

Identifizierung und Synthese flüchtiger Substanzen aus Säugetieren

Dissertation

Zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereichs Chemie
der Universität Hamburg

vorgelegt von

Matthias Rietdorf

aus Hamburg

Institut für Organische Chemie
April 2002

- 1. Gutachter : Herr Prof. Dr. Dr. h. c. W. Francke**
- 2. Gutachter : Herr Prof. Dr. W. König**

Für meine Großeltern

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Februar 1997 bis April 2002 am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Wittko Francke danke ich sehr herzlich für die Überlassung der Themen, wertvolle Diskussionen und Anregungen, die freundschaftliche Betreuung während dieser Arbeit und die schöne Zeit in seiner Arbeitsgruppe.

Für die Unterstützung und Diskussion bei der Durchführung massenspektrometrischer und NMR-spektroskopischer Analysen danke ich Herrn Dr. Stephan Franke und Herrn Dr. Volker Sinnwell. Herrn Prof. Dr. Wilfried A. König und seinen Mitarbeitern danke ich für die Hilfe bei der gaschromatographischen Enantiomerentrennung.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Volker Lehmann und Herrn Dr. Benoist Schaal für die Bereitstellung der Naturproben. Des weiteren ist Herrn Prof. Dr. Jürgen Boegkh und Herrn Dr. Martin Geier für die Durchführung zahlreicher Verhaltenstests mit *Aedes aegypti* gedankt. Ganz besonderer Dank gilt in diesem Zusammenhang Frau Dr. Birgit Steib. Auch möchte ich mich bei Herrn Dr. Scherkenbek, Herrn Dr. Fleck und Herrn Dr. Justus von der Bayer AG bedanken.

Frau Dr. Ulla Fittchen, Frau Dr. Aurelia Reckziegel, Herrn Dr. Ernst Plaß, Herrn Dr. Lutz Lehmann und Herrn Dr. Kolja Wihstutz ist ganz herzlich für die schöne und freundschaftliche Zeit am Institut gedankt.

Ich bedanke mich bei meinen fünf Schwerpunktpraktikanten Frau Claudia Möller, Herrn Peter Maiwald, Herrn Arndt Josupeit, Frau Claudia Schulz und Herrn Karsten Fehler für die Bearbeitung Ihrer Aufgaben, deren Ergebnisse mir sehr weitergeholfen haben. Bei den beiden zuletzt genannten bedanke ich mich zusätzlich für viele spätere Diskussionen in unserer Arbeitsgruppe. Gleiches gilt auch für Herrn Jochen Titze und Herrn Michael Specht. Ich bedanke mich sehr herzlich bei Frau Susanne Sölter, Frau Melanie Mosler und Herrn Till Tolasch für die angenehme Atmosphäre in unserem Labor. Allen anderen Mitgliedern der Arbeitsgruppe danke ich für Ihre stetige Hilfsbereitschaft.

Ganz besonderer Dank gilt meinen Großeltern und meiner gesamten Familie, die mich immer unterstützt haben. Ganz herzlich möchte ich mich bei Mirjam Rose und Ihrer ganzen Familie bedanken.

Abkürzungsverzeichnis

°	Grad
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
abs.	absolut
AcOH	Essigsäure
arom.	Aromatisch
C	Celsius
d	Dublett
Δ	Hitze
δ	chemische Verschiebung
DC	Dünnschichtchromatogramm
dest.	destilliert
DHP	Dihydropyran
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
ee	enantiomeric excess
<i>et al.</i>	(lat.) und weiteren
Et	Ethyl
Et ₂ O	Diethylether
EtOH	Ethanol
fl.	flüssig
FT-IR	Fourier-transformierte Infrarotspektroskopie
g	Gramm
GC	Gaschromatograph
ggf.	gegebenenfalls
h	Stunde
HPLC	High-Performance-Liquid-Chromatography
Hz	Hertz
J	Kopplungskonstante
Lsg.	Lösung
m	Multiplett
M	Masse
MeOH	Methanol

mg	Milligramm
mL	Milliliter
µg	Mikrogramm
µL	Mikroliter
mmol	Millimol
mol	Mol
MS	Massenspektrometer
m/z	Masse pro Ladung
N	normal
NaH	Natriumhydrid
NaOH	Natriumhydroxid
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NOE	Nuclear Overhauser Effect
PE	Petrolether
PGE	Prostaglandin
Ph	Phenyl
R	(R)-Konfiguration im Sinne von CIP
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
S	(S)-Konfiguration im Sinne von CIP
SIM	Single Ion Monitoring
s.o.	siehe oben
t	Tertiär
TBAF	<i>tert.</i> -Butylammoniumfluorid
TBDMSCl	<i>tert.</i> -Butyldimethylsilylchlorid
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TIC	Totalionenstromchromatogramm
Ts	Tosyl

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	10
1.1	Pheromone bei Insekten	12
1.2	Pheromone bei Säugetieren	13
1.3	Pheromone bei Menschen	16
2	Themenstellung	18
3	Teil 1: Allgemeines zu Stechmücken	19
3.1	Methodenentwicklung zur Gewinnung von Probenmaterial mit attraktiver Wirkung gegenüber <i>Aedes aegypti</i>	24
3.2	Identifizierung flüchtiger Verbindungen der menschlichen Hautoberfläche	26
3.2.1	<i>In vivo</i> Headspace Anreicherung Anreicherung mit SuperQ-Filtern und Thermodesorption	26
3.2.1.1	Massenspektren und Fragmentierungsschemata identifizierter Terpenoide	28
3.2.1.2	Synthesen der Terpenoide	30
3.2.1.3	Massenspektren und Fragmentierungsschemata identifizierter bicyclischer Acetale	31
3.2.1.4	Synthesen der bicyclischen Acetale	34
3.2.1.5	Stereochemie der bicyclischen Acetale	38
3.2.1.6	Stereoselektive Synthesen der bicyclischen Acetale	40
3.2.2	Thermische Desorption von SuperQ-Filtern nach der Anreicherung vom Trägermaterial	42
3.2.2.1	Identifizierung von methylverzweigten Fettsäuren	45
3.2.2.2	Massenspektren und Fragmentierungsschemata methylverzweigter Fettsäuren	46
3.2.2.3	Synthesen verzweigter Fettsäuren	50
3.2.3	Thermische Desorption von Hautablationen direkt vom Trägermaterial	57
3.2.3.1	Die unbekannte Verbindung S19	58
3.2.3.2	Synthesen von Modellsubstanzen	63
3.3	Ergebnisse aus Verhaltenstests mit <i>Aedes aegypti</i>	65
3.4	Diskussion der Ergebnisse aus Teil 1	80
4	Teil 2: Die Mutter-Kind-Erkennung	85
4.1	Teil 2a: Die Mutter-Kind-Erkennung beim Menschen	86
4.2	Methodenentwicklung zur Gewinnung von Extrakten aus menschlichem Kolostrum und Fruchtwasser	87
4.2.1	Aufarbeitung und Extraktion von Muttermilch (Kolostrum)	88
4.2.2	Aufarbeitung und Extraktion von menschlichem Fruchtwasser	89
4.3	Identifizierung flüchtiger Verbindungen aus Kolostrum und Fruchtwasser des Menschen	90
4.3.1	Identifizierung flüchtiger Verbindungen im Fruchtwasser des Menschen	90
4.3.2	Identifizierung flüchtiger Verbindungen im Kolostrum des Menschen	94
4.3.2.1	Inhaltsstoffe der 1. Fraktion	94
4.3.2.2	Massenspektren und Fragmentierungsschemata von 1-Acylglycerinen	95
4.3.2.3	Inhaltsstoffe der 5. Fraktion	98
4.3.2.4	Massenspektren und Fragmentierungsschemata von Furan- und Pyron-Derivaten	99
4.3.2.5	Synthesen von Inhaltsstoffen im menschlichen Kolostrum	102

4.4	Diskussion der Ergebnisse des Teil 2a	104
4.5	Teil 2b: Die Mutterschaf-Lamm-Beziehung bei <i>Ovis aries</i>	109
4.5.1	Bisher identifizierte Verbindungen bei <i>Ovis aries</i>	111
4.6	Methodenentwicklung zur Gewinnung von Extrakten aus der Kolostralmilch, dem Fruchtwasser und den Leisten-(Schwanz)-drüsensekreten von Schafen	114
4.6.1	Aufarbeitung und Extraktion des Kolostrums zur Isolierung unbekannter Komponenten	115
4.6.2	Aufarbeitung und Extraktion des Fruchtwassers	116
4.6.3	Aufarbeitung und Extraktion des Leisten-(Schwanz)-drüsensekrets	117
4.7	Ergebnisse der Analysen von Extrakten des Hausschaf <i>Ovis aries</i>	118
4.7.1	Identifizierung flüchtiger Verbindungen im Kolostrum von Schafen	118
4.7.1.1	Inhaltsstoffe der I. Fraktion	118
4.7.1.2	Inhaltsstoffe der II. Fraktion	120
4.7.1.3	Isolierung von 1,3-Diglyceriden	122
4.7.1.4	Massenspektren von 1,3-Diglyceriden	123
4.7.1.5	NMR-spektroskopische Untersuchungen von 1,3-Diglyceriden	127
4.7.1.6	Inhaltsstoffe der III. Fraktion	130
4.7.2	Identifizierung flüchtiger Verbindungen im Schwanzdrüsensekret von Schafen	132
4.7.2.1	Die <i>n</i> -Pentan-Fraktion der Schwanzdrüsensekrete	132
4.7.2.2	Identifizierung von 2-Acyloxyalkanen	136
4.7.3	Inhaltsstoffe der 2. Fraktion von Schwanzdrüsensekreten der Schafe	146
4.7.3.1	Massenspektren von 2-Hydroxyalkansäuremethylestern	152
4.7.3.2	Identifizierung von 5-[5-(1-Hydroxyalkyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylestern	153
4.7.3.3	Identifizierung von 5-[5-(1-Oxoalkyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylestern	162
4.7.3.4	Identifizierung von 5-[5-(1-Hydroxy- ω -methoxycarbonylalkyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylestern	164
4.7.3.5	Identifizierung von 3-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-propansäuremethylestern	165
4.7.3.6	Weitere Verbindungen im Schwanzdrüsenextrakt der Schafe	167
4.7.4	Identifizierung flüchtiger Verbindungen aus Fruchtwasser von Schafen	169
4.7.4.1	Inhaltsstoffe der 1. Fraktion	171
4.7.4.2	Massenspektren von weiteren 5-[5-(1-Hydroxyalkyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylestern	173
4.8	Diskussion der Ergebnisse aus Teil 2b	175
5	Zusammenfassung/Summary	177/179
6	Experimentelle Teil	181
6.12	Synthesen der Verbindungen aus Teil 1	189
6.13	Synthesen der Verbindungen aus Teil 2a	238
6.14	Synthesen der Verbindungen aus Teil 2b	243
7	Sicherheitshinweise	250
8	Anhang Massenspektren	261
9	Literatur	265

1 Einleitung

Das noch junge Forschungsgebiet der chemischen Ökologie umfasst neben der analytischen Aufklärung und Synthese von Naturstoffen auch deren Zuordnung zu biologischen Funktionen, um Lebensvorgänge besser verstehen zu können. Neben akustischen, taktilen und visuellen Formen der Kommunikation haben olfaktorische Reize bei sehr vielen Tieren eine bedeutende Funktion. Während Hormone unterschiedliche physiologische Prozesse innerhalb eines Organismus` steuern, beeinflussen Semiochemikalien¹ das Verhalten verschiedener Lebewesen z.B. im Auffinden des Sexualpartners und bei der Nahrungssuche². Sie werden aber auch zur Markierung des Nestes oder des Territoriums³ eingesetzt, geben Aufschluss über den sozialen Status eines Individuums innerhalb der Gruppe², üben Warnfunktionen aus oder vertreiben Eindringlinge³. Semiochemikalien können in zwei Kategorien unterteilt werden. Zum einen in Pheromone, die zur chemischen Kommunikation innerhalb einer Art dienen (intraspezifisch) und zum anderen Allelochemikalien, die zwischen unterschiedlichen Arten vermitteln (interspezifisch).

Neben der Einteilung der Pheromone zu ihrem Wirkungsgebiet, wie Sexual-, Spuren-, Aggregations- und Alarmpheromon, spielen die Begriffe „primer“ und „releaser“ in diesem Zusammenhang eine wichtige Rolle. So löst ein Releaser-Pheromon eine Verhaltensänderung aus, während ein Primer-Pheromon eine physiologische Veränderung des Empfängers bewirkt. Die Honigbienenkönigin der Gattung *Apis mellifera* gibt z.B. ein Pheromon ab, um die Ovarienbildung bei Arbeiterinnen zu unterdrücken⁴.

Allelochemikalien werden in Allomone, Kairomone, Synomone und Apneumone unterteilt, wobei der letztere Begriff die chemische Ortung toter Materie durch ein Lebewesen beschreibt. Während Synomone Vorteile sowohl für den Empfänger als auch den Emittenten bringen, nützen Allomone nur dem Emittenten bzw. Kairomone nur dem Empfänger¹. Der Parasit der Mehlmotte *Venturia canescens* wird von Geruchssubstanzen aus dem Mehl und nicht vom Wirtseruch selbst angelockt⁵. Da für das Mehl kein biologischer Vorteil resultiert, fällt eine Zuordnung dieses Verhaltensmusters in die ersten drei Bereiche schwer. Abbildung 1 gibt einen Überblick über die Klassifizierung der Semiochemikalien und ihre jeweiligen Wirkungen.

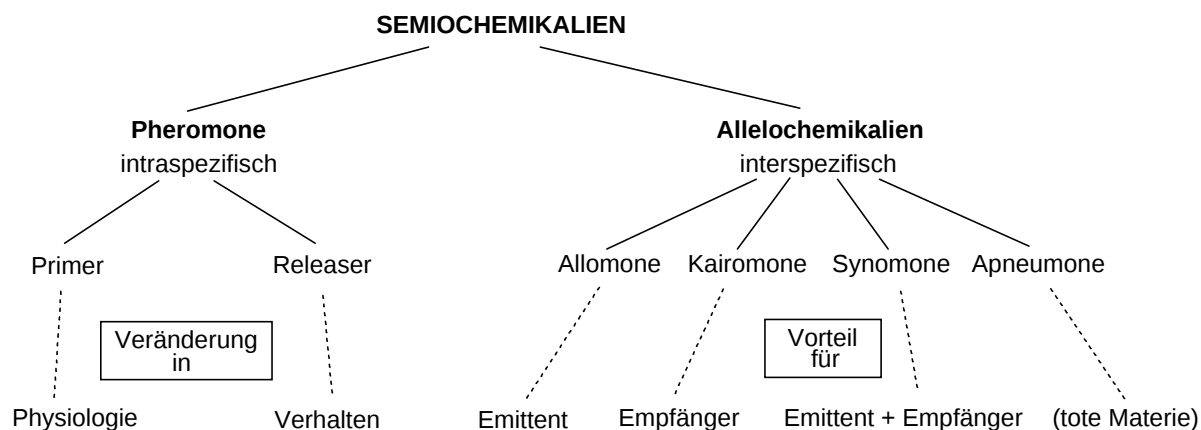


Abbildung 1 Nomenklatur der Semiochemikalien nach Nordlund¹.

Substanzen, die etwa Pflanzen zur Abwehr von Fraßfeinden oder zur Verringerung benachbarter Konkurrenzpflanzen dienen, werden als Allomone bezeichnet⁶. Kairomone ermöglichen es Parasiten, ihre bevorzugten Wirte zu finden. So lockt das Sekret aus den Mandibeldrüsen des Eulenfalters *Heliothis virescens* die parasitische Wespe *Cardiochiles nigriceps* an⁷.

Vielfach wirken Semiochemikalien nicht allein, sondern in einem Gemisch aus zwei oder mehreren Verbindungen. Dabei ist jede einzelne Komponente nicht oder nur schwach attraktiv, im Bukett aber höchst wirkungsvoll. Beispielsweise setzt sich das Aggregationspheromon des Borkenkäfers *Pityogenes chalcographus* aus (2*S*,5*R*)-2-Ethyl-1,6-dioxaspiro[4.4]nonan (**1**) und (2*E*,4*Z*)-2,4-Decadiensäuremethylester (**2**) zusammen^{8,9}, wobei das Spiroacetal (**1**) allein nur eine schwache Reaktion bei den Tieren hervorruft, aber in einem Verhältnis von 95:5 mit dem Ester (**2**) hoch attraktiv wirkt.

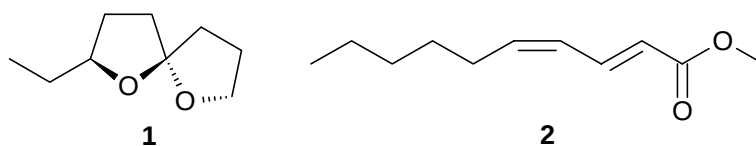


Abbildung 2 Aggregationspheromon des Borkenkäfers *Pityogenes chalcographus* aus (2*S*,5*R*)-2-Ethyl-1,6-dioxaspiro[4.4]nonan (**1**) und (2*E*,4*Z*)-2,4-Decadiensäuremethylester (**2**).

Die Verbindungen, die bei der chemischen Interaktion von Tieren eine Rolle spielen, können unterschiedlichsten Substanzklassen angehören, doch müssen sie dabei einige grundsätzliche Kriterien erfüllen. Auf der einen Seite müssen die Komponenten flüchtig genug sein, um über größere Distanzen zu wirken, dürfen aber auf der anderen Seite nicht zu stabil sein, um „alte Spuren zu verwischen“. Des weiteren müssen diese Verbindungen sich von allgemeinen

olfaktorischen Informationen aus der Umgebung abheben, was durch die häufig sehr spezifischen Molekülstrukturen der jeweiligen Semiochemikalien gewährleistet ist, oder durch den Einsatz von oben angesprochenen Mehrkomponentengemischen (Bukett) umgangen werden kann.

1.1 Pheromone bei Insekten

Seit der Identifizierung 1959 von Bombykol (**3**) als Sexualpheromon des Seidenspinners *Bombyx mori* durch Butenandt¹⁰ sind zahllose weitere Verbindungen mit biologischer Wirkung bei Insekten nachgewiesen worden.

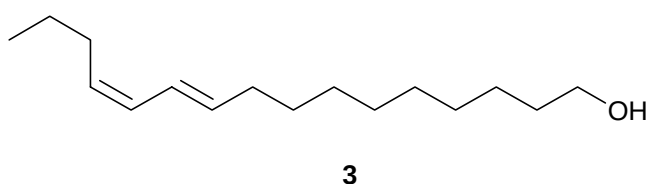


Abbildung 3 Das Sexualpheromon Bombykol (**3**) des Seidenspinners *Bombyx mori*.

Eine wichtige Substanzklasse im Austausch chemischer Signale zwischen Individuen stellen die bicyclischen Acetale dar. In Abbildung 4 sind die Aggregationspheromone von vier unterschiedlichen Käferarten aufgezeigt. So kommen *exo*-Brevicomin (**4**) bei Borkenkäfern der Gattung *Dendroctonus*, Sordinin (**5**) beim Bananenrüsselkäfer *Cosmopolites sordidus*, α -Multistriatin (**6**) beim Ulmenborkenkäfer *Scolytus multistriatus* und Bicolorin (**7**) beim Buchenborkenkäfer *Taphrorychus bicolor* vor¹¹.

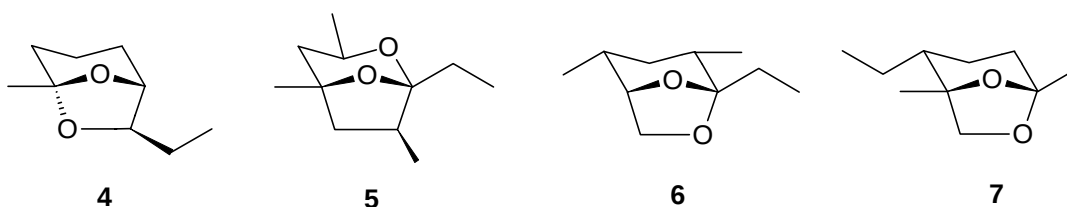


Abbildung 4 Bicyclische Acetale als Aggregationspheromone von verschiedenen Käfern¹¹.

Trotz dieser großen Strukturvielfalt der chemischen Verbindungen in der Kommunikation von Insekten, bedient sich die Natur manchmal gleicher Verbindungen, die zur Übertragung verschiedener Informationen eingesetzt werden. Die Bolaspinne *Mastophora cornigera* lockt dabei ihre Beute, männliche Nachtschmetterlinge, mit (Z)-9-Tetradecylacetat, einem

weitverbreiteten Bestandteil der weiblichen Mottenpheromone¹². (Z)-7-Dodecylacetat (**8**) konnte als Sexualpheromon des weiblichen Asiatischen Elefanten *Elephas maximus* nachgewiesen und Frontalin (**9**) als Bestandteil des männlichen Kopfdrüsenextraktes identifiziert werden. Die beiden Verbindungen sind aber auch Pheromonkomponenten bei zahlreichen Mottenarten bzw. Aggregationspheromone von Borkenkäfern der Gattung *Dendroctonus*¹³. Das Sexualpheromon weiblicher Hunde *Canis familiaris*, Methyl 4-hydroxybenzoat (**10**), kann auch das Verhalten von Schmetterlingen beeinflussen¹⁴. Nepetalacton (**11**) ist erstmals in der Katzenminze *Nepeta cataria* nachgewiesen worden und hat eine stark attraktive Wirkung auf Katzen. Gleichzeitig konnte es auch als Pheromon weiblicher Wickelläuse *Myoura viciae* identifiziert werden. Diese Verbindung ist neben den oben erwähnten Komponenten ein anschauliches Beispiel für ein Molekül, welches bei Pflanzen, Säugetieren und Insekten völlig unterschiedliche Funktionen hat bzw. Reaktionen hervorruft¹⁵. Solche Strukturverwandtschaften mögen Ergebnisse konvergenter Entwicklungen darstellen und weit auf gemeinsame Wurzeln in der Frühphase der Evolution zurückweisen.

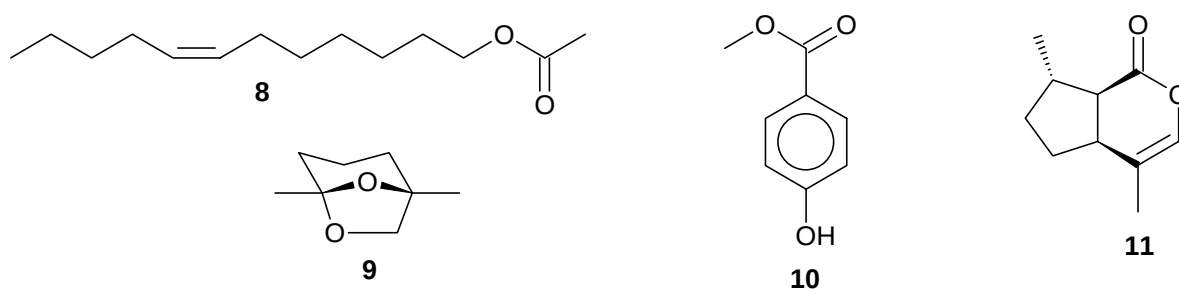


Abbildung 5 Semiochemikalien, die bei Säugetieren und Insekten bzw. Pflanzen nachgewiesen sind.

1.2 Signalstoffe bei Säugetieren

Während bei Insekten bislang etwa 1500 Pheromone nachgewiesen werden konnten, waren bis 1983 erst 7 Säugetierpheromone eindeutig bestimmt. Bis heute sind einige weitere Säugetierpheromone hinzugekommen. Doch sind es immer noch bei weitem weniger, als die hohe Anzahl der bekannten Insektenpheromone.

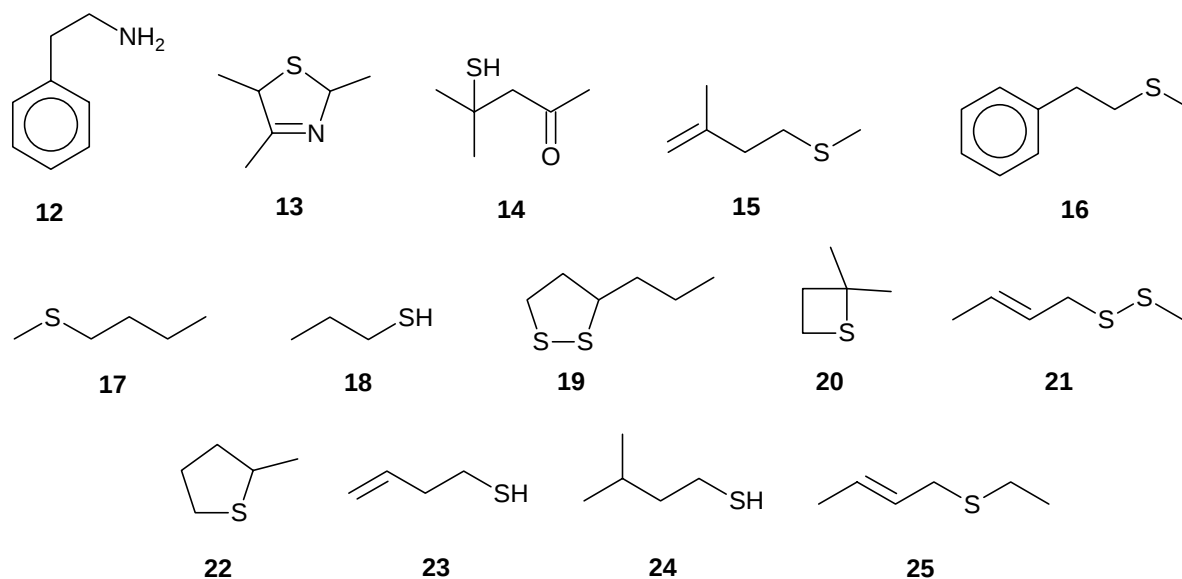


Abbildung 6 Signalstoffe bei Raubtieren.

Der Tiger *Panthera tigris* setzt 2-Phenylethylamin (**12**) zur Markierung seines Territoriums ein^{16,17}. Verbindungen **13-16** sind Bestandteile aus dem Pheromonbukett des Rotfuchses *Vulpes vulpes*, wobei die Verbindungen **15** und **16** auch im Urin des Löwen *Panthera leo* nachgewiesen werden konnten¹⁸. Neben diesen Verbindungen bestimmen auch Putrescin (1,4-Butandiamin) und Cadaverin (1,5-Pentandiamin) den Geruch des Rotfuchsurins¹⁸, wogegen hauptsächlich kurzkettige Fettsäuren beim Wolf *Canis lupus* identifiziert wurden¹⁹. Viele Raubtiere sondern über den Urin oder spezielle Analdrüsen Substanzen ab, die häufig abschreckende Wirkung auf Beutetiere ausüben. Die Komponenten **17** und **18** sind neben einigen flüchtigen Aldehyden als Inhaltstoffe des Analdrüsensekrets und des Hundeurins²⁰ bzw. des Coyotenurins²¹ identifiziert worden und erhöhen in erheblichem Masse die Herzschlagfrequenz der Wildkaninchen *Oryctolagus cuniculus*²², was auf einen Fluchtinstinkt vor den Räubern hindeutet. Andererseits können Kaninchen anhand weiterer Aldehyde soziale Unterschiede innerhalb der eigenen Gruppe unterscheiden²³. Aus dem Vaginalsekret des Hundes *Canis familiaris* konnte Methyl 4-hydroxybenzoat (**10**) isoliert werden. Es erhöht die sexuelle Bereitschaft der männlichen Tiere^{24,25}. Die flüchtigen Bestandteile der Analdrüsensekrete **19-25** stellen einige Beispiele der vielfältigen schwefelhaltigen Verbindungen der Marderarten *Mustela* dar²⁶. In welchem Umfang diese überaus intensiv riechenden Verbindungen neben intraspezifischen Funktionen (Reviermarkierung) auch Abwehrfunktionen gegen Feinde haben, ist bisher nicht völlig geklärt.

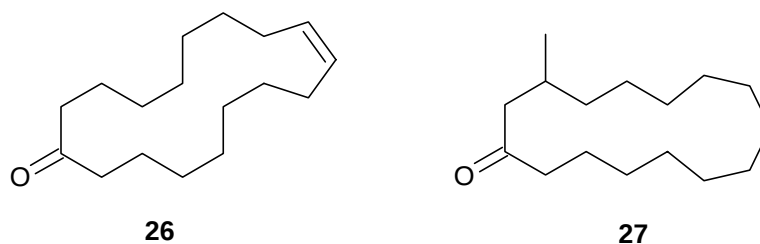


Abbildung 7 Zibeton (**26**) und Muscon (**27**).

Zu den Raubtierpheromonen gehört nicht das Zibeton (**26**) der Zibetkatzen *Viverra civetta* und *V. zibeta*, das zusammen mit dem Muscon (**27**) des Moschustier *Moschus moschiferus* zu den ältesten Parfüme-Grundstoffen zählt²⁷. Ihre Pheromonwirkung bei diesen Tierarten ist in der Literatur später nicht wieder aufgegriffen worden²⁸.

Neben Dimethylsulfid (**28**) aus dem Vaginalsekret von Goldhamstern *Mesocricetus auratus*, das die Männchen sexuell stimuliert^{29,30} und Phenylelessigsäure (**29**), auf die die Mongolische Wüstenrennmaus *Meriones unguiculatus* mit ausgeprägter Reviermarkierung reagiert³¹, konnten eine Reihe von Verbindungen und deren biologische Funktion bei der Hausmaus *Mus musculus* erforscht werden.

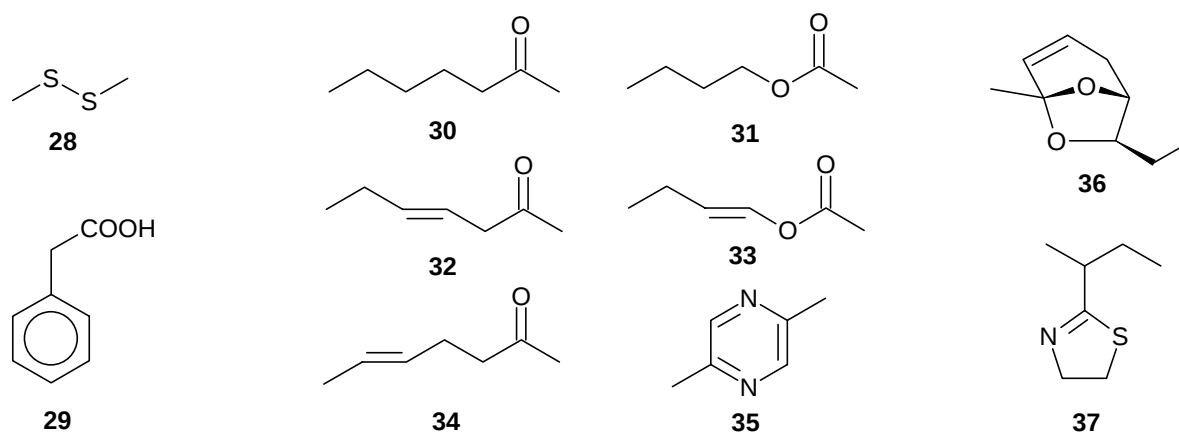


Abbildung 8 Pheromone bei Nagetieren.

So beschleunigen die Primer-Pheromone **30-35** aus dem Urin der Mäuse das Erreichen der Geschlechtsreife bei Jungtieren³². 3,4-Dehydro-*exo*-brevicomine (**36**) und 2-(*sec*.-Butyl)-4,5-dihydrothiazol (**37**) aus dem Urin männlicher Mäuse rufen bei Artgenossen Aggression hervor³³. Beim (*Z*)-4-Hydroxydodec-6-ensäurelacton (**38**) und 3 α -Hydroxy-5 α -androst-16-en (**39**) handelt es sich um die wohl bekanntesten Säugetierpheromone. Letzteres konnte 1968 von Patterson beim Eber *Sus scrofa* identifiziert werden und stimuliert das Sexualverhalten der Sau³⁴. Das Pheromon **38** des Schwarzwedelhirsches *Odocoileus hemionus columbianus* kann

aus dem Urin und der Fußwurzeldrüse isoliert werden³⁵. Es fungiert als Erkennungssignal, lockt aber auch paarungswillige Weibchen an^{36,37,38,39,40}. Die männliche Gabelantilope *Antilocapra americana* markiert ihr Revier mit Isovaleriansäure (**40**) aus einer unterhalb des Auges befindlichen Drüse und ruft damit ähnliche Verhaltensmuster bei den Weibchen hervor⁴¹.

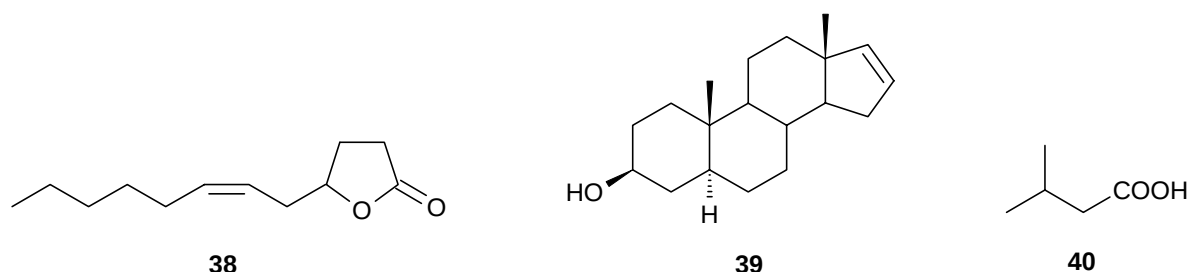


Abbildung 9 Pheromone bei Huf- bzw. Herdentieren.

1.3 Pheromone bei Menschen

Während sogar bei einigen Reptilien, wie der Rotseitigen Strumpfbandnatter *Thamnophis sirtalis parietalis*⁴², der Eidechse *Eumeces laticeps*⁴³ und der Gewöhnlichen Moschusschildkröte *Sternotherus odoratus*, die z.B. ein moschusartig riechendes Sekret aus ω -Phenylalkansäuren abgibt⁴⁴, verhaltensmodifizierende Wirkstoffe nachgewiesen werden können, fehlen beim Menschen bislang eindeutige Nachweise von Releasern. Durch die Entdeckung intraspezifisch wirkender Verbindungen bei verschiedenen Affenarten, ist das Interesse an der Aufklärung dieser Fragestellung in den letzten Jahren stark gewachsen. Die „Copuline“ der Rhesus Affen *Macaca mulatta* bestehen aus 5 Carbonsäuren, die im Vaginalsekret nachgewiesen wurden. Es handelt sich dabei um Essigsäure, Propionsäure, Isobuttersäure, Buttersäure und Isocaproensäure, die die Männchen in ihrem Sexualverhalten in der Affenhorde beeinflussen^{45,46,47}. Vergleichbare Zusammenhänge finden sich auch bei Schimpansen *Pan troglodytes*⁴⁸, wo durch Copuline ähnliche Verhaltensreaktionen der Männchen induziert werden. Bei den Buschbabies *Galago crassicaudatus* und dem Halbaffen *Lemur fulvus* können die Tiere anhand chemischer Signalstoffe zwischen dem Duft der Weibchen und dem der Männchen unterscheiden. Solche Duftsignale können möglicherweise die Rangordnung in der Horde bestimmen^{49,50}.

Shorey beschreibt 1976 den menschlichen Geruchssinn und den der Primaten als schwach ausgebildet, doch existiert eine komplette Anordnung von Organen und Drüsen, die immer als „funktionslos“ eingestuft wurden, aber möglicherweise Bestandteil eines Pheromon-Systems sind. Dazu gehören apocrine Hautdrüsen, die nicht zur Schweißproduktion dienen und somit einer anderen Funktion unterliegen⁵¹. Auch die Existenz der Riechschleimhaut am Dach der Nasenhöhle, der Riechkolben *Bulbus olfactorius*, an den sogenannte Glomeruli

Geruchsinformationen an Neuronen übertragen und das Jacobson'sche oder Vomeronasale Organ⁵², welches bei manchen Säugetieren, wie dem Hausschaf *Ovis aries* stark ausgebildet und für sexuelles Verhalten maßgeblich ist⁵³, festigen diese These. Die Tatsache, dass seit mindestens 3000 Jahren der Mensch mit Tiergerüchen, wie dem Zibeton (26) oder dem Muscon (27) seinen Eigengeruch zu überdecken versucht⁵¹, aber auch Beobachtungen von Darwin 1877, der die Reaktion eines Säuglings auf das Näherkommen der Mutterbrust durch eine Kopfbewegung beschreibt⁵⁴, unterstützen den großen Stellenwert des Geruches im sozialen Zusammenleben des Menschen. Neuere Arbeiten befassen sich mit Untersuchungen zur Synchronisation des Menstruationszyklus von zusammenlebenden Frauen^{55,56,57}. Dieses Phänomen kann durch die Existenz eines Primer-Pheromons hervorgerufen werden, doch belegen weitere Studien, dass möglicherweise Einflüsse der Umgebung Auslöser dieser Synchronisation sind⁵⁸. Auch im Hinblick auf die mögliche Existenz von Releaser-Pheromonen beim Menschen gibt es zahlreiche Untersuchungen^{59,60,61}. Der Geruch ermöglicht es z.B. Neugeborenen die leibliche Mutter unter verschiedenen Frauen zu finden⁶², aber auch der Mutter ihren Säugling zu identifizieren⁶³. 5 α -Androst-16-en-3-on wird schon relativ lange als mögliches Sexualpheromon beim Menschen diskutiert²⁶. Es konnte im männlichen Achselschweiß, in sehr niedriger Konzentration im Vaginalsekret und im Urin von Männern und Frauen nachgewiesen werden²⁶, doch sind die Reaktionen verschiedener Versuchspersonen auf diese Substanz sehr unterschiedlich und häufig nicht reproduzierbar^{64,65}. Bewiesen ist in diesem Zusammenhang lediglich nur, dass der Mensch sehr wohl in der Lage ist feine Geruchsunterschiede wahrzunehmen⁶⁶ und auch zwischen verschiedenen Menschen zu differenzieren⁶⁷.

2. Themenstellung

Im Rahmen der vorliegenden Dissertation werden Identifizierung und Synthese z.T. neuer Naturstoffe beschrieben, die bei der olfaktorischen Signalübertragung zwischen Lebewesen möglicherweise von Bedeutung sind. Zur Gewinnung bzw. Aufarbeitung des komplexen Ausgangsmaterials müßten neue Methoden entwickelt werden, um Proben für die gaschromatographische Trennung und die massenspektroskopische Identifizierung zu erhalten. Da nur in wenigen Ausnahmefällen genügend Probenmaterial zur Isolierung unbekannter Verbindungen vorhanden war, um sie mittels NMR-Spektroskopie aufklären zu können, mußten Referenzverbindungen zur Verifizierung der Strukturvorschläge synthetisiert werden. Die vorliegende Arbeit ist in zwei Abschnitte aufgeteilt:

1) Die Identifizierung von interspezifisch wirkenden Substanzen, die als von Menschen produzierte Primärattraktantien die Gelbfiebermücken (*Aedes aegypti*) anlocken, bildet dabei den Anfang dieser Arbeit. Eine Identifizierung dieser Kairomone, die von der menschlichen Hautoberfläche oder aus anderen Quellen (Urin, Schweiß) abgegeben werden, gelang bislang nur unzureichend^{68,69}. Stark attraktive Extrakte konnten bisher nur durch direkte Extraktion oder Abscharbungen der menschlichen Hautoberfläche erhalten werden. Die so gewonnenen Proben waren allerdings der gaschromatographischen Analyse aufgrund hoher Kontamination und Anwesenheit schwerflüchtiger Verbindungen nur schwer zugänglich⁷⁰. Im Mittelpunkt des vorliegenden Ansatzes stehen Proben, die über Headspace-Anreicherung der Ausdünstungen des menschlichen Armes bzw. durch Sandablation der Haut im Bereich der Hände gewonnen wurden. Verhaltensversuche zeigten, dass solche Proben die Stechmücken im Windtunnel stark anlocken. Besonderes Augenmerk wurde auf die Identifizierung polarer Komponenten aus dem Wirtsbukett des Menschen gelegt, da bei Vorarbeiten bereits Erkenntnisse über unpolare Inhaltstoffe gewonnen werden konnten. Die synthetisierten Verbindungen wurden in Verhaltenstests auf ihre Wirkung gegenüber *Aedes aegypti* geprüft.

2) Die intraspezifische chemische Kommunikation zwischen Säugetieren, aber auch dem Menschen sind bislang nur wenig untersucht worden. Der zweite Teil der Arbeit beschäftigt sich mit der Mutter-Kind-Beziehung zwischen **a)** dem Menschen und **b)** dem Hausschaf *Ovis aries*. Bei beiden Fragenstellungen stützten sich die Erkenntnisse dieser Beziehung auf Beobachtungen verhaltensrelevanter Reaktionen der Neugeborenen auf das Fruchtwasser und die Muttermilch bzw. das Analdrüsensekret der Mutterschafe. Diese Beobachtungen wiesen auf die Existenz flüchtiger chemischer Signalstoffe aus diesen Proben hin, die die Bindung von Mutter und Kind stark prägen. Die Aufgabe bestand darin, diese flüchtigen Verbindungen zu identifizieren und ggf. zu synthetisieren, um sie für Biotests zur Verfügung zu stellen.

3. Teil 1: Allgemeines zu Stechmücken

Die Familie der Stechmücken (*Culicidae*) umfasst bisher 3500 bekannte Arten, die über nahezu alle Klimazonen der Erde verbreitet sind. Die Männchen leben nur zwei Wochen und ernähren sich von Pflanzensäften, wie z.B. Nektar. Stechmückenweibchen werden mehrere Monate alt und benötigen exogene Proteine aus Blutmahlzeiten ihrer potentiellen Wirte, um Eier produzieren zu können⁷¹. Das aufgenommene Blut löst die bis zu 48 Stunden dauernde Eireifung aus, hemmt aber vorübergehend das Blutsaugeverhalten⁷². Das Wirtsspektrum reicht von Amphibien und Reptilien über Vögel zu Säugetieren⁷³. Die Wirtspräferenz der einzelnen Arten ist zwar genetisch festgelegt, doch hängt sie auch mit dem Angebot, dem Lebensraum und der Jahreszeit zusammen⁷⁰. Während *Anopheles quadriannulatus* verschiedene Tierarten aufsucht, bevorzugen *Anopheles gambiae* und *Aedes aegypti* den Menschen^{74,75,76}. Da bei fast allen Arten nacheinander mehrere Eireifungszyklen durchlaufen werden, denen jedes Mal eine Blutmahlzeit vorausgeht, saugen sie Blut von vielen verschiedenen Wirten und spielen als Krankheitsüberträger (Vektoren) eine bedeutende Rolle⁷⁷. Auf dieser Tatsache beruht auch das große Interesse an der Kontrolle von Stechmückenpopulationen. Neben dem Einsatz von Insektiziden und Chemosterilantien, werden auch Insektenabwehrmittel (Repellentien) eingesetzt. Sie veranlassen die Insekten zum Orientierungswechsel, weg von der Reizquelle (Wirt). Zu den natürlichen Repellentien gehören ätherische Öle, wie Campher, Anisöl und Muskatöl^{78,79}. Synthetische Abwehrmittel sind N,N-Diethyl-*m*-toluamid (DEET) (**41**), (1*S*,3*S*,4*S*,6*R*)-Caran-3,4-diol⁸⁰ (**42**) und das neuentwickelte Bayer Präparat KBR 3023 (**43**). Die Wirkungsweise aller Repellentien ist bislang nicht detailliert aufgeklärt⁸¹.

