one, *J. Agric. Food Chem.* **16** S. 1053 (1968)
- [111] B. V. Burger, A. E. Nell, H. S. C. Spies, M. Le Roux, R. C. Bigalke, P. A. J. Brand, Mammalian exocrine secretion. XII: Consistuent of preorbital secretions of bontebok *Damalius dorcas dorcas*, and Blesbok *D. d. phillipsi*, *J. Chem. Ecol.* Vol. **25**, No 9, S. 2084-2097 (1999)
- [112] B. V. Burger, A. E. Nell, H. S. C. Spies, M. Le Roux, R. C. Bigalke, P. A. J. Brand, Mammalian exocrine secretion. XIII: Consistuent of interdigital secretions of bontebok *Damalius dorcas dorcas*, and Blesbok *D. d. phillipsi*, *J. Chem. Ecol.* Vol. **25**, No 9, S. 2057-2084 (1999)
- [113] J. A. Byers, G. Birgersson, J. Löfqvist, G. Bergström, Synergistic Pheromones and Monoterpenes enable Aggregation and Host recognition by a Bark Beetle, *Naturwiss.* **75**, S. 153 (1988)
- [114] J. Bricout, R. Viani, J. P. Marion, F. Müggler-Chavan, D. Reymond, R. H. Egli, Sur la composition de l'arôme de thé noir II, *Helv. Chem. Acta* Vol. **50**, Fasc. 6, S. 1517-1522 (1967)
- [115] P. Cazenave, I. Horman, F. Müggler-Chavan, R. Viani, Sur la composition de l'arôme de thé noir IV, *Helv. Chem. Acta* Vol. **57**, Fasc. 1, S. 206-209 (1974)

- [116] D. B. Josephson, R. C. Lindsay, D. A. Stuibler, Variations in the occurrences of enzymatically-derived volatile aroma compounds in salt and freshwater fish, *J. Agric. Food. Chem.* **32**, S. 1344 (1984)
- [117] D. B. Josephson, R. C. Lindsay, D. A. Stuibler, Volatile Compounds Characterizing the Aroma of fresh Atlantic and Pacific Oyster, *J. Food Sci.* **50**, S. 5-9 (1985)
- [118] D. B. Josephson, R. C. Lindsay, D. A. Stuibler, Identification of Compounds Characterizing the Aroma of fresh Whitefish, *J. Agric. Food. Chem.* **31**, S. 326-330 (1983)
- [119] A. Hatanaka, T. Kajiwara, J. Sekiya, Biosynthetic Pathway for C6-Aldehydes Formation from Linolenic Acid in Green Leaves, *Chem. Phys. Lipids.* **44** S.341-361 (1987)
- [120] J.F. Grove, Volatile compounds from the mycelium of the mushroom *Agaricus bisporus*, *Phytochemistry* **20** S. 2021-2022 (1981)
- [121] G. Buchbauer, L. Jirnatz, M. Wasicky, A. Nikiforov, Zum Aroma von Speisepilzen, Kopfraum-Analyse mittel GC/FID und GC/FTIR/MS, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **197** S. 429 (1993)
- [122] J. B. German, R. G. Berger, F. Drawert, Generation of fresh fish flavour: Rainbow trout *Salmo gairdneri* gill homogenate as a model system, *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* **13** S. 19 (1991)
- [123] A. Hatanaka, Biosynthesis of So-called "Green Odor" Emitted by Green Leaves in "Comprehensive Natural Products Chemistry" Vol **1** S. 83-115, D. Barton, K. Nakanishi, O. Meth-Cohn (edt.), U. Sankawa (Vol. edt), Elsevier Amsterdam (1999)
- [124] W. H. Gerwick, Eicosanoids in Nonmammals in "Comprehensive Natural Products Chemistry" Vol **1** S. 207-254, D. Barton, K. Nakanishi, O. Meth-Cohn (edt.), U. Sankawa (Vol. edt), Elsevier Amsterdam (1999)
- [125] K. Schrör, "Prostaglandine und verwandte Verbindungen: Bildung, Funktion und pharmakologische Beeinflussung", Thieme Stuttgart (1984)
- [126] D. B. Josephson, R. C. Lindsay, D. A. Stuibler, Encymic Hydroperoxide Initiated Effects in Fresh Fish, *J. Food Sci.* **52**, S. 596-600 (1987)
- [127] B. P. Moore, W. V. Brown, The Chemistry of the Metasternal Gland Secretion of the Eucalypt Longicorn *Phoracantha ynonyma*, *Aust. J. Chem.* **29** S. 1365-1374 (1976)
- [128] S. Schulz, Doktorarbeit "Die Chemie der Duftorgane männlicher Lepidopteren", Universität Hamburg (1987)
- [129] F. Schmidt, Identifizierung und Synthese leichtflüchtiger Inhaltsstoffe von Schmetterlingen, Doktorarbeit Universität Hamburg (1992)

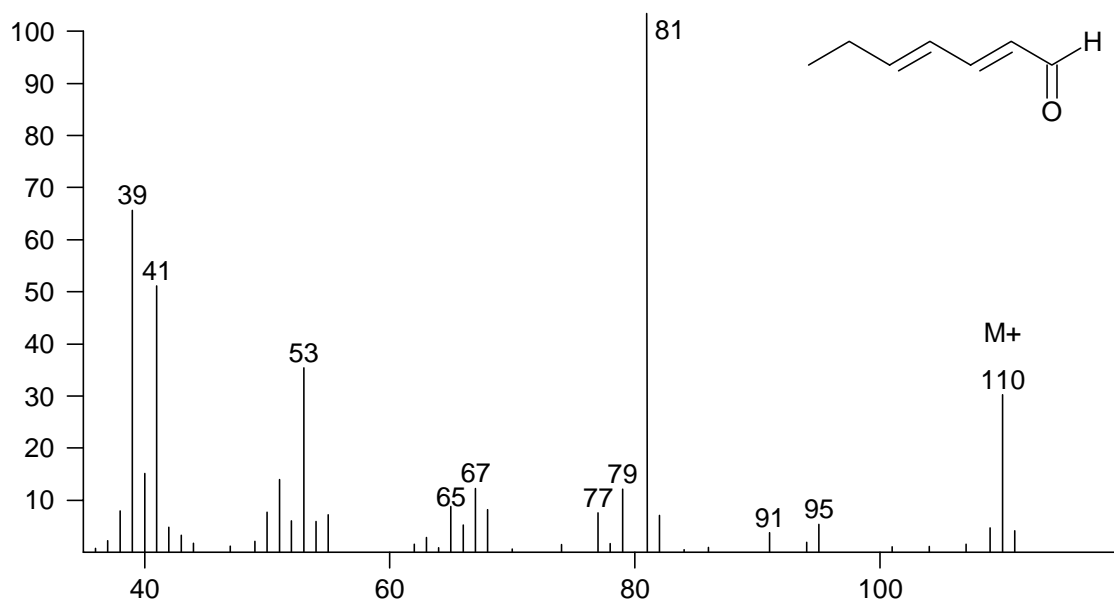
- [130] D. B. Stierle, A. A. Stierle, T. Bugni, G. Loewen, J. Nat. Prod. **61/2** S. 251-252 (1998)
- [131] M. Beckmann, Identifikation von Substanzen im Rohöl zur Induktion der Spermaabgabe bei *Nereis succinea* und *Platynereis dumerilii*-Männchen (Annelida, Polychaeta) und Identifikation des Pheromonkomplexes zur Induktion der Eiabgabe bei *Nereis succinea*-Weibchen, Dissertation, Universität Oldenburg, (1996)
- [132] Y. Furuichi, K. Miura, A blocked structure at the 5' terminus of mRNA from cytoplasmic polyhedrosis virus, Nature **253** S. 374 (1975)
- [133] F. Ikegami, T. Sekine, M. Aburada, Y. Fujii, Y. Komatsu, I. Murakoshi, Synthesis of entadamide A and Entadamide B isolated from *Entada phaseoloides* and their inhibitory effects on 5-Lipoxygenase, Chem. Pharm. Bull. **37(7)** S. 1932-1933 (1989)
- [134] J. Dai, L. B. S. Kardono, S. Tsauri, K. Padmawinata, J. M. Pezzuto, A. D. Kinghorn, Phenylacetic acid derivatives and a thioamide glycoside from *Entada phaseoloides*, Phytochem. **30/11** S. 3749-3752 (1991)
- [135] L. Stryer, Biochemie, VCH Verlag Weinheim (1994)
- [136] K. Kubota, A. Kobayashi, Identification of unknown methylketones in volatile Flavour components from cooked small shrimps, J. Agric. Food Chem. **36** S. 121 (1988)
- [137] A. Kobayashi, K. Kubota, M. Iwamoto, H. Tamura, Synthesis and sensory characterization of 5,8,11-Tetradecatrien-2-one isomers, J. Agric. Food Chem. **37** S. 151 (1989)
- [138] T. H. Parliment, R. J. McGorin, C. T. Ho "Thermal Generation of Aroma" K. Kubota, C. Uchida, K. Kurosawa, A. Komuro, A. Kobayashi (eds.) Washington D. C. S. 376-385 (1989)
- [139] S. H. Choi, H. Kato, Volatile components of *Sergia lucens* and its fermented product, Agric. Biol. Chem. **48** S. 1479 (1984)
- [140] P. J. Spendley, P. M. Bird, J. P. Ride, D. P. Leworthy, Two novel antifungal Alka-2,4-dienals from *Triticum aestivum*, Phytochem. **21/9** S. 2403-2404 (1982)
- [141] E. Schauenstein, H. Esterbauer, H. Zollner, "Aldehydes in biological systems: Their Natural Occurrence and Biological Activities" Pion London (1977)
- [142] E. L. Rice, "Allelopathy" 2nd edn, Academic Press New York (1984)
- [143] R. J. Hsieh, J. Kinsella, Lipoxygenase generation of specific volatile flavour carbonyl compounds in fish tissues, J. Agric. Food Chem. **37** S. 280 (1989)
- [144] J.-M. Kuo, B. S. Pan, Effects of Lipoxygenase on formation of the Cooked Shrimp Flavor Compound 5,8,11-Tetradecatrien-2-one, Agric. Biol. Chem. **55(3)** S. 847-848 (1991)

