

## 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 Inhaltsstoffe 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.