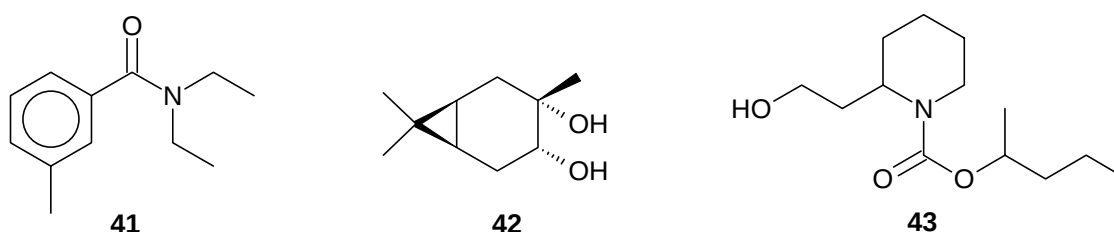


Abbildung 10 Insektenabwehrmittel N,N-Diethyl-*m*-toluamid (**41**), *cis*-Caran-(3*S*,4*S*)-diol (**42**) und KBR3023 (**43**).

Der Einsatz von Mückenfallen zur Bekämpfung der Insekten wird seit den 60er Jahren erforscht, doch fehlen bislang gut wirkende Attraktantien, die für eine erfolgreiche Anwendung dieser Systeme benötigt werden. Als Lockmittel werden bei fast allen Fallen Lichteffekte ausgenutzt, unterstützt durch Trockeneis-Quellen, die als CO₂-Spender fungieren^{82,83,84}.

Für die Auffindung ihrer spezifischen Wirte, wird dem Geruchssinn der Mücken eine entscheidende Bedeutung zugeordnet⁸⁵. Dabei sind sie in der Lage, den Wirt aus einer Entfernung von 15-30 Metern⁸⁶ am Geruch aber auch an visuellen Reizen zu erkennen und zu lokalisieren^{85,87,88,89}. Die visuelle Wirtserkennung ist bereits 1939 von Kennedy⁹⁰ und einigen anderen Autoren^{91,92,93,94} beobachtet worden, wogegen in geringer Entfernung Wärme und Feuchtigkeit die Orientierung der Mücken beeinflussen^{95,96}. Die olfaktorische Wirkung von Duftreizen auf Stechmücken ist dagegen weniger erforscht, obwohl es keine Zweifel darüber gibt, dass blutsaugende Arthropoden flüchtige, chemische Substanzen zur Orientierung sowie zur Wirtsfindung nutzen^{97,98}. Die Wirtsfindung der Stechmücken wird von Sutcliffe⁹⁹ in vier Stadien mit jeweils charakteristischem Verhalten unterteilt. Als erste Phase ist die bereits oben angesprochene Distanzorientierung der Tiere definiert. Das darauf folgende Appetenzverhalten beschreibt die Bereitschaft, auf Wirtsgerüche zu reagieren. Die Aktivität löst Verhaltensprogramme aus, die zur Annäherung an den Wirt führen. Als letzte Phase beschreibt die Attraktion die Orientierung zum Wirt bis hin zur Landung.

Weitere Aufschlüsse über das Orientierungsverhalten der Mücken zum bevorzugten Wirt erhoffte man sich auch durch Biotests mit natürlichen Wirtsgerüchen. So wurden neben menschlichem Schweiß⁶⁸, auch Blut^{69,100,101}, Urin^{69,102}, Atemluft¹⁰³, Limburger Käse¹⁰⁴ und Honigextrakte¹⁰⁵ auf ihre anlockende Wirkung gegenüber *Aedes aegypti* getestet. Diese Duftquellen haben zum Teil sehr hohe Attraktivität und locken Mücken sowohl in Labor-, als auch in Freilandversuchen. Kohlendioxid spielt dabei wie bei fast allen blutsaugenden Insekten^{106,107,108} eine wichtige Rolle, doch wird vermutet, dass keine Einzelsubstanz, sondern ein Duftgemisch aus mehreren Komponenten für die Attraktivität des Wirtsgeruches verantwortlich ist^{97,98}. In Laborversuchen konnte 1960 von Bouwer¹⁰⁹ gezeigt und von Carlson¹¹⁰ 1973 bestätigt werden, dass die über die Haut ausgeschiedene Menge an Kohlendioxid nicht attraktiv wirkt, doch löst sie bei *Aedes aegypti* eine Erhöhung der Aufflugrate und eine Verlängerung der Flugdauer hervor¹⁰⁶. Im Gegensatz zu diesen Beobachtungen, konnte 1974 von Gillies¹¹¹ in zahllosen Feldversuchen die hohe Attraktivität von CO₂ auf Stechmücken nachgewiesen werden, die Rudolfs 1922 erstmals beschrieben hatte¹¹². Zusammen mit L-(+)-Milchsäure konnte diese Wirkung erheblich gesteigert werden. Beide Substanzen locken in Verhaltenstests Gelbfiebermücken erheblich stärker, als CO₂ allein^{113,114}. Dieser synergistische Effekt konnte von Eiras und Jepson 1991 bestätigt werden¹¹⁵. Als wichtiger Nachweis für die synergistische Eigenschaft des Kohlendioxids ist die Verstärkung natürlicher Wirtsgerüche, wie der von Schweiß oder von menschlichen Händen einzuordnen⁹⁷. Allerdings sind diese Wirtsgerüche auch ohne Zugabe von CO₂ attraktiv für

Aedes-Mücken. In Arbeiten von Kline und Takken *et al.* wird 1-Octen-3-ol zusammen mit L-Milchsäure als hoch wirksame Verbindung beschrieben^{105,116}. Diese Substanz konnte auf der menschlichen Haut nachgewiesen werden.

In zahlreichen Publikationen wird auf die alleinige Aktivität und Attraktivität von L-Milchsäure in Laborversuchen an *Aedes aegypti* hingewiesen, doch ist der Reiz vergleichsweise schwächer, als z.B. der der menschlichen Hand⁷⁰. Dadurch bekommt L-Milchsäure eine zentrale Funktion als Synergist zu weiteren Duftkomponenten im Bukett der olfaktorischen Wirtserkennung. Neben sinnesphysiologischen Untersuchungen an verschiedenen Rezeptoren auf Mückenantennen^{117,118,119,120,121}, wurde in der Vergangenheit eine Vielzahl von Verbindungen in Verhaltenstests auf ihre Wirkung getestet^{105,110,116,122}. Unglücklicherweise konnten oft nur widersprüchliche Ergebnisse präsentiert werden. So erkannte Parker 1948 als Erster, dass menschlicher Schweiß einen attraktiven Effekt auf *Aedes aegypti* ausübt⁶⁸, andererseits berichtete Brown kurz darauf über eine stark abstoßende Wirkung (Repellent) des menschlichen Schweißes in höheren Konzentrationen¹²³. In der nachfolgenden Zeit wurden zahlreiche Versuche unternommen, Schweißextrakte mit Ether, Ethanol und Aceton zu gewinnen, die Reaktionen in Verhaltenstests mit Mücken auslösen¹²⁴. 1996 fraktionierten Cork und Park Schweißproben von erwachsenen Versuchspersonen aus Burkina Faso mit Dichlormethan und analysierten die so erhaltenen Proben mittels gekoppelter Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS)¹²⁵. Die olfaktorische Wirkung der Schweißproben wurde mit elektroantennographischen (EAG)-Methoden, nicht aber in Verhaltenstests überprüft. Es konnten 18 Fettsäuren identifiziert werden, die bei EAG-Messungen unterschiedliche Reaktionen der Rezeptoren auf den Mückenantennen hervorriefen. Die stärksten Effekte hatten Carbonsäuren der Kettenlängen C₁-C₈. Keine signifikante Aussage konnte über die Wirkung von Fettsäuren der Kettenlängen C₉-C₁₈ gemacht werden. Ameisensäure löste laut dieser Studie die intensivste Antwort aus. Während Cork und Park den identifizierten, unpolaren Verbindungen Sulcaton und Decanal keine EAG-Aktivitäten zuschrieben¹²⁵, konnte vier Jahre später Meijerink Verhaltens- und EAG-Antworten auf Indol, Sulcaton und Geranylaceton beobachten¹²⁶. Diese Substanzen konnten sie nur in inkubierten Schweißproben nachweisen, die im Gegensatz zu frischem Schweiß EAG-Antworten liefern und mittels Headspace-Anreicherung über den Schweißproben gewonnen wurden. 1996 konnte im Rahmen der eigenen vorangehenden Diplomarbeit der Nachweis für die Existenz dieser Verbindungen im Headspace von menschlicher Haut gezeigt werden, doch lösten diese Verbindungen keine Reaktionen in Verhaltenstests mit *Aedes aegypti* aus¹²⁷. Abbildung 11 zeigt ein Chromatogramm aus dieser Versuchsserie.

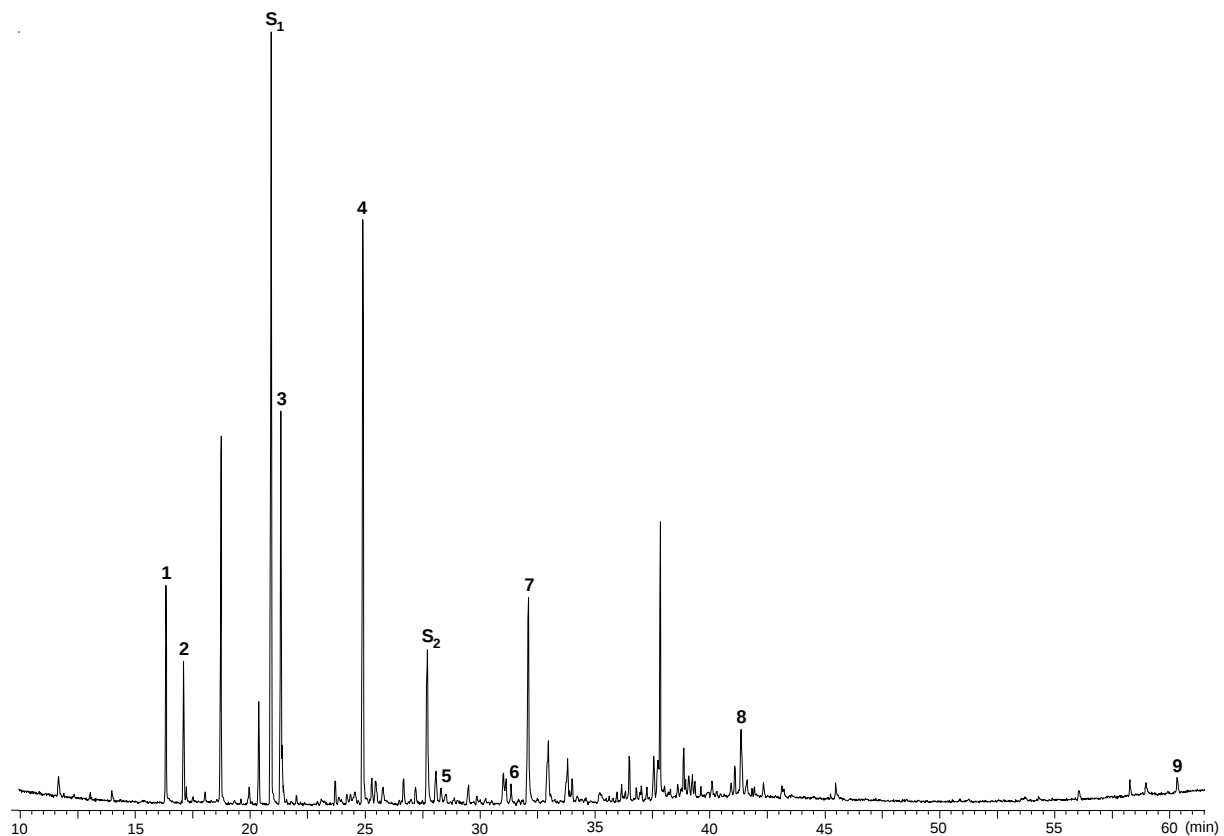


Abbildung 11 Totalionenstromchromatogramm einer Headspace-Probe des menschlichen Arms¹²⁷. **1** 6-Methyl-5-hepten-2-on (Sulcaton), **2** Octanal, **S₁** externer Standard: 2-Nonanon, **3** Nonanal, **4** Decanal, **S₂** interner Standard: 2-Undecanon, **5** Undecanal, **6** Dodecanal, **7** (5*E*)-6,10-Methylundeca-5,9-dien-2-on (Geranylaceton), **8** (4*E*,8*E*)-5,9,13-Trimethyltetradeca-4,8,12-trienal, **9** Squalen.

Die Zusammensetzung der Headspace-Proben verschiedener Personen unterschieden sich nur geringfügig voneinander und lieferten somit auch keine weiteren Erkenntnisse über Unterscheidungskriterien im Bezug auf die chemische Zusammensetzung der Proben bei der Wirtserkennung. Die bislang stärkste Wirkung auf Stechmücken lösten Proben aus, die durch Abreiben von Händen und Unterarmen mit Ethanol getränkten Wattepad und anschließender Extraktion der Watte, gewonnen werden konnten⁷⁰. Dieser Extrakt (GEM012) ist über lange Zeit (mindestens drei Monate) und trotz Erwärmungen bis 60°C für die Versuchstiere noch attraktiv¹²⁸. Trennungen über HPLC und nachfolgende gaschromatographische Analyse führten zu keinen reproduzierbaren Ergebnissen. Neben der schon bekannten L-Milchsäure gelten Ammoniak und verschiedene Fettsäuren als Bestandteile im Kairomon-Bukett der Gelbfiebermücken^{129,130}.

Schreck verfolgte bereits 1981 einen weiteren Ansatz zur Gewinnung von wirksamem Material der menschlichen Hautoberfläche. Es konnte beobachtet werden, dass auf rauen Glasoberflächen für Mücken attraktive Komponenten zurückbleiben, wenn die Hände zuvor in Kontakt mit diesen Flächen standen. Diese Komponenten ließen sich anschließend mit

verschiedenen Lösungsmitteln von der Glasoberfläche wieder entfernen, sodass keine Wirkung mehr auf die Mücken beobachtet werden konnte^{131,132}. Bernier verzichtete 1995 auf den Einsatz dieser Lösungsmittel zur Extraktion des zuvor gesammelten attraktiven Materials von Glasoberflächen. Kleine Stücke dieses beladenen Glases wurde in einem speziellen Purge & Trap-System thermisch desorbiert und am Anfang einer Kapillarsäule im Gaschromatographen in einer Kühlfalle kryofocussiert¹³³. Anschließende Trennung und Identifizierung der Verbindungen wurden daraufhin durchgeführt. Mit dieser Weiterentwicklung konnte zum einen der Einsatz von Lösungsmitteln und zum anderen eine hohe Ansammlung von Wasser in den Proben ausgeschlossen werden, welches in der Vergangenheit bei der chemischen Analyse der Inhaltsstoffe erhebliche Probleme bereitet hatte. Neben L-Milchsäure und aliphatischen Fettsäuren, konnten mit Hilfe dieser Methode auch eine homologe Reihe von Aldehyden (Butanal bis Undecanal) nachgewiesen werden¹³⁴. In einer weiteren Studie konnten mit oben beschriebener Versuchsanordnung 346 Verbindungen detektiert und zum Großteil identifiziert werden. In Verhaltenstests wurden diese Verbindungen aber nicht weitergehend untersucht¹³⁵.

3.1 Methodenentwicklung zur Gewinnung von Probenmaterial mit attraktiver Wirkung gegenüber *Aedes aegypti*

Zur Anreicherung von Naturstoffen aus natürlichen Quellen gibt es verschiedene Methoden. Häufig werden Extraktionsverfahren gewählt, um zum Beispiel organische Substanzen im Spurenbereich aus wässrigen Proben in ein geeignetes organisches Lösungsmittel zu überführen. Eine Vorfraktionierung erfolgt dabei bereits durch die Wahl unterschiedlich polarer Solventien und/oder durch anschließende säulenchromatographische Trennung an stationären Phasen. Methylierung oder Silylierung polarer Verbindungen ermöglicht die anschließende gaschromatographische Trennung. Um flüchtige, organische Substanzen aufzufangen und anzureichern, bedient man sich häufig der dynamischen Headspace-Methode¹³⁶. Dabei wird die Luft über dem zu untersuchenden Objekt mittels einer Membranpumpe kontinuierlich durch einen Filter aus Aktivkohle, Tenax oder SuperQ geleitet. Die flüchtigen Verbindungen reichern sich auf dem Adsorbens an und können entweder mit einem geeigneten Lösungsmittel eluiert oder thermisch desorbiert werden.

Als besonders erfolgreich hatte sich folgende Headspace-Methode zur Anreicherung solcher flüchtiger Verbindungen vom menschlichen Arm einer Versuchsperson erwiesen: Dabei befand sich der Arm einer Versuchsperson in einer Manschette aus Glas, die in einem geschlossenen Kreislauf über Teflonschläuche mit einer Membranpumpe verbunden war. Über einen Zeitraum von 90 Minuten wurden auf einen Filter, der vor die Pumpe geschaltet war, durch Closed Loop Stripping Aalysis (CLSA) flüchtige organische Substanzen an einem SuperQ-Filter angereichert. Der Filter bestand aus einem Quarzglasröhrchen, wie es auch als Injektor-Liner im Einspritzblock eines Gaschromatographen Verwendung fand. Das Adsorbensmaterial wurde mit Glaswolle im Innern des Röhrchens fixiert.

Die thermische Desorption der Verbindungen von einem SuperQ-Filter erfolgte im Injektor eines Gaschromatographen, in den der beladene Filter eingeführt wurde. In diesen Filter (GC-Inlet) ragte eine Kapillarsäule, deren Anfang mit Trockeneis gekühlt wurde. Der Injektor wurde 12 Minuten lang kontinuierlich von 25°C auf 180°C erhitzt, wobei das Trägergas (Helium) durch die Kapillarsäule strömte. Im Bereich der Kühlzone kondensierten die vom Filter abgegebenen Substanzen in einem geometrisch engen Bereich (Kryofocussierung). Nach weiteren 10 Minuten wurde die Kühlfalle entfernt und das Temperaturprogramm des Gaschromatographen gestartet.

Ein großer Vorteil dieser Methode war, dass auf den Einsatz von Lösungsmitteln verzichtet werden konnte. Verunreinigungen aus den Lösungsmitteln und die Überlagerung von Peaks sehr flüchtiger Komponenten im Gaschromatogramm durch das Solvens konnten ausgeschlossen

werden. Die Methode bot einen weiteren Vorteil: Da der beladene Filter vor und nach der Kryofocussierung im Verhaltenstest auf seine Attraktivität gegenüber *Aedes aegypti* geprüft werden konnte, waren Diskriminierungen einzelner Wirkkomponenten durch unterschiedliches Desorptionsverhalten auszuschließen. Durch Variationen der Temperatur sowie der Dauer der thermischen Desorption konnten auch schwerflüchtige Verbindungen desorbiert werden. Derivatisierungen der desorbierten Substanzen gelangen mit dieser Methode allerdings nicht.

Ein besonderes Problem beim Anreichern von organischen Substanzen vom menschlichen Arm im Closed-Loop-System stellte die hohe Kondenswasserbildung dar. Wasser verhinderte die Isolierung attraktiver Komponenten auf Filtersysteme mittels Headspace. Daher wurde Seesand als Trägermaterial gewählt, der zur Anreicherung von Hautkomponenten vorher zwischen den Händen gerieben wurde und anschließend in einem speziellen Reaktor in das Closed-Loop-System gebracht wurde. Bei diesem Reaktor handelte es sich um ein etwa 4 cm starkes Glasrohr, welches sich an beiden Enden verjüngte. Der Reaktor wurde in einen beheizbaren Metallmantel eingeführt, mit etwas Glaswolle am unteren Ende abgedichtet und mit dem zuvor präparierten Sand befüllt. Der Sand wurde anschließend über drei Stunden mit einem Luftstrom leicht verwirbelt und auf 60-66°C erhitzt. Zwischen Reaktor und Membranpumpe war ein SuperQ-Filter geschaltet, der entweder mit einem Solvens extrahiert oder thermisch desorbiert werden konnte (Abbildung 12).

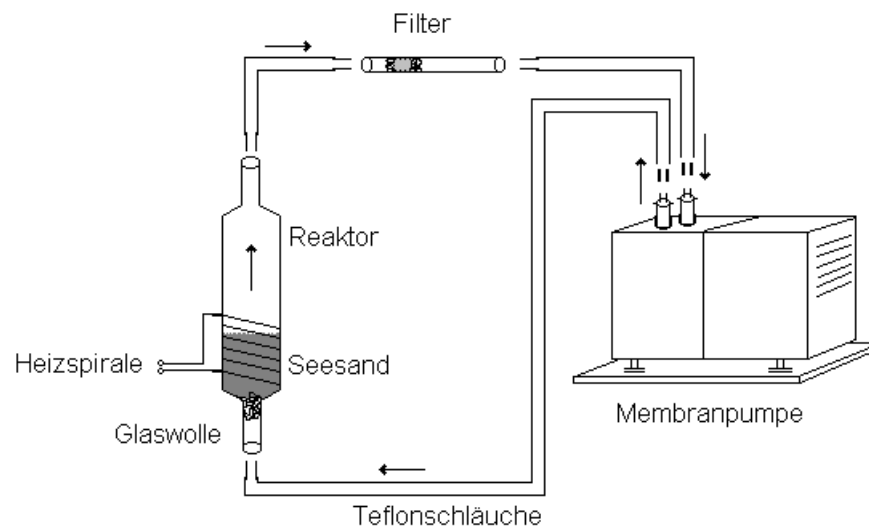


Abbildung 12 Closed-Loop-System zur Anreicherung auf *Aedes aegypti* attraktiv wirkender Komponenten vom Trägermaterial Seesand.

3.2 Identifizierung flüchtiger Verbindungen der menschlichen Hautoberfläche

Zur Anreicherung und Identifizierung der von der menschlichen Haut abgegebenen flüchtigen Verbindungen, wurden die im Methodenteil und der Themenstellung dargestellten Verfahren verwendet. Im folgenden Abschnitt werden einzelne Gaschromatogramme der verschiedenen Probennahmen abgebildet. Nachfolgend werden die Inhaltsstoffe der Naturproben aufgelistet. Die Verbindungen wurden mit Hilfe von Datenbanken¹³⁷ anhand ihrer Massenspektren und ihres Retentionsverhaltens durch Vergleich mit Referenzsubstanzen identifiziert. Des weiteren werden Massenspektren von Substanzen gezeigt, deren Strukturen aufgrund ihrer analytischen Daten postuliert wurden und im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert worden sind. Diese Verbindungen sind in den Listen durch ein * markiert. Ihre charakteristische Fragmentierung im Massenspektrometer wird diskutiert. Nachfolgend werden die Synthesen dieser Verbindungen, die zur eindeutigen Identifizierung unerlässlich sind, vorgestellt. Durch Vergleich der Massenspektren und der Retentionszeiten der unbekannten und der synthetisierten Verbindung werden Strukturvorschläge überprüft. Bei Übereinstimmung von Massenspektrum und Retentionszeit (Koinjektion), gilt die Verbindung als identifiziert. Die Zuordnung von Enantiomeren optisch aktiver Substanzen gelang über geeignete chirale Cyclodextrinphasen. In den Listen der Inhaltsstoffe sind die Verbindungen in Hauptkomponenten ($H > 5\%$), Nebenkomponten ($N > 0.5\%$) und Spurenkomponenten ($S < 0.5\%$) der Gesamtfläche im Totalionenstromchromatogramm unterteilt. Die Nummerierungen in den Chromatogrammen ordnet die identifizierten Verbindungen in den jeweiligen nachstehenden Listen zu. K steht dabei für Kontamination.

3.2.1 *In vivo* Headspace Anreicherung mit SuperQ-Filtern und Thermodesorption

Die Gewinnung dieser Proben gelang durch Headspace-Anreicherung in einem Closed-Loop-System vom Arm einer Versuchsperson, wie es im voranstehenden Methodenteil und im experimentellen Teil dieser Arbeit genauer erläutert ist. Durch thermische Desorption des SuperQ-Filters, anschließender Kryofocussierung und Trennung über eine Kapillarsäule im Gaschromatographen, konnte das unten dargestellte Gaschromatogramm aufgenommen werden. Als Detektor diente ein Massenspektrometer mit dessen Hilfe die Zuordnung der Verbindungen erfolgte. Im vorderen Bereich lag die Grundlinie des Chromatogramms relativ hoch, was auf starke Kontamination, verursacht durch die thermische Behandlung des Adsorbens, zurückzuführen ist. Dennoch ermöglichte diese Methode eine Identifizierung sehr

flüchtiger Verbindungen in diesem Bereich, da kein Lösungsmittel die Komponenten überdeckt.

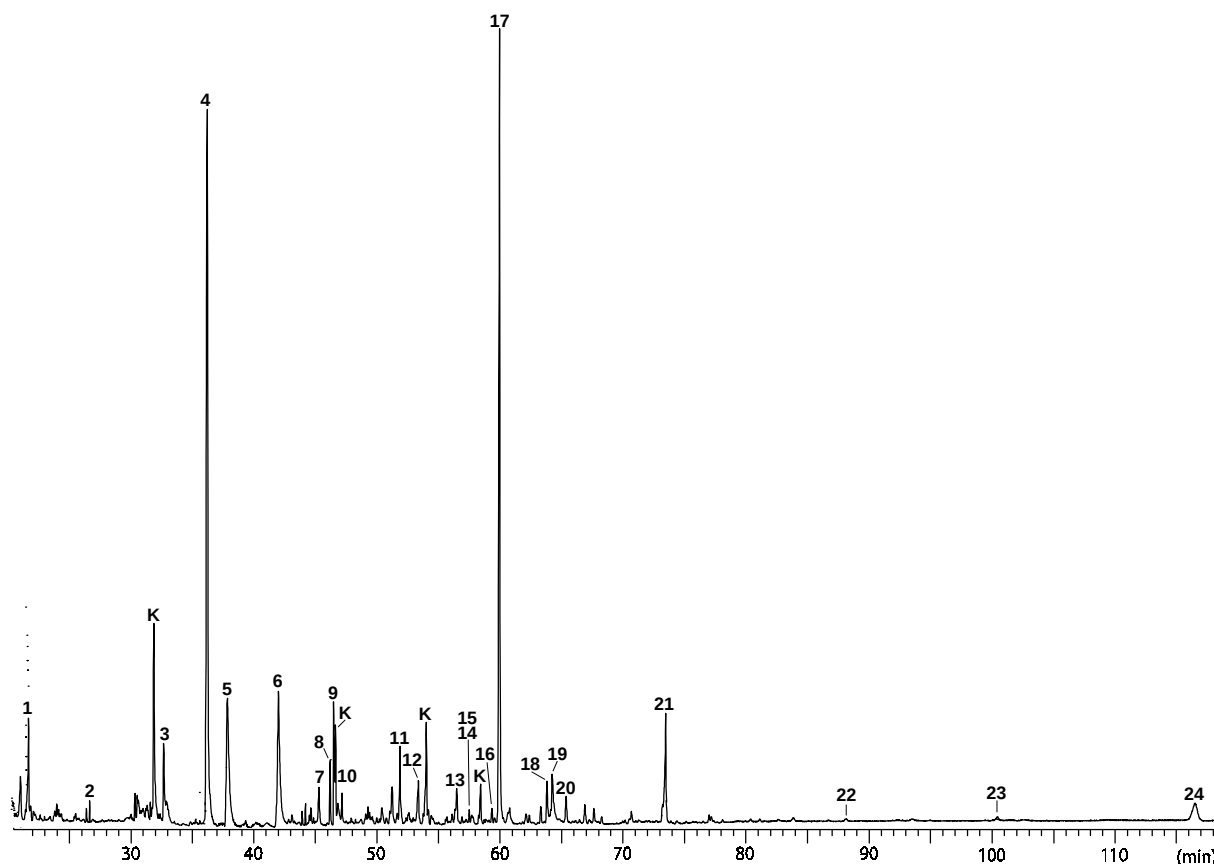


Abbildung 13 Totalionenstromchromatogramm vom Headspace des menschlichen Arms (Kryofocussierung) (50 m FFAP fused silica-Kapillare; Temperaturprogramm: 30°C, 15 min. isotherm, 3°C/min. auf 220°C, 50 min. isotherm).

Durch die große Menge an Transpirationswasser vom Arm der Versuchsperson konnten polare Verbindungen mit dieser Methode nicht angereichert werden. Das Wasser löste während der Versuchsdauer alle polaren Substanzen, wie z.B. Fettsäuren, die auf der menschlichen Hautoberfläche bereits in anderen Arbeiten detektiert worden sind¹³⁸. Tabelle 1 zeigt die homologen aliphatischen Aldehyde von Heptanal bis Dodecanal, sowie eine Reihe terpenoider Ketone, Aldehyde und Acetale. In reproduzierbaren Versuchswiederholungen konnten übereinstimmende Ergebnisse erhalten werden.

Nummern aus Abbildung 13	Verbindung	
S1	1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan*	N
S2	5,6-Epoxy-6-methylheptan-2-on	S
S3	Heptanal	N
S4	6-Methyl-5-hepten-2-on	H
S5	Octanal	N
S6	Nonanal	N
S7	Benzaldehyd	N
S8	Essigsäure	N
S9	Triethylamin	N
S10	Decanal	N
S11	Undecanal	N
S12	Acetamid	N
S13	Dodecanal	S
S14	<i>endo</i> -1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan*	S
S15	<i>exo</i> -1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan*	S
S16	(5 <i>Z</i>)-6,10-Dimethyl-5,9-undecadien-2-on	S
S17	(5 <i>E</i>)-6,10-Dimethyl-5,9-undecadien-2-on	H
S18	Phenol	N
S19	Ethylphenol	N
S20	Dimethylsulfon	S
S21	(4 <i>E</i> ,8 <i>E</i>)-5,9,13-Trimethyl-4,8,12-tetradecatrienal*	N
S22	(4 <i>E</i> ,8 <i>E</i> ,12 <i>E</i>)-5,9,13,17-Tetramethyl-4,8,12,16-octadecatetraenal*	N
S23	(4 <i>E</i> ,8 <i>E</i> ,12 <i>E</i> ,16 <i>E</i>)-4,8,13,17,21-Pentamethyl-4,8,12,16,20-docosapentaenal*	N
S24	Squalen	N

Tabelle 1 Inhaltsstoffe vom Headspace des menschlichen Arms (thermodesorbiert).

3.2.1.1 Massenspektren und Fragmentierungsschemata identifizierter Terpenoide

In den nachfolgenden Grafiken sind die Massenspektren der drei langkettigen, terpenoiden Aldehyde abgebildet. Die Molmassen mit M^+ 248, 316 sowie 384 waren deutlich zu erkennen. Durch hochauflösende Massenspektroskopie konnte die atomare Zusammensetzung der Moleküle mit $C_{17}H_{28}O$, $C_{22}H_{36}O$ und $C_{27}H_{44}O$ ermittelt werden. Insgesamt hatten die drei Massenspektren große Ähnlichkeit zum Spektrum des Squalens (**47**). Charakteristisch war bei allen eine Allyl-Spaltung an dem die geminale Dimethylgruppierung tragenden terminalen Ende der Ketten, die zum Ion m/z 69 führte. Dieses war gleichzeitig auch der intensivste Peak der Massenspektren. Weitere auffällige Ionen waren m/z 81, 93 und 136, die den terpenoiden Charakter dieser Verbindungen widerspiegeln.

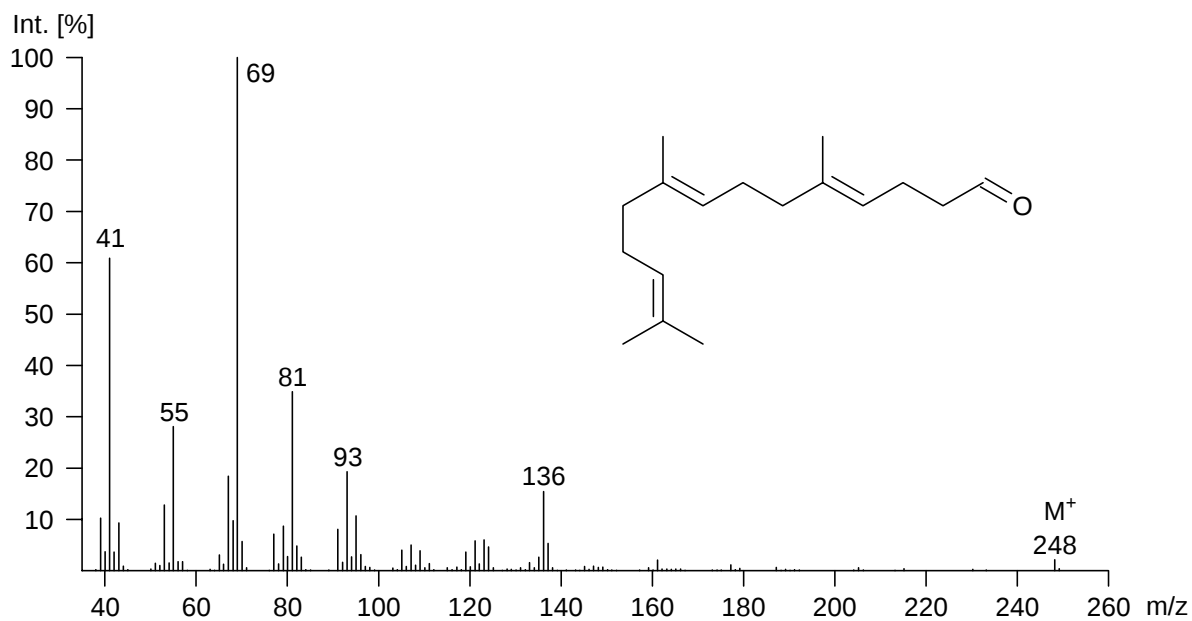


Abbildung 14 Massenspektrum von (4E,8E)-5,9,13-Trimethyl-4,8,12-tetradecatrienal (**44**).

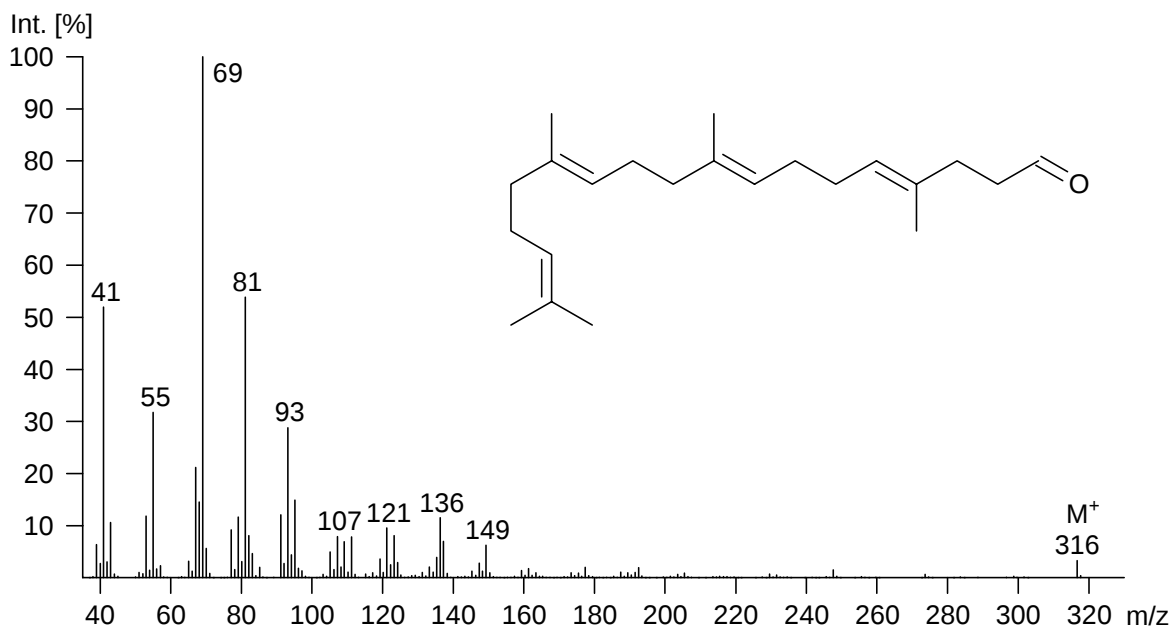


Abbildung 15 Massenspektrum von (4E,8E,12E)-5,9,13,17-Tetramethyl-4,8,12,16-octadecatetraenal (**45**).

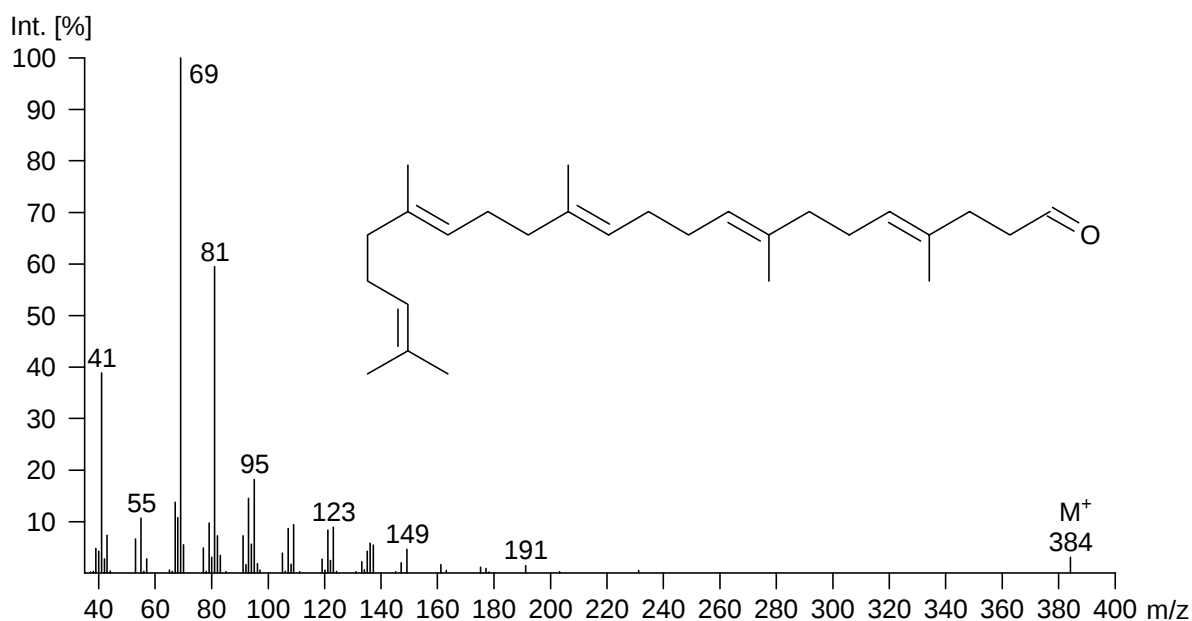


Abbildung 16 Massenspektrum von (4*E*,8*E*,12*E*,16*E*)-4,8,13,17,21-Pentamethyl-4,8,12,16,20-docosapentaenal (**46**).

3.2.1.2 Synthesen der Terpenoide

Die Darstellung der Terpenoide erfolgte durch Oxidation einzelner Doppelbindungen des Squalens (**47**) mit *meta*-Chlorperbenzoesäure (*m*-CPBA) und nachfolgender Spaltung mit Periodsäure¹³⁹. Diese Reaktion ermöglichte gleichzeitig die Darstellung aller Strukturvorschläge in zwei Stufen. Das Produktgemisch wurde erst säulenchromatographisch über Kieselgel vorgereinigt, wobei sich Sulcaton und Geranylaceton leicht abtrennen ließen. Durch präparative Gaschromatographie wurden anschließend die drei Aldehyde **44**, **45** und **46** isoliert. Es konnten jeweils etwa 2 mg der Verbindungen **44** und **45** erhalten werden, **46** konnte dagegen nur in Spuren isoliert werden, da der Siedepunkt der Komponente bereits das Temperaturlimit der GC-Trennsäule deutlich überschritten hatte und eine saubere Trennung erschwerte.

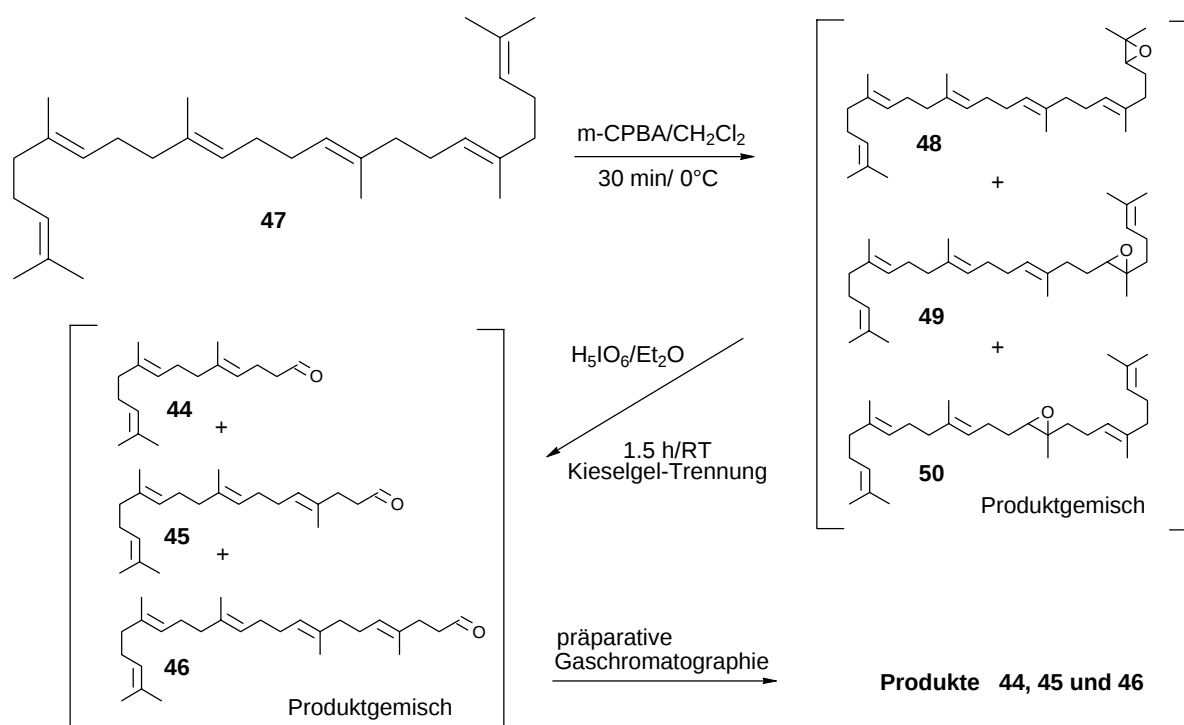


Abbildung 17 Syntheseweg zu den Produkten (4*E*,8*E*)-5,9,13-Trimethyl-4,8,12-tetradecatrienal (**44**), (4*E*,8*E*,12*E*)-5,9,13,17-Tetramethyl-4,8,12,16-octadecatetraenal (**45**) und (4*E*,8*E*,12*E*,16*E*)-4,8,13,17,21-Pentamethyl-4,8,12,16,20-docosapentaenal (**46**).

3.2.1.3 Massenspektren und Fragmentierungsschemata identifizierter bicyclischer Acetale

In Abbildung 18 ist das Massenspektrum von 1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**51**) abgebildet. Durch hochauflösende Massenspektrometrie und durch Vergleichsspektren aus der Literatur wurde der Vorschlag für diese Substanz als Naturstoff **S1** (Tabelle 1) erhärtet.