- [145] T. Kajiwara, T. Koda, A. Hatanaka, Synthesis of methylene-interrupted (Z,Z)-Octadecadienoic acids, (Z,E)-, (E,Z)-9,12-Octadecadienoic acids and the corresponding alcohols, *Agric. Biol. Chem.* **43** S. 1781-1782 (1979)
- [146] A. Hatanaka, T. Kajiwara, K. Matsui, in "Proceedings of the 9th international Symposium on Plant Lipids" ed. P. J. Quinn, J. L. Portland Press London (1990)
- [147] W. H. Gerwick, D. G. Nagel, P. J. Porteau, Oxylipins from marine invertebrates, *Top. Curr Chem.* **167** s.117 (1993)
- [148] A. J. Hampson, A. F. Rowley, S. E. Barrow, R. Steadman, Biosynthesis of Eicosanoids by Blood Cells of the Crab *Carcinus maenas*, *Biochim. Biophys. Acta* **1124** S. 143-150 (1992)
- [149] M. W. Bernart, G. G. Whatley, W. H. Gerwick, *J. Nat. Prod.* **56** S. 245 (1993)
- [150] W.H. Gerwick, Epoxy allylic carbocations as conceptual intermediats in the biogenesis of diverse marine oxylipins, *Lipids* **31** S. 1215 (1996)
- [151] P. Bourdoux, D. Vandervorst, C. Hootelé The Isolation oh Indole-3-Carboxaldehyde from *Equisetum telmateia*, *Phytochem.* **10** S. 1935-1936 (1971)
- [152] M. K. Jain, W. Tao, J. Rogers, C. Arenson, H. Eibl, B.-Z. Yu, Active-site specific competitive inhibitors of phospholipase A₂: novel transition-state analogues, *Biochem.* **30** S. 10256 (1991)
- [153] M. K. Jain, f. Gomashchi, B.-Z. Yu, t. Bayburt, D. Murphy, Fatty Acid Amides: Scooting Mode-Based Discovery of Tight-Binding Competitive Inhibitors of Secreted Phospholipase A₂, *J. Med. Chem.* **30** S. 10256 (1991)
- [154] B. F. Cravatt, R. A. Lerner, D. L. Boger, Structure determination of Endogenous Sleep-Inducing Lipid, cis-9-Octadecenamid (Oelamide): A Synthetic Approach to chemical Analysis of trace Quantities of a Natural Product, *J. Am. Chem. Soc.* **118** S. 580-590 (1996)
- [155] B. F. Cravatt, O. Prospero-Garcia, G. Siuzdak, N. B. Gilula, S. J. Henricksen, D. L. Boger, R. A. Lerner, Chemical Characterization of a Family of Brain Lipids with Sleep Inducing Potential, *Sciences* **268** S. 1506 (1995)
- [156] M. Bockisch, *Handbuch der Lebensmittel-Technologie-Nahrungsfette und -öle*, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart (1993)
- [157] D. W. Stanley-Samuelson, W. Loher, Ptostaglandins in Insect Reproduction, *Am. Entomol.Soc. Am.* **79** S. 841-853 (1986)
- [158] J. Dyerberg, H. O. Bang, Haemostatic function and platelet polyunsaturated fatty acids in eskimos, *Lancet II* S. 433 (1979)

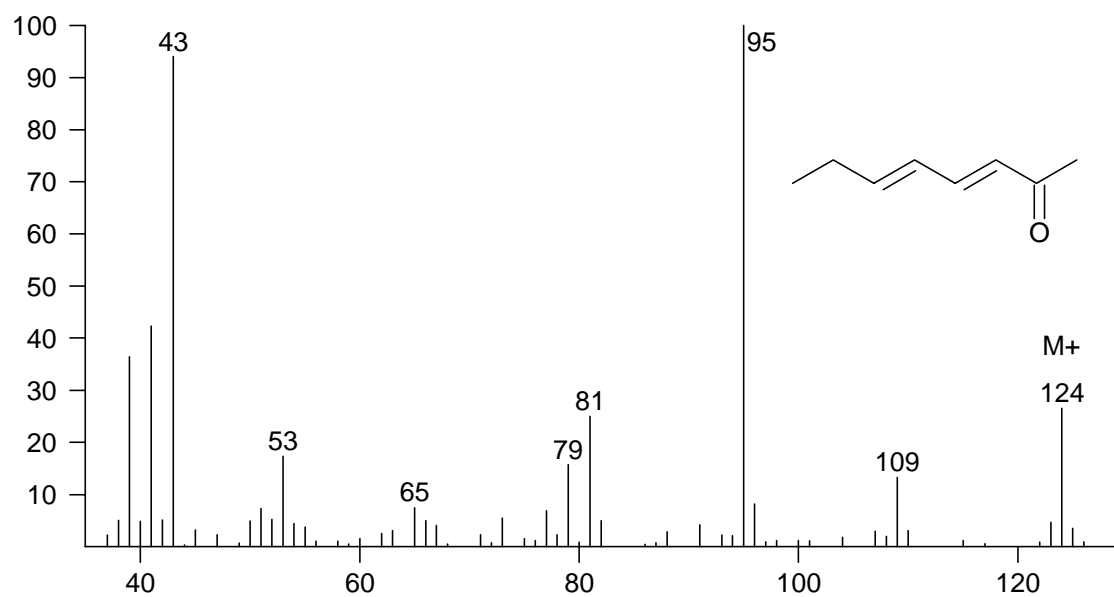
- [159] J. Dyerberg, H. O. Bang, All-cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoic acid and trien prostaglandins: Potential antithrombic agents, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **40** S. 589 (1980)
- [160] J. Mai, S. K. Goswami, G. Bruckner, J. E. Kinsella, A new Prostaglandin synthesized from docosahexaenoic acid by trout gill, *Prostaglandins* **21** S. 691 (1981)
- [161] J. B. German, G. Bruckner, J. Kinsella, Lipoxygenase in Trout Gill Tissue Acting on Arachidonic, Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acids, *Biochim. Biophys. Acta* **875** S. 12-20 (1986)
- [162] J. B. German, R. Berger, Formation of 8,15-Dihydroxyeicosatetraenoic acid via 15- and 12-lipoxygenase in fish gill, *Lipids* **25** S.849 (1990)
- [163] Persönliche Mitteilung Dipl. Chem. Matthias Rittdorf
- [164] A. Guerriero, M. D'Ambrosio, F. Pietra, Novel hydroxyeicosatetraenoic and hydroxyeicosapentaenoic acids and a 13-oxo analog. Isolation from a mixture of calcareous red algae *Lithothamnion corallioides* and *Lithothamnion calcareum* of Brittany waters, *Helv. Chim. Acta* **73** S. 2183-2189 (1990)
- [165] Y. Wang, U. G. Müller, J. C. Clardy, Antifungal diketopiperazines from the symbiotic fungus of the fungus-growing ant *Cyphomyrmex minutus*, *J. Chem. Ecol.* **25** S. 935-941 (1999)
- [166] Persönliche Mitteilung Dipl. Chem. Sven Possner
- [167] D. J. Harvey, Piconyl derivatives for the Structural Determination of Fatty Acids by Mass Spectrometry: Applications to Polyenoic Acids, Di-Acids and related Compounds, *Biomedical Mass Spectrometry* **11**(7) 340-347 (1984)
- [168] Organikum, Autorenkollektiv, 17. Auflage, Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin (1988)
- [169] Athula B. Attygalle, Microchemical Techniques, in *Methods in Chemical Ecology* **1** ed. J. G. Millar, K. F. Haynes, Kluwer Academic Publishers Boston/Dordrecht/London S. 207-294 (1999)