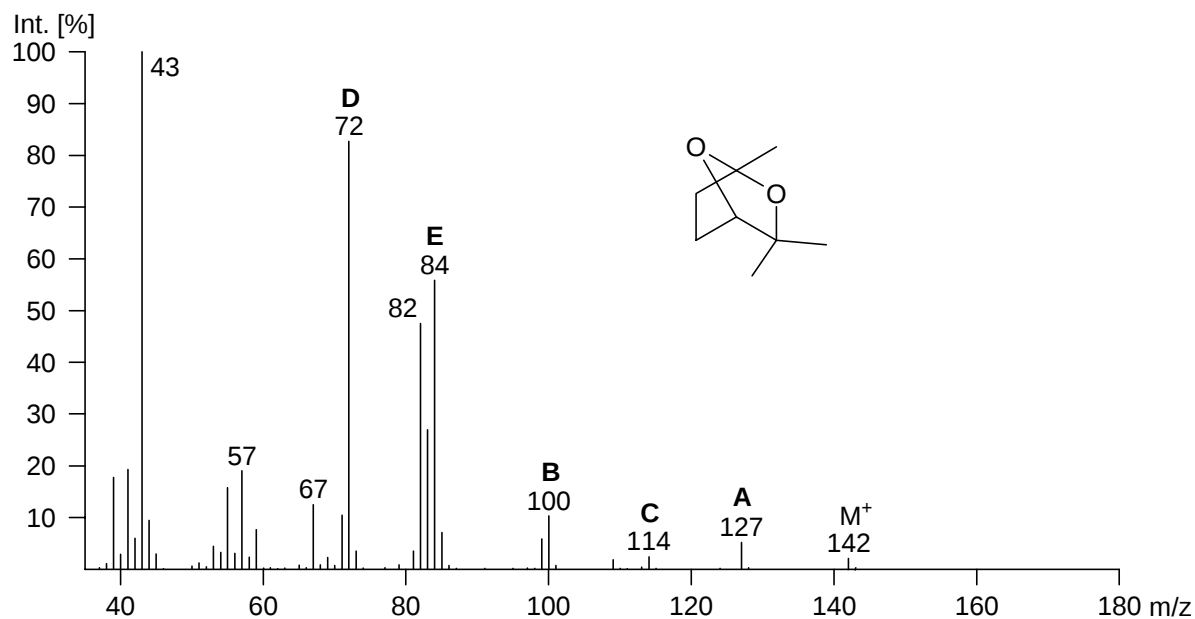


Abbildung 18 Massenspektrum von 1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**51**).

Die eingezeichneten Buchstaben entsprechen denen im Zerfallsschema (Abbildung 19), welches die Fragmentierung des bicyclischen Acetals **51** im Massenspektrometer verdeutlichen soll.

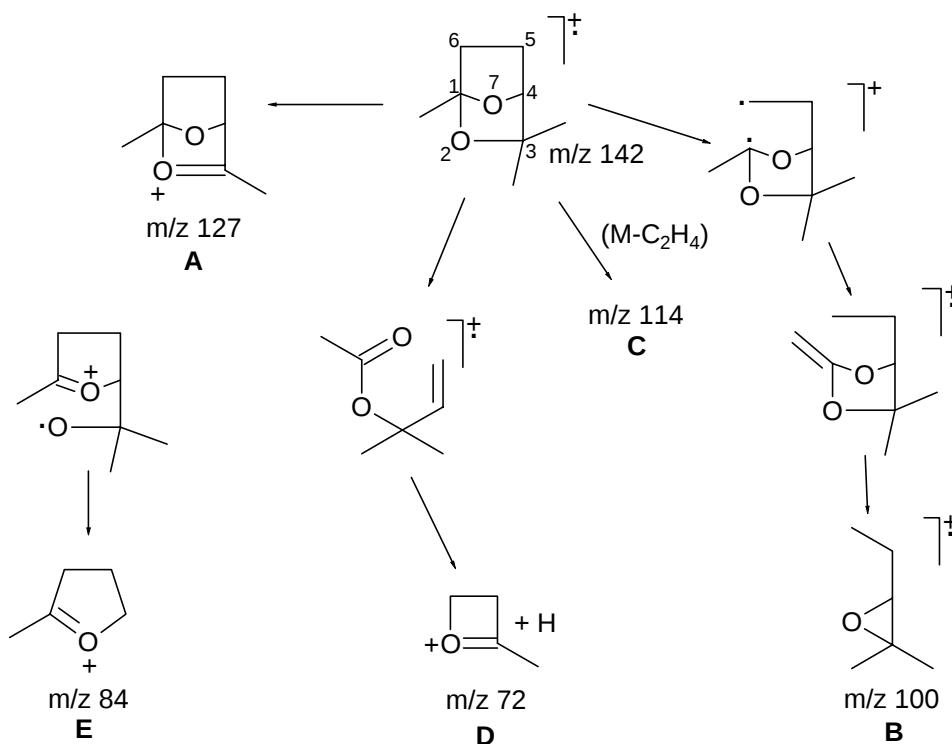


Abbildung 19 Fragmentierungsschema von 1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**51**).

Das Massenspektrum von 1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**51**) zeigte eine charakteristische Fragmentierung durch Eliminierung von Keten (das den Acetalkohlenstoff enthält) zum Ion **B**, das mit m/z 100 deutlich zu erkennen war. Die Abspaltung eines Methylsubstituenten an C3 lieferte ein Fragmention **A** mit m/z 127. Die Bildung des Tetrahydrofuranyliumradikations **E** durch Eliminierung von Aceton aus der sauerstoffhaltigen Brücke der Elemente 2 und 3 ergab ein intensives Ion mit m/z 84. Durch die Abspaltung von Ethylen aus der Brücke der Elemente 5 und 6 entstand **C**, mit m/z 114. Das Fragmention **D** entstand möglicherweise durch Abspaltung von C6 und einer Methylgruppe unter Bildung eines offenkettigen Allylesters. Nachfolgender Verlust der Acetylgruppe, Abstraktion eines Wasserstoffatoms und intramolekularer Zyklisierung zum methylsubstituierten Oxetan-Fragmention führte zum zweitintensivsten Signal mit m/z 72¹¹. Wie bei den typischen bicyclischen Acetalen des 6,8-Dioxabicyclo[3.2.1]octans bildete das Acylion, das dem Brückenkopf entspricht, das Basision, hier m/z 43.

Die Massenspektren der beiden 1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptane (**52**) unterschieden sich stark von dem des 1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptans (**51**).

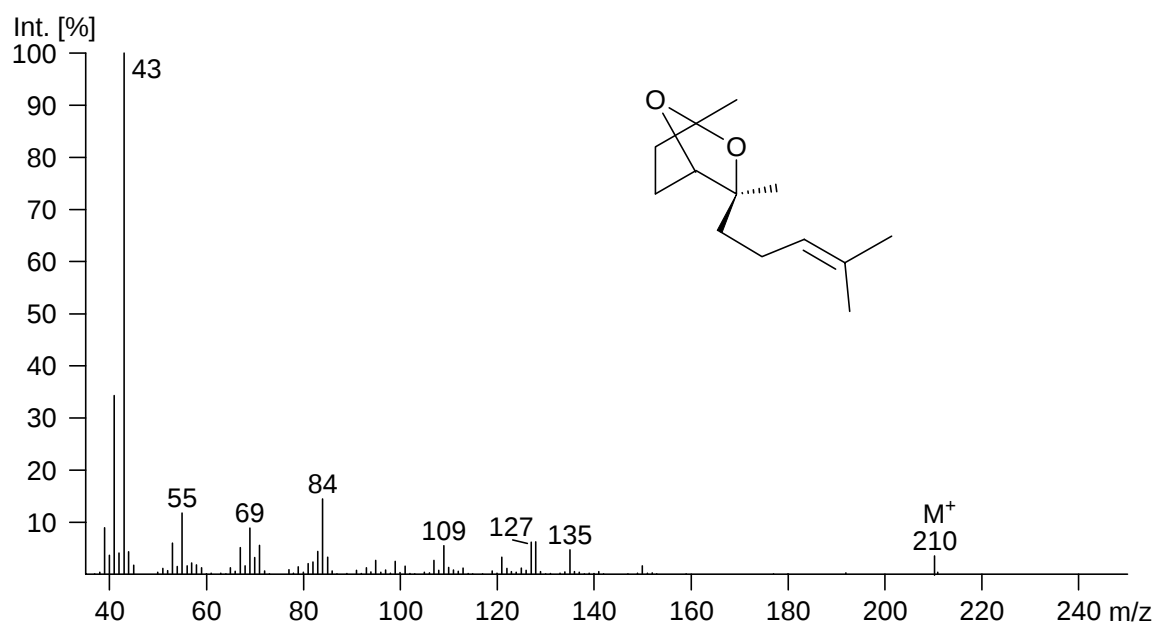


Abbildung 20 Massenspektrum von *endo*-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**52a**).

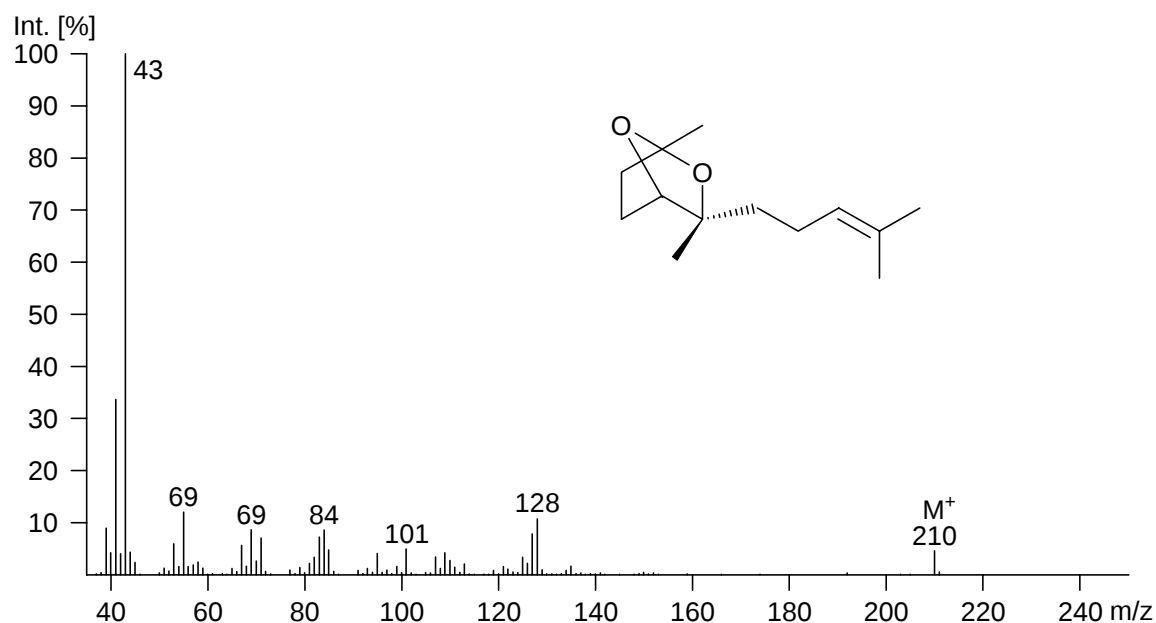


Abbildung 21 Massenspektrum von *exo*-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**52b**).

Durch ihren 4-Methylpent-3-enyl-Substituenten wiesen sie terpenoiden Charakter auf, obwohl die typischen Ionen m/z 95, 83, 69 und 55 nur geringe Intensitäten hatten. Auch in diesem Fall stellte das den acetalischen Brückenkopf enthaltende Acyliumion den Basispeak m/z 43 dar. Neben dem Massepeak M^+ 210 des Moleküls trat das Ion m/z 128 in beiden Massenspektren auf. Es könnte möglicherweise mit der Bildung des entsprechenden Allylesters und der nachfolgenden Abspaltung des isoprenoiden Restes erklärt werden. Ein charakteristischer Intensitätsunterschied des Tetrahydrofuranylumradikations m/z 84 in den Massenspektren des *endo*- und *exo*-Isomers **52a** und **52b** konnte entgegen der Beschreibung von Gore nicht festgestellt werden¹⁴⁰.

3.2.1.4 Synthesen der bicyclischen Acetale

In Anlehnung an Vanderwel und Oehlschlager¹⁴¹, die die Brevicomine (**4**) Biosynthese bei Borkenkäfern mittels Markierungsversuchen untersuchten, wurde als Ausgangsverbindung 6-Methyl-5-hepten-2-on (Sulcaton) (**54**) mit 2,2-Dimethylpropan-1,3-diol zum entsprechenden Dioxolan (**55**) geschützt. Nachfolgende Epoxidierung mit *m*-Chlorperbenzoesäure¹³⁹ lieferte das geschützte Sulcatonepoxid **56**. Deblockierung und Zyklisierung mit Trifluoressigsäure (TFA) im Eintopfverfahren ergab das gewünschte Produkt **51**. Durch Erwärmung und den Einsatz von katalytischen Mengen Toluolsulfonsäure war

möglicherweise das Doppelbindungsisomer 6-Methyl-6-hepten-2-on (**57**) aus Sulcaton (**54**) entstanden.

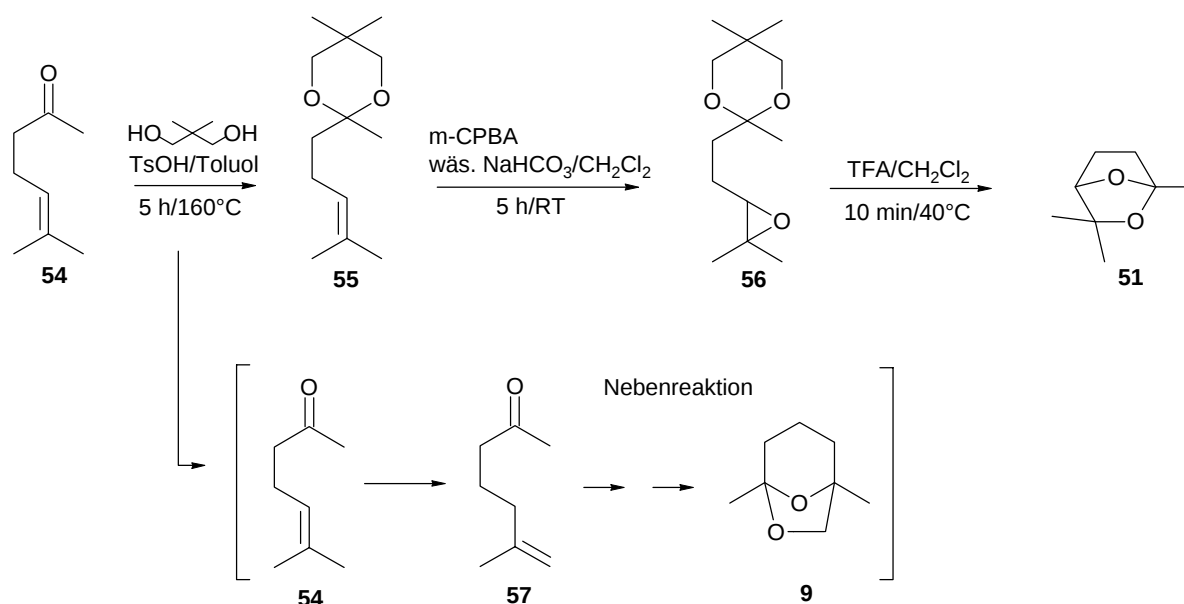


Abbildung 22 Synthese von racemischen 1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**51**).

Es lieferte in einer unerwünschten Nebenreaktion das bicyclische Acetal Frontalin (**9**). Durch säulenchromatographische Trennung über Kieselgel konnte das Produkt **51** sauber erhalten werden. Zur Verbesserung der Ausbeute wurde in einem weiteren Versuch Sulcaton (**54**) ohne vorhergehenden Schutz der Carbonylfunktion mit *m*-CPBA epoxidiert und mit TFA zyklisiert. Bei reduziertem Druck konnte 1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**51**) in hohen Ausbeuten sauber abdestilliert werden. Gaoni¹⁴² und Oldham *et al.*¹⁴³, die 1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**51**) in der Dufour-Drüse der Ameisenart *Aenictus rotundatus* nachgewiesen und synthetisiert hatten, waren bereits mit dieser Synthesestrategie erfolgreich. Aus ¹³C-DEPT-, ¹H,¹H-COSY- und ¹H,¹³C-COSY-Messungen konnten alle Signale zugeordnet und das Syntheseprodukt eindeutig identifiziert werden.

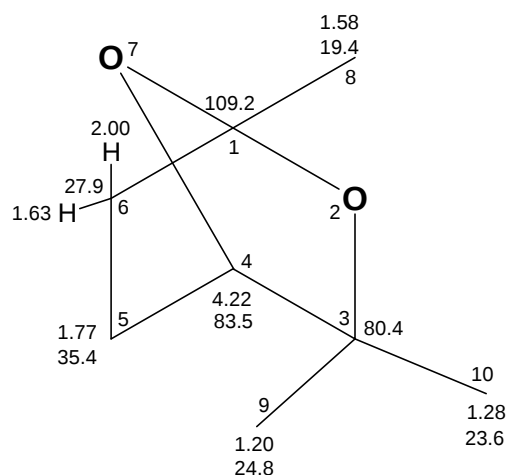


Abbildung 23 Zuordnung der ^{13}C -NMR- und ^1H -NMR-Signale des bicyclischen Acetals **51**.

In der Literatur war die Synthese von 1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**52**) bislang nicht beschrieben, konnte aber unter gleichen Reaktionsbedingungen wie oben durchgeführt werden.

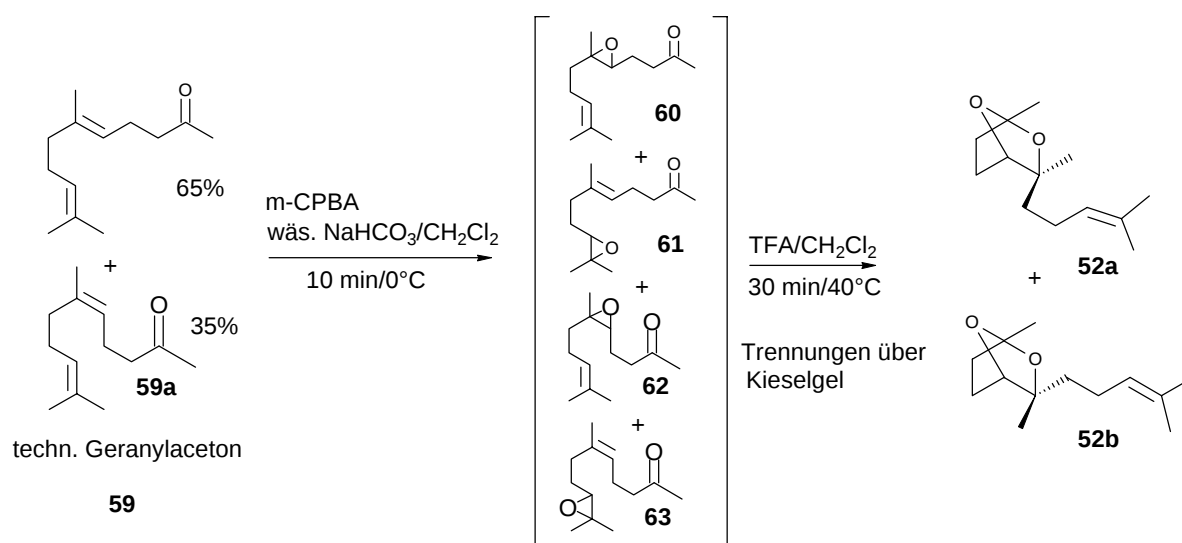


Abbildung 24 Synthese von racemischem *endo*- und *exo*-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**52a**) und (**52b**).

Die Darstellung erfolgte hier über den direkten Weg der Epoxidierung ohne vorherigen Schutz der Keto-Funktion des Edukts (**59**). Zur Synthese konnte Geranylacetone (**59**) von minderer Qualität (technisch) als Ausgangsverbindung gewählt werden. Es ist zu 35% mit dem Doppelbindungsisomer Nerylacetone (**59a**) verunreinigt, daß allerdings bei der

Umsetzung mit *m*-Chlorperbenzoesäure und anschließende Zyklisierung zu den Produkten keinen negativen Einfluss hatte. Die epoxidierten Zwischenprodukte **60-63** wurden nur mit Dichlormethan extrahiert und direkt mit TFA weiter umgesetzt. Die Auftrennung erfolgte anschließend säulenchromatographisch über Kieselgel, wobei eine Vortrennung erforderlich war. Dabei erhielt man eine Mischfraktion aus den Epoxiden **60-63**. Eine weitere Fraktion bestand aus Geranyl/Nerylaceton (**59**) und den Produkten **52a** und **52b**. Durch erneute Fraktionierung mit reinem Dichlormethan als Laufmittel, eluierten nacheinander die Ketone, die *endo*-Verbindung **52a** und die *exo*-Verbindung **52b** vom Kieselgel.

Die Zuordnung von 1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**52**) gelang mit Hilfe von ^{13}C -DEPT-, ^1H , ^1H -COSY- und ^{13}C , ^1H -COSY-Messungen. In Abbildung 25 sind die ermittelten Werte den einzelnen Kernen zugeordnet.

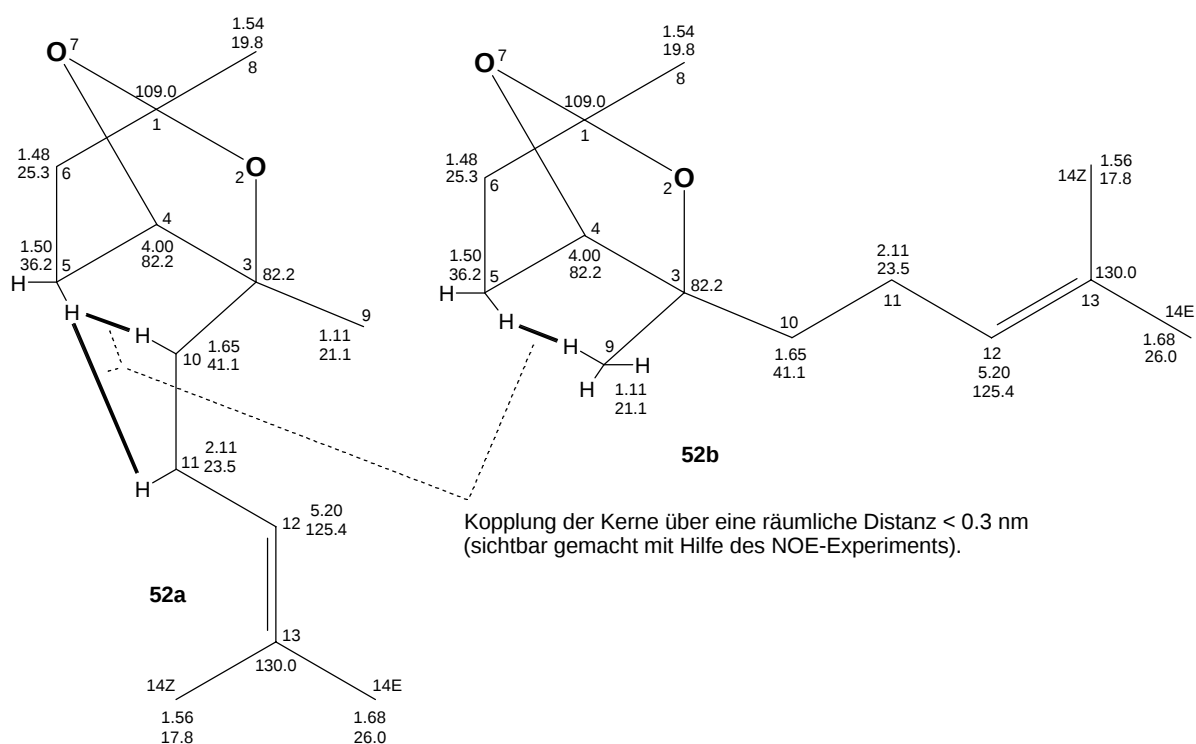


Abbildung 25 Zuordnung der ^{13}C -NMR- und ^1H -NMR-Signale, sowie die räumliche Kopplung der Substituenten bei beiden Strukturisomeren **52a** und **52b**.

Mit Hilfe von NOE-Experimenten (NOE: Nuklear Overhauser Enhancement, dt. Kern-Overhauser-Effekt) war es möglich, die Molekülgeometrien der beiden 1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan-Strukturisomere (**52a**) und (**52b**) zu

unterscheiden. Bei diesem Experiment wird eine Intensitätsvergrößerung bestimmter Signale im ^1H -NMR-Spektrum bei Anwendung der sog. Doppelresonanztechnik erreicht. Sind zwei Protonen H_A und H_B in einem Molekül in enger räumlicher Nachbarschaft ($< 0.3 \text{ nm}$) angeordnet, so dass eine Dipolwechselwirkung durch den Raum zwischen ihnen möglich ist, wird bei Einstrahlung eines zusätzlichen magnetischen Wechselfeldes, dessen Frequenz mit der Resonanzfrequenz von H_B übereinstimmt, eine Vergrößerung der Fläche unter dem Signal von H_A beobachtet. Die Unterscheidung von *endo*-**52** und *exo*-**52** ist durch die Kopplung des Protons am C5 mit den Protonen beider Methylen-Gruppen des Prenylrests zum *endo*-Produkt **52a** bzw. der Kopplung des C5-Protons mit den Protonen des Methyl-Substituenten an C3 zur *exo*-Verbindung **52b** eindeutig möglich.

3.2.1.5 Stereochemie der bicyclischen Acetale

Die bicyclischen Acetale **51** und **52** besaßen an C1 und C4 stereogene Zentren (*) und bei den Prenyl-Homologen **52** ein weiteres am C3-Kohlenstoff. Da die Konfiguration an C3 großen Einfluss auf die gesamte Struktur des Moleküls hatte, war sogar eine säulenchromatographische Trennung beider Verbindungen in ein *endo*-**52** und ein *exo*-**52** möglich (s.o.). Für die verbleibenden zwei Stereozentren waren also vier weitere Stereoisomere denkbar, aufgrund sterischer Hinderung durch die Brückenbildung aber nicht möglich. In der nachfolgenden Abbildung 26 sind alle Stereoisomere dieser bicyclischen Acetale dargestellt.

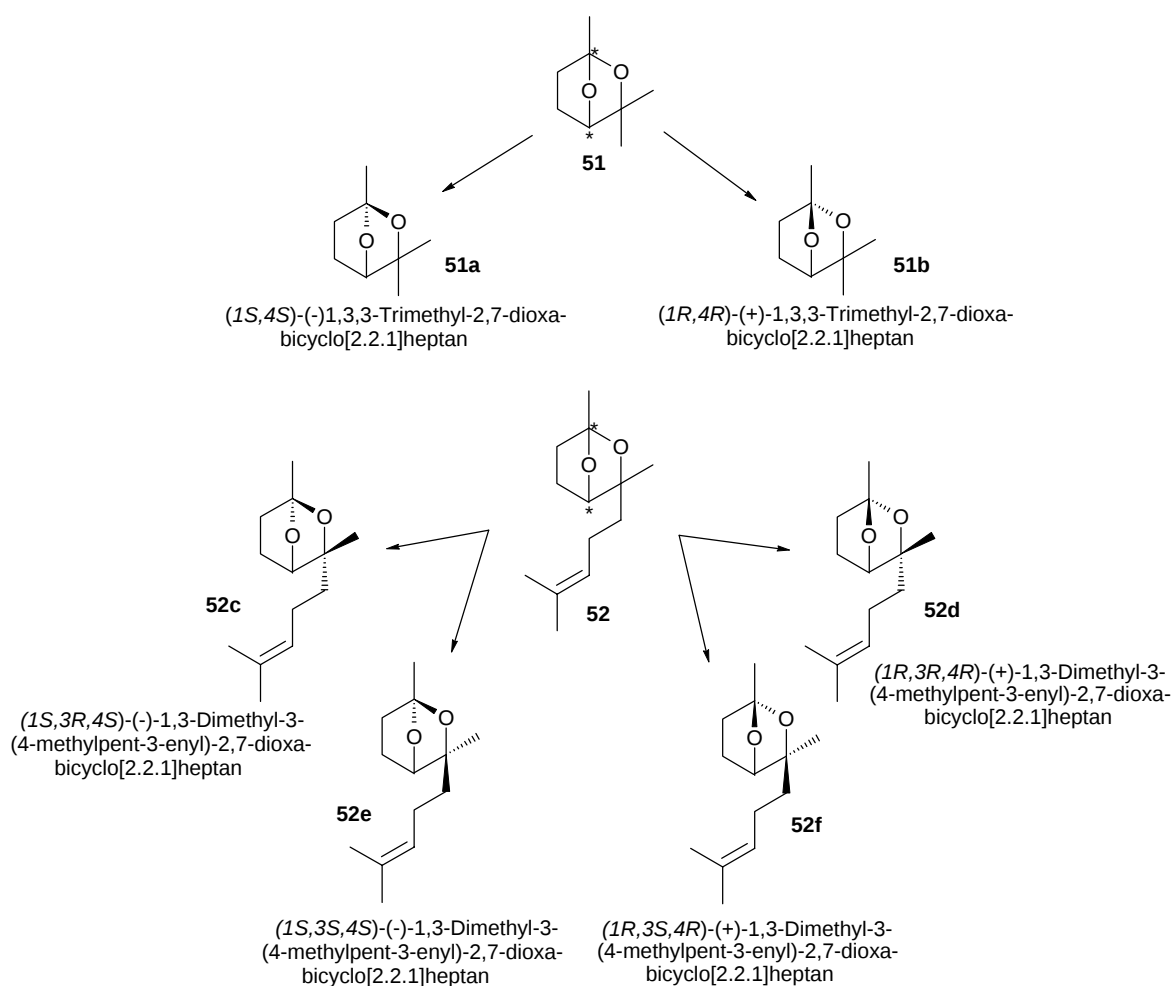


Abbildung 26 Mögliche Stereoisomere von 1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**51**) und 1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**52**).

Bei Extrakten, die von der menschlichen Hautoberfläche gewonnen werden konnten, wurde ein Enantiomerenüberschuß bei 1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**51**) von 5:1 ermittelt. Über präparative Gaschromatographie an einer chiralen Phase gelang es, das zuerst eluierende Enantiomer abzutrennen. Der Drehwert ist negativ. In einer exakten Mischung des so gewonnenen reinen Enantiomers und des zuvor synthetisierten Racemats **51**, kann das Enantiomerenverhältnis der Naturprobe nachgestellt und im Verhaltenstest auf seine Wirkung bei *Aedes aegypti* getestet werden. Zur Aufklärung der absoluten Konfiguration waren allerdings enantioselektive Synthesen nötig. Eine gaschromatographische Trennung mit Hilfe einer Cyclodextrinphase der Stereoisomere des 1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**52**) gelang, doch war eine Zuordnung der Stereoisomere von **52** in den Naturproben unmöglich, da die Verbindungen nur in sehr niedrigen Konzentrationen im Bukett der menschlichen Haut enthalten waren. Es war somit leider nicht möglich die Enantiomerenüberschüsse (ee) in den Naturproben zu ermitteln.

3.2.1.6 Stereoselektive Synthese der bicyclischen Acetale

Für die stereoselektive Synthese der bicyclischen Acetale wurde AD-mix als Dihydroxylierungsreagens¹⁴⁴ für die Edukte Sulcaton (**54**) bzw. Geranylaceton (**59**) gewählt. Der AD-mix stellte in der Syntheseplanung ein chirales Hilfsreagenz dar¹⁴⁵, bestehend aus $K_3Fe(CN)_6$, K_2CO_3 , $K_2OsO_2(OH)_4$ ¹⁴⁶ und 1,4-*bis*-(9-*O*-Dihydrochinidin)-phthalazin ((DHQD)₂-PHAL) oder 1,4-*bis*-(9-*O*-Dihydrochinin)-phthalazin ((DHQ)₂-PHAL). In Gegenwart der Osmium-Verbindung konnten die Olefine **54** und **59** asymmetrisch dihydroxyliert werden. Da Kaliumhexacyanoferrat(III)/Kaliumcarbonat als CO-Oxidantien in den Gemischen enthalten waren, wurde die Umsetzung mit den Olefinen in einem 1:1-Gemisch aus Wasser und *tert.*-Butanol durchgeführt. Die Reaktion fand somit in einem Zwei-Phasen-System bei 0°C statt^{147,148,149}. AD-mix- α enthielt den (DHQ)₂-PHAL-Liganden, (DHQD)₂-PHAL war Bestandteil vom AD-mix- β .

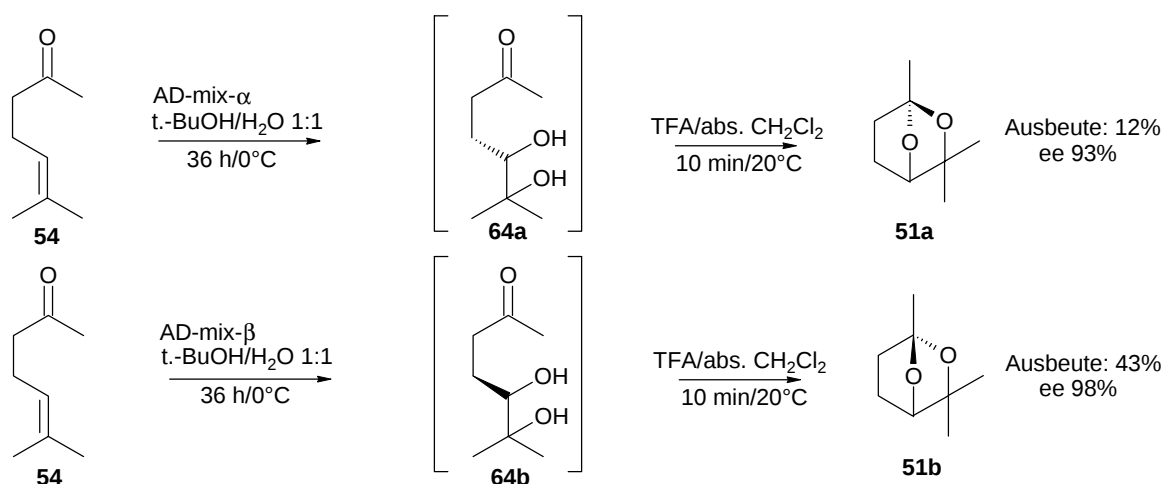


Abbildung 27 Stereoselektiver Syntheseweg I über AD-mix.

Die chiralen Zwischenprodukte **64a** und **64b** wurden vor der Zyklisierung mit Dichlormethan extrahiert, um Bestandteile des AD-mix zu entfernen. Abbildung 27 zeigt die Reaktion des *bisnor*-Monoterpenoids **51**. Abbildung 28 stellt die vier möglichen Stereoisomere des Prenyl-Homolgen **52** dar. Die enantioselective Synthese von (1*R*,4*R*)-(+)- und (1*S*,4*S*)-(-)-1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**51a**) und (**51b**) gelang bislang nur Brimble *et al.*, die diese Verbindung im Bukett von „Granny Smith“-Äpfeln identifiziert hatten¹⁵⁰. Über die Enantiomerenzusammensetzung gaben die Autoren allerdings keine weiteren Informationen. Die Enantiomerenüberschüsse der bicyclischen Acetale **51** und **52** wurden mit Hilfe einer Heptakis-(6-*O*-*tert.*-butyldimethylsilyl-2,3-di-*O*-methyl- β -cyclodextrinphase ermittelt.

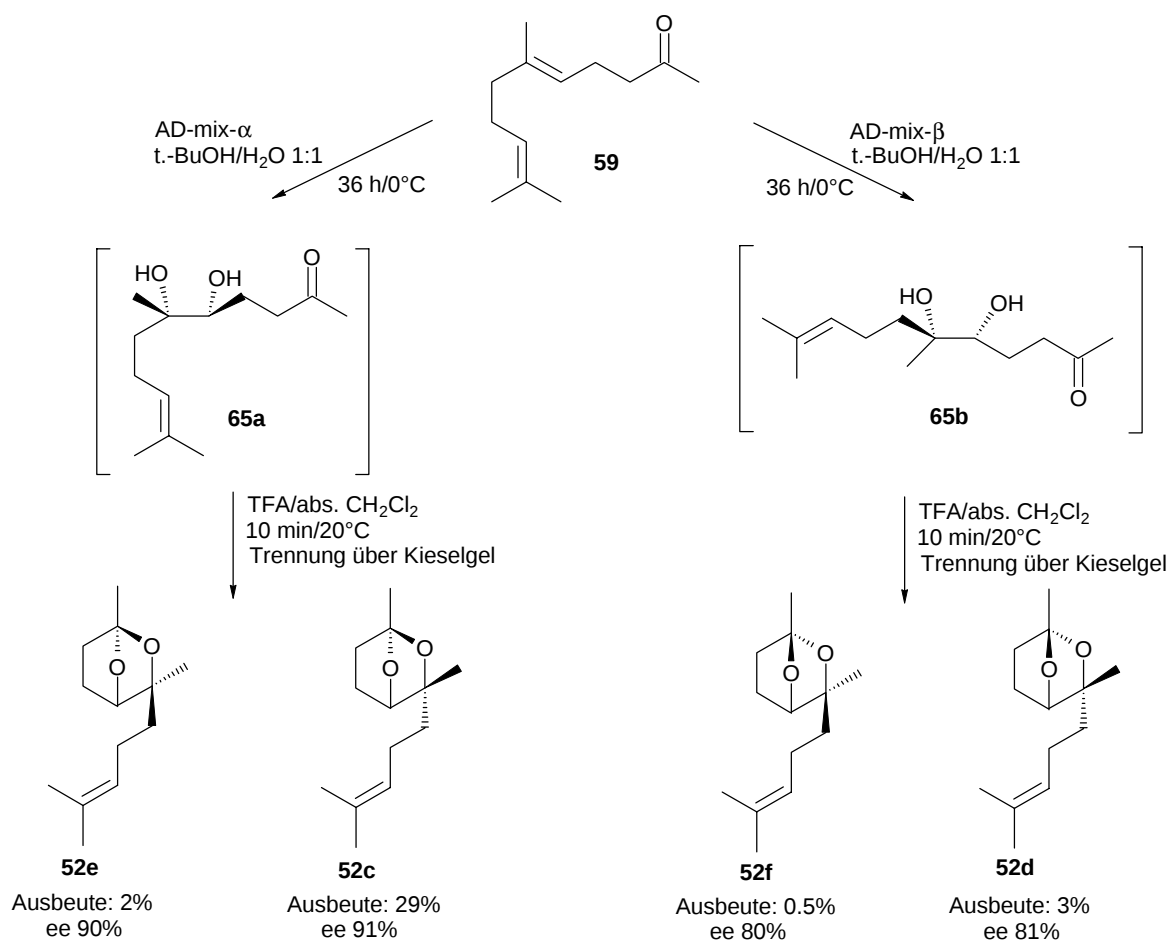


Abbildung 28 Stereoselektiver Syntheseweg II über AD-mix.

3.2.2 Thermische Desorption des SuperQ-Filters nach der Anreicherung vom Trägermaterial

Abbildung 29 zeigt das Chromatogramm der thermischen Desorption eines SuperQ-Filters, der zuvor mittels Headspace vom beladenen Trägermaterial gewonnen werden konnte. Zur besseren Trennung der polaren Verbindungen wurde eine FFAP-Kapillarsäule (Free Fatty Acid Phase) als stationäre Phase gewählt.

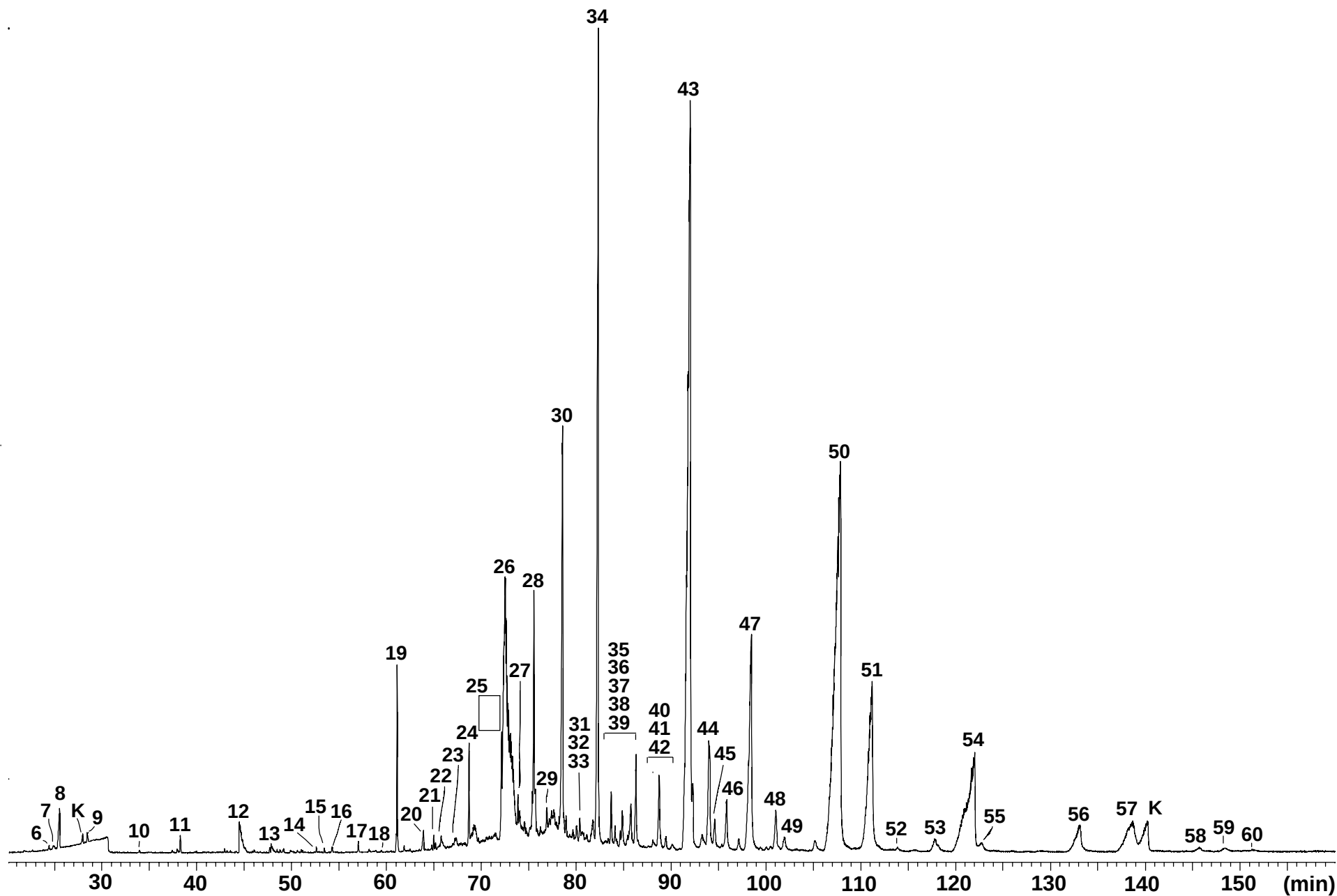


Abbildung 29 Totalionenstromchromatogramm vom Headspace des Trägermaterials unter Bedingungen der Kryofocussierung (50 m FFAP fused silica-Kapillare; Temperaturprogramm: 30°C, 15 min. isotherm, 3°C/min. auf 220°C, 100 min. isotherm).

Tabelle 2 zeigt die identifizierten Verbindungen dieses Versuchs. Neben dem bereits beschriebenen 1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**51**), Sulcaton (**54**) und Squalen (**47**) konnten keine weiteren terpenoiden Komponenten nachgewiesen werden. Auch die zuvor identifizierten aliphatischen Aldehyde konnten hier nicht detektiert werden. Hauptkomponenten stellten im wesentlichen die Fettsäure mit Kettenlängen von C₁₀-C₁₈ dar. Es konnten neben ungesättigten vor allem viele methylverzweigte Fettsäuren identifiziert werden. Aromatische Kohlenwasserstoffe waren auf Verunreinigungen, resultierend aus der thermischen Behandlung des SuperQ, zurückzuführen. Die in Spuren auftretende Verbindung **S42** konnte nicht identifiziert werden (s.a. Abschnitt 3.2.3.1). Hervorhebenswert war das Auftreten von 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydropyran-4-on (**S29**), dass auch eine Komponente der Inhaltsstoffe der Muttermilch darstellt (s.a. Abschnitt 4.3.2.3). Auf Grund der guten Trennleistung der Kapillarsäule für sehr polare Verbindungen konnte sogar L-Milchsäure (**S26**) detektiert werden.

Nummern aus Abbildung 29	Verbindung	
S1	<i>n</i> -Hexan	H
S2	Dichlormethan	H
S3	Ethanol	H
S4	Toluol	H
S5	Undecan	S
S6	<i>p</i> -Xylol	S
S7	<i>m</i> -Xylol	S
S8	<i>o</i> -Xylol	N
S9	1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan	N
S10	Mesitylen	S
S11	6-Methyl-5-hepten-2-on	N
S12	Essigsäure	N
S13	Benzaldehyd	S
S14	2-(2-Ethoxymethoxy)-ethanol	S
S15	Buttersäure	S
S16	3-Methylbuttersäure	S
S17	Pentansäure	N
S18	Acetamid	S
S19	Hexansäure	H
S20	Dimethylsulfon	N
S21	Heptansäure	N
S22	Tetradecanol	S
S23	6-Methylheptansäure	S
S24	Octansäure	H
S25	Nonansäure	H
S26	L-Milchsäure	H
S27	8-Methylnonansäure	S
S28	Decansäure	H

S29	3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydropyran-4-on	S
S30	Hexadecanol	H
S31	Undecansäure	N
S32	7-Methylundecansäure*	S
S33	10-Methylundecansäure	S
S34	Laurinsäure	H
S35	8-Methyldodecansäure*	S
S36	11-Methyldodecansäure	N
S37	10-Methyldodecansäure*	N
S38	Octadecanol	H
S39	Tridecansäure	H
S40	9-Methyltridecansäure*	S
S41	12-Methyltridecansäure	N
S42	m/z 43, 44, 45, 70, 72, 87, 115	N
S43	Myristinsäure	H
S44	10-Methyltetradecansäure*	S
S45	13-Methyltetradecansäure	N
S46	12-Methyltetradecansäure*	N
S47	Pentadecansäure	H
S48	11-Methylpentadecansäure*	N
S49	14-Methylpentadecansäure	N
S50	Palmitinsäure	H
S51	Palmitoleinsäure	H
S52	12-Methylhexadecansäure*	S
S53	15-Methylhexadecansäure	S
S54	Squalen	H
S55	Heptadecansäure	N
S56	Stearinsäure	H
S57	Ölsäure	H
S58	Linolsäure	S
S59	Linolensäure	S
S60	Nonadecansäure	S

Tabelle 2 Inhaltsstoffe der menschlichen Hautoberfläche vom Trägermaterial Seesand (thermodesorbiert).

3.2.2.1 Identifizierung von methylverzweigten Fettsäuren

Die freien Fettsäuren der menschlichen Hautoberfläche stellten ein komplexes Gemisch aus unverzweigten, ungesättigten und methylverzweigten Carbonsäuren dar. Während die unverzweigten Fettsäuren einfach zuzuordnen waren, stellten die methylverzweigten Säuren höhere Anforderungen an die Trennleistung der Kapillarsäulen bzw. die Empfindlichkeit des Massenspektrometers speziell im höheren Massenbereich. Erschwerend kam hinzu, dass sie in den Proben nur als Neben- oder Spurenkomponenten vorhanden waren. Im wesentlichen konnten mit dieser Methode drei Verzweigungsserien der Fettsäuren nachgewiesen werden, wobei die Methylgruppe am vorletzten (*iso*-Position), drittletzten (*anteiso*-Position) und

fünftletzten Kohlenstoff der Ketten substituiert war. Abbildung 30 zeigt alle identifizierten Verbindungen dieser drei Serien.

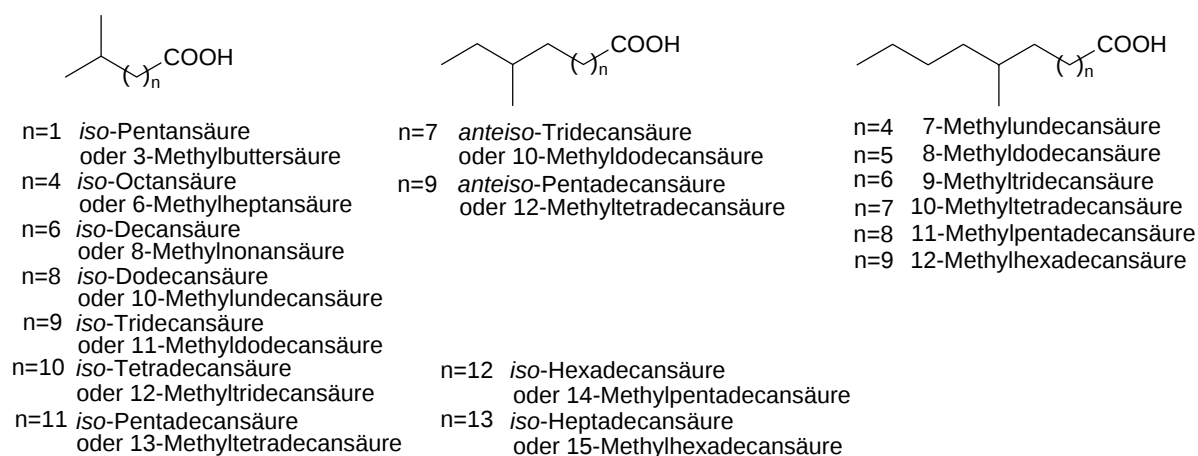


Abbildung 30 Identifizierte methylverzweigte Fettsäuren (Kryofocussierung vom beladenen Trägermaterial). Die Methylgruppen sind in *iso*- und *anteiso*-Stellung, sowie am fünftletzten Kohlenstoffatom der Kette substituiert.

Die *iso*-Säuren waren kommerziell erhältlich, alle anderen verzweigten Fettsäuren mußten zur eindeutigen Zuordnung synthetisiert werden.

3.2.2.2 Massenspektren und Fragmentierungsschemata methylverzweigter Fettsäuren

Neben Zuordnungen aufgrund des Retentionsverhaltens verzweigter Carbonsäuren im Gaschromatogramm waren Strukturaufklärungen anhand ihrer Massenspektren möglich. Dabei dominierten natürlich die für fast alle aliphatischen Carbonsäuren charakteristischen Ionen m/z 60 und m/z 73 die Massenspektren (Ausnahme stellte das Massenspektrum in Abbildung 43 der 2-Methyltetradecansäure (**66**) dar). M/z 60 bildet sich durch β -Spaltung mit gleichzeitiger Wasserstoffverschiebung über einen sechsgliedrigen Übergangszustand (McLafferty-Umlagerung). Die Doppelbindung wird gleichzeitig verschoben und ein Neutralteilchen mit den β - und γ -ständigen Atomen ausgestoßen. M/z 73 wird durch γ -Spaltung erzeugt.

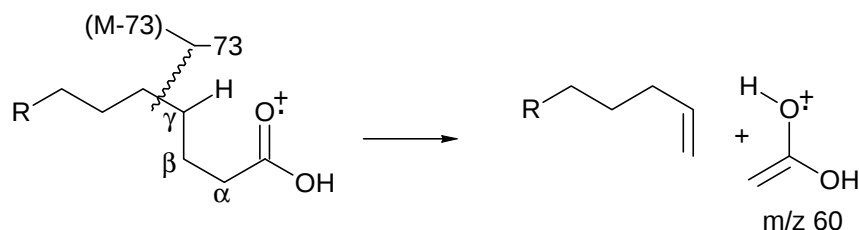


Abbildung 31 Bildung des McLafferty-Ions m/z 60 und der γ -Bruch zu m/z 73 der Carbonsäuren.

Bei Verzweigungen trat α -Spaltung neben der Methylgruppe ein; entsprechende Ionen waren deutlich sichtbar. Sind die Fragmente allerdings kleinere Bruchstücke, wie z. B. m/z 43 war es wichtig, dass das Molekölion M^+ detektiert wurde, da nur $M-43$ Aussagen über die Position der Methylgruppe zuließ. In den nachfolgenden Massenspektren ist jeweils ein Beispiel der drei oben beschriebenen Methylverzweigungsserien abgebildet. Die charakteristischen Bruchstellen sind dabei hervorgehoben.

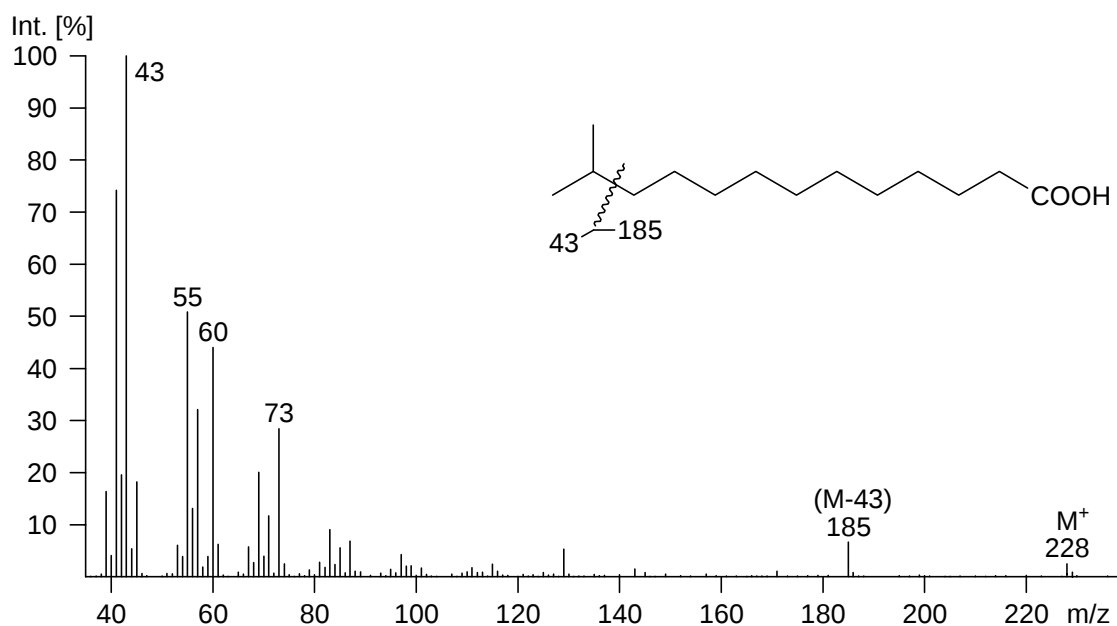


Abbildung 32 Massenspektrum von iso-Tetradecansäure (12-Methyltridecansäure) (67).

Die Serie der *iso*-Carbonsäuren wiesen ein $M-43$ Fragmentation auf, verursacht durch eine α -Spaltung vor der Methylverzweigung. Der Bruch nach der Verzweigung ($M-15$) war allerdings nicht zu sehen.

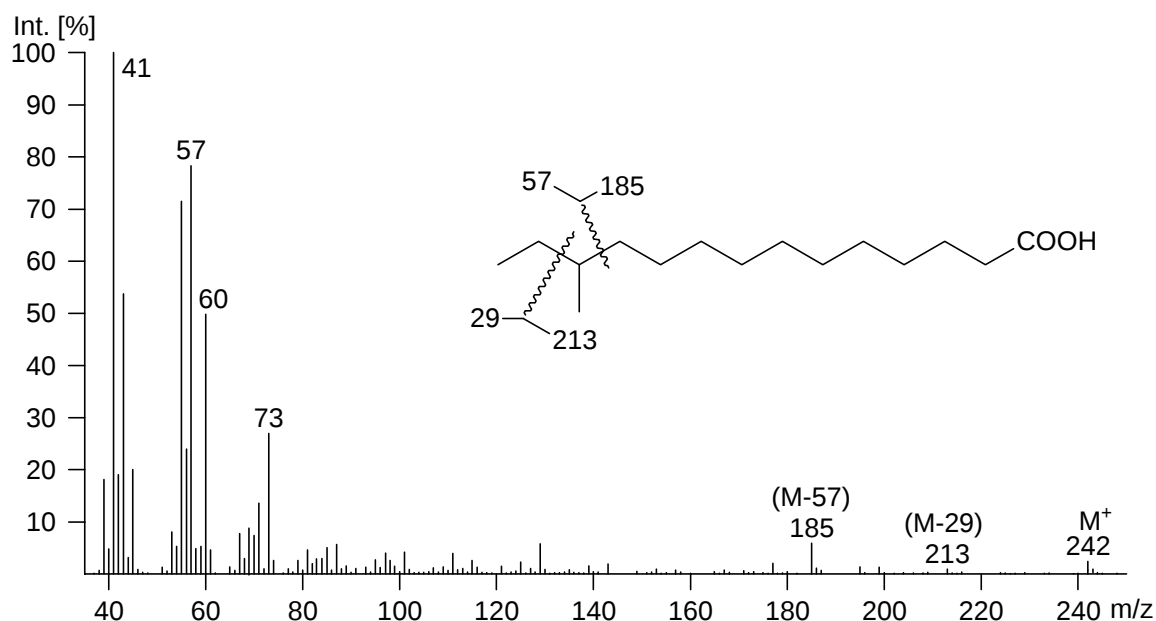


Abbildung 33 Massenspektrum von *anteiso*-Pentadecansäure (12-Methyltetradecansäure) (**68**).

Die *anteiso*-Pentadecansäure (**68**) spaltete vor und hinter der Verzweigung in Fragmentionen mit m/z 185 und m/z 213 (schwächer) auf. Das Gegenion mit m/z 57 war das zweit intensivste Ion im Spektrum. Auf Grund der Einstellungen des Quadropols im Massenspektrometer wurde m/z 29 nicht detektiert, da nur Massenzahlen oberhalb m/z 35 erfaßt wurden.

In Abbildung 34 ist das Massenspektrum von 8-Methyldodecansäure (**69**) dargestellt. Es wies Ionen auf, die auf eine α -Spaltung neben der Verzweigung hindeuteten. Alle Bruchstücke konnten im Spektrum nachgewiesen werden (57/157 und 85/129). Charakteristisch für diese Serie waren die Ionen m/z 57 und m/z 85, die die Position der Methylverzweigung in der Kette festlegten und die auch in höheren Homologen nachweisbar waren. Die jeweiligen Gegenionen variieren je nach Kettenlänge der entsprechenden Fettsäure. Analog zur Abbildung 30 konnten für $n = 9$ die Ionenpaare 57/213 sowie 85/185 detektiert werden. Die Massenspektren dieser Verbindungsklasse sind im Anhang dieser Arbeit abgebildet.

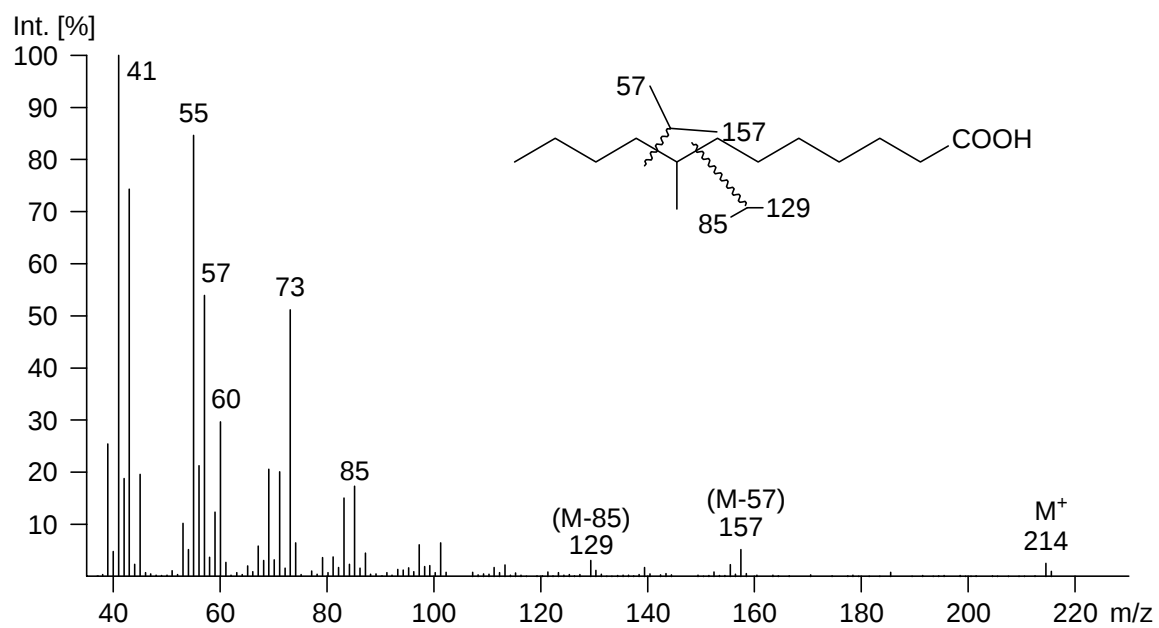


Abbildung 34 Massenspektrum von 8-Methyldodekansäure (69).

In der Probe GEM012 konnten diese homologen methylverzweigten Fettsäuren in höheren Konzentrationen nachgewiesen werden, wie das nachfolgende „Single Ion Monitoring“ (SIM)-Chromatogramm mit m/z 60 verdeutlicht.

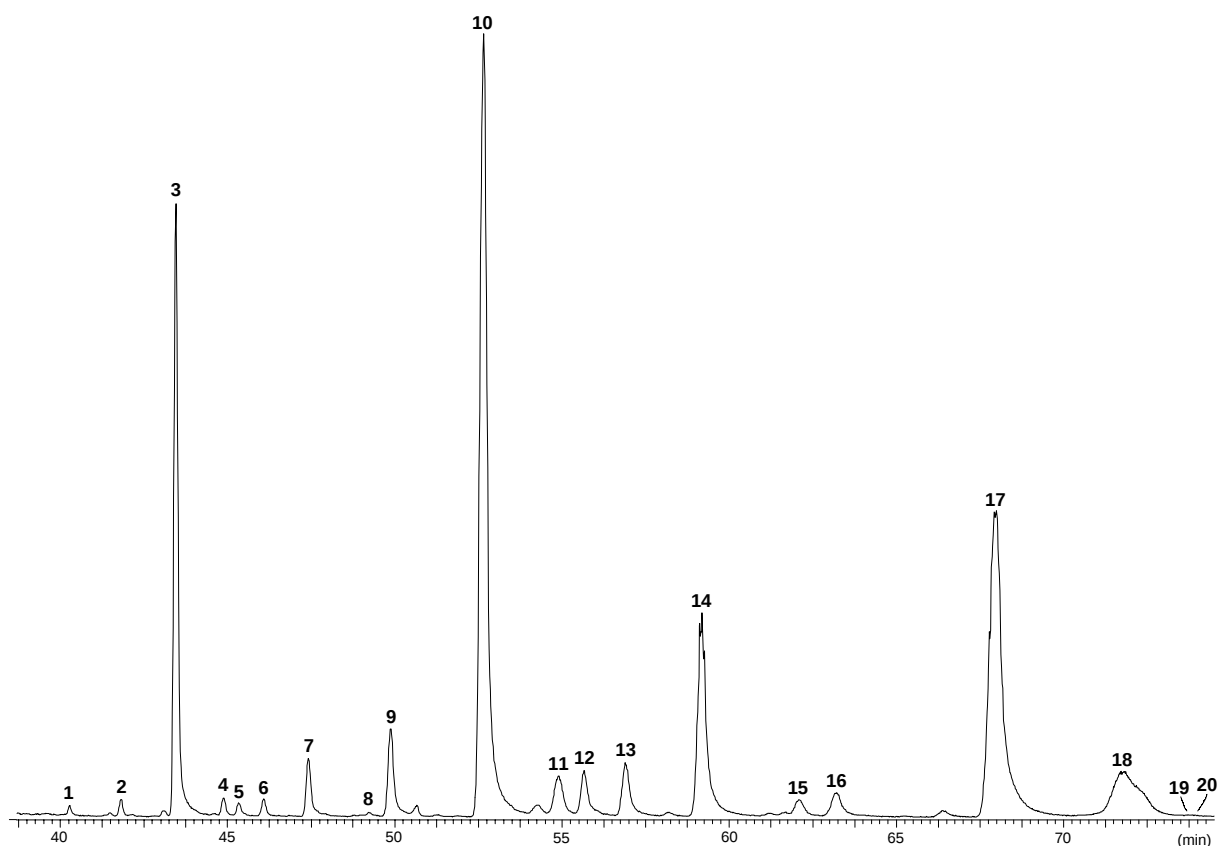


Abbildung 35 Ausschnitt aus dem SIM 60 Chromatogramm der Probe GEM012. (50 m FFAP fused silica-Kapillarsäule; Temperaturprogramm: 60°C, 10 min. isotherm, 5°C/min. auf 220°C, 30 min. isotherm).

1 7-Methylundecansäure, 2 *iso*-Dodecansäure, 3 Laurinsäure, 4 8-Methyldodecansäure, 5 *iso*-Tridecansäure, 6 *anteiso*-Tridecansäure, 7 Tridecansäure, 8 9-Methyltridecansäure, 9 *iso*-Tetradecansäure, 10 Myristinsäure, 11 10-Methyltetradecansäure, 12 *iso*-Pentadecansäure, 13 *anteiso*-Pentadecansäure, 14 Pentadecansäure, 15 11-Methylpentadecansäure, 16 *iso*-Hexadecansäure, 17 Palmitinsäure, 18 Palmitoleinsäure, 19 12-Methylhexadecansäure, 20 *iso*-Heptadecansäure.

3.2.2.3 Synthesen der verzweigten Fettsäuren

Insgesamt wurden 17 methylverzweigte Fettsäuren dargestellt. Diese Aufgabe war am besten durch ein „Baukastenprinzip“ zu lösen, daß eine variable Zusammenstellung der jeweiligen Edukte und eine systematische „Verschiebung“ der Methylverzweigung in den Ketten ermöglichte. Der Methylsubstituent wurde dabei von einem der beiden Ausgangssubstanzen in die Zielverbindung eingebracht. Als Kopplungsreaktion diente in allen Fällen die Wittigreaktion^{151,152,153,154,155}. Abbildung 36 zeigt zwei retrosynthetische Wege zum Aufbau methylverzweigter Fettsäuren unterschiedlicher Kettenlängen, in der variabel an zwei Positionen eine unterschiedliche Anzahl von Kohlenstoffeinheiten eingebaut werden konnten, um die Position der Methylverzweigung entlang der Kette zu variieren.

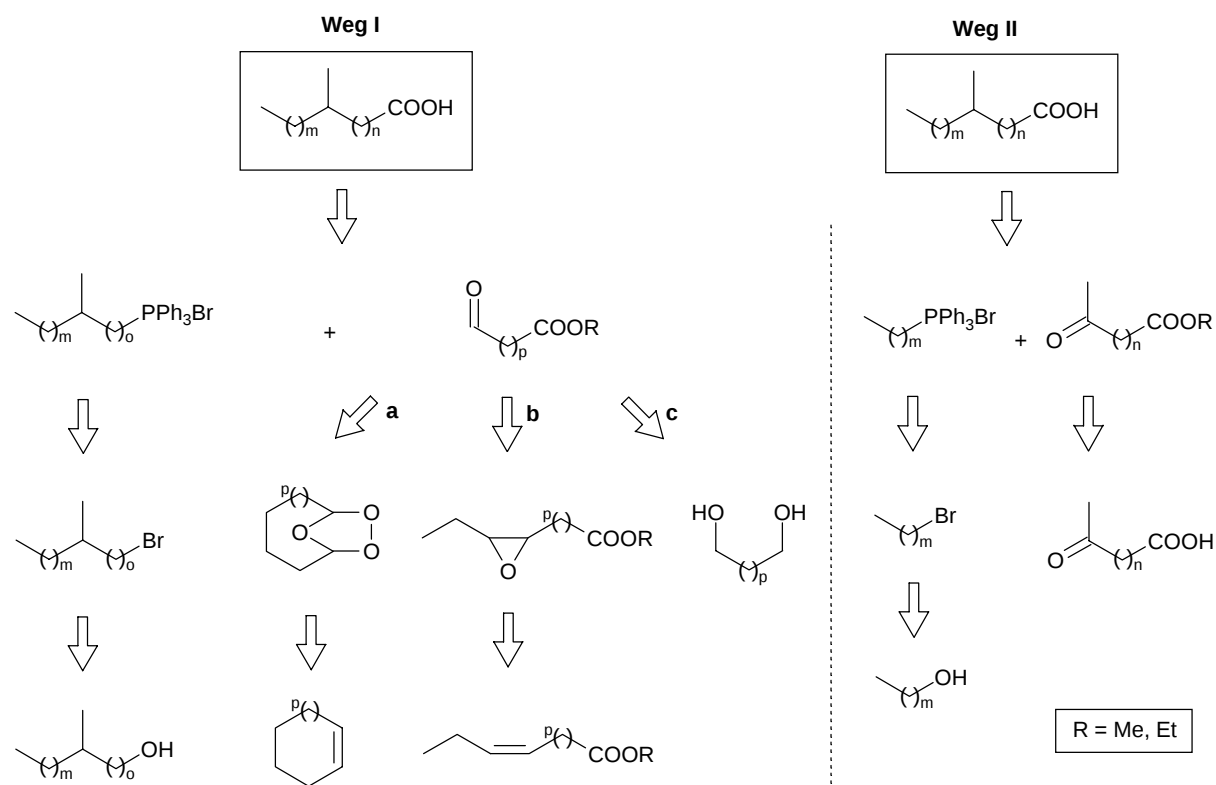
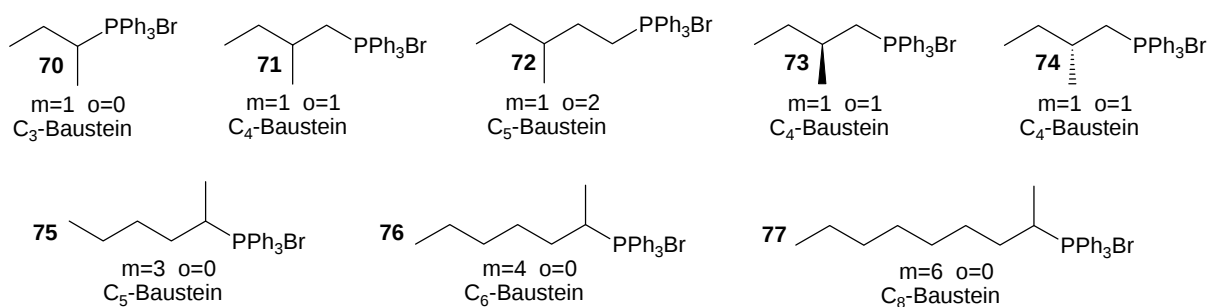


Abbildung 36 Retrosynthetischer Synthesepfad zur Darstellung methylverzweigter Fettsäuren.

Mit dem Weg I wurde die Verzweigung durch das entsprechende Wittigsalz in die Verbindung eingebracht. Für $m = 1$ und $o = 0, 1$ oder 2 waren *anteiso*-methylverzweigte Wittigsalze erhältlich, die mit entsprechenden Carbonylverbindungen unterschiedlicher Kettenlängen mit $p = 0, 1, 2, 3, 4, 7$ oder 8 umgesetzt wurden. Mit $m > 1$ verschob sich die Verzweigung entlang der Kette. Gleiches galt auch für den Weg II, wobei hier die Verzweigung durch die Reaktion mit einer Keto-Verbindung und eines *n*-Alkylphosphoniumbromid eingeführt wurde. Abbildung 37 zeigt die verwendeten Wittigsalze in diesem „Baukastensystem“.

"Wittigsalz-Bausteine" für den Weg I



"Wittigsalz-Bausteine" für den Weg II

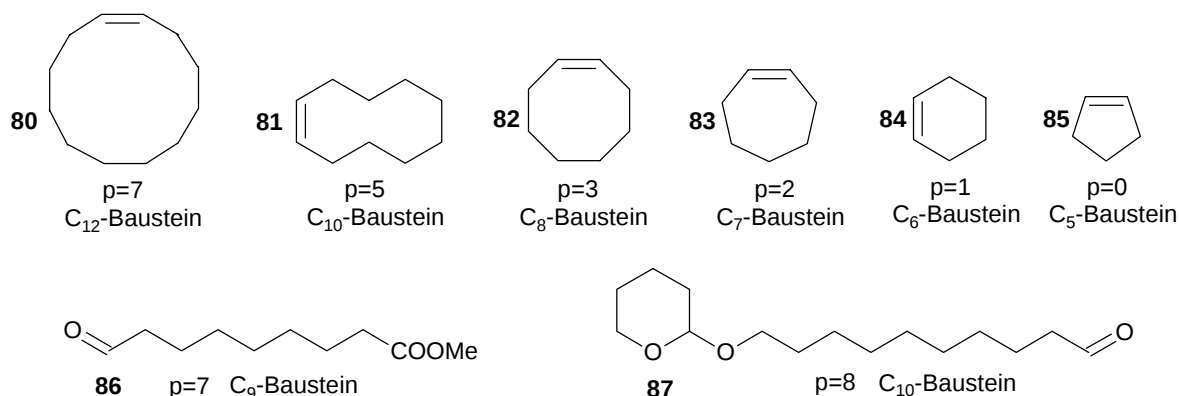


Abbildung 37 Wittigsalze als Bausteine **70-79** zur Synthese methylverzweigter Fettsäuren.

Die Wittigsalze wurden aus den Alkylbromiden mit Triphenylphosphin in abs. Toluol dargestellt¹⁵⁶ und ggf. zuvor aus den entsprechenden Alkoholen synthetisiert¹⁵⁷. Die Salze **75**, **76** und **77** wurden dargestellt, indem die *n*-Alkyl-Wittigsalze mit *n*-Butyllithium deprotoniert und anschließend mit Methyljodid in α -Stellung methyliert wurden.

Die Salze wurden mit starken Basen, wie z.B. *n*-Butyllithium zu den Phosphoniumyliden umgesetzt. Reaktion mit den in Abbildung 38 angeführten Carbonyl-Bausteinen mit nachfolgender Verseifung und Hydrierung lieferten die Zielverbindungen.

Lieferanten für Carbonyl-Bausteine für den Weg I



Carbonyl-Bausteine für den Weg II

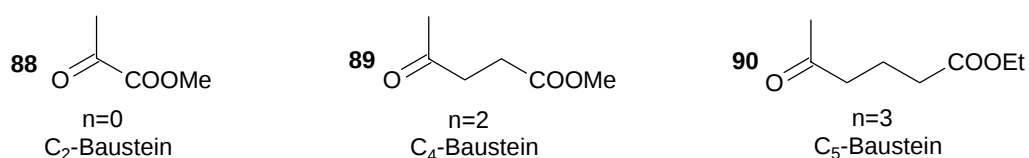


Abbildung 38 Zyklische Olefine **80-85** und Carbonyl-Verbindungen **86-90** verschiedener Kettenlängen zur Synthese methylverzweigter Fettsäuren.

Die Cycloalkene **80-85** in Abbildung 38 wurden durch Ozonolyse bei -78°C zum Ozonid oxidiert^{158,159,160} und anschließend durch Wittigreaktion direkt zu den ungesättigten, verzweigten Carbonsäuren umgesetzt¹⁶¹. Dabei bildete sich *in situ* ein bifunktionales Adukt, dass einerseits der Wittigkupplung unterliegt und andererseits die Carbonsäure-Funktion lieferte^{162,163,164,165}. Während Hon¹⁶⁴ *et al.* Cyclohexen in das entsprechende Ozonid und anschließend mit 2.2 Äquivalenten Carbmethoxymethylidentriphenylphosphan ($\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCO}_2\text{Me}$) zu (*E,E*)-2,8-Decadiendisäuredimethylester umsetzte, gelang es Farmer *et al.*¹⁶¹ in hohen Ausbeuten aus einem terminalen Alken über Ozonierung und nachfolgenden Umsatz mit dem Wittigsalz ein reines (*Z*)-Isomer darzustellen.

Generell wird die Ozonierung in abs. Dichlormethan durchgeführt, um den Endpunkt der Reaktion an der Blaufärbung durch überschüssiges Ozon in der Lösung zu erkennen. Dichlormethan führt aber bei Zugabe der deprotonierten Wittigsalz-Lösung zu unerwünschten Nebenreaktionen. Dieses konnte durch Lösungsmittelwechsel nach beendeter Ozonolyse oder durch Einsatz eines aprotischen Lösungsmittels, z.B. Tetrahydrofuran unterbunden werden. Farmer verwendete z.B. *tert.*-Butylmethylether als Lösungsmittel für die Ozonierung und titrierte die Reaktionslösung mit der Ylid-Lösung in THF bis zu einer leichten Verfärbung.

Abbildung 39 stellt ein Schema zur Synthese von 7 methylverzweigten Fettsäuren dar, die über den Weg Ia erhalten wurden.

Reaktionen über Weg Ia

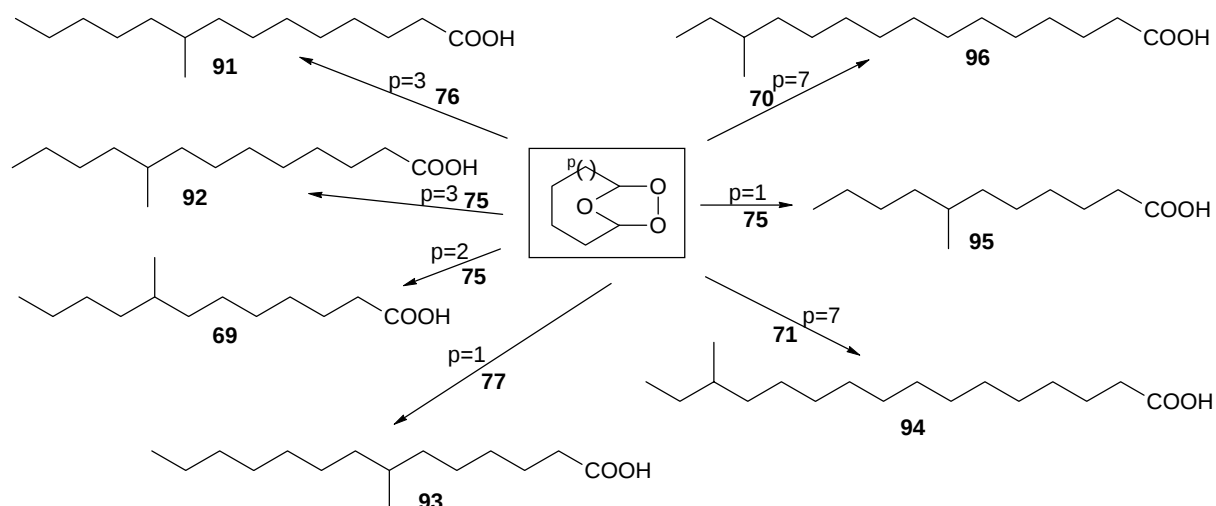


Abbildung 39 Synthese methylverzweigter Fettsäuren mit zyklischen Ozoniden und Wittigsalzen sowie nachfolgender Reduktion mit Wasserstoff (Weg Ia).

Der Einsatz von Cycloalkenen bot flexible Bausteine für die Wahl der Kettenlänge vor der Methylverzweigung, da die Verzweigung durch das entsprechende Wittigsalz eingeführt wurde. Käuflich zu erwerben waren die Bausteine Cyclopenten (C_5 -) (**85**), Cyclohexen (C_6 -) (**84**), Cycloocten (C_8 -) (**82**) und Cyclododecen (C_{12} -Baustein) (**80**). Cyclohepten (C_7 -Baustein) (**83**) konnte leicht aus Cycloheptanol dargestellt werden. Cyclodecen (C_{10} -Baustein) (**81**) war dabei relativ teuer und konnte durch den Einsatz von 10-(Tetrahydropyran-2-yloxy)-decanal (**87**), welches ausgehend von 1,10-Decandiol über zwei Syntheseschritte leicht dargestellt werden konnte, substituiert werden. Der C_9 -Baustein **86** wurde durch oxidative Spaltung von Ölsäuremethylester (**97**) mit *m*-Chlorperbenzoesäure (*m*-CPBA) und Periodsäure erhalten.

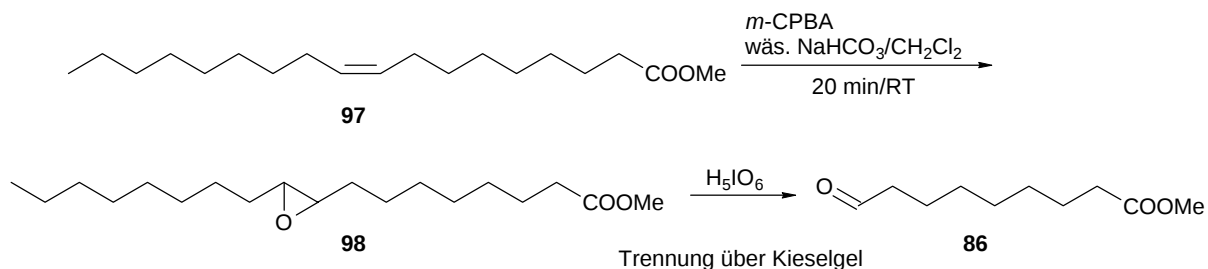


Abbildung 40 Synthese von 9-Oxononansäuremethylester (**86**).

Die Reaktion der Wittigsalze mit dem C_9 -Baustein lieferte die ungesättigten Fettsäuren, die zu den gewünschten Produkten hydriert wurden (Abbildung 41).

Reaktionen über Weg Ib

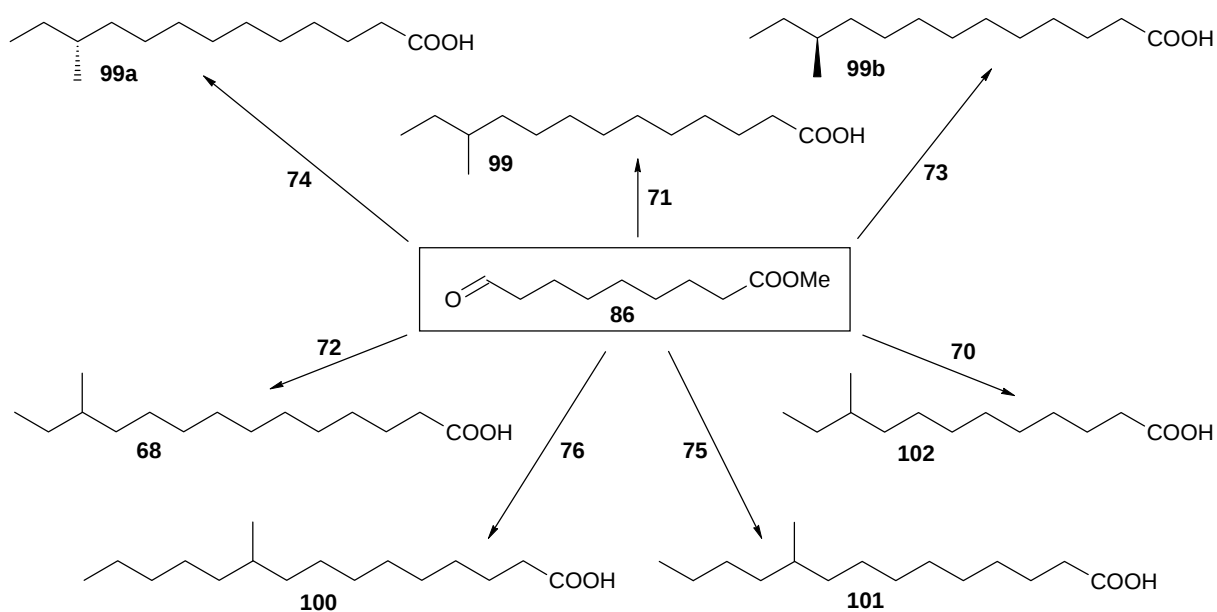


Abbildung 41 Synthese methylverzweigter Fettsäuren mit Wittigsalzen und 9-Oxononansäuremethylester (**86**) sowie nachfolgender Reduktion mit Wasserstoff (Weg Ib).

Neben Ozoniden von Cycloalkenen oder Aldehyden konnten auch kurzkettige α -, γ - und δ -Ketoester zur Wittigkupplung mit *n*-Alkyltriphenylphosphoniumbromiden eingesetzt werden. Die Methylverzweigung wurde hierbei über den „Carbonyl-Baustein“ eingeführt.

Reaktionen über Weg II

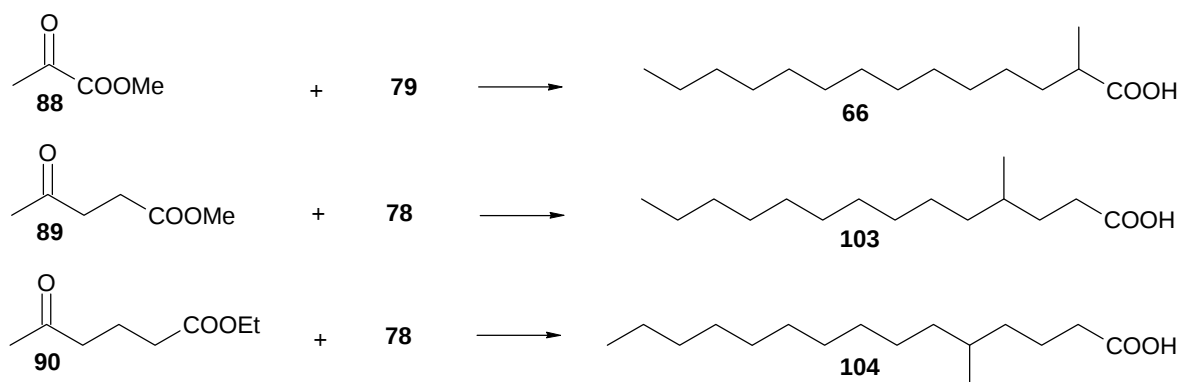


Abbildung 42 Synthese methylverzweigter Fettsäuren mit Wittigsalzen und „Carbonyl-Bausteinen“ verschiedener Kohlenstoffkettenlänge sowie nachfolgender Reduktion mit Wasserstoff (Weg II).

Ein interessantes Massenspektrum lieferte 2-Methyltetradecansäure (**66**), die als McLafferty-Ion m/z 74 statt des typischen m/z 60 zeigte. Auch das durch γ -Spaltung erzeugte m/z 87 Fragmention wies eine um 14 g/mol höhere Masse auf als üblich. Diese Fragmentierung könnte

bei nicht sorgfältiger Interpretation des analytischen Datensatzes die Anwesenheit eines Methylesters vortäuschen. Die Verbindung war in den Naturextrakten nicht enthalten.

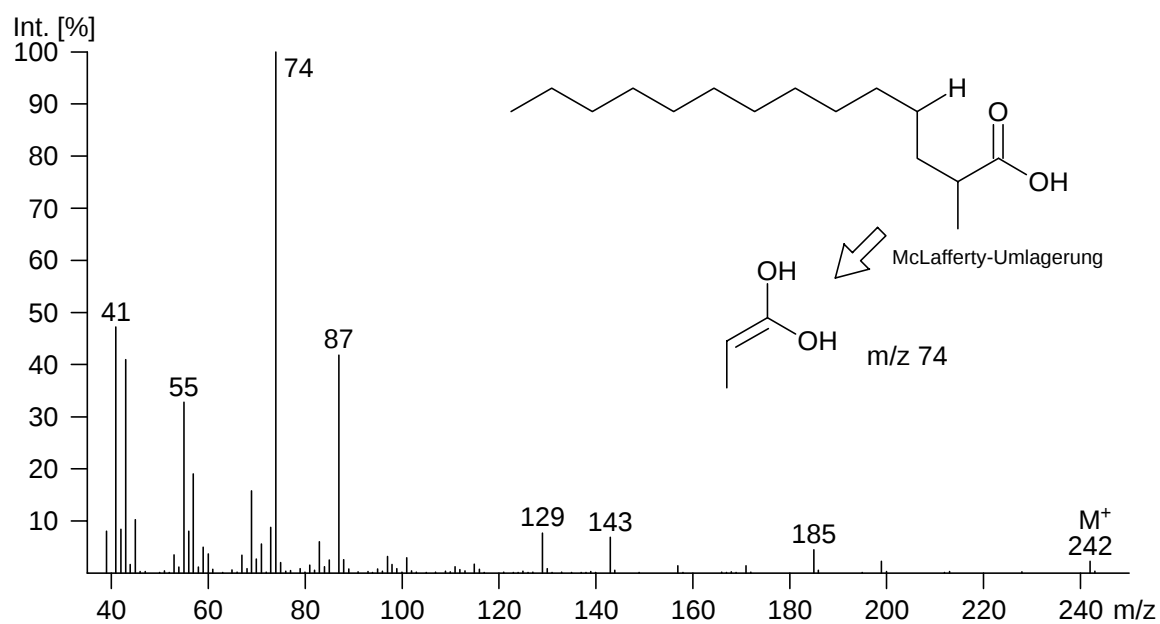


Abbildung 43 Massenspektrum von 2-Methyltetradecansäure (66).