9 Anhang und sicherheitstechnische Hinweise

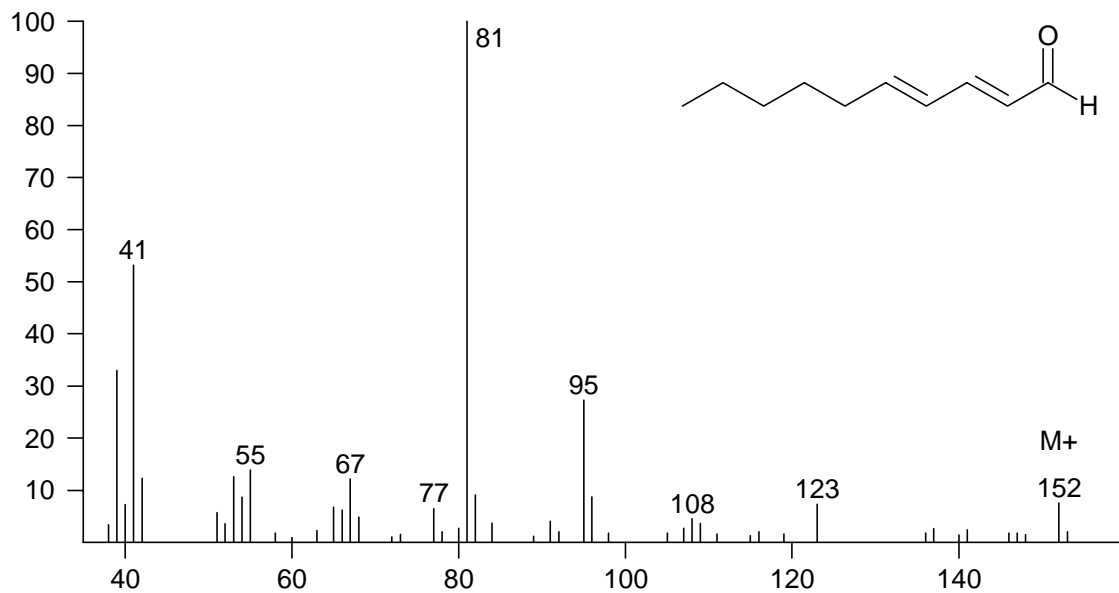
Massenspektrum von (2E,4E)-2,4-Heptadienal (32)



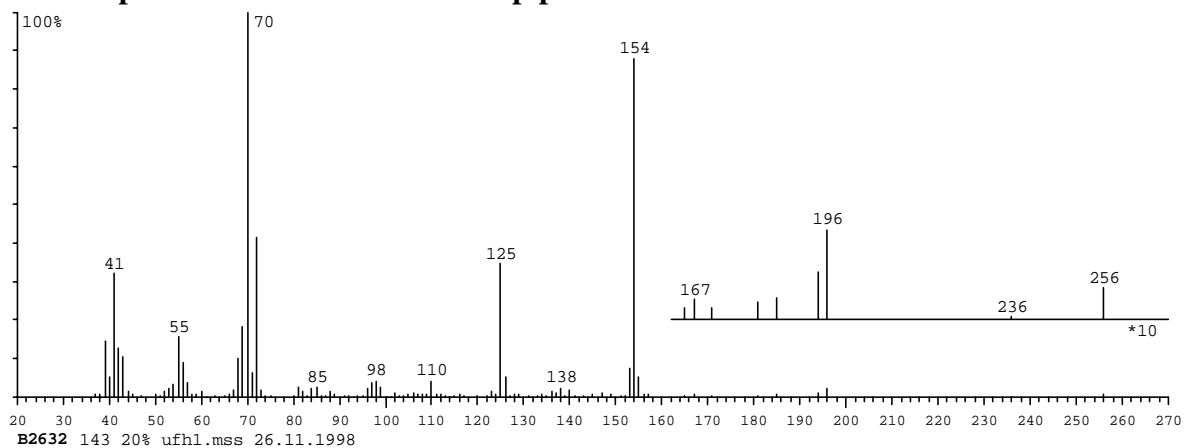
Massenspektrum von (3E,5E)-3,5-Octadien-2-on (33)



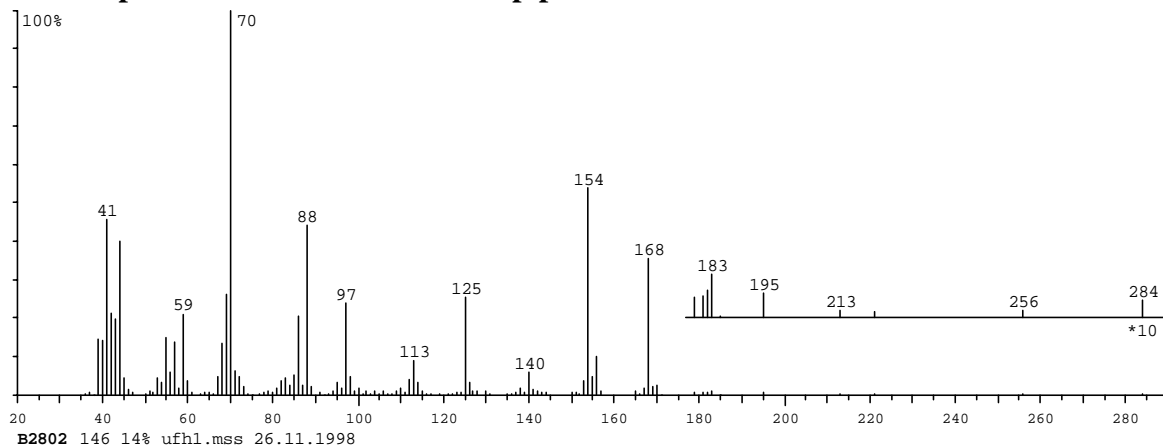
Massenspektrum von (2E,4E)-2,4-Decadienal



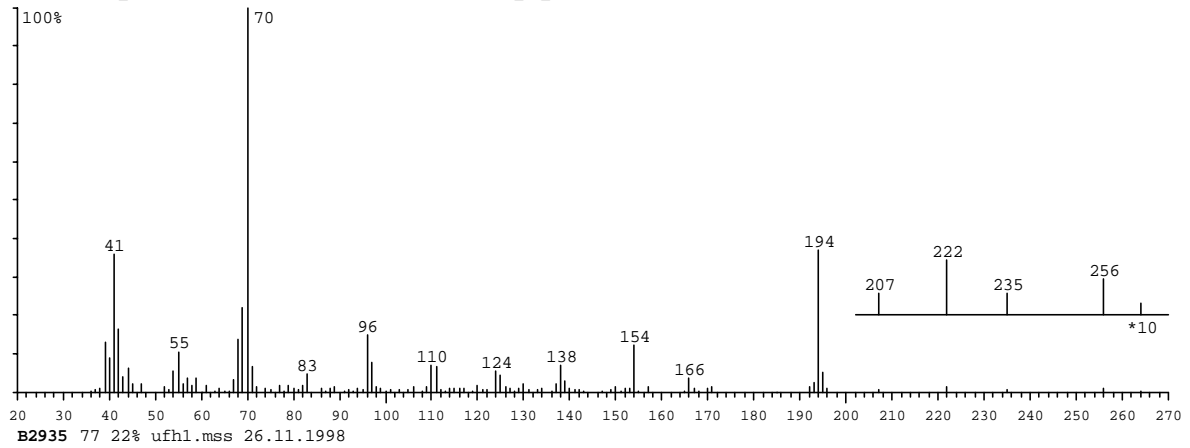
Massenspektrum von Pro-Val-Diketopiperazin



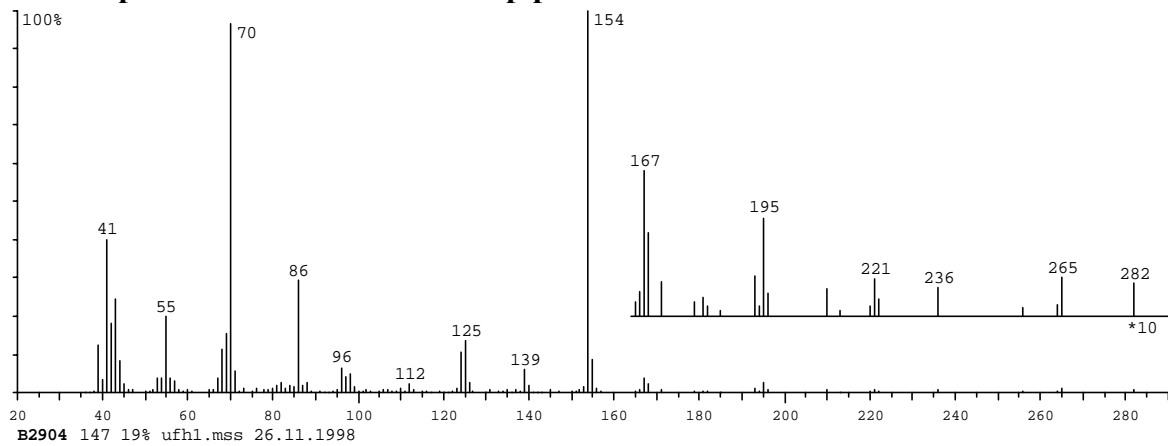
Massenspektrum von Pro-Ala-Diketopiperazin