3.2.3 Thermische Desorption von Hautablationen direkt vom Trägermaterial

Die thermische Desorption von Hautablationen direkt vom Trägermaterial Seesand, diente eigentlich als Vorversuch für die Anreicherung flüchtiger Substanzen mit Hilfe von SuperQ-Filtern. Vor und nach der Desorption wurde die Wirkung des beladenen Sandes auf *Aedes aegypti* überprüft, wobei der zwischen den Händen geriebene Sand ohne weitere Behandlung eingesetzt wurde. Leichter flüchtige Substanzen wurden dabei nicht im Closed-Loop-System von schwerflüchtigen Komponenten der Hautoberfläche getrennt. Unter Anwendung der bereits ausführlich beschriebene Methode der Kryofocussierung wurde das beladene Trägermaterial im Hinblick auf adsorbierte Substanzen gaschromatographisch untersucht.

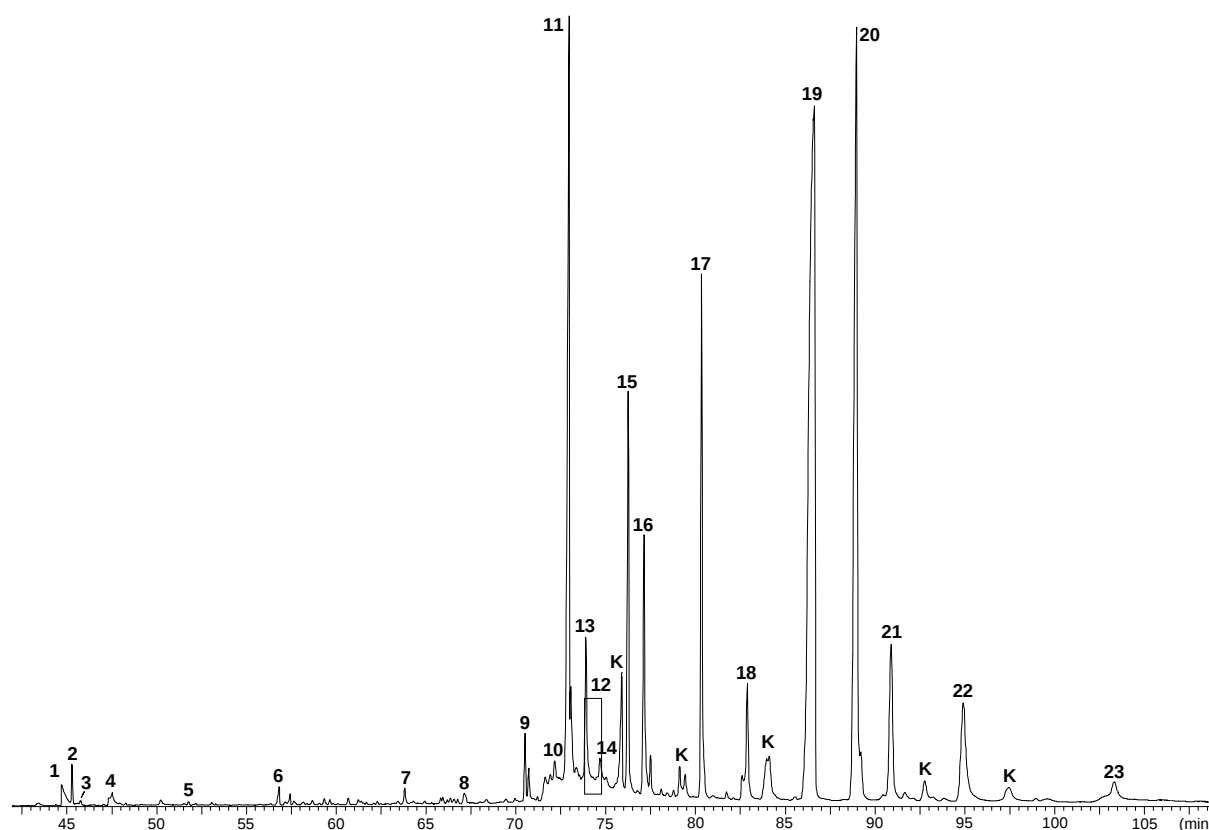


Abbildung 44 Ausschnitt aus dem Chromatogramm der Kryofocussierung des beladenen Trägermaterials Seesand (50 m FFAP fused silica-Kapillare; Temperaturprogramm: 30°C, 15 min. isotherm, 3°C/min. auf 220°C, 50 min. isotherm).

Neben bekannten Fettsäuren konnten stickstoffhaltige Verbindungen wie 1*H*-Pyrrol (**S2**), 2-Methyl-1*H*-pyrrol (**S4**), Acetamid (**S6**) und 2-Hydroxypropionamid (Milchsäureamid) (**S14**) nachgewiesen werden. Die Verbindung **S19** konnte bislang nicht identifiziert werden. Sie stellte die Hauptkomponente der bei Anwendung der Kryofocussierung auftretenden Substanzen dar. In den zuvor dargestellten Chromatogrammen konnte sie bereits als Nebenkompente detektiert werden.

Nummern aus Abbildung 44	Verbindung	
S1	Essigsäure	S
S2	1 <i>H</i> -Pyrrol	S
S3	Benzaldehyd	S
S4	2-Methyl-1 <i>H</i> -pyrrol	S
S5	Buttersäure	S
S6	Acetamid	S
S7	1-Dodecanol	S
S8	Octansäure	S
S9	Nonansäure	N
S10	1-Tetradecanol	N
S11	Palmitinsäureisopropylester	H
S12	L-Milchsäure	N
S13	Decansäure	H
S14	2-Hydroxypropionamid	H
S15	2-Hexadecanol	H
S16	1-Hexadecanol	H
S17	Laurinsäure	H
S18	2-Octadecanol	H
S19	m/z 43, 44, 45, 55, 70, 72, 87, 115*	H
S20	Myristinsäure	H
S21	Myristoleinsäure	H
S22	Pentadecansäure	H
S23	Palmitinsäure	N

Tabelle 3 Inhaltsstoffe aus der Kryofocussierung des beladenen Trägermaterials.

3.2.3.1 Die unbekannte Verbindung S19

Die molekulare Masse der unbekannten Verbindung konnte massenspektrometrisch durch chemische Ionisation (CI) mit *iso*-Butan als Reaktand-Gas bestimmt werden. Die ermittelte Masse betrug 116 g/mol, bedingt durch die Übertragung eines Protons vom Reaktandgas auf das Molekül. Die tatsächliche Masse betrug somit 115 g/mol. Das Massenspektrum der Verbindung wird in Abbildung 45 gezeigt. Zusätzlich angeführt ist die molekulare Zusammensetzung der einzelnen Fragmentionen, wie sie durch hochauflösende Massenspektrometrie, bestimmt wurde.

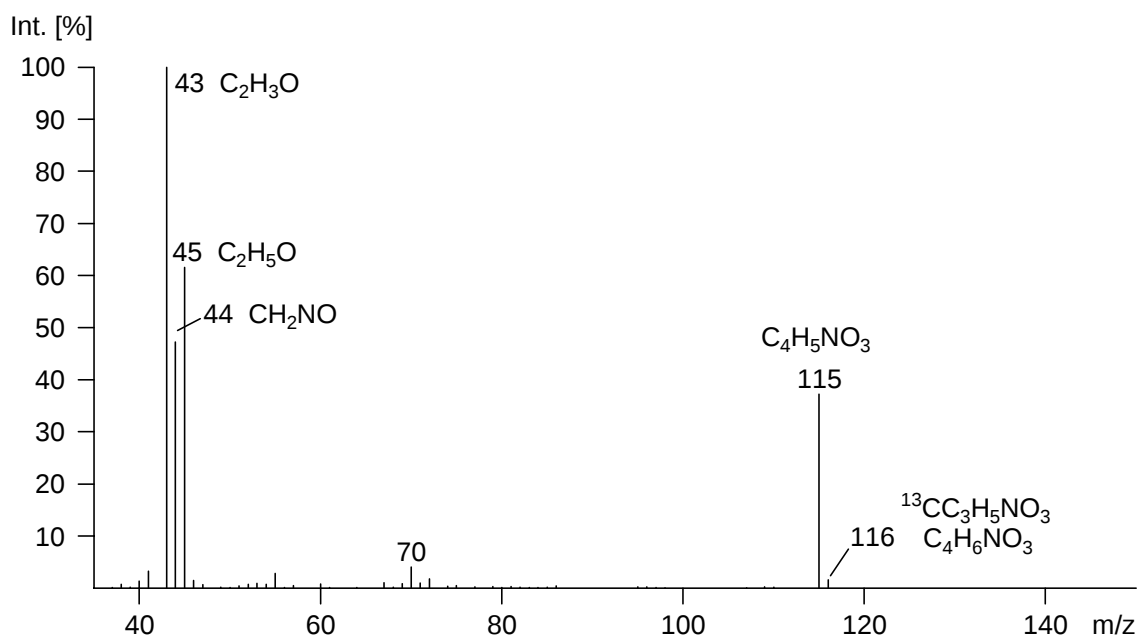


Abbildung 45 Massenspektrum und Ergebnisse aus der Hochauflösung der unbekannten Verbindung **S19**.

Das Massenspektrum wird durch den Zerfall des Molekülions m/z 115 von M-70 bzw. M-72 zu m/z 45 und m/z 43 dominiert. Die ungerade Masse der Verbindung **S19** wies auf eine stickstoffhaltige Verbindung hin. Diese Vermutung wurde durch hochauflösende MS bestätigt. Das Molekül hatte die Summenformel C₄H₅NO₃. Die Verbindung **S19** eluierte bei Verwendung von FFAP als stationärer Phase im Bereich zwischen Octacosan und Nonacosan bzw. zwischen Tridecan- und Myristinsäure. Bei Verwendung von Methylsiliconen als stationäre Phase ergaben sich breite Peaks mit starkem Tailing. Diese Eigenschaft wies auf hohe Polarität dieser relativ leichten Verbindung hin. Während eine Reinigung der Verbindung mittels HPLC nicht gelang, konnte sie über Extraktion des beladenen Seesands teilweise angereichert werden. Auf Grund erheblicher Verunreinigungen durch schwerflüchtige Verbindungen war eine Strukturaufklärung mittels NMR-Spektroskopie jedoch nicht möglich.

Das Massenspektrum lieferte keine Informationen über funktionelle Gruppen oder Strukturelemente, daher wurden zum Vergleich gaschromatographischer und massenspektrometrischer Eigenschaften Modellsubstanzen synthetisiert oder käuflich erworben, die die Molmasse 115 g/mol und die chemische Zusammensetzung C₄H₅NO₃ aufweisen.

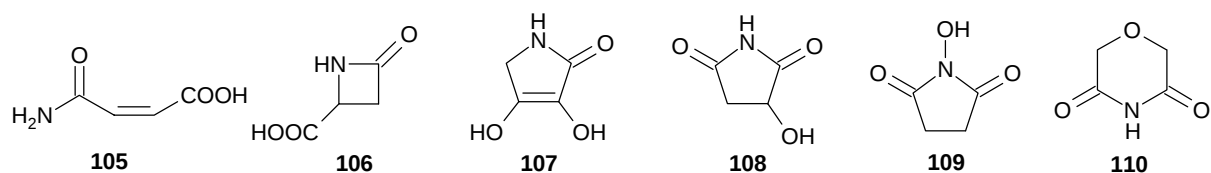


Abbildung 46 Modellsubstanzen der atomaren Zusammensetzung $C_4H_5NO_3$.

Die Massenspektren der Modellsubstanzen unterschieden sich z.T. erheblich von dem der unbekannten Verbindung **S19**. Am ähnlichsten war das Massenspektrum von 3,5-Diketomorpholin (**110**), jedoch fehlte das Ion m/z 45 praktisch völlig. Das Morpholin-Derivat **110** wies jedoch eine erheblich kürzere gaschromatographische Retentionszeit auf. Die Massenspektren der anderen Modellverbindungen befinden sich im Anhang dieser Arbeit.

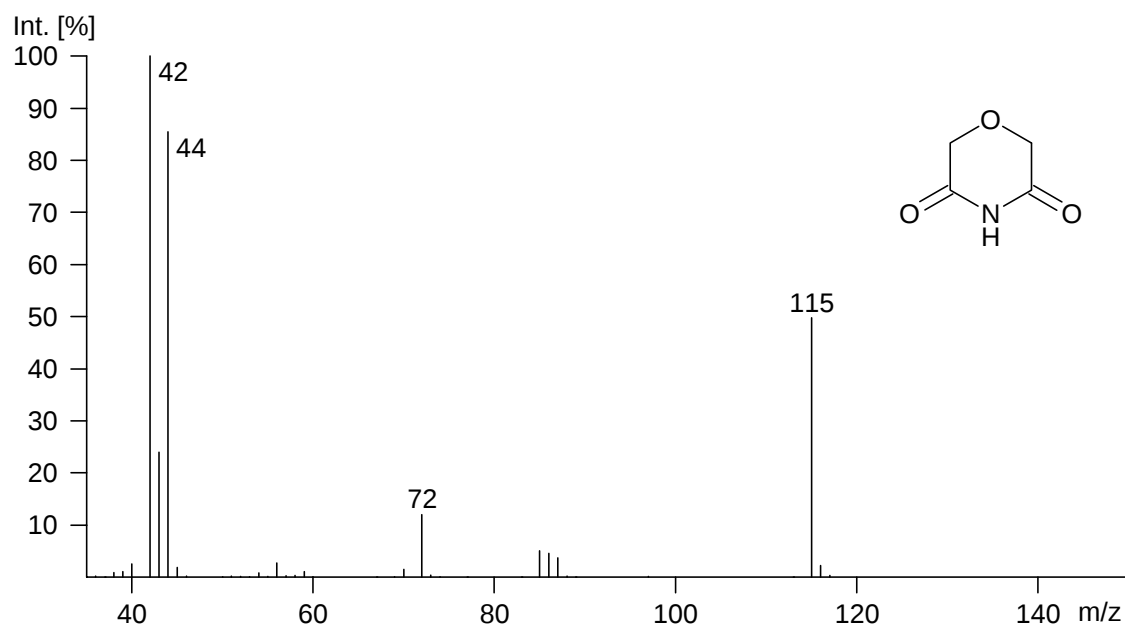


Abbildung 47 Massenspektrum von 3,5-Diketomorpholin (**110**).

Erst mit Hilfe einer GC-FTIR Kombination konnte eine Aussage über mögliche funktionelle Gruppen in der Verbindung **S19** getroffen werden. Abbildung 48 zeigt das gasphasen IR-Spektrum aus der Gasphase dieser Verbindung.

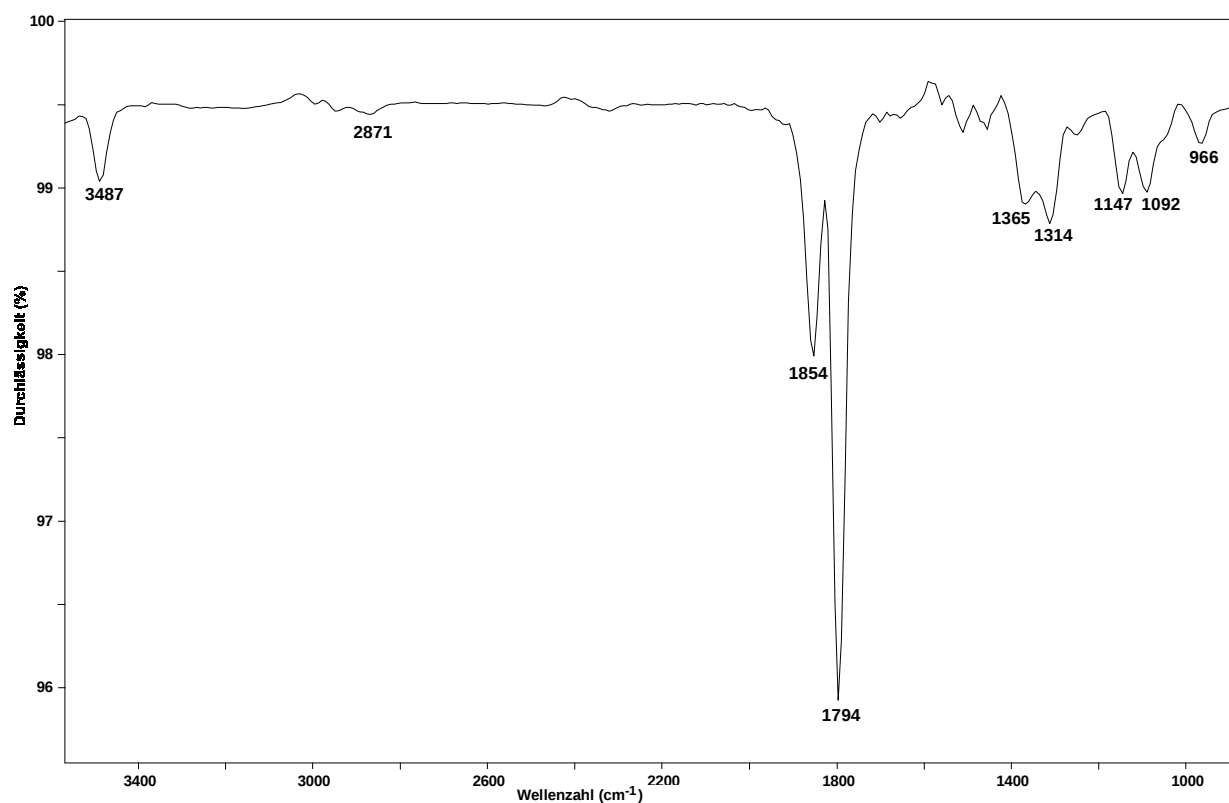


Abbildung 48 FT-IR-Spektrum aus der Gasphase der Verbindung **S19**.

Die Interpretation des IR-Spektrums grenzte die möglichen Strukturvorschläge stark ein. So deuteten die zwei charakteristischen Banden bei 1854 und 1794 cm^{-1} im Bereich der Carbonyl-Valenzschwingungen auf ein zyklisches Anhydrid hin. Die asymmetrische Valenzschwingung der Carbonylbande lag bei höheren Wellenzahlen (cm^{-1}) und ist in zyklischen Anhydriden stets schwächer^{166,167}. In einem Abstand von 60 cm^{-1} war eine zweite intensive, symmetrische Valenzschwingung bei 1794 cm^{-1} zu beobachten. Lactame, Lactone, zyklische 1,2-Diketone oder zyklische Imide liefern in der Regel nur eine Carbonylbande, die zudem deutlich unterhalb der hier gemessenen Wellenzahlen (1854 und 1794 cm^{-1}) auftreten¹⁶⁸. Desweiteren war eine schwache Bande bei 3486 cm^{-1} zu erkennen, die auf eine N-H-Valenzschwingung hindeutet.

Zusammen mit den zuvor erhaltenen Ergebnissen aus der Massenspektrometrie ließ sich die Struktur der Verbindung **S19** auf nachfolgende Vorschläge eingrenzen.

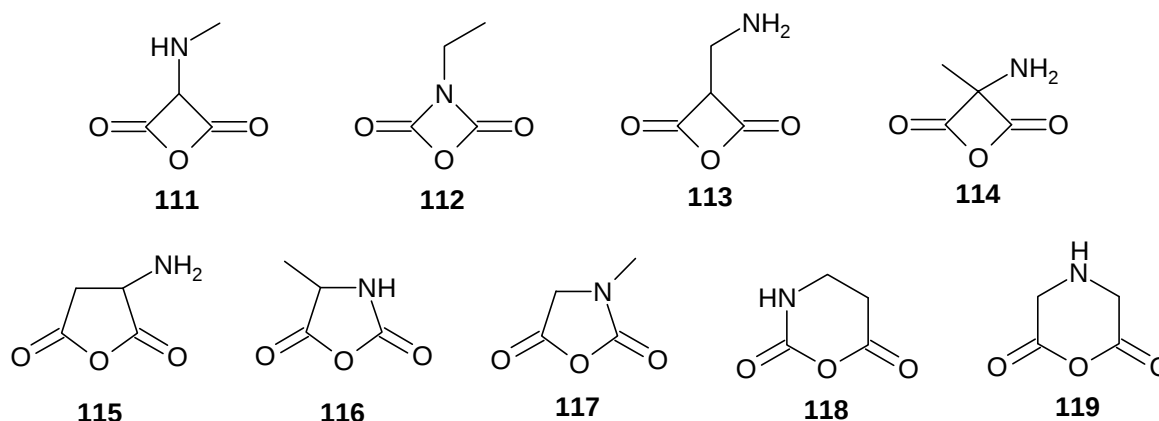


Abbildung 49 Zyklische Anhydride **111-119** mit der atomaren Zusammensetzung von $C_4H_5NO_3$.

Aufgrund der sehr hohen Ringspannungen und damit verbundener Instabilität der Vierringe standen die Strukturvorschläge **111-114** nicht im Blickpunkt für die mögliche Struktur von **S19**. Die Verbindungen **117** und **118** konnten als Referenzsubstanzen synthetisiert werden. Die Darstellung von **115** und **119** gelang nicht, was auf die starke Basizität der jeweiligen Aminofunktion zurückzuführen ist, die in Lösungen sofort mit der Anhydrid-Funktion Polymere bildete^{169,170}. Keine der synthetisierten Verbindungen mit Anhydrid-Struktur konnte erfolgreich gaschromatographisch vermessen werden, da die Substanzen im Gegensatz zum Naturprodukt nicht von der Kapillarsäule eluierten. Vergleichsuntersuchungen mit Bernsteinsäureanhydrid (**126**) und Diglycolsäureanhydrid zeigten gleiches Eluationsverhalten. Ein Versuch zur Synthese von **116** wurde nicht unternommen. Darüberhinaus weist Verbindung **117** keine freie N-H-Gruppe auf, deren Bande im IR-Spektrum eindeutig erkennbar war. Die so erhaltenen Informationen über die Eigenschaften der Verbindung **S19** ließen den Schluß zu, dass die Verbindung sich möglicherweise erst unter den Bedingungen der gaschromatographischen Behandlung bildete oder eine völlig andere Struktur hat.

3.2.3.2 Synthesen von Modellsubstanzen

Während die Verbindungen **105**, **106**, **107** und **109** kommerziell erhältlich waren, mußten die übrigen Substanzen synthetisiert werden. 3,5-Diketomorpholin (**110**) wurde durch Kondensation aus Diglycolsäure (**120**) mit Hilfe von Ammoniumcarbonat bei 230°C über 5 Stunden dargestellt¹⁷¹.

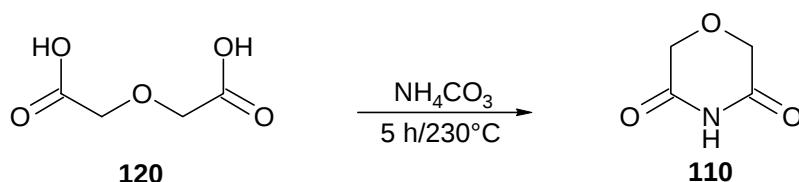


Abbildung 50 Synthese von 3,5-Diketomorpholin (**110**)¹⁷¹.

D,L-Äpfelsäure (**121**) wurde mit Acetylchlorid erhitzt. Anschließend wurde bei -18°C Ammoniak in die Reaktionslösung eingeleitet. Die graue Suspension wurde erneut mit Acetylchlorid versetzt und ergab **123**. 3-Hydroxy-2,5-pyrrolidinon (**108**) wurde durch Zugabe einer 1 molaren MeONa/MeOH-Lösung und anschließenden Zusatz eines Ionentauschers (Dowex 50 WXB) bis zum Erreichen des pH-Werts 6 erhalten¹⁷².

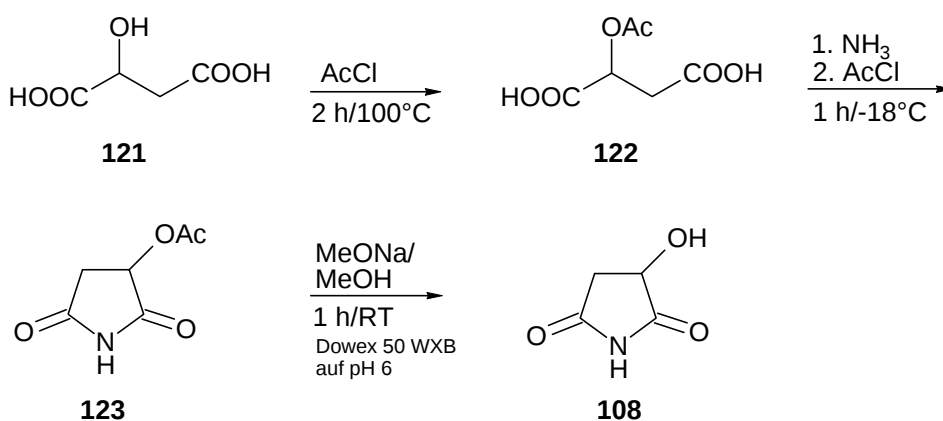


Abbildung 51 Synthese von 3-Hydroxy-2,5-pyrrolidinon (**108**)¹⁷².

Die Synthese von 3-Aminopropionsäure-N-carbonsäureanhydrid (**124**) verlief in drei Syntheseschritten analog der Vorschrift von Kricheldorf^{169,170}. Das für die erste Stufe benötigte Trimethylsilylazid (**125**) wurde frisch aus Natriumazid und Chlortrimethylsilan in trockenem Pyridin dargestellt. Anschließend wurde die Lösung langsam mit Bernsteinsäureanhydrid (**126**) versetzt und vorsichtig auf ca. 80°C erhitzt, wobei unter kräftiger Stickstoffentwicklung der Curtius-Abbau eintrat. Der destillativ gewonnene β -Isocyanatopropionsäuretrimethylsilylester

(128) reagierte bei Zugabe von 0.7 Äquivalenten Wasser zum gewünschten Produkt **124**. Größere Mengen an Wasser führten dabei zu Polymeren, die sich ausschließlich in konz. Schwefelsäure lösen ließen und bei Zugabe von etwas Methanol erneut ausfielen.

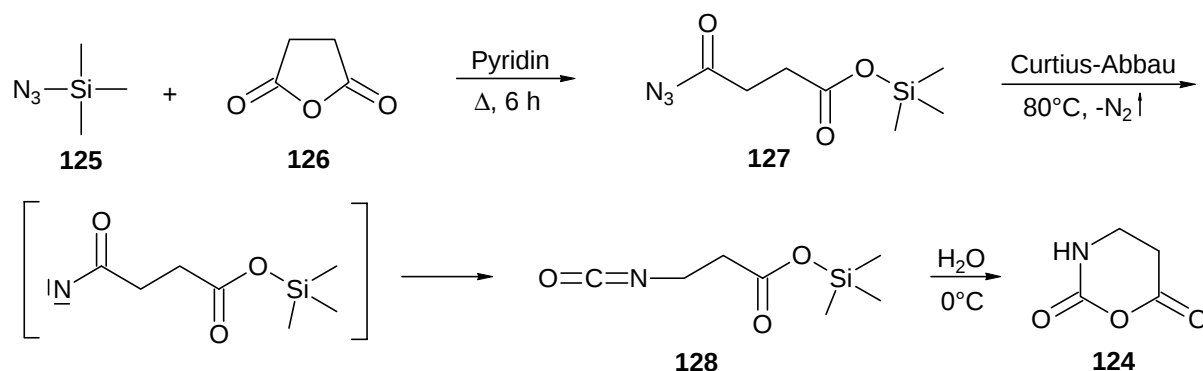


Abbildung 52 Synthese von 3-Aminopropionsäure-N-carbonsäureanhydrid (**124**).

Die Referenzverbindung **117** konnte aus Boc-Sarkosin (**129**) in Dichlormethan bei 0°C und Zugabe von frisch destilliertem Phosphortrichlorid erhalten werden¹⁷³.

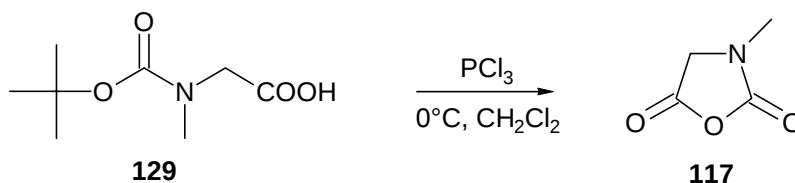


Abbildung 53 Synthese von (L)-3-Methyl-1,3-oxazolidin-2,5-dion (**117**).

Die Synthese von Asparaginsäureanhydrid (**115**) gelang nicht. Der Versuch, durch intramolekulare Kondensation der Asparaginsäure mittels Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) zum Asparaginsäureanhydrid (**115**) zu gelangen, schlug ebenso fehl, wie die reduktive Deblockierung des kommerziell erhältlichen Cbo-Asparaginsäureanhydrids zu **115**.

Auch die Darstellung von **119** analog der Verfahren von Henry bzw. Cathala *et al.* schlugen fehl^{174,175}, die die Zyklisierung von Iminodiessigsäure mit Essigsäureanhydrid bzw. DCC zum entsprechenden Anhydrid vorgeschlagen, gelang nicht.

3.3 Ergebnisse aus den Verhaltenstests

In diesem Abschnitt werden die wichtigsten Ergebnisse aus den Verhaltenstests mit der Gelbfiebermücke *Aedes aegypti* zusammengefasst. Sie sind in enger Zusammenarbeit und Anleitung von Dr. B. Steib und Dr. M. Geier (Arbeitskreis Prof. Dr. J. Boeckh, Universität Regensburg) durchgeführt worden. Es wurden Einzelverbindungen oder Mischungen mehrerer Substanzen im Vergleich zu den Standardreizen L-Milchsäure und der Probe GEM012 in einem Y-Olfaktometer getestet. Des weiteren wurde systematisch anhand der Reaktionen der Tiere aufgezeigt, in wieweit eine Headspace-Anreicherung von attraktiven Verbindungen mittels eines Closed-Loop-Systems gelingen konnte. In den nachfolgenden Tabellen werden zwei Richtwerte angegeben. Zum einen die Attraktivität, die einen prozentualen Wert über die Anzahl der Mücken im Zielkäfig wiedergibt, und zum anderen die Aktivität, die eine Aussage über die Anzahl der vom Start losgeflogenen Mücken ermöglicht, die allerdings den Zielbereich nicht erreicht haben. Ein Schenkel des Y-Olfaktometers war mit der Probe bestückt, der andere ohne jegliche Reizquelle. Nur bei sehr schwachen Reizen waren auch Versuchstiere im Kontrollschenkel zu beobachten. Die Versuchsdauer betrug 30 Sekunden und wurde n-fach wiederholt. Der Mittelwert mit zugehöriger Standardabweichung ist jeweils angegeben. Abbildung 54 zeigt eine schematische Darstellung des Y-Olfaktometers, welches für die nachfolgenden Biotests Verwendung fand. Es wurde von Dr. Martin Geier am Zoologischen Instituts der Universität Regensburg entwickelt⁷⁰. Zur Beschleunigung der Testdurchläufe waren in den Versuchsräumen vier Apparaturen nebeneinander geschaltet. In jeder dieser Apparaturen befanden sich in einem Versuchskäfig 18-22 weibliche Versuchstiere. In Vortests war zu gewährleisten, dass die Reaktion der Mücken auf den L-Milchsäure-Reiz im Bereich von 25% und auf die Probe GEM012 von ca. 75% lag. Lagen die Werte deutlich über diesen Grenzen, so waren auch intensivere und zum Teil nicht reproduzierbare Reaktionen auf Testsubstanzen zu erwarten. Auch feine Unterschiede in der Aktivität von *Aedes aegypti* konnten nicht mehr festgestellt werden.

Die Versuchstiere flogen im Y-Olfaktometer vom Start gegen einen Luftstrom von 0.2-0.3 m/s zu den Zielkäfigen. Nach 50 cm teilte sich der Windkanal in den Test- und den Kontrollschenkel. Der Innendurchmesser der Röhren betrug 7 cm. In der Apparatur herrschte eine Temperatur von 28°C und eine Luftfeuchtigkeit von etwa 70%. Die Reizgebung fand über eine Pasteur-Pipette statt, die in einem Heizelement platziert wurde. Die Probe wurde auf 60-66°C erhitzt und mit einem Luftstrom von 2.8 L/min in den Versuchsaufbau eingebracht.

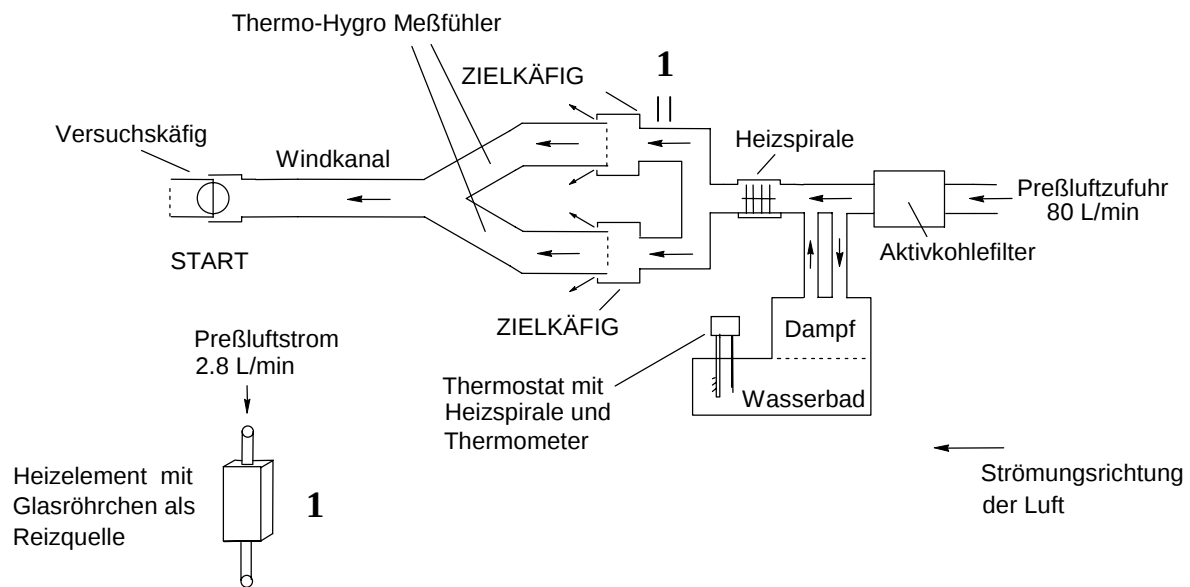


Abbildung 54 Y-Olfaktometer nach Geier⁷⁰.

3.3.1 Wirksamkeit des Headspace

Für die Durchführung von Anreicherungsversuchen unter Verwendung von Filtersystemen mußte die Tatsache erfüllt sein, dass überhaupt attraktive Reize von der menschlichen Haut über die Versuchsanordnung abgegeben wurden. Hierfür wurde der Arm einer Versuchsperson bis zum Schulteransatz in eine Armmanschette aus Glas von ca. 5 Liter Volumen (3.6 Liter Restvolumen) platziert. Über Teflonschläuche wurde mittels einer Membranpumpe Luft durch die Armmanschette gepumpt und anschließend direkt in die Biotestapparatur eingeleitet.

	n	% Attraktivität ± Standardfehler	% Aktivität ± Standardfehler
Headspace aus der Armmanschette	8	75 ± 4	83 ± 4
L-Milchsäure	8	19 ± 2	55 ± 5
Probe GEM012	8	81 ± 3	86 ± 3

Tabelle 4 Attraktive Reizgebung vom menschlichen Arm ohne Anreicherung.

Aus der Tabelle 4 ist zu entnehmen, dass eine starke Reaktion der Mücken auf den Reiz aus der Armmanschette resultierte. Die Attraktivität war signifikant und beinahe so hoch wie bei der Probe GEM012.

3.3.2 Anreicherung des Headspace im Closed-Loop-System

Während der Anreicherung befand sich der Arm einer Versuchsperson über einen Zeitraum von 90 Minuten in der Armmanschette aus Glas, die in einem geschlossenen Kreislauf über

Teflonschläuche mit einer Membranpumpe verbunden war. Vor der Pumpe befand sich ein Filter, der mit Adsorbensmaterialien wie SuperQ oder Aktivkohle befüllt war. Die Filter wurden nach den Versuchen mit 30 µL Ethanol extrahiert. Der Ethanolextrakt wurde auf 100 µL verdünnt und mit L-Milchsäure versetzt.

	n	% Attraktivität ± Standardfehler	% Aktivität ± Standardfehler
SuperQ-Extrakt + L-Milchsäure	8	13 ± 4	44 ± 4
Kondenswasser (je 5 µL)	8	5 ± 2	39 ± 5
L-Milchsäure	8	12 ± 3	57 ± 8
Probe GEM012	8	73 ± 4	80 ± 3
Aktivkohle-Extrakt + L-Milchsäure	8	11 ± 2	49 ± 7
Kondenswasser (je 5 µL)	8	2 ± 1	41 ± 7
L-Milchsäure	8	12 ± 3	57 ± 8
Probe GEM012	8	82 ± 3	94 ± 1

Tabelle 5 Vergleich von Kondenswasser und SuperQ-Extrakt mit den Standardreizen L-Milchsäure und der Probe GEM012.

Die Extrakte der Filter zusammen mit L-Milchsäure erwiesen sich als nicht attraktiver als der Standardreiz allein. Die Probe GEM012 hingegen war erwartet attraktiv. Auch das Kondenswasser vom Arm der Versuchsperson übte keinerlei Effekt auf die Mücken aus. Es wurden ca. 4 mL Kondensat im Verlauf des Versuchs gesammelt (Tabelle 5).

Der Einbau einer Kühlfalle im Closed-Loop-System und die Reduzierung des Volumens der Armmanschette auf 1.7 L brachte eine signifikante Attraktivitätssteigerung des gesammelten Extraktes (Tabelle 6).

	n	% Attraktivität ± Standardfehler	% Aktivität ± Standardfehler
SuperQ-Extrakt	8	51 ± 2	83 ± 2
Probe GEM012	8	80 ± 4	86 ± 3

Tabelle 6 Attraktivität des SuperQ-Extraktes nach Einbau einer Kühlfalle und Verkleinerung des Volumens der Armmanschette.

Auch ohne Zusatz von L-Milchsäure konnte eine deutliche Erhöhung der Attraktivität und der Aktivität im Vergleich zu den vorhergehenden Versuchsanordnungen erzielt werden. Die Ansammlung größerer Mengen Kondenswassers im gesamten Closed-Loop-System konnte durch den Einbau einer Kühlfalle verringert werden. Da allerdings keine volle Wirkung der getesteten Extrakte erzielt werden konnte, mußte davon ausgegangen werden, dass attraktive Komponenten des Wirtsgeruchs im Kondenswasser gelöst bzw. in der Kühlfalle kondensiert waren.

3.3.3 Verwendung eines Trägermaterials: Seesand

In früheren Arbeiten konnte gezeigt werden, dass Glaskügelchen, Uhrgläser und Reagenzgläser als Trägermaterial für die Anreicherung von auf *Aedes aegypti* attraktiv wirkender Komponenten dienen kann. Im folgenden Versuch wurde die Eignung von Seesand als Trägermaterial untersucht. Dabei wurden mehrmals 2 g Seesand über einen Zeitraum von 5 Minuten zwischen den Händen gerieben. Der mit Hautablationen beladene Seesand wurde den Tieren im Verhaltenstest angeboten.

	n	% Attraktivität ± Standardfehler	% Aktivität ± Standardfehler
Blindprobe: Seesand	8	1 ± 1	28 ± 3
Seesand, nach Reiben zwischen den Händen	8	85 ± 3	91 ± 3
Probe GEM012	8	75 ± 6	84 ± 7

Tabelle 7 Wirkung des Trägermaterials Seesand.

Der Biotest zeigte, dass der vom beladenen Seesand ausgelöste Reiz auf die Versuchstiere stärker ist, als die Wirkung der Probe GEM012 (Tabelle 7).

Mit dieser Methode ließ sich eine größere Menge Ausgangsmaterial sammeln und reproduzierbarer in Verhaltenstests einsetzen. Die Problematik des Kondenswassers spielte hierbei keine Rolle mehr.

3.3.4 Vergleich verschiedener Adsorbentien

Zur Gewinnung einer größeren Menge an attraktivem Material wurden 10 Versuchspersonen beteiligt. Der Reaktor aus Abbildung 12 wurde zu diesem Zweck in ein Closed-Loop-System geschaltet und der mit Hautablationen beladene Sand durch einen Luftstrom leicht verwirbelt. Während der Versuchsdauer von drei Stunden wurde der Reaktor auf 60-66°C erhitzt. Während vier Versuchsdurchläufen befand sich hinter dem Reaktor ein Filter, der entweder mit Glaswolle, Aktivkohle, Tenax oder SuperQ befüllt war. Die Filterröhrchen wurden anschließend im Y-Olfaktometer auf ihre Wirksamkeit gegenüber *Aedes*-Mücken untersucht.

Adsorbensmaterial	n	% Attraktivität ± Standardfehler	% Aktivität ± Standardfehler
SuperQ	8	96 ± 1	97 ± 1
TENAX	8	98 ± 2	98 ± 2
Aktivkohle	8	65 ± 6	77 ± 3
Glaswolle	8	83 ± 7	89 ± 4
Probe GEM012	12	79 ± 3	86 ± 2

Tabelle 8 Vergleich der Wirkung von verschiedenen Adsorbensmaterialien.

Die polymeren Adsorbentien SuperQ und Tenax waren sehr gut zur Anreicherung von attraktiven Komponenten aus dem Wirtsgeruch von *Aedes aegypti* geeignet. Extrakte und Desorbate lockten im Durchschnitt praktisch alle Versuchstiere in den Zielkäfig. Beladene Glaswolle hatte noch eine vergleichbare Wirkung zur Probe GEM012, die Attraktivität von Aktivkohledesorbaten war dagegen signifikant schwächer (Tabelle 8).

3.3.5 Haltbarkeit von SuperQ-Filtern

Um zu testen, wie lange die Attraktivität der Filter erhalten bleibt, wurde ein Filter, bestehend aus einer Pasteur-Pipette in der mit 0.11 g Glaswolle 0.94 g SuperQ fixiert war, drei Stunden durch die oben beschriebene Headspace-Anreicherung beladen und über einen Zeitraum von 1038 h getestet. Dieser Filter wurde bei Nichtgebrauch bei Raumtemperatur über den Zeitraum des Versuchs gelagert und in einem Reagenzglas vor Kontamination geschützt.

		% Attraktivität ± Standardfehler		% Aktivität ± Standardfehler	
Zeitpunkt	n	Filter	Probe GEM012	Filter	Probe GEM012
nach 0 h	4	96 ± 3	79 ± 8	96 ± 3	92 ± 5
nach 21 h	4	77 ± 11	84 ± 5	89 ± 3	92 ± 1
nach 45 h	8	92 ± 3	73 ± 4	96 ± 2	90 ± 3
nach 53 h	10	58 ± 5	60 ± 5	77 ± 3	74 ± 3
nach 70 h	4	75 ± 2	76 ± 9	92 ± 1	86 ± 7
nach 220 h	4	70 ± 9	81 ± 4	87 ± 8	90 ± 5
nach 720 h	4	92 ± 3	94 ± 4	95 ± 2	95 ± 0
nach 1038 h	4	41 ± 10	83 ± 4	78 ± 5	89 ± 5

Tabelle 9 Beständigkeit der SuperQ-Filter über einen langen Zeitraum.

Nach 720 Stunden Versuchsdauer (30 Tagen) und insgesamt n = 38 Verhaltenstests im Windtunnel (je 30 Sekunden bei 58-62°C Desorptionstemperatur) war der SuperQ-Filter mit der Headspace-Probe noch genauso wirksam, wie die Probe GEM012. Erst nach 43 Tagen nahm die Attraktivität im Vergleich zum Standardreiz ab.

3.3.6 Einfluss von Lösungsmitteln auf die Haltbarkeit der Filter

Es wurden sechs Filter mit 102 mg SuperQ und 80 mg Glaswolle zur Fixierung des Adsorptionsmaterials hergestellt. Gesammelt wurde über den Zeitraum von drei Stunden von je 10 g Trägermaterial in der beschriebenen Closed-Loop-Apparatur. Die Probe GEM012 und einer der sechs Filter lieferten die Vergleichswerte zu den Messungen. Jeweils einer der fünf Filter wurde mit 1.0 mL Ethanol, 1.0 mL Dichlormethan, 0.5 mL Wasser, 3.0 mL *n*-Pentan und 30 mL *n*-Pentan extrahiert.

Filter	n	% Attraktivität ± Standardfehler	% Aktivität ± Standardfehler
Filter extrahiert mit 1 mL Ethanol	4	15 ± 5	49 ± 9
Filter extrahiert mit 1 mL CH ₂ Cl ₂	4	64 ± 4	79 ± 9
Filter extrahiert mit 0.5 mL Wasser	4	5 ± 4	58 ± 9
Filter extrahiert mit 3 mL <i>n</i> -Pentan	12	85 ± 3	87 ± 3
Filter extrahiert mit 30 mL <i>n</i>-Pentan	8	84 ± 4	93 ± 3
Filter (Standard)	8	90 ± 1	92 ± 2
Probe GEM012	8	82 ± 2	89 ± 4

Tabelle 10 Der Einfluss von verschiedenen Lösungsmitteln auf die Haltbarkeit der SuperQ-Filter.

Es wurde deutlich, dass Elution mit geringen Mengen an Wasser ausreichen, die Wirksamkeit des Filters gegenüber Gelbfiebertücken aufzuheben. Auch Ethanol verringerte die Attraktivität sehr stark. Dagegen konnten selbst 30 mL *n*-Pentan die Wirkung des SuperQ-Filter nicht beeinträchtigen (Tabelle 10).

Die Wirksamkeit der Extrakte der fünf Filter wurde zum Vergleich in Tabelle 11 wiedergegeben, wobei auch hier der Probe und der ungespülte Filter als Vergleichswerte dienten. Den Versuchstieren wurden dabei pro Test 5 µL Extrakt angeboten.

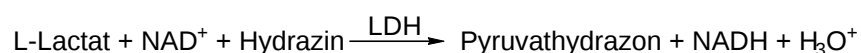
Extrakt	n	% Attraktivität ± Standardfehler	% Aktivität ± Standardfehler
Extrakt mit 1.0 mL Ethanol	8	51 ± 6	71 ± 4
Extrakt mit 1.0 mL CH ₂ Cl ₂	8	19 ± 3	79 ± 9
Extrakt mit 0.5 mL Wasser	8	4 ± 1	30 ± 3
Extrakt mit 3.0 mL <i>n</i> -Pentan	8	23 ± 5	67 ± 6
Extrakt mit 30 mL <i>n</i> -Pentan	8	15 ± 2	59 ± 5
Filter (Standard)	8	95 ± 2	96 ± 2
Probe GEM012	8	87 ± 3	92 ± 2

Tabelle 11 Extrakte von SuperQ-Filtern.

Mit Ausnahme des Ethanolextrakts, der in Tabelle 11 fett hervorgehoben ist, konnte keine Attraktivität der Extrakte registriert werden. Aus der Tatsache, daß weder der Wasser-Extrakt noch der mit Wasser gespülte Filter eine Wirkung auf *Aedes aegypti* auslöste, ließ sich die Vermutung ableiten, dass auch das Kondenswasser aus den Headspace-Versuchen mit der Armmanschette wirksame Komponenten vom Filter gewaschen hatte. Da auch das Kondenswasser selbst, genau wie der Wasser-Extrakt unattraktiv auf die Tiere wirkte, schienen wirksame Substanzen vom Wasser gebunden oder sogar zerstört zu werden.

3.3.7 Quantifizierung von L-Milchsäure auf SuperQ-Filtern

Es wurden fünf Filter unter Standardbedingungen (gleiche Sand- bzw. SuperQ-Mengen) beladen und mit jeweils 3 mL Wasser extrahiert. Die Menge an L-Milchsäure wurde mittels eines Enzymtests bestimmt, wobei Laktat mit Laktatdehydrogenase (LDH) umgesetzt wurde. Der Nachweis beruhte auf folgender Reaktion:



Die Konzentration an gebildetem NADH konnte photometrisch (hohe Absorption bei 365 nm) bestimmt und der ursprüngliche Gehalt an L-Milchsäure dann errechnet werden¹⁷⁶. Die angegebenen Mengen an L-Milchsäure sind Mittelwerte aus je drei Messungen.

	L-Milchsäuremenge [μg] $\pm$ Standardabweichung
Filter 1	189.7 $\pm$ 5.9
Filter 2	183.0 $\pm$ 1.6
Filter 3	184.4 $\pm$ 5.8
Filter 4	163.6 $\pm$ 2.1
Filter 5	181.8 $\pm$ 3.5

Tabelle 12 L-Milchsäuregehalt auf den SuperQ-Filtern.

Die L-Milchsäuremengen, die mit 3 mL Wasser von einem SuperQ-Filter eluiert werden konnten, lagen im Durchschnitt bei 180 μg .

3.3.8 Thermische Desorption des SuperQ-Filters (Anreicherung vom Arm)

Es wurde ein GC-Inlet, befüllt mit 97 mg SuperQ und 104 mg Glaswolle in ein Closed-Loop-System geschaltet, danach wurden vom Gasraum um den Arm einer Versuchsperson über einen Zeitraum von zwei Stunden die flüchtigen Verbindungen gesammelt. Der Filter wurde im Verhaltenstest auf seine Wirksamkeit geprüft, anschließend über einen Zeitraum von 12 Minuten in einem Temperaturintervall von 25-180°C in einem GC-Injektor desorbiert. Nach der Analyse wurde der Filter erneut auf seine Wirkung getestet.

	n	% Attraktivität ± Standardfehler	% Aktivität ± Standardfehler
GC-Inlet vor der Kryofocussierung	4	36 ± 5	66 ± 6
GC-Inlet nach der Kryofocussierung	4	8 ± 3	24 ± 6
Probe GEM012	4	85 ± 4	91 ± 4

Tabelle 13 Thermische Desorption der SuperQ-Filter nach Anreicherungen vom Arm.

Der Filter verliert nach der Kryofocussierung im Gaschromatographen seine Attraktivität auf *Aedes aegypti*, allerdings lockten die Filter aus diesen Headspace-Versuchen ohnehin nur wenige Mücken im Verhaltenstest (Tabelle 13).

3.3.9 Thermische Desorption des SuperQ-Filters (Anreicherung vom Trägermaterial)

Es wurde ein GC-Inlet mit SuperQ und Glaswolle befüllt (s.o.) und mit diesem, im Closed-Loop-System die von beladenem Trägermaterial (Seesand) desorbierbaren Substanzen gesammelt. Im Windkanal wurde auf Attraktivität getestet. Die Desorption erfolgte wiederum im Injektor eines Gaschromatographen. Im Anschluß an die Analyse wurde der Filter erneut im Y-Olfaktometer auf seine Wirkung untersucht.

	n	% Attraktivität ± Standardfehler	% Aktivität ± Standardfehler
GC-Inlet vor der Kryofocussierung	4	97 ± 2	100 ± 0
GC-Inlet nach der Kryofocussierung	4	3 ± 2	51 ± 10
GC-Inlet + L-Milchsäure	4	23 ± 7	65 ± 7
L-Milchsäure	4	21 ± 4	59 ± 6
Probe GEM012	4	73 ± 3	90 ± 4

Tabelle 14 Thermische Desorption der SuperQ-Filter nach Anreicherungen vom Trägermaterial Seesand.

Diese beladenen SuperQ-Filter lockten praktisch alle Gelbfiebermücken in den jeweiligen Zielkäfig. Die Wirkung ging nach der thermischen Desorption vollständig verloren und konnte auch durch Zugabe von L-Milchsäure nicht über den Vergleichswert des Standards die Tiere locken. Es war damit gewährleistet, dass durch diese Methode alle attraktiven Komponenten des Wirkprinzips desorbiert werden.

3.3.10 Verhaltenstests mit synthetisiertem Gemisch

Es konnten 66 Verbindungen aus dem Ethanolextrakt identifiziert werden. Auch wurde die oben ermittelte Durchschnittsmenge von 180 µg L-Milchsäure zugrunde gelegt und anhand der Peakflächen der Substanzen im Chromatogramm die Mengen der Einzelkomponenten abgeschätzt. Fehlerquellen waren in der Bestimmung der absoluten Menge an L-Milchsäure zu

suchen, aber auch auf die unterschiedlichen Responsfaktoren der Verbindungen im Gaschromatographen zurückzuführen. Angegeben ist die absolute Menge jeder einzelnen Substanz in diesem Bukett, daß den Versuchstieren während eines Verhaltenstests angeboten wurde.

Verbindungen	Aufgetragene Menge in [µg]
Aldehyde	
Pentanal	0.003
Hexanal	0.013
Heptanal	0.002
Octanal	0.004
Nonanal	0.006
Decanal	0.007
Undecanal	0.001
Dodecanal	0.001
Benzaldehyd	0.003
n-Alkane	
Tridecan	0.001
Tetradecan	0.007
Pentadecan	0.012
Hexadecan	0.004
Heptadecan	0.005
Octadecan	0.008
Nonadecan	0.009
Eicosan	0.028
Heneicosan	0.008
Docosan	0.011
1-Alkanole	
1-Butanol	0.005
1-Octanol	0.003
1-Nonanol	0.006
1-Tetradecanol	0.018
1-Hexadecanol	0.111
1-Octadecanol	0.052
Carbonsäuren	
Essigsäure	0.005
Propionsäure	0.003
Isobuttersäure	0.002
Buttersäure	0.001
Pentansäure	0.001
Hexansäure	0.006
Heptansäure	0.002
Octansäure	0.020
Nonansäure	0.018

Decansäure	0.166
Undecansäure	0.012
10-Methylundecansäure	0.007
Laurinsäure	0.166
11-Methyldodecansäure	0.004
Tridecansäure	0.026
12-Methyltridecansäure	0.003
Myristinsäure	0.478
13-Methyltetradecansäure	0.002
Pentadecansäure	0.081
Palmitinsäure	0.205
Palmitoleinsäure	0.024
Heptadecansäure	0.007
Stearinsäure	0.095
Ölsäure	0.013
L-Milchsäure	1.250
Carbonsäureester	
L-Milchsäureethylester	0.009
Laurinsäureethylester	0.002
Myristinsäureethylester	0.006
Palmitinsäureethylester	0.007
Laurinsäureisopropylester	0.002
Myristinsäureisopropylester	0.010
Palmitinsäureisopropylester	0.077
Schwefelhaltige Verbindungen	
Dimethylsulfid	0.002
Dimethylsulfon	0.003
Stickstoffhaltige Verbindungen	
Diisopropylamin	0.001
N,N-Dimethylformamid	0.005
Ethylurethan	0.008
Terpenoide Verbindungen	
1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan	0.002
6-Methyl-5-hepten-2-on	0.005
6,10-Dimethylundeca-5,9-dien-2-on	0.013
Squalen	0.009

Tabelle 15 Inhaltsstoffe des ethanolischen Extrakts.

Im synthetisierten Gemisch stellte L-Milchsäure mit einer Menge von 1.250 µg die Hauptkomponente dar, gefolgt von den Fettsäuren Myristinsäure (0.478 µg) und Palmitinsäure (0.205 µg). Das bicyclische Acetal 1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**51**) hat u.a. mit 0.002 µg die geringste Menge in dieser Mischung. Als Vergleich wurden L-Milchsäure und die Probe GEM012 gemessen (Tabelle 16).

	n	% Attraktivität ± Standardfehler	% Aktivität ± Standardfehler
Synthetisches Gemisch	8	30 ± 4	78 ± 5
L-Milchsäure	8	10 ± 2	56 ± 3
Probe GEM012	8	69 ± 2	79 ± 2

Tabelle 16 Wirkung der Nachstellung des ethanolischen Extrakts.

Der Attraktivitätswert für die synthetische Mischung war signifikant höher als beim Standardreiz L-Milchsäure, doch erheblich niedriger als der GEM012. Die Aktivität der Mücken war allerdings genauso stark.

3.3.11 Verhaltenstests mit Fettsäuren

In nachfolgender Tabelle 17 sind Testergebnisse mit verschiedenen Fettsäuren dargestellt. Unterschieden wurde hierbei bei der Länge der Kohlenstoffkette, Methylverzweigungen, Stereochemie und Unsättigungen. Da in keinem Verhaltenstests eine Wirkung der Fettsäuren allein registriert werden konnte, wurde die Standardmenge an L-Milchsäure der jeweiligen Reizquelle zugesetzt. Eine Tabelle 18 beschreibt den Einfluss einzelner Carbonsäuren zusammen mit dem Synergisten L-Milchsäure, die eine abstoßende Eigenschaft bei *Aedes aegypti* hatten.

Fettsäure + L-Milchsäure	Menge [µg]	n	% Attraktivität ± Standardfehler	% Aktivität ± Standardfehler
Essigsäure	0.25	8	26 ± 6	71 ± 4
Buttersäure	0.03	8	19 ± 3	54 ± 6
Pentansäure	0.09	8	21 ± 4	45 ± 3
Hexansäure	1.03	8	31 ± 2	75 ± 6
Heptansäure	0.20	8	29 ± 6	66 ± 4
Octansäure	0.67	8	27 ± 3	53 ± 7
Nonansäure	0.70	8	16 ± 2	57 ± 8
Decansäure	6.70	8	5 ± 2	50 ± 8
Undecansäure	0.50	8	26 ± 4	62 ± 6

Laurinsäure	6.70	8	22 ± 3	47 ± 5
Tridecansäure	1.00	8	47 ± 3	74 ± 7
Myristinsäure	19.1	8	53 ± 2	82 ± 9
Pentadecansäure	3.20	8	46 ± 5	77 ± 6
Palmitinsäure	8.20	8	35 ± 6	54 ± 9
Heptadecansäure	0.30	8	26 ± 2	59 ± 8
Stearinsäure	3.80	8	30 ± 1	61 ± 5
Nonadecansäure	1.25	8	21 ± 6	45 ± 9
Eicosansäure	2.50	8	23 ± 5	67 ± 6
iso-Dodecansäure	0.20	16	45 ± 5	69 ± 4
iso-Tridecansäure	0.20	16	48 ± 4	74 ± 3
iso-Tetradecansäure	0.20	16	44 ± 4	73 ± 4
iso-Pentadecansäure	0.20	16	42 ± 5	69 ± 4
iso-Hexadecansäure	0.20	16	41 ± 3	61 ± 5
iso-Heptadecansäure	0.20	16	39 ± 6	59 ± 9
iso-Octadecansäure	0.20	16	40 ± 5	67 ± 5
iso-Nonadecansäure	0.20	16	43 ± 3	67 ± 6
anteiso-Tridecansäure	0.20	16	42 ± 3	70 ± 4
anteiso-Tetradecansäure	0.20	16	36 ± 5	61 ± 8
anteiso-Pentadecansäure	0.20	16	39 ± 2	75 ± 4
anteiso-Hexadecansäure	0.20	16	44 ± 3	71 ± 5
anteiso-Heptadecansäure	0.20	16	42 ± 5	73 ± 7
(R)-11-Methyltridecansäure	0.20	12	36 ± 6	69 ± 8
(S)-11-Methyltridecansäure	0.20	12	34 ± 7	62 ± 7
7-Methylundecansäure	0.20	12	34 ± 5	57 ± 7
8-Methyldodecansäure	0.20	12	37 ± 8	75 ± 6
9-Methyltridecansäure	0.20	12	38 ± 5	66 ± 5
2-Methyltetradecansäure	0.20	12	38 ± 4	66 ± 8
4-Methyltetradecansäure	0.20	12	39 ± 3	71 ± 5
7-Methyltetradecansäure	0.20	12	29 ± 2	61 ± 4
9-Methyltetradecansäure	0.20	12	35 ± 3	65 ± 9
10-Methyltetradecansäure	0.20	12	34 ± 4	69 ± 6
5-Methylpentadecansäure	0.20	12	33 ± 5	63 ± 7
Palmitoleinsäure	1.00	8	26 ± 2	63 ± 6
Ölsäure	1.00	8	27 ± 5	66 ± 6
L-Milchsäure	50.0	8	28 ± 2	67 ± 5
Probe GEM012	-	8	69 ± 3	83 ± 5

Tabelle 17 Attraktivität von Fettsäuren auf *Aedes aegypti*.

Aus der Tabelle 17 wurde deutlich, dass einige Fettsäuren einen synergistischen Effekt in Kombination mit L-Milchsäure aufwiesen. So verstärkten Tridecan-, Myristin-, Pentadecan-, iso-Dodecan-, iso-Tridecan-, iso-Tetradecan-, anteiso-Tridecan-, anteiso-Hexadecan- und anteiso-Heptadecansäure die Wirkung von L-Milchsäure auf *Aedes aegypti* nachhaltig,

während Nonansäure und Decansäure die Attraktivität der L-Milchsäure drastisch verringerten. Die Tiere differenzierten in diesen Verhaltenstests nicht zwischen den verschiedenen Carbonsäuren. Die beiden Enantiomere von 11-Methyltridecansäure unterschieden sich in ihrer Attraktivität nicht signifikant von den anderen getesteten Fettsäuren, doch lockte racemische *anteiso*-Tetradecansäure die Mücken signifikant stärker, als die reinen Enantiomere.

Wie bereits erwähnt, wies das System Myristinsäure/L-Milchsäure einen synergistischen Effekt auf, denn die Mischung war signifikant attraktiver als L-Milchsäure allein. In obiger Tabelle 17 war aufgefallen, dass Nonansäure und Decansäure einen negativen Einfluß auf die Attraktivität der L-Milchsäure ausübten, denn in Kombination wirkten sie eher repellierend. Die Mücken verhielten sich darüber hinaus sehr inaktiv. Es wurden verschiedene Mengen an Nonansäure, Decansäure, Undecansäure und Laurinsäure definierter Mengen dem System Myristinsäure/L-Milchsäure zugemischt und im Y-Olfaktometer getestet (Tabelle 18).

Fettsäure + Myristinsäure/L-Milchsäure	Menge [µg]	n	% Attraktivität ± Standardfehler	% Aktivität ± Standardfehler
Nonansäure	250	8	5 ± 2	31 ± 5
Nonansäure	25	8	12 ± 3	36 ± 3
Nonansäure	2.5	8	22 ± 4	46 ± 5
Nonansäure	0.25	8	20 ± 3	41 ± 3
Decansäure	250	8	4 ± 1	28 ± 3
Decansäure	25	8	10 ± 2	36 ± 6
Decansäure	2.5	8	14 ± 3	33 ± 5
Decansäure	0.25	8	25 ± 5	56 ± 3
Undecansäure	250	8	7 ± 2	37 ± 2
Undecansäure	25	8	8 ± 2	40 ± 4
Undecansäure	2.5	8	27 ± 3	54 ± 6
Undecansäure	0.25	8	25 ± 3	60 ± 5
Laurinsäure	250	8	30 ± 4	78 ± 5
Laurinsäure	25	8	32 ± 3	68 ± 9
Laurinsäure	2.5	8	30 ± 5	75 ± 6
Laurinsäure	0.25	8	25 ± 5	54 ± 6
Myristinsäure/L-Milchsäure	20	8	35 ± 6	55 ± 5
L-Milchsäure	-	8	23 ± 4	44 ± 6
Probe GEM012	-	8	62 ± 4	79 ± 4

Tabelle 18 Repellente Wirkung einzelner Fettsäuren.

Während dieser Testreihe zeigte sich, dass auch Undecansäure ein starke Repellens für dieses System darstellte. Bei allen Mischungen wurde aber deutlich, dass bei geringeren Mengen dieser Effekt verloren ging. Die signifikanten Werte sind fett hervorgehoben. In weiteren

Versuchen konnte gezeigt werden, dass diese drei Fettsäuren auch andere attraktive Fettsäure/L-Milchsäure-Systeme in gleichem Maße störten.

3.3.12 Verhaltenstests der terpenoiden Verbindungen

Es wurden Verbindungen getestet, die mit dynamischer Headspace vom Arm einer Versuchsperson angereichert werden konnten (Tabelle 19). Mittels Kryofocussierungstechnik wurden die Verbindungen desorbiert und anschließend durch GC-MS untersucht.

Terpen + L-Milchsäure	Menge [µg]	n	% Attraktivität ± St.fehler	% Aktivität ± St.fehler
6-Methyl-5-hepten-2-on (54)	1	8	18 ± 5	70 ± 7
(5E)-6,10-Dimethyl-5,9-undecadien-2-on (59)	1	8	21 ± 6	69 ± 9
(4E,8E)-5,9,13-Trimethyl-4,8,12-docosapentaenal (44)	1	8	24 ± 3	53 ± 8
(4E,8E,12E)-4,8,13,17-Tetramethyl-4,8,12,16-tetradecatrilal (45)	1	8	15 ± 3	73 ± 9
(4E,8E,12E,16E)-4,8,13,17,21-Pentamethyl-4,8,12,16,20-docosapentaenal (46)	1	8	17 ± 6	65 ± 8
Squalen (47)	1	8	13 ± 4	60 ± 9
(±)-1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (51)	10	8	24 ± 6	79 ± 4
(±)-1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (51)	1	8	23 ± 2	76 ± 4
(±)-1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (51)	0.1	8	24 ± 3	80 ± 4
(±)-1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (51)	0.01	8	18 ± 3	79 ± 5
(S,S)-(-)-1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (51a)	1	8	18 ± 4	70 ± 4
(R,R)-(+)-1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (51b)	1	8	22 ± 3	71 ± 7
(1S,3R,4S)-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (52c)	1	8	21 ± 4	71 ± 7
(1R,3R,4R)-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (52d)	1	8	19 ± 3	69 ± 6
(1S,3S,4S)-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (52e)	1	8	17 ± 3	65 ± 4
(1R,3S,4R)-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (52f)	1	8	12 ± 2	63 ± 4
L-Milchsäure	-	8	15 ± 4	65 ± 9

Tabelle 19 Attraktivität terpenoider Verbindungen.

Die getesteten Terpene waren in Kombination mit L-Milchsäure nicht attraktiver als der Standardreiz selber. Auch Konzentrationsvariationen bewirkten keine Veränderung auf das Verhalten der Versuchstiere.

3.4 Diskussion der Ergebnisse aus Teil 1

Bislang konnten nur wenige Verbindungen identifiziert und in Labor- bzw. Freilandtests auf ihre Bioaktivität gegenüber blutsaugenden Insekten geprüft werden. Darunter befindet sich z.B. das Eiablagesignal (5*R*,6*S*)-6-Acetoxy-5-hexadecanolid (**130**) der Mückenart *Culex quinquefasciatus*¹⁷⁷ und die verzweigten Kohlenwasserstoffe **131**, **132** sowie **133**, die bei einigen Tsetsefliegenarten als Sexualpheromone beschrieben wurden^{178,179}. Während bei den dimethylverzweigten Kohlenwasserstoffen nur die *meso*-Formen aktiv sind, die als Kontaktpheromone bei *Glossina austeni* und *Glossina morsitans morsitans* gefunden werden konnten, sind alle Stereoisomere des 15,19,23-Trimethylheptatriacosans (**130**) gleichermaßen bei der letztgenannten Art wirksam.

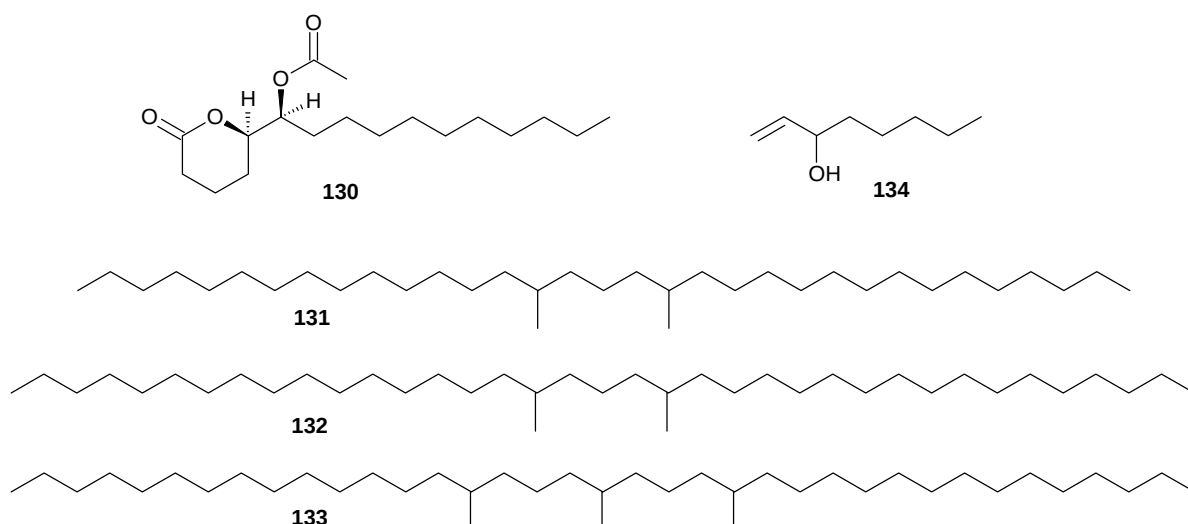


Abbildung 55 Eiablagepheromon (5*R*,6*S*)-6-Acetoxy-5-hexadecanolid (**130**) der Mückenart *Culex quinquefasciatus*, Kontaktpheromon *meso*-15,19-Dimethyltritriacosan (**131**) der Tsetsefliege *Glossina austeni* und die Kontaktpheromone *meso*-17,21-Dimethylheptatriacosan (**132**) und 15,19,23-Trimethylheptatriacosan (**133**) der Tsetsefliege *Glossina morsitans morsitans*, 1-Octen-3-ol (**134**) als möglicher Primärattraktant bei *Aedes aegypti*.

Zahlreiche Publikationen beschreiben die Wirtsfindung der Stechmücken, insbesondere von *Aedes aegypti*. Bislang können nur L-Milchsäure und Kohlendioxid als attraktive Verbindungen eindeutig nachgewiesen werden^{70,111}. Das angeblich natürlich auftretende und hoch wirksame 1-Octen-3-ol (**131**) kann in keiner der in dieser Arbeit untersuchten Proben nachgewiesen werden^{105,116}. Auch die Arbeit von Bernier gibt keinen sicheren Aufschluss über die Existenz dieser Verbindung auf der menschlichen Hautoberfläche¹³⁵.

Durch einen autoxidativen Prozess höherer Terpene, wie dem Squalen, könnten Precursoren entstehen, die wiederum durch Mikroorganismen auf der menschlichen Hautoberfläche weiter oxidiert werden und durch intramolekulare Zyklisierung die bicyclischen Acetale liefern. In Abbildung 56 ist der mögliche oxidative Abbauweg des Squalens grafisch beschrieben.

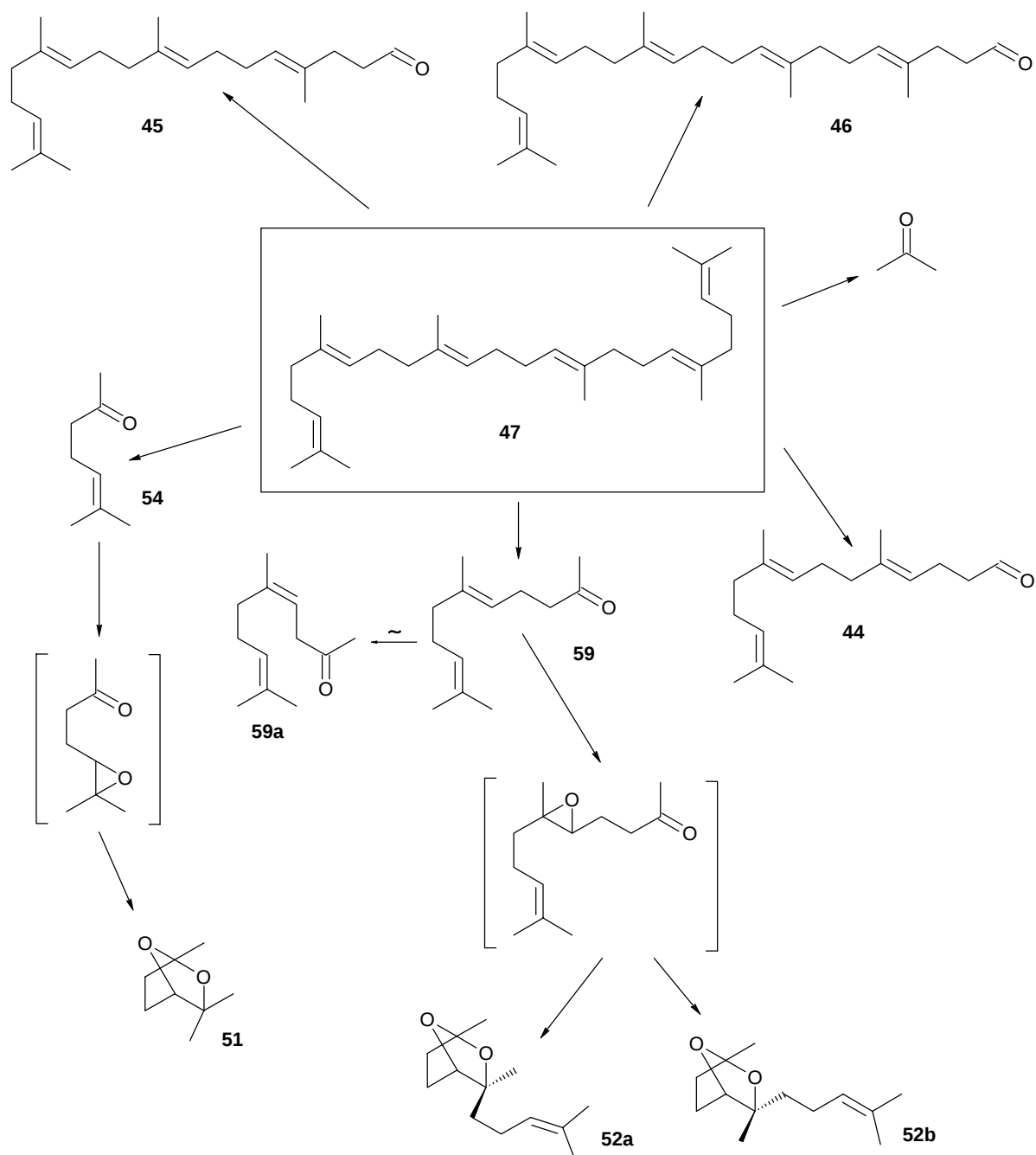


Abbildung 56 Terpenoide Inhaltsstoffe von Headspace-Proben des menschlichen Arms. Oxidativer Abbauweg des Squalens und nachfolgende Zyklisierung zu den bicyclischen Acetalen **51**, **52a** sowie **52b**.

Der hier bestimmte Enantiomerenüberschuß von Verbindung **51** deutet dabei auf enzymatische Reaktionen hin¹¹. Das Epoxid des Sulcatons kann nur anhand des Massenspektrums und der längeren Retentionszeit (ca. 6 Minuten) auf der Kapillarsäule gegenüber dem bicyclischen Acetal **51** in Anlehnung an Oldham bestimmt werden¹⁴³. Die Massenspektren beider Verbindungen sind nur durch leichte Intensitätsunterschiede einzelner Ionen zu unterscheiden. Dagegen kann das γ,δ -Epoxid des Geranylacetons nicht nachgewiesen werden. Nerylaceton (**59a**) wird bei einigen Versuchspersonen identifiziert, das demzufolge auf ein charakteristisches Merkmal einzelner Personen hindeutet und nicht durch thermischen Isomerisierung des Geranylacetons entsteht.

Neben den oben diskutierten unpolaren terpenoiden Verbindungen enthalten die hoch wirksamen Proben hauptsächlich Fettsäuren, die z.T. methylverzweigt sind. Ein „Baukastenprinzip“ ermöglicht es, in kurzen Synthesesequenzen 17 methylverzweigte Fettsäuren darzustellen. Dabei können 7 Strukturvorschläge bestätigt werden, die durch Untersuchungen von Proben mittels Kryofocussierung erarbeitet wurden. Die anderen 10 methylverzweigten Carbonsäuren weisen die Verzweigung an verschiedenen Positionen entlang der Kohlenstoffkette auf. Die natürlich auftretende *anteiso*-Tetradecansäure (**99**) kann auch stereoselektiv dargestellt werden. Es können u.a. insgesamt sechs Strukturisomere der Methyltetradecansäure synthetisiert und zusammen mit der *iso*-Pentadecansäure (**135**) für Verhaltenstests mit *Aedes aegypti* bereitgestellt werden.

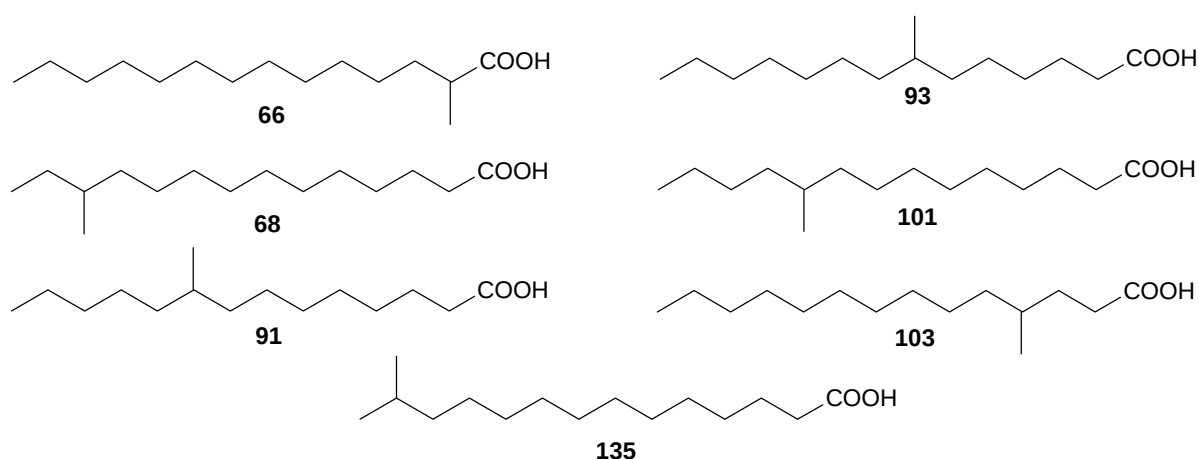


Abbildung 57 Methylverzweigte Tetradecansäuren für den Verhaltenstest bei Gelbfiebermücken.

Die Existenz verzweigter Fettsäuren auf der menschlichen Haut konnte bereits in umfassenden Arbeiten von Downing¹⁸⁰ und Nicolaides¹³⁸ bestätigt werden. Neu sind die hier identifizierten 7-Methylundecan- (**95**), 9-Methyltridecan- (**92**) und die 11-Methylpentadecan-

säuren **(135)**. Nicolaides prognostizierte individuelle Unterschiede in der Zusammensetzung des Fettsäuremusters bei Menschen, daß für die Wirtspräferenz von *Aedes aegypti* von besonderer Bedeutung sein könnte. In Arbeiten von Schreck¹³¹, Canyon¹⁸¹ und Steib¹⁸² steht diese Fragestellung im Vordergrund ihrer Untersuchungen.

Dient der menschliche Arm als Quelle der Headspace-Versuche, so können die auf *Aedes aegypti* attraktiv wirkenden Komponenten nur unzureichend angereichert werden. Auch verschiedene Varianten im Versuchsaufbau, wie den Einbau einer Kühlfalle zum Auffangen des Kondenswassers oder die Verkleinerung der Armmanschette, steigern die Attraktivität nur wenig. Aus den Kühlfallen gewonnene Schweißproben sind dagegen nicht wirksam, was in Einklang mit den Untersuchungen von Meijerink¹²⁶ steht, doch die Arbeiten von Parker⁶⁸, Takken⁹⁷ und Cork¹²⁵ widerlegen.

Die stärkste Resonanz liefert das Trägermaterial Seesand. Dieser wird einige Minuten lang zwischen den Händen einer Versuchsperson gerieben. Die auf diese Weise gewonnenen Sandablationen locken im Durchschnitt etwa so viele Mücken, wie die Probe GEM012⁷⁰. Wird der Sand in einem Reaktor erhitzt und im Closed-Loop-System mit Luft durchströmt, können auf einem dahinter geschalteten SuperQ-Filter die Wirkkomponenten so stark angereichert werden, dass ein solcher Filter nahezu alle Versuchstiere in den Zielkäfig lockt. Diese Filter verlieren über einen Zeitraum von mehr als einem Monat ihre Attraktivität auf Gelbfiebermücken nicht, und auch durch Extraktion mit 30 mL *n*-Pentan bleibt die Wirkung erhalten. Erst durch einige Tropfen Wasser verlieren die Filter ihre Wirkung. Während das Kondenswasser und die *n*-Pentan-Extrakte nicht attraktiv auf *Aedes aegypti* sind, erreichen Ethanolextrakte eine gewisse Anlockung der Versuchstiere, doch ist sie niedriger als die des Standardreizes GEM012. Ein synthetisches Gemisch der identifizierten Verbindungen dieser Extrakte erreicht eine starke Erhöhung der Attraktivitäts- und Aktivitätswerte im Biotest zum Vergleichswert der L-Milchsäure allein, doch ist die Wirkung der Probe GEM012 auch hier erheblich höher. Kombinationen von einigen Fettsäuren mit L-Milchsäure verdoppeln die Anzahl der Versuchstiere im Zielkäfig im Vergleich zur L-Milchsäure allein. Nonansäure, Decansäure und Undecansäure wirken in Kombination mit dem Synergisten sogar abstoßend auf die Tiere. Alle getesteten unpolaren Verbindungen, wie Aldehyde, terpenoide Verbindungen, Kohlenwasserstoffe und die bicyclischen Acetale sind in Einzeltests, aber auch in Kombination mit L-Milchsäure auf *Aedes*-Mücken unattraktiv. Die Tatsache, daß große Mengen *n*-Pentan bei der Extraktion der SuperQ-Filter die Attraktivität nicht herabsetzt, aber nur wenige Tropfen Wasser ausreichen die Wirkung der Filter herabzusetzen, deutet auf sehr polare Wirkkomponenten im Kairomonbukett der Gelbfiebermücken hin.

4 Teil 2: Die Mutter-Kind-Erkennung

Die intraspezifische chemische Kommunikation zwischen Säugetieren ist bislang nur wenig untersucht worden. Dabei stützen sich viele Erkenntnisse auf verhaltensrelevante Beobachtungen, die auf die Existenz chemischer Botenstoffe schließen lassen. Während bislang wenige Sexual- oder Alarmpheromone bei Säugetieren identifiziert werden konnten, fehlen chemische Informationen über die olfaktorische Regelung der Mutter-Kind-Beziehung völlig. So können Muttertiere von diversen Tierarten anhand spezifischer Gerüche ihre eigenen Jungen von fremden Neugeborenen unterscheiden. Bei einigen Nagetieren, wie der Mongolischen Wüstenrennmaus *Meriones unguiculatus*, dem Wildkaninchen *Oryctolagus cuniculus* und dem Meerschweinchen *Cavia porcellus*, werden die Jungtiere nach der Geburt mit dem Mutterduft aus speziellen Drüsen markiert. Wird dieser Duft abgewaschen oder gegen einen fremden Duft ersetzt, kann das Muttertier den eignen Nachwuchs nicht mehr erkennen^{183,184,185}. Bei der Gewöhnlichen Stachelmaus *Acomys cahirinus* konnte beobachtet werden, dass spezielle Nahrungsvorlieben der jeweiligen Muttertiere unterschiedliche Gerüche des Urins hervorrufen, welcher zur Markierung der Jungtiere Verwendung findet. Wird die Nahrung für die Versuchstiere vereinheitlicht, ist es den Muttertieren trotz individueller Markierung ihrer Jungen unmöglich, sie von fremdem Nachwuchs zu differenzieren¹⁸⁶.

Bei Herdentieren, wie der Ziege *Capra hircus*, dem Schwein *Sus domesticus* und dem Hausschaf *Ovis aries*, ist duftstoffbestimmendes Verhalten besonders ausgeprägt. So kann auch hier beobachtet werden, dass der eigene Nachwuchs beschützt und zum Säugen zugelassen wird, wohingegen Fremdtiere verstoßen werden^{53,187,188}. Gubernick nimmt dabei an, dass der spezifische Muttergeruch bei Ziegen über das Lecken oder über die Milch beim Säugen auf die Jungen übertragen wird¹⁸⁹.

Auch Jungtiere können auf spezifische Gerüche ihrer Mütter oder der Umgebung sehr differenziert reagieren. So spielen bei nesthockenden Säugetieren auch individuelle Nestgerüche in der Mutter-Kind-Erkennung eine wichtige Rolle. Untersucht wurde dieses Verhalten u.a. bei Hamstern, Ratten, Wüstenrenn-, Haus- und Stachelmäusen, Wildkaninchen und Hauskatzen¹⁹⁰. Besonders deutlich wird dieses Phänomen bei kleinen Katzen *Felis domesticus*, die sich in Verhaltensstudien eindeutig zum eigenen Nest hingezogen fühlen, aber fremde Nester verlassen. Dieser Nestgeruch setzt sich aus dem vertrauten Eigengeruch und dem der Mutter zusammen. Jungtiere von einigen dieser hier aufgezählten Arten sind zudem in der Lage zwischen der Muttermilch und der Milch von Fremdtieren zu

unterscheiden¹⁹¹. Kaplan konnte sogar beim Primatenjungen *Saimiri sciurius* diese Auswahlkriterien beobachten¹⁹². Bei einigen Säugetieren konnte beobachtet werden, dass wichtige Gerüche bereits vor der Geburt erlernt worden sind¹⁹³.

4.1 Teil 2a: Die Mutter-Kind-Erkennung beim Menschen

Bereits 1877 berichtete Darwin, dass Säuglinge auf die sich nähernde Mutterbrust durch eine Kopfbewegung reagieren⁵⁴. Fast hundert Jahre später bewies MacFarlane den chemischen Hintergrund dieser fundamentalen Beobachtung. Er sammelte individuelle Gerüche von der Mutterbrust mit Wattepad, auf die 10 Tage alte Säuglinge signifikant reagieren und zwischen den Gerüchen der eigenen und der fremder Mütter differenzieren können¹⁹⁴. Neue Studien zeigen, dass die Reaktion der Säuglinge auf die bevorzugten, natürlichen Duftquellen, wie z.B. Fruchtwasser, Muttermilch bzw. Kolostrum und die Mutterbrust, in den ersten Tagen wechseln. Die ursprünglich starke Reaktion auf das Fruchtwasser wird durch den Duft der mütterlichen Brust bzw. des Kolostrums und später der Muttermilch ersetzt. Diese neue Vorliebe ist auf die gewachsene Erfahrung der Neugeborenen zurückzuführen. Die ersten Reaktionen auf das Fruchtwasser wird dem pränatalen Lernen der Säuglinge im Uterus zugesprochen^{195,196,197,198,199}. Diese Möglichkeit zum Lernen wichtiger Gerüche bleibt auch in den ersten Lebenswochen sehr ausgeprägt⁶².