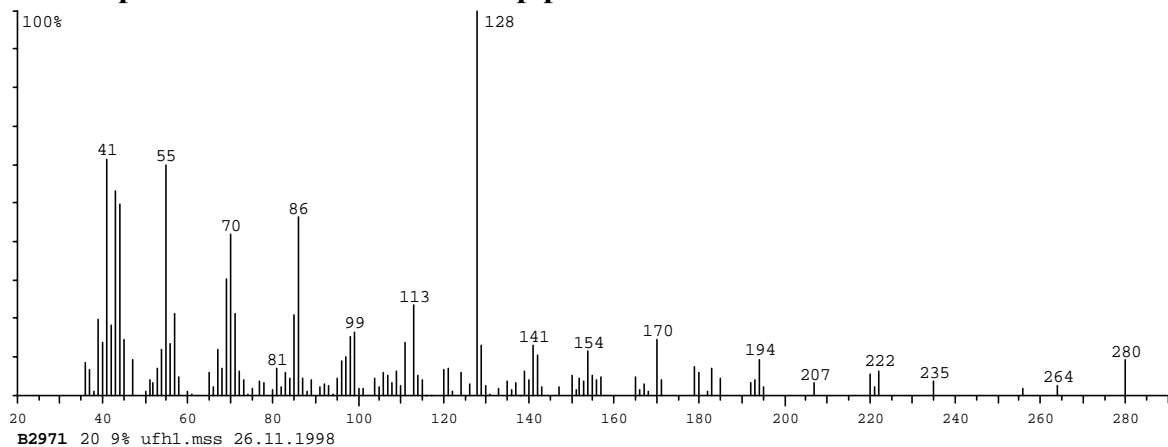
Massenspektrum von Pro-Pro-Diketopiperazin



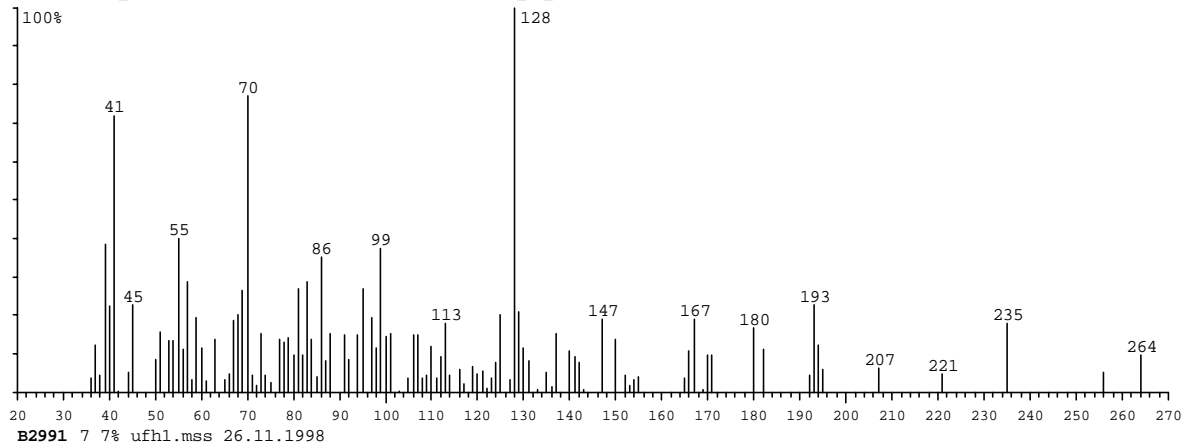
Massenspektren von Pro-Leu-Diketopiperazin



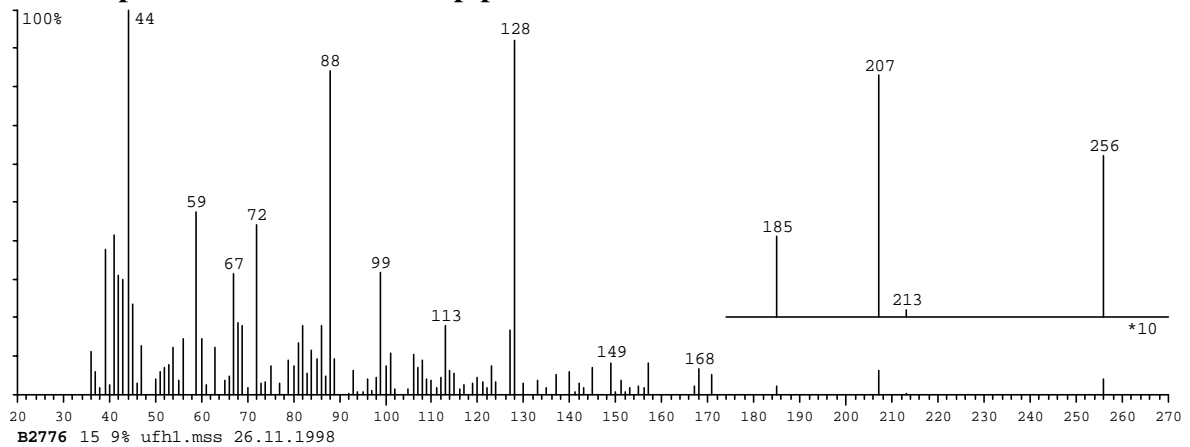
Massenspektrum von Ala-Leu-Diketopiperazin



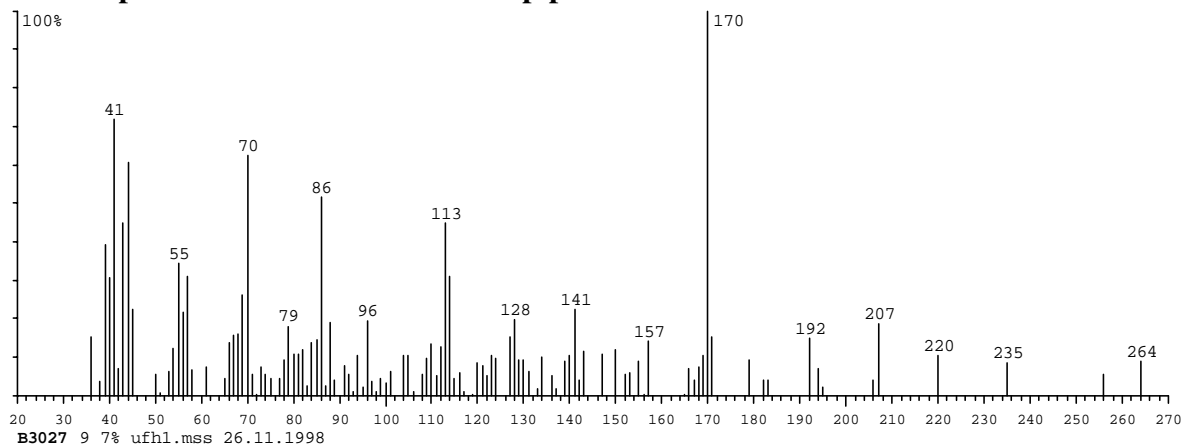
Massenspektrum von Ala-Ileu-Diketopiperazin