Andere Studien beschäftigen sich mit der umgekehrten Fragestellung. Dabei stehen die Möglichkeiten der olfaktorischen Erkennung der Säuglinge durch deren Mütter und Väter im Vordergrund. Mütter können nach kurzer Zeit ihren Nachwuchs von anderen Neugeborenen am Geruch unterscheiden²⁰⁰. Außerdem reagieren sie erheblich sensibler auf den Geruch von Säuglingen, als Frauen, die noch nicht oder vor längerer Zeit ein Kind geboren haben²⁰¹. Porter konnte zeigen, dass Väter ihre Säuglinge anhand des Geruchs identifizieren können²⁰², wobei Russell gegenteilige Versuchsergebnisse präsentierte²⁰³. Die grundsätzliche Möglichkeit der Väter, den Individualgeruch des Säuglings zu erkennen, sind in der Studie von Schaal dargelegt. Darin wird gezeigt, dass beide Elternteile in der Lage sind, anhand des Fruchtwassers ihr Neugeborenes zu identifizieren²⁰⁴. In der jüngsten Studie konnte von Bengtsson gezeigt werden, dass insbesondere Männer Neugeborene an ihrem spezifischen Geruch erkennen können²⁰⁵.

4.2 Methodenentwicklung zur Gewinnung von Extrakten aus menschlichem Kolostrum und Fruchtwasser

Die Muttermilch bzw. der Kolostrum (Erstmilch) und das Fruchtwasser wurde von Prof. Dr. Volker Lehmann vom Perinatalzentrum des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Altona zur Verfügung gestellt. Das Probenmaterial wurde direkt nach Abnahme bei -18°C tiefgefroren und erst kurz vor der Aufarbeitung aufgetaut. Eine Auflistung des Probenbestandes findet sich im experimentellen Teil dieser Arbeit in Tabelle 32.

Die Gewinnung von Proben für die gaschromatographische Analyse der flüchtigen Inhaltsstoffe von Muttermilch und Fruchtwasser war relativ aufwendig, da es sich teilweise um inhomogene Lösungen handelte. So besteht z.B. Kuhmilch im wesentlichen aus einer wässrigen Suspension von Proteinen (1.2-2.7 g/100 mL), Lipiden (1.9-3.5 g/100mL) und Kohlenhydraten (5.3-7.0 g/100 mL)²⁰⁶. Das Extraktionsverfahren mußte einerseits eine Abtrennung des Wassers erreichen, und andererseits die Makromoleküle aus dem Probenmaterial entfernen. Beim Fruchtwasser war das Probenmaterial z.T. sehr flüssig oder oftmals mit festen Rückständen z.B. aus der Fruchtwasserhaut (Amnion) durchsetzt. Je nach Zeitpunkt der Entnahme der Amnionflüssigkeit war sie gelblich klar oder durch die Ausscheidungen des Embryos bereits stark getrübt. Ist das Fruchtwasser bei der Geburt aufgefangen worden, so war häufig Blut darin enthalten. Da eine möglichst vollständige Analyse von Fruchtwasser und Muttermilch durchgeführt werden sollte, konnte nicht auf die Verfahren von Rau zurückgegriffen werden, der nur bestimmte Substanzklassen ähnlicher Polarität suchte²⁰⁷.

4.2.1 Aufarbeitung und Extraktion von Muttermilch (Kolostrum)²⁰⁸

Abbildung 58 zeigt das Aufarbeitungsschema zur Gewinnung von Muttermilch-Extrakten, die für analytische Messungen eingesetzt werden konnten. Im Abschnitt 6.11.3 des experimentellen Teils wird diese Methode näher beschrieben.

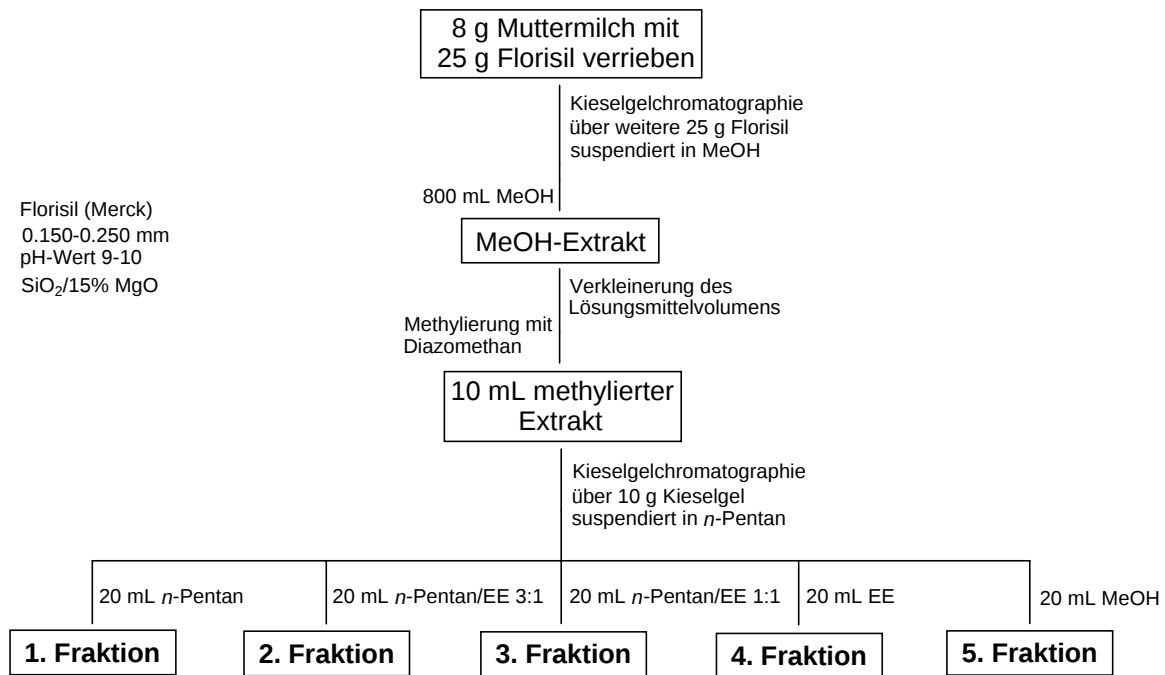


Abbildung 58 Extraktionsschema zur Aufarbeitung von Muttermilch.

4.2.2 Aufarbeitung und Extraktion von menschlichem Fruchtwasser

Aufgrund geringer Probenmengen von je ca. 3-25 mL Volumen wurde eine Methode zur Aufarbeitung des Fruchtwassers gewählt, die möglichst in einem einzigen Extraktionsschritt eine optimale Anreicherung aller flüchtigen Verbindungen gewährleistet. Die Durchführung wird im experimentellen Teil in Abschnitt 6.11.4 dieser Arbeit beschrieben. Abbildung 59 gibt einen schematischen Überblick über das Extraktionsverfahren.

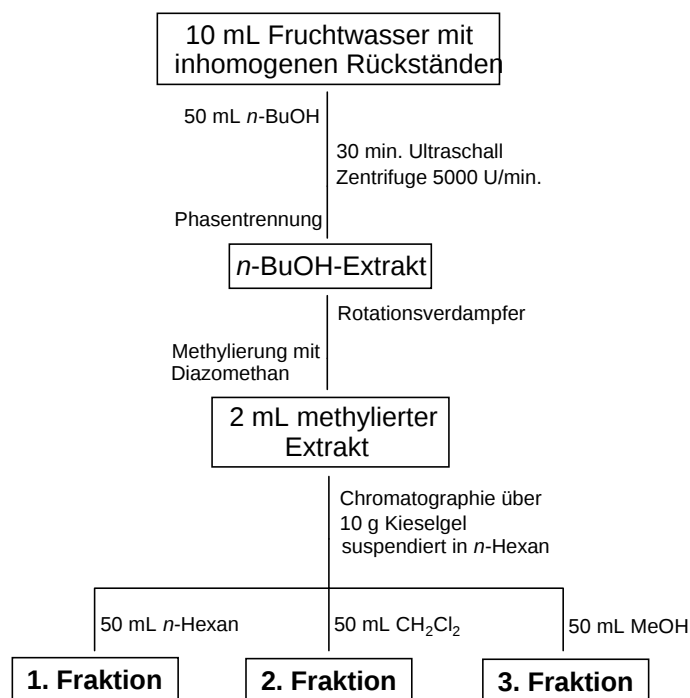


Abbildung 59 Extraktionsschema zur Aufarbeitung von Fruchtwasser.

4.3 Identifizierung flüchtiger Verbindungen aus Kolostrum und Fruchtwasser des Menschen

Im Mittelpunkt der Untersuchungen stand die Identifizierung flüchtiger Komponenten, die mit Hilfe der GC-MS untersucht wurden. Nachfolgender Abschnitt stellt die Ergebnisse der chemischen Analysen von menschlicher Erstmilch/Kolostrum und Fruchtwasser dar. Bei den Fruchtwasseruntersuchungen konnten nur vereinzelt Versuchswiederholungen durchgeführt werden, da z.T. wenig Ausgangsmaterial zur Verfügung stand. Trotz dieser Voraussetzungen konnten viele der identifizierten Verbindungen in allen Proben nachgewiesen werden und unterstützen damit die Zuverlässigkeit der Analysen. Die Kolostralmilch und das Fruchtwasser wurden nach oben beschriebenen Methoden aufgearbeitet. Im experimentellen Teil dieser Arbeit findet sich eine Liste der Proben zu diesen Untersuchungen. Die Ergebnisse von 8 Fruchtwasserproben und 5 Kolostrumproben werden nachfolgend dargestellt. Dabei wird ein Chromatogramm exemplarisch abgebildet und im Anschluss eine komplette Liste der Inhaltsstoffe aller untersuchten Proben angegeben. Eine Quantifizierung fand in diesem Zusammenhang nicht statt, sondern es wurde eine Einteilung in Haupt- ($H > 5\%$), Neben- ($N > 0.5\%$) und Spurenkomponente ($S < 0.5\%$), die sich auf die Gesamtflächen im Totalionenstromchromatogramm beziehen, vorgenommen. K steht für Kontaminanten. Die mit einem n.d. (not detected) versehenen Komponenten konnten in den jeweiligen Extrakten nicht nachgewiesen werden. Mit einem * markierte Verbindungen werden eingehender diskutiert.

4.3.1 Identifizierung flüchtiger Verbindungen im Fruchtwasser des Menschen

Die Aufarbeitung von menschlichem Fruchtwasser gelang durch das im Methodenteil dargestellte Verfahren. Es wurden drei Fraktionen erhalten, deren Chromatogramme im folgendem abgebildet sind.

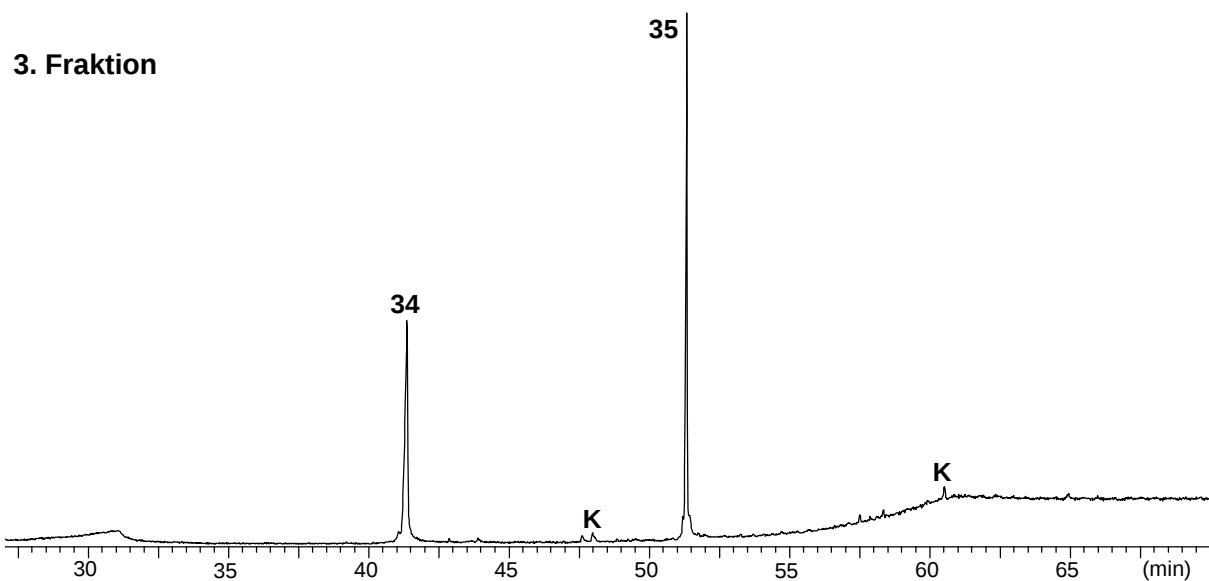
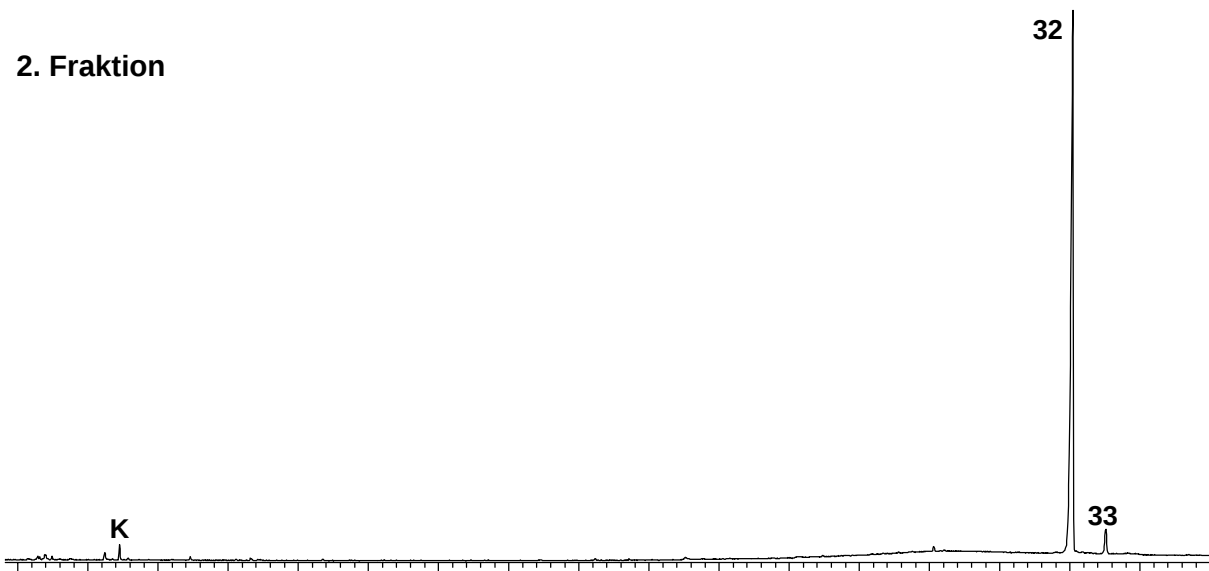
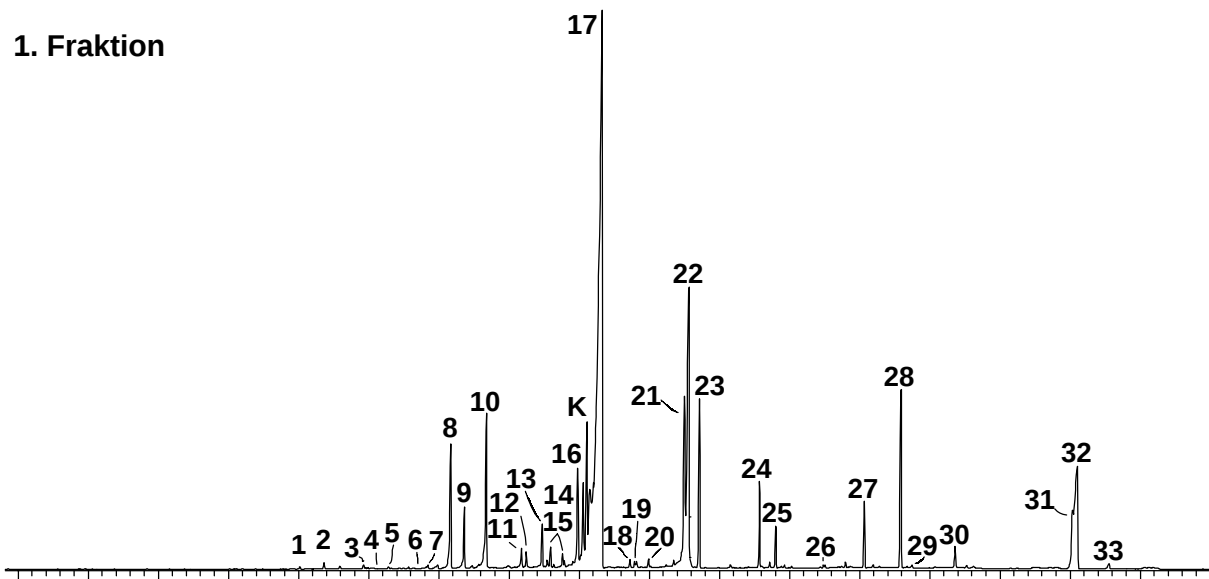


Abbildung 60 Drei Chromatogramme von Fraktionen des menschlichen Fruchtwassers 6. (Optima-5 60 m, Temperaturprogramm: 60°C, 10 min. isotherm, 5°C/min. auf 300°C, 30 min. isotherm).

Durch das Extraktionsverfahren mit *n*-Butanol im Ultraschallbad wurden freie Fettsäuren zu Butylestern verestert. Die nachfolgende Methylierung mit Diazomethan lieferten nur noch in geringen Konzentrationen die entsprechenden Methylester. Alle Ester konnten mit *n*-Hexan in der 1. Fraktion angereichert werden. Es konnten in allen Proben *iso*- und *anteiso*-methylverzweigte Fettsäuren und in vier Extrakten sogar 11-Methylpentadecansäure (**135**) identifiziert werden. Interessanterweise wurde in zwei Fruchtwasser-Extrakten Coffein nachgewiesen, dass im Fruchtwasser 6 eine Hauptkomponente darstellte. Höchstwahrscheinlich war dies auf hohen Kaffeekonsum der Probandin vor der Probennahme zurückzuführen. Neben den aufgeführten Fettsäuren konnten in allen Proben Squalen (**S28/47**), Cholesterol (**S33**) bzw. Cholesterylacetat (**S32**) und Ölsäureamid (**S35**) identifiziert werden. Die Verifizierung des *anteiso*-Pentadecansäurebutylesters (**S12**) gelang durch Synthese einer Referenzsubstanz nach dem in Teil 1 dieser Arbeit beschriebenen „Baukastensystem“, wobei die Carbonsäure anschließend mit *n*-Butanol verestert wurde. Gleiches galt für den 11-Methylpentadecansäurebutylester (**S14**).

Nr.	Verbindungen	1	2	3	4	5	6	7	8
S1	<i>iso</i> -Tetradecansäuremethylester	n.d.	n.d.	S	S	S	S	S	n.d.
S2	Myristinsäuremethylester	N	N	N	N	N	N	N	N
S3	<i>iso</i> -Pentadecansäuremethylester	S	n.d.	S	S	S	S	S	S
S4	<i>anteiso</i> -Pentadecansäuremethylester	S	n.d.	n.d.	S	S	S	S	S
S5	Pentadecansäuremethylester	S	n.d.	S	S	n.d.	S	S	n.d.
S6	<i>iso</i> -Hexadecansäuremethylester	S	n.d.	S	S	S	S	S	S
S7	<i>anteiso</i> -Hexadecansäuremethylester	S	n.d.	S	n.d.	n.d.	S	S	S
S8	Palmitinsäuremethylester	H	H	H	H	H	H	H	H
S9	Myristoleinsäurebutylester	H	H	N	H	H	H	H	H
S10	Myristinsäurebutylester	H	H	H	H	H	H	H	H
S11	<i>iso</i> -Pentadecansäurebutylester	S	N	N	n.d.	S	N	n.d.	n.d.
S12	<i>anteiso</i> -Pentadecansäurebutylester	S	n.d.	N	n.d.	n.d.	N	S	S
S13	Pentadecansäurebutylester	N	N	N	N	N	N	N	N
S14	11-Methylpentadecansäurebutylester	S	n.d.	N	n.d.	n.d.	N	N	n.d.
S15	<i>iso</i> -Hexadecansäurebutylester	S	S	N	S	S	N	N	S
S16	Palmitoleinsäurebutylester	H	H	H	H	H	H	H	H
S17	Palmitinsäurebutylester	H	H	H	H	H	H	H	H
S18	<i>iso</i> -Heptadecansäurebutylester	S	n.d.	N	n.d.	n.d.	N	n.d.	N
S19	<i>anteiso</i> -Heptadecansäurebutylester	S	n.d.	N	S	n.d.	N	S	N
S20	Heptadecansäurebutylester	S	N	N	S	S	N	N	N
S21	Linolsäurebutylester	H	H	H	H	H	H	H	H
S22	Ölsäurebutylester	H	H	H	H	H	H	H	H
S23	Stearinsäurebutylester	H	H	H	H	H	H	H	H
S24	Arachidonsäurebutylester	H	H	H	N	n.d.	H	H	N
S25	Eicosansäurebutylester	N	N	S	N	N	N	N	N
S26	Heneicosansäurebutylester	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.	n.d.

S27	Docosansäurebutylester	N	H	N	N	S	H	H	H
S28	Squalen	H	H	H	H	H	H	H	H
S29	Tricosansäurebutylester	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.	n.d.
S30	Tetracosansäurebutylester	S	S	S	S	n.d.	N	n.d.	n.d.
S31	Hexacosansäurebutylester	S	S	N	S	n.d.	N	n.d.	n.d.
S32	Cholesterylacetat	H	H	H	H	H	H	H	H
S33	Cholesterol	S	N	N	N	N	N	N	N
S34	Coffein	n.d.	S	n.d.	n.d.	n.d.	H	n.d.	n.d.
S35	Ölsäureamid	S	S	H	N	S	H	N	N

Tabelle 20 Inhaltsstoffe der 1.-3. Fraktion menschlicher Fruchtwasserproben.

4.3.2 Identifizierung flüchtiger Verbindungen im Kolostrum des Menschen

Die Kolostrum-Proben wurden mit Florisil verrieben, extrahiert, derivatisiert und in fünf Extrakte verschiedener Polarität fraktioniert. Die dabei gewonnene unpolare 1. Fraktion und die methanolische 5. Fraktion werden in den folgenden Abschnitten näher vorgestellt und im Detail erläutert. Die drei mittelpolaren Fraktionen enthielten nur Kontaminanten oder Spuren von Verbindungen, die die Hauptbestandteile der beiden hier diskutierten Fraktionen bildeten.

4.3.2.1 Inhaltsstoffe der 1. Fraktion

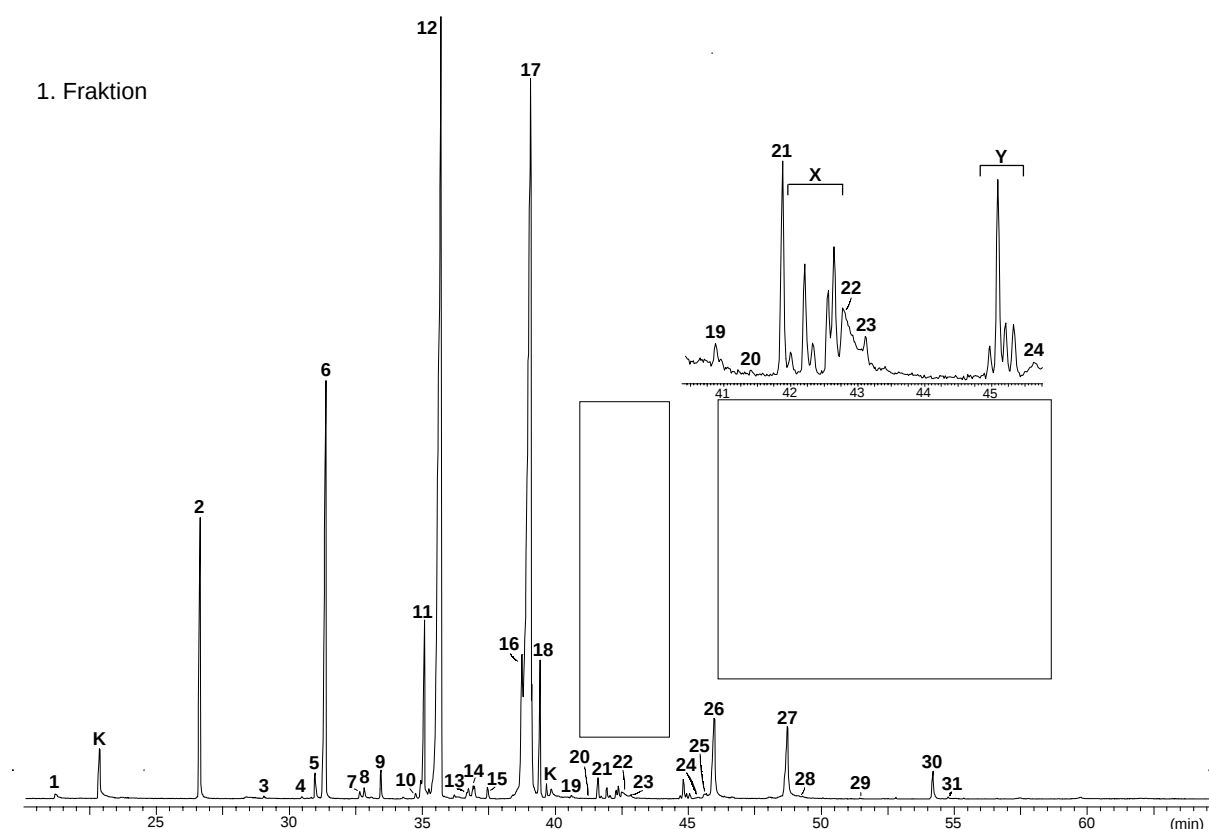


Abbildung 61 Chromatogramm der 1. Fraktion von menschlichem Kolostrum 5. Die Buchstaben **X** und **Y** über den Klammern zeigen eine Gruppe von mehrfach ungesättigten C_{20} - bzw. C_{22} -Fettsäuren an. (Optima-5, 30 m; Temperaturprogramm: 50°C, 10 min. isotherm, 5°C/min. auf 300°C, 20 min. isotherm).

Neben den bekannten Fettsäuremethylestern konnten in allen Proben Squalen (**S29/47**) und Cholesterol (**S31**) bzw. Cholesterylacetat (**S30**) nachgewiesen werden (Tabelle 21). In diesem Zusammenhang waren die fünf Monoglycerinester **S22**, **S25**, **S26**, **S27** und **S28** bislang nicht beschrieben. Ölsäure-2,3-dihydroxypropylester (**S27**) war kommerziell als Referenzsubstanz erhältlich und konnte eindeutig als Bestandteil der Naturextrakte identifiziert werden. Auf

Grund des Retentionsverhaltens und der Ähnlichkeit der Massenspektren konnten die Homologen mit großer Sicherheit zugeordnet werden.

Nr.	Verbindung	1	2	3	4	5
S1	Decansäuremethylester	N	N	S	N	S
S2	Laurinsäuremethylester	H	H	H	H	H
S3	Tridecansäuremethylester	S	S	S	S	S
S4	<i>anteiso</i> -Tetradecansäuremethylester	n.d.	S	S	n.d.	S
S5	Myristoleinsäuremethylester	N	N	N	S	N
S6	Myristinsäuremethylester	H	H	H	H	H
S7	<i>iso</i> -Pentadecansäuremethylester	S	N	S	N	N
S8	<i>anteiso</i> -Pentadecansäuremethylester	n.d.	S	N	n.d.	N
S9	Pentadecansäuremethylester	N	N	N	N	N
S10	<i>anteiso</i> -Hexadecansäuremethylester	n.d.	S	S	n.d.	S
S11	Palmitoleinsäuremethylester	H	H	H	H	H
S12	Palmitinsäuremethylester	H	H	H	H	H
S13	<i>iso</i> -Heptadecansäuremethylester	N	N	N	N	N
S14	<i>anteiso</i> -Heptadecansäuremethylester	n.d.	S	S	S	N
S15	Heptadecansäuremethylester	N	N	N	N	N
S16	Linolsäuremethylester	H	H	H	H	H
S17	Ölsäuremethylester	H	H	H	H	H
S18	Stearinsäuremethylester	H	H	H	H	H
S19	<i>anteiso</i> -Nonadecansäuremethylester	n.d.	S	S	n.d.	S
S20	Nonadecansäuremethylester	n.d.	S	S	n.d.	S
S21	Arachidonsäuremethylester	N	N	N	N	N
S22	Myristinsäure-2,3-dihydroxypropylester*	S	S	S	S	S
S23	Eicosansäuremethylester	n.d.	S	S	n.d.	S
S24	Docosansäuremethylester	n.d.	S	S	n.d.	S
S25	Palmitoleinsäure-2,3-dihydroxypropylester*	S	S	S	S	S
S26	Palmitinsäure-2,3-dihydroxypropylester*	N	N	H	N	H
S27	Ölsäure-2,3-dihydroxypropylester*	N	N	H	N	H
S28	Stearinsäure-2,3-dihydroxypropylester*	S	S	S	S	S
S29	Squalen	S	N	N	S	S
S30	Cholesterylacetat	N	N	H	H	H
S31	Cholesterol	S	S	S	S	S

Tabelle 21 Inhaltstoffe der 1. Fraktion von menschlichem Kolostrum.

4.3.2.2 Massenspektren und Fragmentierungsschemata von 1-Acylglycerinen

Die folgenden zwei Massenspektren zeigen Palmitinsäure- und Ölsäure-2,3-dihydroxypropylester (**S24**) bzw. (**S27**), deren charakteristische Fragmentation ausführlich diskutiert werden. Beide Substanzen zählten ebenfalls zu den Hauptkomponenten der 1. Fraktion von Kolostralmilchextrakten.

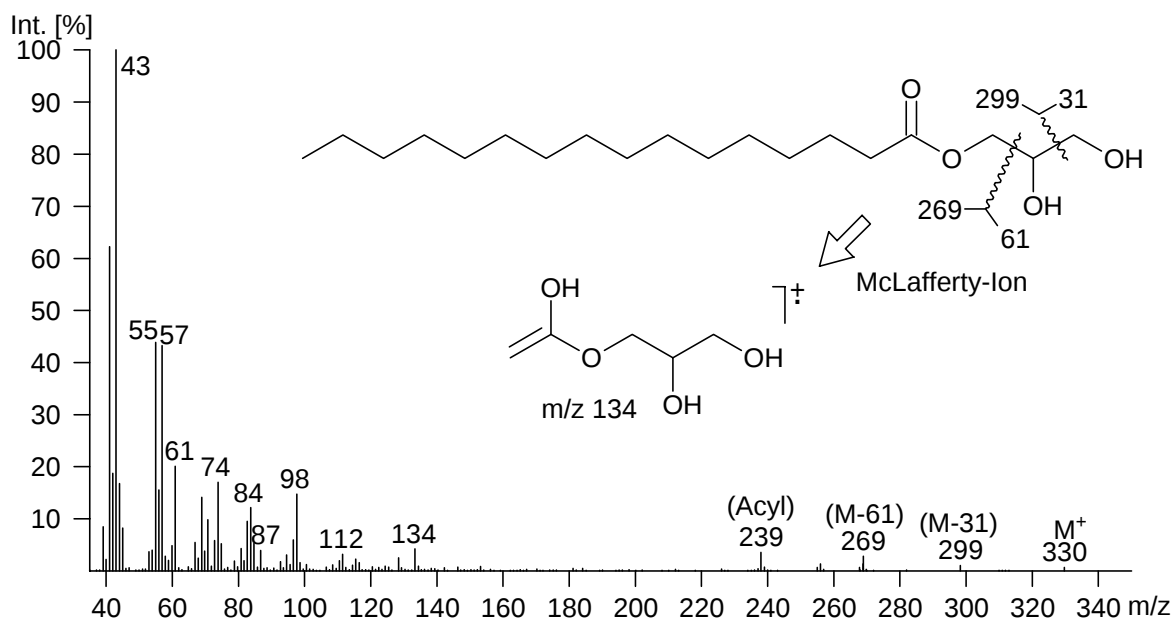


Abbildung 62 Massenspektrum von Palmitinsäure-2,3-dihydroxypropylester (S26).

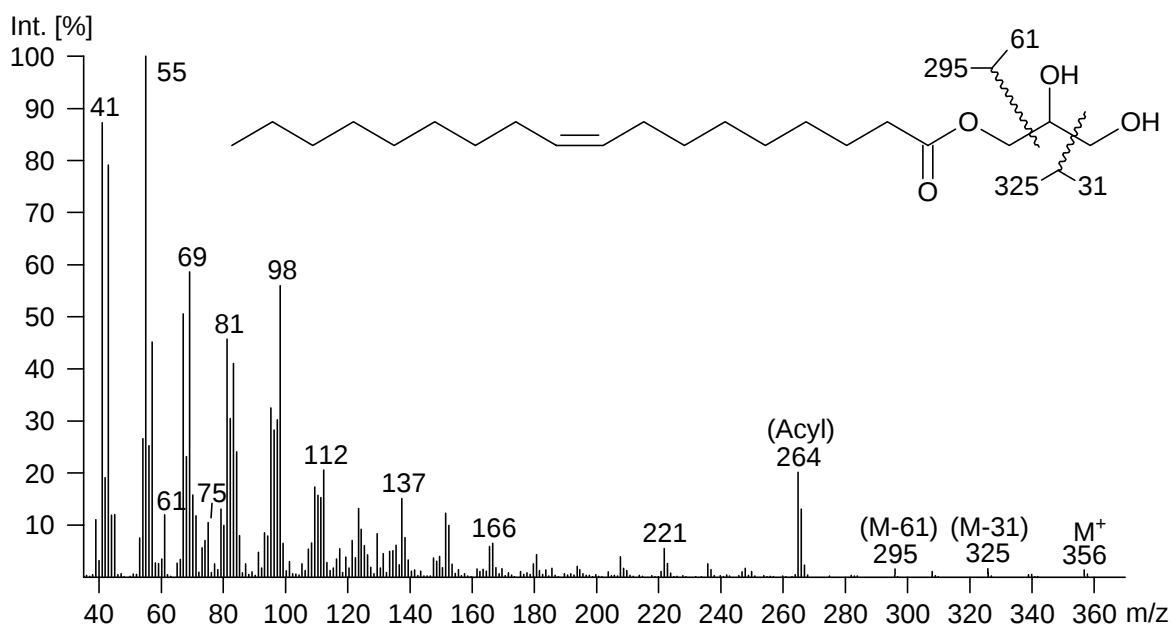


Abbildung 63 Massenspektrum von Ölsäure-2,3-dihydroxypropylester (S27).

Alle Massenspektren dieser homologen Verbindungen wiesen intensive Acylionen mit m/z 211, 237, 239, 265/264 und 267 auf, die eine Zuordnung der jeweiligen Fettsäuren ermöglichten. Die Molekülmassen waren zu erkennen, doch sind die α -Spaltungen neben den Hydroxy-Gruppen des Glycerinrestes mit M-31 und M-61 stärker ausgeprägt. Daneben fand sich auch m/z 61 und beim Ölsäurederivat zusätzlich m/z 75, dass die benachbarte Methylen-einheit beinhaltet. Schwach ausgebildet war bei allen Verbindungen M-18 durch die

Abspaltung von Wasser, daß bei üblichen Alkoholen bzw. Diolen häufig charakteristisch ist. Das McLafferty-Ion m/z 134 tritt bei Palmitinsäure-2,3-dihydroxypropylester (**S26**) auf, jedoch war es beim Ölsäure-Homologen **S27** nicht signifikant. Die Zuordnung des für Carbonsäuremethylestern üblichen McLafferty-Ions m/z 74 und die Fragmentierung zu m/z 87 im Massenspektrum der Abbildung 62 könnte durch die Bildung von m/z 269 und der Anlagerung eines Protons zum entsprechenden „Hexadecansäuremethylester-Ion“ erklärt werden. Die anschließende Fragmentierung über die McLafferty-Umlagerung zu m/z 74 erfolgt dann nach bekanntem Schema.

Im Zuge der Strukturaufklärung dieser Verbindungen wurden die Extrakte auch acetyliert. Das Massenspektrum des diacetylierten Ölsäure-2,3-dihydroxypropylesters (**136**) ist in Abbildung 64 abgebildet. Das Spektrum verdeutlicht die charakteristischen Brüche am Glyceringerüst. Das Auftreten von m/z 159 ist äquivalent zum oben beschriebenen Fragmention m/z 75. Dagegen ist m/z 145 als Äquivalent zu m/z 61 nicht zu erkennen, demzufolge traten auch keine weiteren McLafferty-Umlagerungen ein. Ein Vergleichsspektrum lieferte die Publikation von Tokumura, der einige dieser Fettsäure-2,3-diacetyloxypropylester im Lecithin von Soyabohnen identifizierte²⁰⁹.

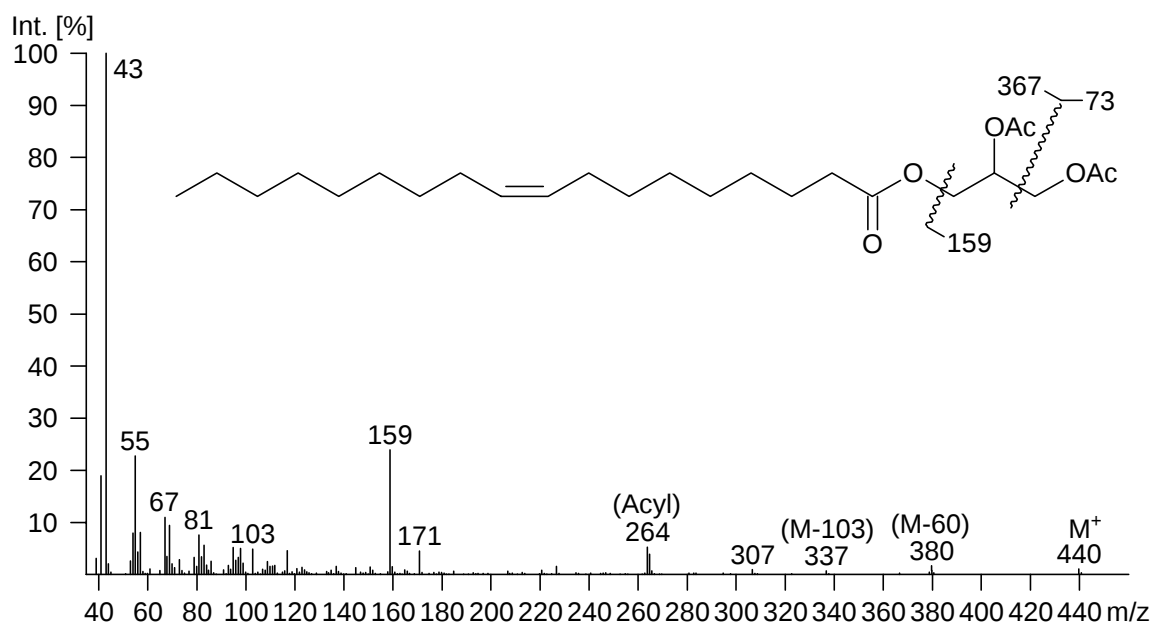


Abbildung 64 Massenspektrum von Ölsäure-2,3-diacetyloxypropylester (**136**).

4.3.2.3 Inhaltsstoffe der 5. Fraktion

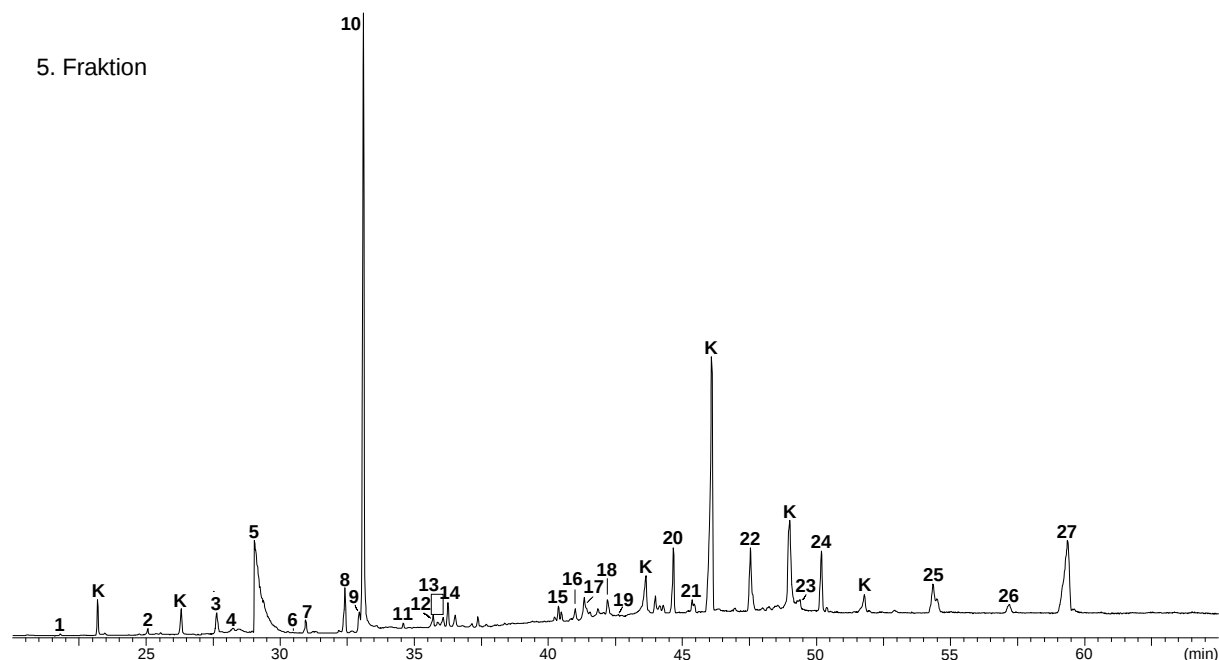


Abbildung 65 Chromatogramm der methanolischen 5. Fraktion von menschlichem Kolostrum 5. (FFAP 50 m; Temperaturprogramm: 60°C, 10 min. isotherm, 5°C/min. auf 220, 40 min. isotherm).

Tabelle 22 zeigt die identifizierten Inhaltsstoffe der 5. Fraktion. Darunter befanden sich 14 Furan- und Pyron-Derivate. Verbindungen **S18**, **S22**, **S25** und **S27** werden anhand ihrer Massenspektren diskutiert; Synthesemöglichkeiten werden vorgestellt. Die Synthesen der Inhaltsstoffe **S7**, **S8** und **S11** sind zudem erläutert. Die übrigen Verbindungen wurden kommerziell erworben und konnten in Referenzmessungen die Strukturvorschläge bestätigen.