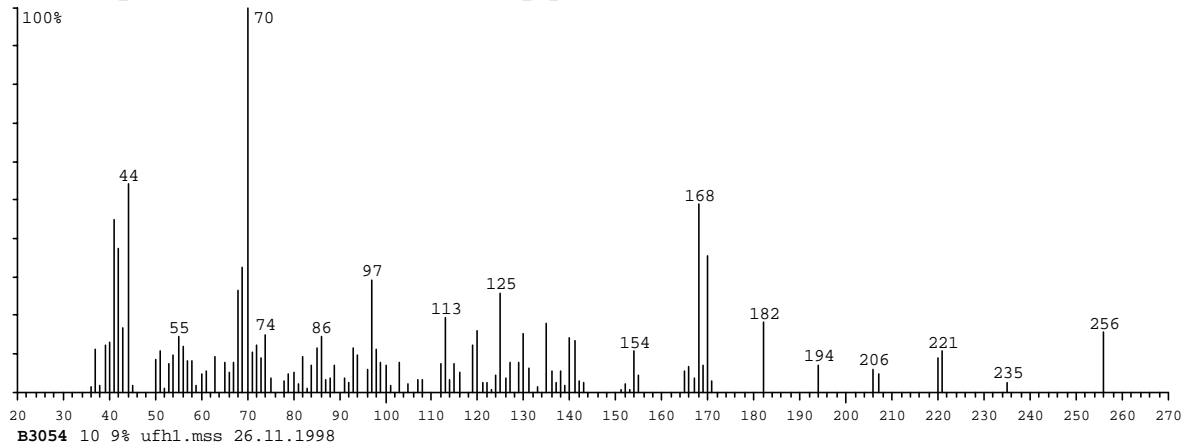
Massenspektrum Ala-Val-Diketopiperazin



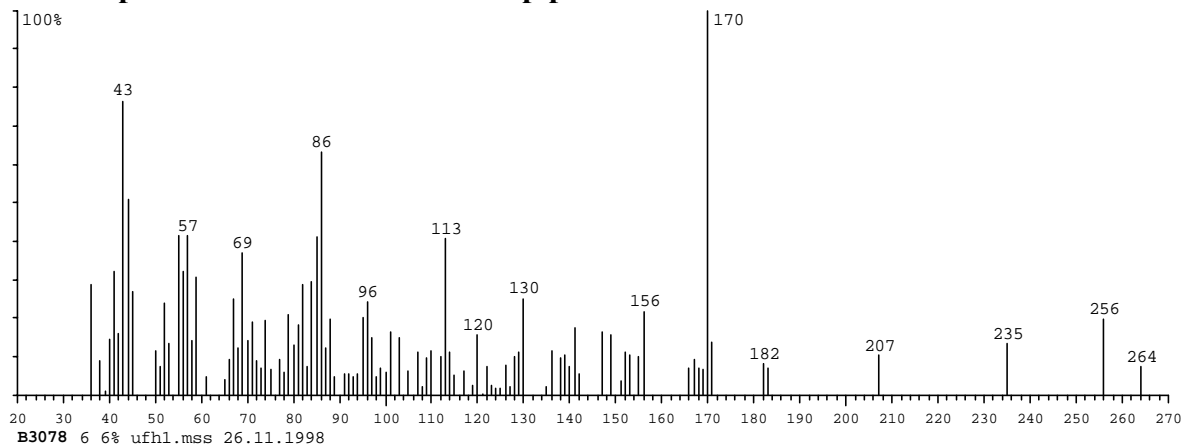
Massenspektrum von Leu-Leu-Diketopiperazin



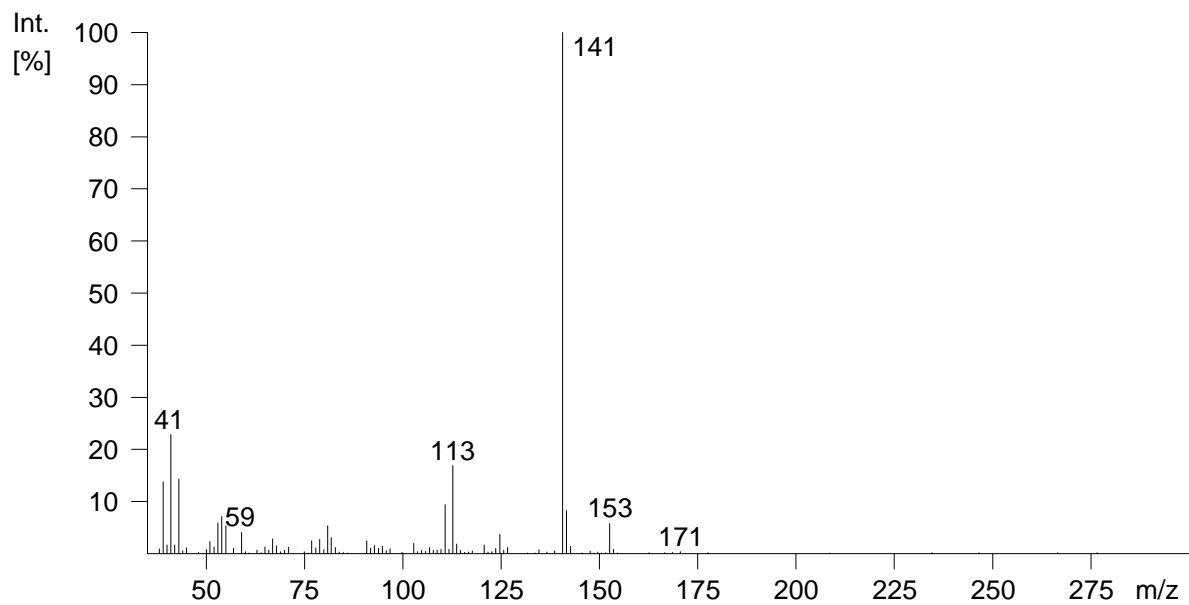
Massenspektrum von Leu-Ileu-Diketopiperazin



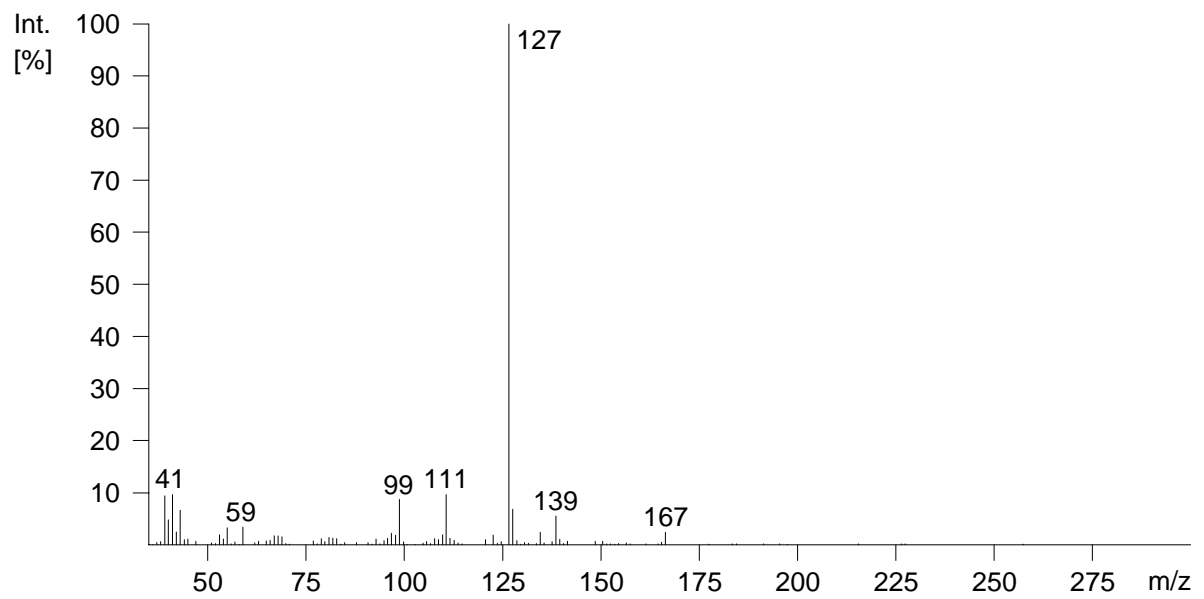
Massenspektrum von Ileu-Ileu-Diketopiperazin



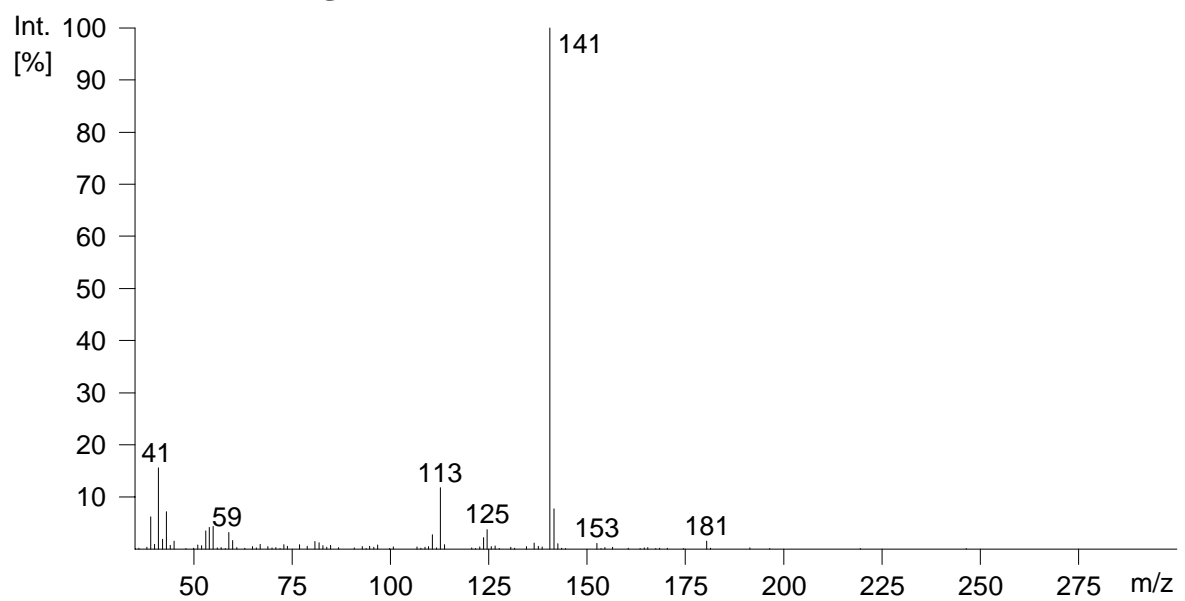
Unbekannte Verbindung m/z 141



Unbekannte Verbindung m/z 127



Unbekannte Verbindung m/z 141



Sicherheitshinweise

Die folgende Liste beinhaltet sämtliche Verbindungen und Lösungsmittel, mit denen während dieser Arbeit umgegangen wurde. Die Gefahrstoffe sind, soweit vorhanden, mit den jeweiligen Gefahrensymbolen, R- und S-Sätzen versehen worden.

Die Stoffe, für die keine bekannte Einstufung existiert, sind als gefährlich einzustufen. Es ist unbedingt zu vermeiden, dass man sich mit diesen Stoffen in irgendeiner Weise kontaminiert und diese Stoffe in die Umwelt eingebracht werden.

Diese Verbindungen sind in der Liste mit leeren Feldern für die Gefahrensymbole, R- und S-Sätze gekennzeichnet.

Substanzname	Gefahrensymbol	R-Sätze	S-Sätze
Aceton	F	11-36-66-67	(2-)9-16-26
Acetonitril	F, T	11-23/24/25	16-27-45
AD-mix- α	Xi	20/21/22/-36/37/38	26-36/37/39-22
AD-mix- β	Xi	20/21/22/-36/37/38	26-36/37/39-22
Adenosin	-	-	-
L-Alanin	-	-	-
Amberlite IR 120	-	-	-
2-Aminoethanol	Xn	20-36/37/38	
Ammoniak	T, N	10-23-34-50	9-16-26-36/37/39-45-61
Ammoniumcarbonat	Xn	22	-
Ammoniumchlorid	Xn	22-36	22
Benzol	F, T	45-11-48/23/24/25.1	53.1-45
Benzol-d ₆	F, T	45-11-E48/23/24/25	53-45
2-Bromheptan	-	10	-
1-Bromnonan	-	-	-
1-Bromoctan	-	-	-
BSTFA/TMCS	Xn	10-34	1626-27-36/37/39
tert.-Butanol	F, Xn	11-20	9-16
1,2,4-Butantriol	-	-	-
n-Butyllithium-Lösung	F, C	14/15-17-34-48/20	6.1-26-36/37/39-45
Chloroform	Xn	22-38-40-48/20/22	36/37
Chloroform-d ₁	Xn	22-38-40-48/20/22	36/37
3-Chlorperbenzoesäure	O, Xi	7-36/37/38	3/7-14.10-36/37/39
Decansäure	Xi	36/38	
Decansäurechlorid	C	34	26-36/37/39-45
Desoxyuridin	-	-	-
1,2-Dibromethan	T, N	45-E23/24/25-36/37/38-51/53	53-45-61
Dichlormethan	Xn	40	23.2-24/25-36/37
N,N-Dicyclohexylcarbodiimid	T	22-24-41-43	24-26-37/39-45
Diethylether	F ⁺	12-19-22-66-67	(2-)9-16-29-33
Dimethylaminopyridin	T	23/24/25-36/37/38	26-28-36/37/39-45
Dimethyldisulfid	F, Xn	11-20-36/37/38	16-33
Dimethylsulfat	T ⁺	45-E25-E26-34	53-54
Dimethylformamid	T	61-E20/21-36	53-45
Dimethylsulfid	F, Xn	11-22-36/38	16-23.2-33
Dimethylsulfoxid	Xi	36/38	26
2,2'-Dipyridyldisulfid	-	-	-
Dodecansäure	-	-	-
Dodecansäurechlorid	C	34	26-36/37/39-45
Eisessig	C	10-35	23.2-26-45

Essigsäureanhydrid	C	10-34	26-45
Ethanol	F	11	7-16
Ethylacetat	F	11-36-66-67	(2-)16-26-33
Ethylenglycol	Xn	22	-
β -D-Glucose	-	-	-
Hexadecansäurechlorid	C	14-22-34-37	26-36/37/39-45
n-Hexan	F, Xn	11-36/37-67	(2-)9-16-29-33-36/37-61-62
5-Hexen-2-on	-	-	-
3-Hexensäure	C	34	26-36/37/39-45
n-Heptan	F, Xn, N	11-38-50/53-65-67	9-16-29-33-60-61-62
Inosin	-	-	-
Iod	Xn	20/21	23-25
Isoleucin	-	-	-
Kaliumcarbonat	Xn	22-36/37/38	22-26
Kaliumhydroxid	C	35	26-37/39-45
Kupfer(II)sulfat	Xn, N	22-36/38-50/53	22-60-61
Lithiumaluminiumhydrid	F	15	7/8-24/25-43.6
Magnesium	-	-	-
Magnesiumsulfat	-	-	-
Mangandioxid	Xn	20/22	25
Methanol	F, T	11-23/25	7-16-24-45
6-Methyl-5-hepten-2-on	-	-	-
Methyliodid	T	21-23/25-37/38-40	36/37-38-45
Methylithium-Lösung	F, C	15, 17, 34	16-26-30-36-/37/39-43.11-45
Natrium-bis-(trimethylsilyl)-amid in THF	F, C	11-34	16-26-33-36/37/39-45
Natriumchlorid	-	-	-
Natriumcyanid	T ⁺ , N	26/27/28-32-50/53	7-28.1-29-45-60-61
Natriumdeuteroxid	F, C	14/15-34	5.3-8-43.7-45
Natriumdeuteroxid	C	35	26-36/37/39-45
Natriumdisulfit	Xn	22-31-37-41	26-39
Natriumhydrid	F, C	15-34	7/8-26-36/37/39-43.6-45
Natriumhydrogencarbonat	-	-	-
Natriumhydroxid	C	35	26-37/39-45
Natriumiodid	Xi	36/37/38	26-36
Natriumsulfat	-	-	-
Natriumthiosulfat	-	-	-
Nonansäurechlorid	C	34-37	26-36/37/39-45
1-Nonen	-	-	-
Octanal	-	10	-
Octansäurechlorid	C	14-22-34-37	26-36/37/39-45
Octadecansäure	-	-	-
2-Octensäure	C	14-22-34-37	26-36/37/39-45
Ölsäure	-	-	-
Ölsäuremethylester	-	-	-
Oxalylchlorid	T, C	14-23/24/25-34	26-36/37/39-45
Palladium auf Aktivkohle	F, Xi	7, 36/37/38	17-26-36
n-Pentan	F	11	(2-)9-16-29-33-61-62
Periodsäure	O, C	8-34	26-36/37/39-45
Petrolether	F, Xn	11-52/53-65	9-16-23.2-24-33-62
Phenylalanin	-	-	-
L-Prolin	-	-	-
2-Propanol	F, Xi	11-36-67	7-16-24/25-26
Pyridin	F, Xn	11-20/21/22	26-28.1
Pyridiniumdichromat	O, T, N	49-8-43-50/53	53-17-45-60-61
Salzsäure	C	34-37	26-36/37/39-45
Sauerstoff	O	8	17
Schwefelkohlenstoff	F, T	23-34	9-26-36/37/39-45
Schwefelsäure	C	35	26-30-45

Silberperchlorat	-	-	-
Tetrachlorkohlenstoff	T, N	23/24/25-40-48/23-52/53-59	23-36/37-45-59-61
Tetradecansäurechlorid	C	14-22-34-37	26-36/37/39-45
Tetrahydrofuran	F, Xi	11-19-36/37	16-29-33
Tetramethylsilan (TMS)	F ⁺	12	9-16-29-43.3
Thionylchlorid	C	14-20/22-29-35	26-36/37/39-45
Thymidin	-	-	-
Toluol	F, Xn	11-20	16-25-29-33
Toluolsulfonsäure	Xi,	36/373/38	26-37
Toluolsulfonsäurechlorid	C	34-37	26-28-36/37/39-45
Triethylamin	F, C	11-20/21/22-35	3-16-26-29-36/37/39-45
Triphenylphosphin	Xn, N	22-43-48/20/22-50/53	26-36/37/39-61
10-Undecensäureethylester	-	-	-
D/L-Valin	-	-	-
Wasserstoff	F ⁺	12	9-16-33
Wasserstoffperoxid	C	34	3-26-36/37/39-45

R - Sätze

Hinweis auf besondere Gefahren

R 1	Im trockenen Zustand explosionsgefährlich
R 2	Durch Schlag, Reibung, Feuer oder andere Zündquellen explosionsgefährlich
R 3	Durch Schlag, Reibung, Feuer oder andere Zündquellen besonders explosionsgefährlich
R 4	Bildet hochempfindliche explosionsgefährliche Metallverbindungen
R 5	Beim Erwärmen explosionsfähig
R 6	Mit und ohne Luft explosionsfähig
R 7	Kann Brand verursachen
R 8	Feuergefahr bei Berührung mit brennbaren Stoffen
R 9	Explosionsgefahr bei Mischung mit brennbaren Stoffen
R 10	Entzündlich
R 11	Leichtentzündlich
R 12	Hochentzündlich
R 14	Reagiert heftig mit Wasser
R 15	Reagiert mit Wasser unter Bildung hochentzündlicher Gase
R 16	explosionsgefährlich in Mischung mit brandfördernden Stoffen
R 17	Selbstentzündlich an der Luft
R 18	Bei Gebrauch Bildung explosionsfähiger / leichtentzündlicher Dampf-Luftgemische möglich
R 19	Kann explosionsgefährliche Peroxide bilden
R 20	Gesundheitsschädlich beim Einatmen
R 21	Gesundheitsschädlich bei Berührung mit der Haut
R 22	Gesundheitsschädlich beim Verschlucken
R 23	Giftig Beim Einatmen
R 24	Giftig bei Berührung mit der Haut
R 25	Giftig beim Verschlucken
R 26	Sehr Giftig beim Einatmen
R 27	Sehr Giftig bei Berührung mit der Haut
R 28	Sehr Giftig beim Verschlucken
R 29	Entwickelt bei Berührung mit Wasser giftige Gase
R 30	Kann bei Gebrauch leicht entzündlich werden
R 31	Entwickelt bei Berührung mit Säure giftige Gase
R 32	Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase
R 33	Gefahr kumulativer Wirkungen
R 34	Verursacht Verätzungen
R 35	Verursacht schwere Verätzungen
R 36	Reizt die Augen
R 37	Reizt die Atmungsorgane

R 38	Reizt die Haut
R 39	Ernste Gefahr irreversiblen Schadens
R 40	Irreversibler Schaden möglich
R 41	Gefahr ernster Augenschäden
R 42	Sensibilisierung durch Einatmen möglich
R 43	Sensibilisierung durch Hautkontakt möglich
R 44	Explosionsgefahr bei Erhitzen unter Einschluß
R 45	Kann Krebs erzeugen
R 46	Kann vererbare Schäden verursachen
R 48	Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei länger Exposition
R 49	Kann Krebs erzeugen beim Einatmen
R 50	Sehr giftig für Wasserorganismen
R 51	Giftig für Wasserorganismen
R 52	Schädlich für Wasserorganismen
R 53	Kann in Gewässern längerfristig schädliche Wirkungen haben
R 54	Giftig für Pflanzen
R 55	Giftig für Tiere
R 56	Giftig für Bodenorganismen
R 57	Giftig für Bienen
R 58	Kann längerfristig schädliche Wirkungen auf die Umwelt haben
R 59	Gefährlich für die Ozonschicht
R 60	Kann die Fortpflanzungsfähigkeit beeinträchtigen
R 61	Kann das Kind im Mutterleib schädigen
R 62	Kann möglicherweise die Fortpflanzungsfähigkeit beeinträchtigen
R 63	Kann das Kind im Mutterleib möglicherweise schädigen
R 64	Kann Säuglinge über die Muttermilch schädigen
R 65	Gesundheitsschädlich: Kann beim Verschlucken Lungenschäden verursachen
R 66	Wiederholter Kontakt kann zu spröder oder rissiger Haut führen
R 67	Dämpfe können Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen

Kombinationen der R-Sätze

R 14/15	Reagiert heftig mit Wasser unter Bildung hochentzündlicher Gase
R 15/29	Reagiert mit Wasser unter Bildung giftiger und hochentzündlicher Gase
R 20/21	Gesundheitsschädlich beim Einatmen und bei Berührung mit der Haut
R 20/22	Gesundheitsschädlich beim Einatmen und Verschlucken
R 20/21/22	Gesundheitsschädlich beim Einatmen, Verschlucken und Berührung mit der Haut
R 21/22	Gesundheitsschädlich bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken
R 23/24	Giftig beim Einatmen und bei Berührung mit der Haut
R 23/25	Giftig beim Einatmen und Verschlucken
R 23/24/25	Giftig beim Einatmen, Verschlucken und Berührung mit der Haut
R 24/25	Giftig bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken
R 26/27	Sehr giftig beim Einatmen und bei Berührung mit der Haut
R 26/28	Sehr giftig beim Einatmen und Verschlucken
R 26/27/28	Sehr giftig beim Einatmen, Verschlucken und Berührung mit der Haut
R 27/28	Sehr giftig bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken
R 36/37	Reizt die Augen und die Atmungsorgane
R 36/38	Reizt die Augen und die Haut
R 36/37/38	Reizt die Augen, Atmungsorgane und die Haut
R 37/38	Reizt die Atmungsorgane und die Haut
R 39/23	Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen
R 39/24	Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens bei Berührung mit der Haut
R 39/25	Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens beim Verschlucken
R 39/23/24	Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen und bei Berührung mit der Haut
R 39/23/25	Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen und durch Verschlucken
R 39/24/25	Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens bei Berührung mit der Haut und durch Verschlucken
R 39/23/24/25	Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen, Berührung mit der Haut und durch Verschlucken
R 39/26	Sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen

- R 39/27 Sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens bei Berührung mit der Haut
- R 39/28 Sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Verschlucken
- R 39/26/27 Sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen und bei Berührung mit der Haut
- R 39/26/28 Sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen und durch Verschlucken
- R 39/27/28 Sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens bei Berührung mit der Haut und durch Verschlucken
- R 39/26/27/28 Sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen, Berührung mit der Haut und durch Verschlucken
- R 40/20 Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens durch Einatmen
- R 40/21 Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens bei Berührung mit der Haut
- R 40/22 Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens durch Verschlucken
- R 40/20/21 Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens durch Einatmen und bei Berührung mit der Haut
- R 40/20/22 Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens durch Einatmen und durch Verschlucken
- R 40/21/22 Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens bei Berührung mit der Haut und durch Verschlucken
- R 40/20/21/22 Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens durch Einatmen, Berührung mit der Haut und durch Verschlucken
- R 42/43 Sensibilisierung durch Einatmen und Hautkontakt möglich
- R 48/20 Gesundheitsschädlich: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen
- R 48/21 Gesundheitsschädlich: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Berührung mit der Haut
- R 48/22 Gesundheitsschädlich: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Verschlucken
- R 48/20/21 Gesundheitsschädlich: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen und bei Berührung mit der Haut
- R 48/20/22 Gesundheitsschädlich: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen und durch Verschlucken
- R 48/21/22 Gesundheitsschädlich: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Berührung mit der Haut und durch Verschlucken
- R 48/20/21/22 Gesundheitsschädlich: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen, bei Berührung mit der Haut und durch Verschlucken
- R 48/23 Giftig: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen
- R 48/24 Giftig: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Berührung mit der Haut
- R 48/25 Giftig: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Verschlucken
- R 48/23/24 Giftig: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen und bei Berührung mit der Haut
- R 48/23/25 Giftig: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen und durch Verschlucken
- R 48/24/25 Giftig: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Berührung mit der Haut und durch Verschlucken
- R 48/23/24/25 Giftig: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen, Berührung mit der Haut und durch Verschlucken
- R 50/53 Sehr giftig für Wasserorganismen, kann in Gewässern längerfristig schädliche Wirkungen haben
- R 51/53 Giftig für Wasserorganismen, kann in Gewässern längerfristig schädliche Wirkungen haben
- R 52/53 Schädlich für Wasserorganismen, kann in Gewässern längerfristig

schädliche Wirkungen haben

S - Sätze

Sicherheitsratschläge^[154-156]

- S 1 Unter Verschuß aufbewahren
- S 2 Darf nicht in die Hände von Kindern gelangen
- S 3 Kühl aufbewahren
- S 4 Von Wohnplätzen fernhalten
- S 5 Unter... aufbewahren (geeignete Flüssigkeit vom Hersteller anzugeben)
- S 5.1 Unter Wasser aufbewahren
- S 5.2 Unter Petroleum aufbewahren
- S 5.3 Unter Paraffinöl aufbewahren
- S 6 Unter... aufbewahren (inertes Gas vom Hersteller anzugeben)
- S 6.1 Unter Stickstoff aufbewahren
- S 6.2 Unter Argon aufbewahren
- S 7 Behälter dicht geschlossen halten
- S 8 Behälter trocken halten
- S 9 Behälter an einem gut belüfteten Ort aufbewahren
- S 12 Behälter nicht gasdicht verschließen
- S 13 Von Nahrungsmitteln, Getränken und Futtermitteln fernhalten
- S 14 Von ... fernhalten (inkompatible Substanzen sind vom Hersteller anzugeben)
- S 14.1 Von Reduktionsmitteln, Schwermetallverbindungen, Säuren und Alkalien fernhalten
- S 14.2 Von oxidierenden und sauren Stoffen sowie Schwermetallverbindungen fernhalten
- S 14.3 Von Eisen fernhalten
- S 14.4 Von Wasser und Laugen fernhalten
- S 14.5 Von Säuren fernhalten
- S 14.6 Von Laugen fernhalten
- S 14.7 Von Metallen fernhalten
- S 14.8 Von oxidierenden und sauren Stoffen fernhalten
- S 14.9 Von brennbaren organischen Substanzen fernhalten
- S 14.10 Von Säuren, Reduktionsmitteln und brennbaren Materialien fernhalten
- S 14.11 Von brennbaren Stoffen fernhalten
- S 15 Vor Hitze schützen
- S 16 Von Zündquellen fernhalten - Nicht rauchen
- S 17 Von brennbaren Stoffen fernhalten
- S 18 Behälter mit Vorsicht öffnen und handhaben
- S 20 Bei der Arbeit nicht essen und trinken
- S 21 Bei der Arbeit nicht rauchen
- S 22 Staub nicht einatmen
- S 23 Gas/Rauch/Dampf/Aerosol nicht einatmen
- S 23.1 Gas nicht einatmen
- S 23.2 Dampf nicht einatmen
- S 23.3 Aerosol nicht einatmen
- S 23.4 Rauch nicht einatmen
- S 23.5 Dampf/Aerosol nicht einatmen
- S 24 Berührung mit der Haut vermeiden
- S 25 Berührung mit den Augen vermeiden
- S 26 Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren
- S 27 Beschmutzte, getränkte Kleidung sofort ausziehen
- S 28 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel ... (Vom Hersteller anzugeben)

- S 28.1 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser
- S 28.2 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser und Seife
- S 28.3 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser und Seife, möglichst auch mit Polyethylenglycol 400
- S 28.4 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Polyethylenglycol 300 und Ethanol und anschließend mit viel Wasser und Seife
- S 28.5 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Polyethylenglycol 400
- S 28.6 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Polyethylenglycol 400 und anschließend Reinigung mit viel Wasser
- S 28.7 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser und saurer Seife
- S 29 Nicht in die Kanalisation gelangen lassen
- S 30 Niemals Wasser hinzugießen
- S 33 Maßnahmen gegen elektrostatische Aufladungen treffen
- S 35 Abfälle und Behälter müssen in gesicherter Weise beseitigt werden
- S 35.1 Abfälle und Behälter müssen durch Behandeln mit 2%-iger Natronlauge beseitigt werden
- S 36 Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen
- S 37 Geeignete Schutzhandschuhe tragen
- S 38 Bei unzureichender Belüftung Atemschutzgerät anlegen
- S 39 Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen
- S 40 Fußboden und verunreinigte Gegenstände mit ... reinigen
- S 40.1 Fußboden und verunreinigte Gegenstände mit viel Wasser reinigen (Material vom Hersteller anzugeben)
- S 41 Explosions- und Brandgase nicht einatmen
- S 42 Bei Räuchern/Versprühen geeignetes Atemschutzgerät anlegen und ... (geeignete Bezeichnungen vom Hersteller anzugeben)
- S 43 Zum Löschen ... (vom Hersteller anzugeben) verwenden (wenn Wasser die Gefahr erhöht, anfügen: " Kein Wasser verwenden")
- S 43.1 Zum Löschen Wasser verwenden
- S 43.2 Zum Löschen Wasser oder Pulverlöschmittel verwenden
- S 43.3 Zum Löschen Pulverlöschmittel, kein Wasser verwenden
- S 43.4 Zum Löschen Kohlendioxid, kein Wasser verwenden
- S 43.6 Zum Löschen Sand, kein Wasser verwenden
- S 43.7 Zum Löschen Metallbrandpulver, kein Wasser verwenden
- S 43.8 Zum Löschen Sand, Kohlendioxid oder Pulverlöschmittel, kein Wasser verwenden
- S 45 Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt hinzuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen)
- S 46 Bei Verschlucken sofort ärztlichen Rat einholen und Verpackung oder Etikett vorzeigen
- S 47 Nicht bei Temperaturen über ... °C aufbewahren (vom Hersteller anzugeben)
- S 48 Feucht halten mit ... (geeignetes Mittel vom Hersteller anzugeben)
- S 49 Nur in Originalbehälter aufbewahren
- S 50 Nicht mischen mit ... (vom Hersteller anzugeben)
- S 50.1 Nicht mischen mit Säuren
- S 50.2 Nicht mischen mit Laugen
- S 50.3 Nicht mischen mit starken Säuren, starken Basen, Buntmetallen und deren Salzen
- S 51 Nur in gut gelüfteten Bereichen verwenden
- S 52 Nicht großflächig für Wohn- und Aufenthaltsräume zu verwenden
- S 53 Exposition vermeiden - vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen
- S 56 Diesen Stoff und seinen Behälter der Problemabfallentsorgung zuführen

- S 57 Zur Vermeidung einer Kontamination der Umwelt geeigneten Behälter verwenden
- S 59 Information zur Wiederverwendung/ Wiederverwertung beim Hersteller/Lieferanten erfragen
- S 60 Dieser Stoff und sein Behälter sind als gefährlicher Abfall zu entsorgen
- S 61 Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Besondere Anweisungen einholen / Sicherheitsdatenblatt zu Rate ziehen
- S 62 Bei Verschlucken kein Erbrechen herbeiführen. Sofort ärztlichen Rat einholen und Verpackung oder das Etikett vorzeigen.
- S 63 Bei Unfall durch Einatmen: Verunfallten an die frische Luft bringen und ruhig stellen
- S 64 Bei Verschlucken Mund mit Wasser ausspülen (nur wenn Verunfallter bei Bewusstsein ist)

Kombinationen der S-Sätze

- S 1/2 Unter Verschluss und für Kinder unzugänglich aufbewahren
- S 3/7 Behälter dicht geschlossen halten und an einem kühlen Ort aufbewahren
- S 3/9 Behälter an einem kühlen, gut gelüfteten Ort aufbewahren
- S 3/9/14 An einem kühlen, gut belüfteten Ort entfernt von ... aufbewahren (inkompatible Substanzen sind vom Hersteller anzugeben)
- S 3/9/14.1 An einem kühlen, gut belüfteten Ort, entfernt von Reduktionsmitteln, Schwermetallverbindungen, Säuren und Alkalien aufbewahren
- S 3/9/14.2 An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von oxidierenden und sauren Stoffen sowie Schwermetallverbindungen aufbewahren
- S 3/9/14.3 An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von Eisen aufbewahren
- S 3/9/14.4 An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von Wasser und Laugen aufbewahren
- S 3/9/14.5 An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von Säuren aufbewahren
- S 3/9/14.6 An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von Laugen aufbewahren
- S 3/9/14.7 An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von Metallen aufbewahren
- S 3/9/14.8 An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von oxidierenden und sauren Stoffen aufbewahren
- S 3/9/14/49 Nur im Originalbehälter an einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von ... aufbewahren (inkompatible Substanzen sind vom Hersteller anzugeben)
- S 3/9/49 Nur im Originalbehälter an einem kühlen, gut gelüfteten Ort aufbewahren
- S 3/14 An einem kühlen, von ... entfernten Ort aufbewahren (inkompatible Substanzen sind vom Hersteller anzugeben)
- S 7/8 Behälter trocken und dicht geschlossen halten
- S 7/9 Behälter dicht geschlossen an einem gut gelüfteten Ort aufbewahren
- S 7/47 Behälter dicht geschlossen und nicht bei Temperaturen über ... °C aufbewahren (vom Hersteller anzugeben)
- S 20/21 Bei der Arbeit nicht essen, trinken und Rauchen
- S 24/25 Berührung mit den Augen und der Haut vermeiden
- S 29/56 Nicht in die Kanalisation gelangen lassen und diesen Stoff und seinen Behälter der Problemabfallentsorgung zuführen
- S 36/37 Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen
- S 36/37/39 Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen
- S 36/39 Bei er Arbeit geeignete Schutzkleidung und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen
- S 37/39 Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen
- S 47/49 Nur im Originalbehälter bei einer Temperatur nicht über ... °C aufbewahren (vom Hersteller anzugeben)

Ich versichere, die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und keine als die angegebenen Hilfsmittel verwendet zu haben.