Nr.	Verbindung	1	2	3	4	5
S1	Furfurylmethylether	S	S	S	S	S
S2	4-Hydroxy-4-methylpentan-2-on	S	S	S	S	S
S3	Furfural	N	N	N	N	N
S4	2-Furylmethylketon	S	S	S	S	S
S5	L-Milchsäuremethylester	H	H	H	H	H
S6	Decansäuremethylester	S	S	S	S	S
S7	5-Methylfurfural*	N	N	N	N	N
S8	Isomaltol*	N	N	N	N	N
S9	Butyrolacton	S	S	S	S	S
S10	Furfuralkohol	H	H	H	H	H
S11	5-Methyl-2-hydroxymethylfuran*	S	S	S	S	S
S12	Laurinsäuremethylester	N	N	N	N	N
S13	2(5H)-Furanon	N	N	N	N	N
S14	Acetamid	N	N	N	N	N
S15	Myristinsäuremethylester	N	N	N	N	N
S16	Maltol	N	N	N	N	N

S17	Furan-2-carbonsäuremethylester	N	N	N	N	N
S18	4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3-dihydrofuran-3-on*	N	N	N	N	N
S19	Pentadecansäuremethylester	S	S	S	S	S
S20	Palmitinsäuremethylester	H	H	H	H	H
S21	Palmitoleinsäuremethylester	N	N	N	N	N
S22	3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydropyran-4-on*	H	H	H	H	H
S23	Stearinsäuremethylester	N	N	N	N	N
S24	Ölsäuremethylester	H	H	H	H	H
S25	5-(Hydroxymethyl)-furfural*	N	N	N	N	N
S26	Furan-2-carbonsäure	N	N	N	N	N
S27	2,5-Bis-(hydroxymethyl)-furan*	H	H	H	H	H

Tabelle 22 Inhaltsstoffe der 5. Fraktion von menschlichem Kolostrum.

4.3.2.4 Massenspektren und Fragmentierungsschemata von Furan- und Pyron-Derivaten

Der Übersichtlichkeit halber wurden hier nur vier Massenspektren exemplarisch abgebildet und eingehender diskutiert.

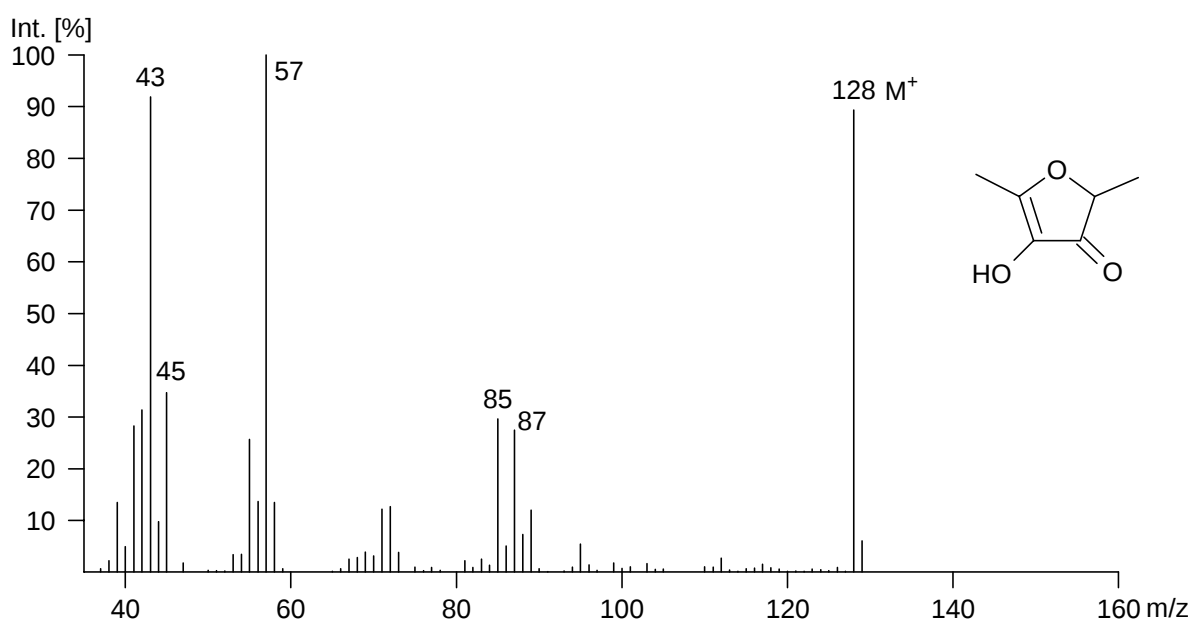


Abbildung 66 Massenspektrum von 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3-dihydrofuran-3-on (S18/137).

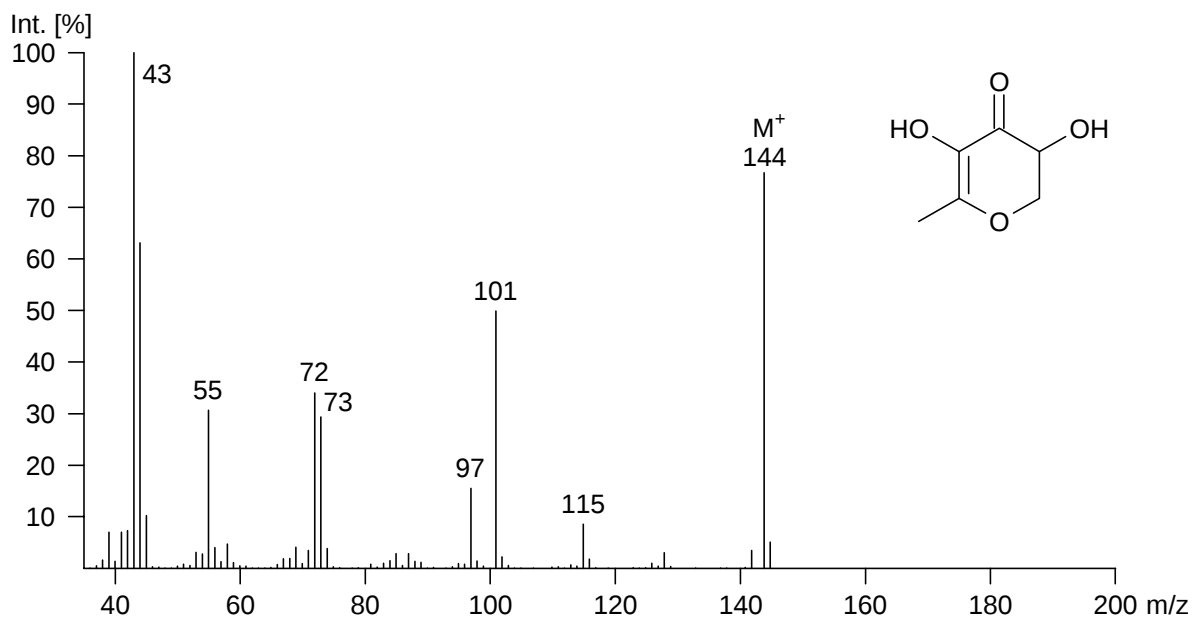


Abbildung 67 Massenspektrum von 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydropyran-4-on (**S22/138**).

Die Massenspektren beider Verbindungen **S18/137** und **S22/138** wiesen intensive Molekülionen mit m/z 128 und m/z 144 auf. Die Fragmentionen M-43 und die Ionen m/z 43 prägten die Spektren. m/z 57 bzw. m/z 72 deuteten auf α -Spaltung zum benachbarten Ringsauerstoff und Bruch zwischen der Hydroxy-Gruppe und der Ketofunktion hin. Diese Fragmentationen wurden möglicherweise durch Umlagerungen und Wasserstoff-Übertragung innerhalb des Moleküls gebildet.

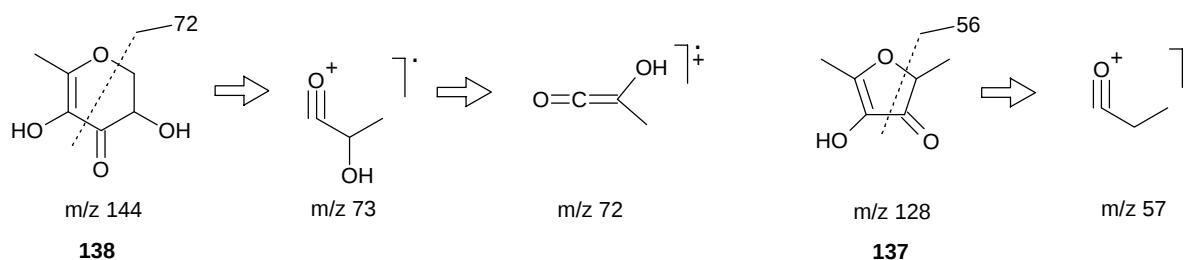


Abbildung 68 Mögliche Fragmentierung zu einigen charakteristischen Ionen von 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydropyran-4-on (**138**) und 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3-dihydrofuran-3-on (**137**).

Die Massenspektren der disubstituierten Tetrahydrofurane **S25/139** und **S27/140** wiesen intensive Molekülpeaks M^+ mit m/z 126 bzw. m/z 128 auf. Der Basispeak m/z 97 trat bei beiden Spektren auf und war auf die Abspaltung von Carbaldehydresten bzw. Methanolresten zurückzuführen. Außerdem war M-OH für beide Verbindungen charakteristisch.

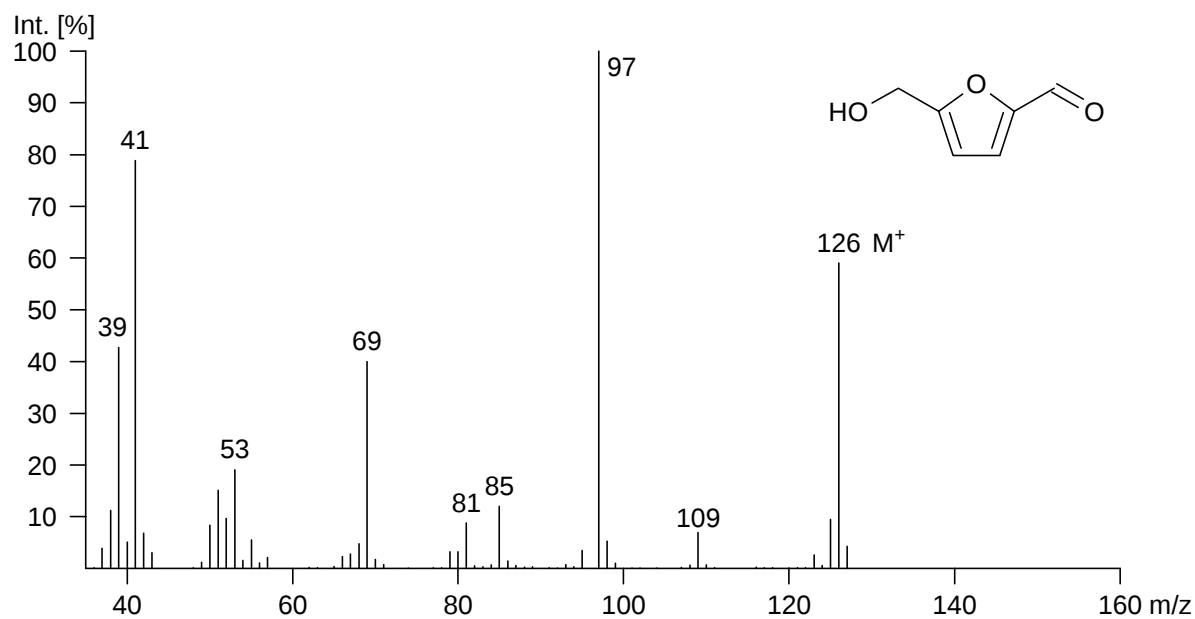


Abbildung 69 Massenspektrum von 5-(Hydroxymethyl)-furfural (S25/139).

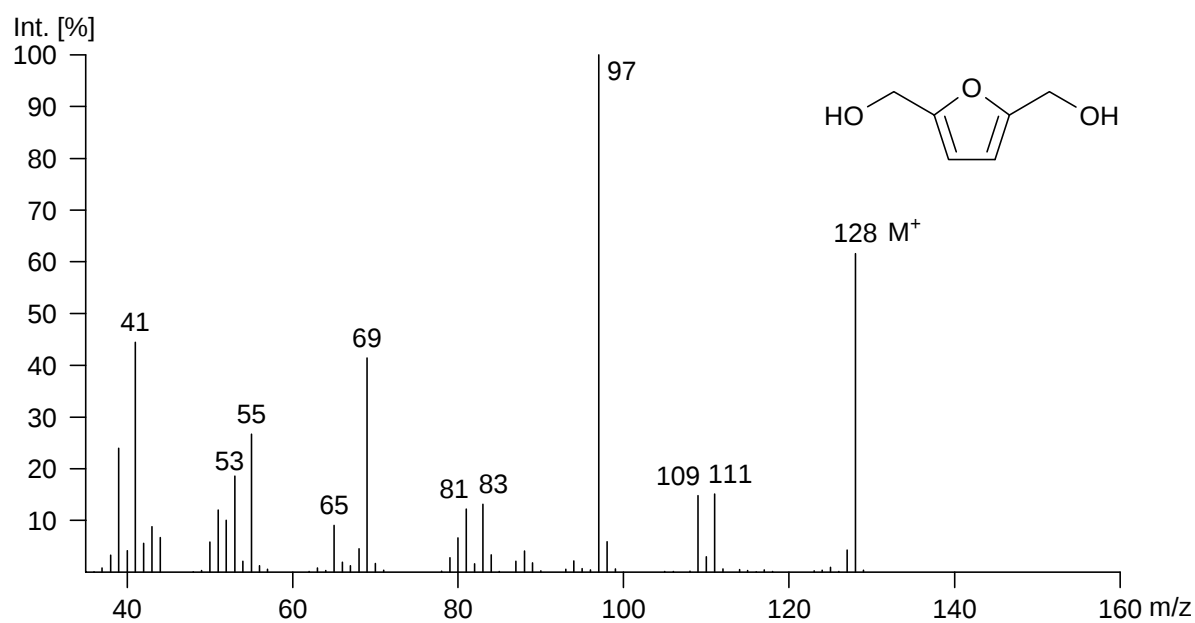


Abbildung 70 Massenspektrum von 2,5-Bis-(hydroxymethyl)-furan (S27/140).

4.3.2.5 Synthesen von Inhaltsstoffen im menschlichen Kolostrum

Synthese von Isomaltol (S8/141)

Die Synthese von Isomaltol gelang nach Bartulin²¹⁰ durch Eliminierungs- und Umlagerungsreaktion eines der beiden Glucose-Bausteine der α -Lactose (**142**). Die Spaltung des 3-O- β -D-galacto-pyranosyloxy-2-furfurylmethylketons (O-Galactosylisomaltol) (**143**) konnte mit 85%iger Phosphorsäure und anschließender Wasserdampfdestillation oder durch β -Galactosidase aus *Aspergillus oryzae* erfolgen.

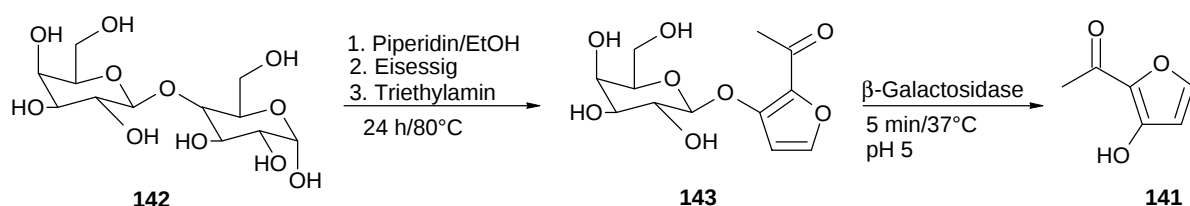


Abbildung 71 Synthese von Isomaltol (**141**) aus α -Lactose (**142**).

Synthese von 5-Methylfuran-2-hydroxymethylfuran (S11/145) und 2,5-Bis-(hydroxymethyl)-furan (S27/140)

5-Methyl-2-hydroxymethylfuran (**145**) wurde durch Reduktion von 5-Methylfurfural (**144**) mit LiAlH_4 erhalten (a) und die Darstellung von 2,5-Bis-(hydroxymethyl)-furan (**140**) gelang durch Reduktion von 5-Hydroxymethylfurfural **139** mit NaBH_4 (b).

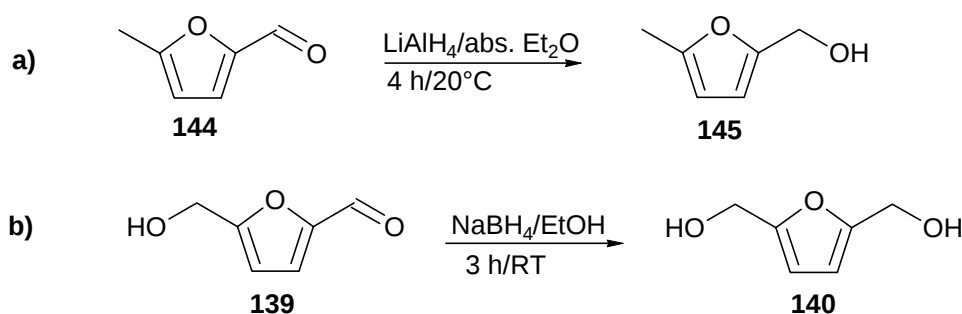


Abbildung 72 Synthesen von a) 5-Methyl-2-hydroxymethylfuran (**145**) und b) 2,5-Bis-(hydroxymethyl)-furan (**140**).

Isolierung von 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydroxypyran-4-on (**138**)

Die Möglichkeit, 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydroxypyran-4-on (**138**) aus einem zuvor mittels Maillard-Reaktor erhitzten Gemisch aus D-Glucose und L-Alanin zu isolieren, wurde einer direkten Synthese vorgezogen. Bei diesem Maillard-Reaktor handelte es sich um einen

Ofen (s. experimenteller Teil, Abschnitt 6.6), in dessen Inneren eine Stahlkapillare platziert wird. Durch diese Kapillare wurde ein Reaktionsgemisch, bestehend aus 1-molaren wässrigen L-Alanin- und D-Glucose-Lösungen, mittels einer Pumpe hindurchgeleitet. Beim Erwärmen lieferte dieses Maillard-Modellsystem die Verbindung **138** als Hauptkomponente²¹¹. 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydroxypyran-4-on (**138**) sollte anschließend über Kieselgel säulenchromatographisch isoliert werden. Unglücklicherweise gelang eine weitere Anreicherung der Verbindung, doch enthielt diese Fraktion zu viele Verunreinigungen, die eine NMR-spektroskopische Identifizierung unmöglich machten. Retentionszeit und Massenspektrum dieser angereicherten Verbindung aus dem Maillard-Reaktor stimmten mit dem Strukturvorschlag **138** überein.

4.4 Diskussion der Ergebnisse aus Teil 2a

Lässt man Neugeborene die eigene Amnionflüssigkeit riechen, so sind sie deutlich zufriedener als ohne diesen Reiz. Larkin konnte beobachten, dass Säuglinge weniger weinen, wenn sie dem Geruch der weiblichen Brust bzw. des eigenen Fruchtwassers ausgesetzt werden. Für Frühgeborene wirkten diese beiden Stimuli stressmindernd.

In früheren Arbeiten konnten einige flüchtige Komponenten in der Amnionflüssigkeit und in der Muttermilch nachgewiesen werden^{212,213,214}. Abbildung 73 zeigt eine Auswahl dieser Substanzen.

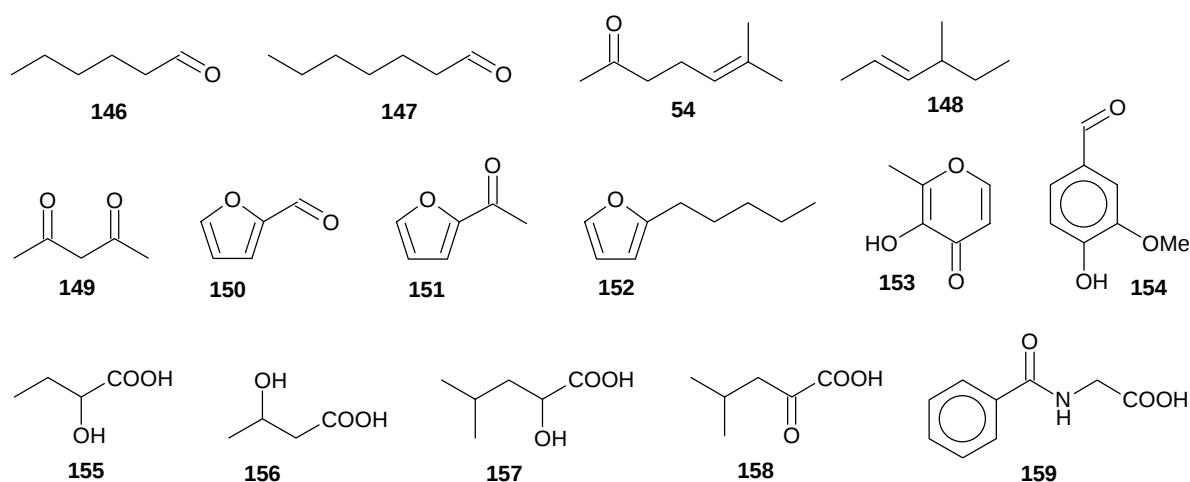


Abbildung 73 Einige Literatur bekannte Inhaltsstoffe des menschlichen Kolostrums 54, 146-154 und Fruchtwassers 155-159.

Neben Hexanal (146), Heptanal (147), Sulcaton (54), 4-Methylhex-2-en (148) und Diacetyl (149) konnten mit Furfural (150), 2-Furylmethylketon (151) und 2-Pentylfuran (152) Tetrahydrofuran-Abkömmlinge in der Muttermilch identifiziert werden. Ungewöhnlich sind auch die Verbindungen Maltol (153) und Vanillin (154). Die vier Hydroxy- bzw. Keto-Säuren 155-158 stellen eine Auswahl kurzkettiger Komponenten dar, die unmittelbaren Bezug zu Aminosäuren haben und im Fruchtwasser nachgewiesen wurden. In geringen Konzentrationen konnte auch Hippursäure (159) neben langkettigen aliphatischen Fettsäuren, wie Nonansäure, Decansäure, Laurinsäure, Myristinsäure, Palmitinsäure, Palmitoleinsäure, Stearinsäure, Ölsäure und Linolensäure identifiziert werden. Squalen (47) und Cholesterol sind weitere Inhaltsstoffe im menschlichen Fruchtwasser.

Die Flüssig-Flüssig-Extraktion von Amnionflüssigkeit erfolgt mit *n*-Butanol, daß relativ polar, doch nur zu geringen Anteilen mit Wasser mischbar ist. Im Gegensatz zu *n*-Hexan oder

Dichlormethan findet bei der Zugabe von *n*-Butanol keine Denaturierung der im Fruchtwasser enthaltenen Proteine statt. In ersten Versuchen gelingt es nicht, ausgefallene Proteine mittels Ultraschall oder Soxhlett zu extrahieren, um darin gebundene flüchtige Verbindungen herauszulösen. Zudem kann auch keine vollständige Denaturierung der Proteine durch Zugabe von z.B. Schwefelsäure erreicht werden. Dagegen kann im Ultraschall eine gute Anreicherung flüchtiger Verbindungen mit *n*-Butanol erzielt werden. Erhebliche Schwierigkeiten bereiten die geringen Ausgangsvolumina der einzelnen Fruchtwasserproben und die inhomogene Konsistenz der Proben.

In der 1. Fraktion des menschlichen Kolostrums kann eine ähnliche Zusammensetzung der aliphatischen, ungesättigten und methylverzweigten Fettsäuren, wie im Fruchtwasser bestimmt werden. Auch Squalen (47), Cholesterol und Cholesterylacetat sind Inhaltstoffe der Muttermilch. Zusätzlich können fünf homologe Fettsäure-2,3-dihydroxypropylester identifiziert werden, die in der Muttermilch bislang nicht nachgewiesen wurden.

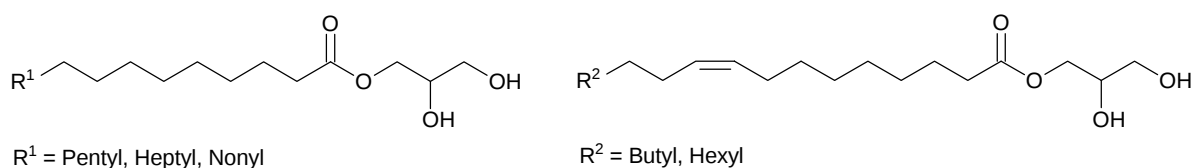


Abbildung 74 Fettsäure-2,3-dihydroxypropylester in Muttermilch.

In der polaren 5. Fraktion können eine Reihe von sauerstoffhaltigen Heterocyclen nachgewiesen werden, von denen in der Literatur Furfural (150), 2-Furylmethylketon (151) und Maltol (153) als flüchtige Inhaltstoffe der Muttermilch bekannt sind. Diese Verbindungen weisen z.T. starke Geruchs- oder Geschmacksaromen auf, die dem Säugling ein „chemosensorisches Abenteuer“ bereiten²¹⁵. Mennella ordnete der Muttermilch zudem charakteristische Geschmacksnoten, wie Minze, Knoblauch und Vanille zu. Die hier gefundenen Verbindungen 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-2-hydrofuran-3-on (137) und 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihdropyran-4-on (138) riechen z.B. nach Karamell oder Ahornsirup.

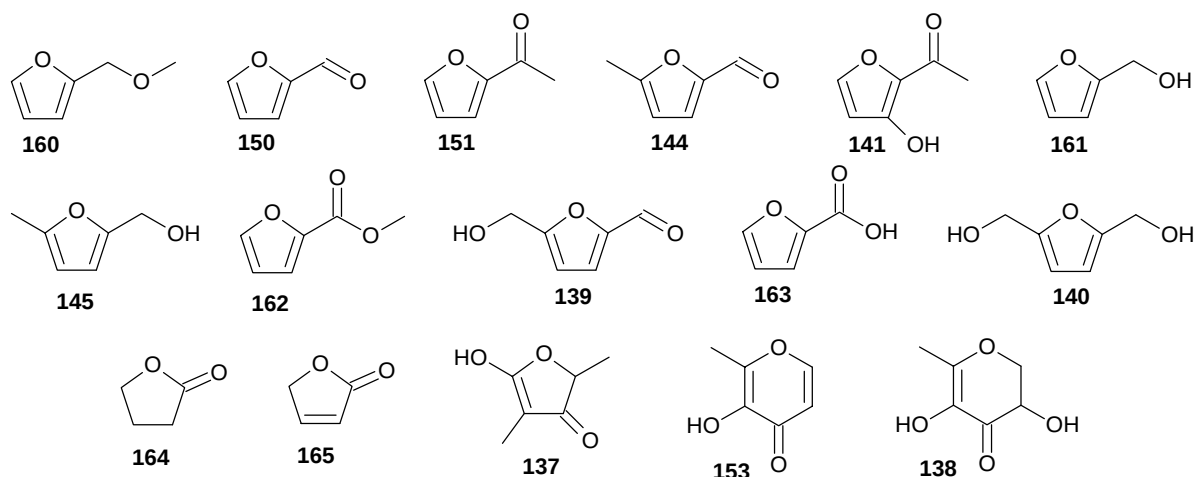


Abbildung 75 Sauerstoffhaltige Heterocyclen in menschlichem Kolostrum.

In Abbildung 76 ist die Entstehung von Verbindung **138** und **139** über die Umwandlung der 1-(Aminosäure)-1-deoxy-D-fructose (**166**), der zentralen Ausgangsverbindung für Geschmack und Geruch von Nahrungsmitteln, dargestellt. Dieses Derivat entsteht durch Reaktion von einfachen Zuckern mit Aminosäuren (Maillard-Reaktion). Eine Erwärmung führt zum Zerfall und löst eine Kettenreaktion unter der Bildung der Endprodukte **138** und **139** (Amadori-Umlagerung) via offenkettige und zyklische Enolisierung bzw. Dehydratation aus. Diese nicht-enzymatische Umwandlung kann auch unter physiologischen Bedingungen ablaufen²¹⁶.

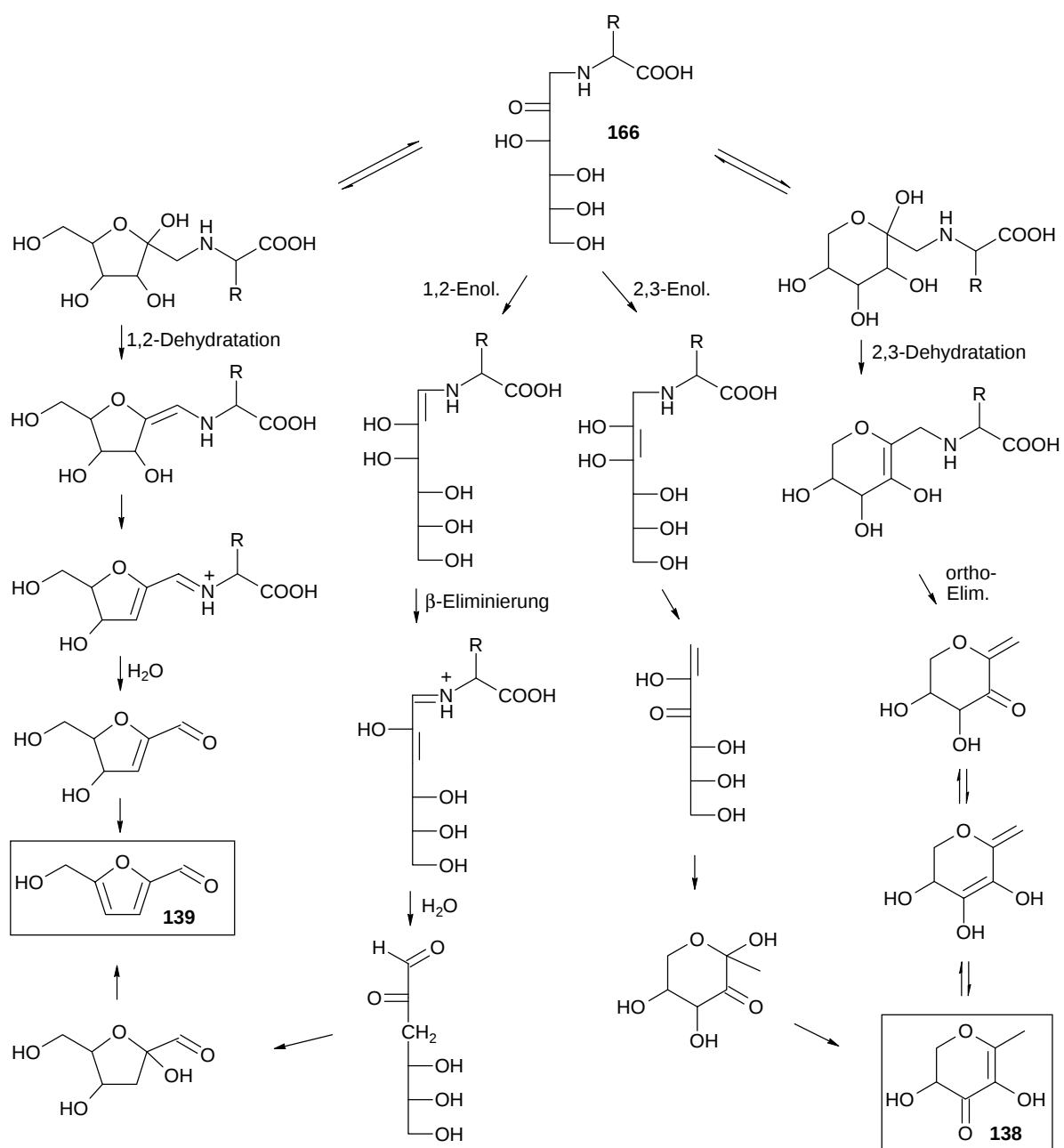


Abbildung 76 Die Bildung von 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydropyran-4-on (**138**) und 5-(Hydroxymethyl)-furfural (**139**) über den offenkettigen und den zyklischen Mechanismus ausgehend vom Amadori-Produkt (**166**).

Die von einigen Autoren beobachtete Veränderung der Geruchspräferenzen von Neugeborenen vom Fruchtwasser zum Kolostrum/Muttermilch, deutet auf einen Lerneffekt hin^{62,197}. Auch setzt es bei den Säuglingen einen gut ausgebildeten Geruchssinn voraus, um auch mögliche Duftunterschiede wahrnehmen zu können. Da der Säugling erst durch einige Milchmahlzeiten ein gesteigertes Interesse an Muttermilch entwickelt¹⁹⁵, kann davon ausgegangen werden, dass die attraktiven Komponenten im Fruchtwasser nicht enthalten sein dürften. Die anziehende Wirkung des eigenen Fruchtwassers muss demzufolge auf flüchtige

Inhaltstoffe zurückzuführen sein, die nicht oder in anderen Konzentrationen in der Muttermilch vorkommen. Möglicherweise kommen den olfaktorischen Systemen Fruchtwasser-Neugeborenes und Kolostrum-Säugling unterschiedliche Bedeutung zu. Die Aufklärung des olfaktorischen Gesamtsystems in der Mutter-Kind-Beziehung würde diese Erkenntnis erheblich vereinfachen. Biotests mit den hier identifizierten Verbindungen können dazu beitragen, die olfaktorische Wahrnehmung der Neugeborenen besser zu verstehen und somit auch in Bezug auf die Fragestellung neue Erkenntnisse liefern. Die Kenntnis über die Semiochemikalien hätten zudem große Bedeutung für praktischen Anwendungen. So konnte bereits gezeigt werden, dass der Geburtsstress durch Routineuntersuchungen für Neugeborene durch den Einsatz von olfaktorischen Reizen mit dem eigenen Fruchtwasser stark verringert werden kann, und auch die Zeit in Inkubatoren sich für Frühgeburten erleichtert oder sogar verkürzt. Der Einsatz von künstlichen Stimuli würde eine gezielte Anwendung ermöglichen^{217,218}.

4.5 Teil 2b: Die Mutterschaft-Lamm-Beziehung bei *Ovis aries*

Neben der Möglichkeit, Artgenossen des gleichen Geschlechts anhand von dessen Eigengeruch z.B. von Leistendrüsensekreten, Urin und Kot zu erkennen, können Schafe auch ihre Jungtiere gut von Fremdtieren am Individualgeruch unterscheiden. Über die Mutter-Kind-Beziehung entwickelt sich nach Collias bei Schafen und Ziegen die Herdensozietät²¹⁹, wobei auch Lernprozesse dieses Verhalten verstärken²²⁰. Bereits 1939 wurde zwischen der Beziehung der Muttertiere und ihrer Jungen von Schlüsselreizen oder Reizkombinationen berichtet, doch wurden diese Beobachtungen keiner experimentellen Prüfung unterzogen²²⁰. 1962 führte Tschanz erstmals Untersuchungen zur Mutter-Kind-Erkennung bei Hausschafen durch. In dieser Studie konnten drei grundlegende Erkennungsmerkmale der Tiere beobachtet werden. Zum einen konnten sich sowohl Jung- als auch Muttertiere anhand von Rufen erkennen, aber auch von Fremdtieren unterscheiden. Zum anderen war es den Jungtieren optisch möglich, die Alttiere zu differenzieren. Die bedeutendsten Versuchsergebnisse lieferte allerdings die Wirkung von Geruchsreizen im Bezug auf die Mutter-Kind-Erkennung. Die Lämmer wurden dabei in Transportkisten versteckt, sodass kein Sichtkontakt zum Muttertier bestand. Die Elterntiere fanden ausnahmslos ihre Jungen heraus, auch nachdem den Lämmern der Analbereich und die Schwanzunterseite mit Hautcreme bzw. Terpentin abgerieben worden war. Erst als die Jungtiere in Plastikhöschen gesteckt wurden, konnten die Alttiere ihre Lämmer nicht wiederfinden. Bei Übertragung von Schwanzdrüsensekret des eigenen Lamms auf ein zuvor abgelehntes Jungtier, konnte dessen Annahme veranlasst werden²²⁰. Baldwin entfernte 1974 trächtigen Hausschafen die Riechkolben (*Bulbus olfactorius*). Nach der Geburt der Lämmer wurden die meisten nicht ausgiebig abgeleckt, wie es normalerweise bei Schafen nach wenigen Minuten erfolgt²²¹. Auch spezifische Reaktion auf ihre Jungen waren nicht so ausgeprägt, und fremde Lämmer wurden überdurchschnittlich oft mitgesäugt, die sonst zurückgewiesen wurden⁵³.

Die ersten Minuten nach der Geburt werden häufig als die „kritische Periode“ im Aufbau der Mutter-Kind-Beziehung dargestellt, die sich durch das intensive Lecken der Lämmer durch die Muttertiere zeigt. Dieses Verhalten reduziert sich während der ersten Tage bis es vollständig nachlässt, doch säugen die Jungen sehr häufig und stehen eng an die Alttiere gedrängt. Mit wachsendem Alter trinken die Jungtiere seltener, und gleichzeitig vergrößert sich der Abstand zum Muttertier. In dieser sensiblen Periode scheint das mütterliche Verhalten von der hormonellen Regulierung in eine neurosensorische bzw. olfaktorische Wahrnehmung des Nachwuchses zu wechseln²²¹.

Die obigen Ausführungen lassen keine Zweifel an der zentralen Bedeutung des Geruchs im Zusammenleben von Mutter- und Jungtier zu, doch ist trotz vieler Studien während der letzten 60 Jahre keine chemische Analyse von Inhaltstoffen des Leisten- oder Schwanzdrüsensekrets und des Kolostrums (Erstmilch) durchgeführt worden. Auch wurden Fruchtwasserproben von *Ovis aries* bisher nicht auf deren flüchtige Verbindungen hin untersucht.

4.5.1 Bisher identifizierte Verbindungen bei *Ovis aries*

Prostaglandine konnten erstmals aus dem Prostatasekret der Schafe isoliert werden. Diesen Verbindungen liegen ungesättigte C₂₀-Carbonsäuren, wie z.B. Arachidonsäure zugrunde, die enzymatisch oxidiert und anschließend intramolekular zyklisiert sind. Das Grundgerüst wird als Prostansäure (**167**) bezeichnet. Die Prostaglandine sind sehr wirksame hormonähnliche Verbindungen, die bei Säugetieren u.a. die Stimulation der Muskelkontraktion und die Senkung des Blutdrucks induzieren. Die Prostaglandine E₂ (**168**) und F_{2α} (**169**) stellten in diesem Zusammenhang die aktivsten Substanzen dar.

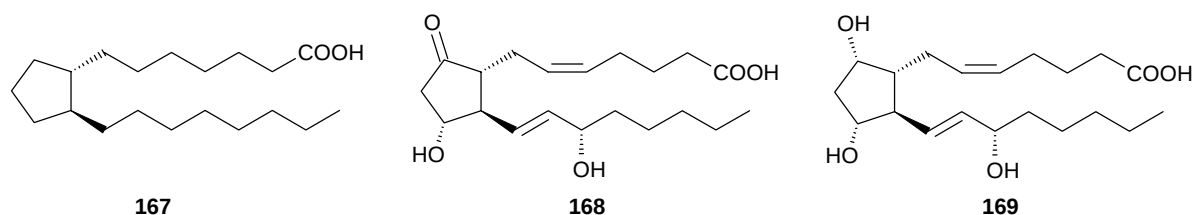


Abbildung 77 Das Grundgerüst Prostansäure (**167**), Prostaglandin E₂ (**168**) und Prostaglandin F_{2α} (**169**) aus dem Prostatasekret von Schafen.

Abbildung 78 zeigt drei Verbindungen **170**, **171** sowie **172**, die 1971 von Pace-Asiak in Samenvesikeln von Schafböcken identifiziert wurden²²². Für die biosynthetische Produktion dieser Verbindungen wurde der von Hamberg und Samuelsson aufgestellte Weg ausgehend von der Arachidonsäure vorgeschlagen²²³. Eine ähnliche Struktur wie Verbindung **172** weist der heute zur Inhibierung der Blutgerinnung eingesetzte Wirkstoff Prostacyclin I₂ auf²²⁴.

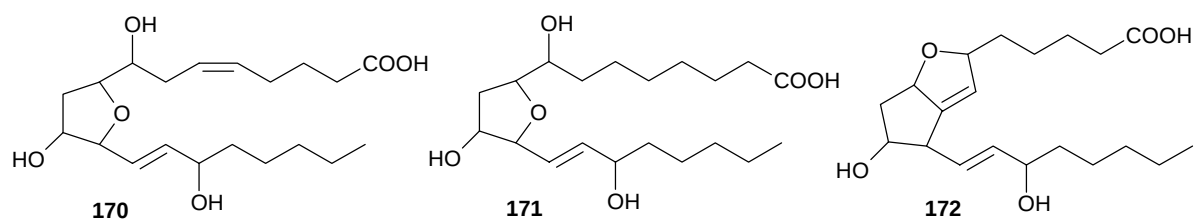


Abbildung 78 Verbindungen aus Samenvesikeln der Schafböcke.

Im Gegensatz zu den kaum untersuchten Schwanzdrüsenextrakten, des Kolostrums und des Fruchtwassers von Schafen wurden in der Vergangenheit große Anstrengungen zur chemischen Analyse der Inhaltsstoffe des wirtschaftlich wichtigen Wollfetts bzw. Lanosterins unternommen. In umfassenden Arbeiten von Motiuk und Fawaz konnten zahlreiche Verbindungen identifiziert werden, die in Abbildung 79 auszugsweise dargestellt

werden^{225,226,227,228,229,230,231,232}. Neben zahlreichen gesättigten Kohlenwasserstoffen konnten im wesentlichen Alkohole, *iso*- und *anteiso*-methylverzweigte Alkohole, 1,2-Diole, verzweigte und unverzweigte Fettsäuren, sowie α -Hydroxy- und ω -Hydroxycarbonsäuren identifiziert werden.

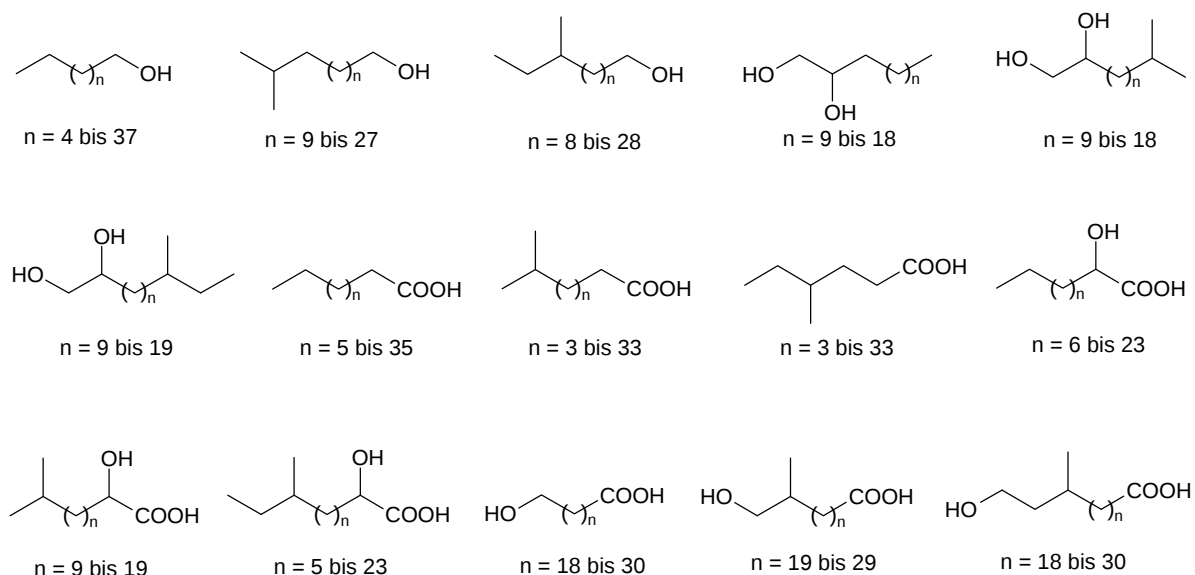


Abbildung 79 Eine Auswahl der im Lanolin enthaltenen Verbindungen.

1944 konnten zwei Steroide **173** und **174** erstmals aus den Alkoholfraktionen des Wollwachses isoliert und identifiziert werden²³³. Neben 3β -Hydroxylanosta-8-en (Dihydrolanosterol) (**173**) und 3β -Hydroxylanosta-7,9-dien (Dihydroagnosterol) (**174**) sind in der unteren Grafik weitere im Lanosterin enthalten Steroide abgebildet. Dabei handelt es sich um 3β -Hydroxylanosta-8,24-dien (Lanosterol) (**175**), Cholest-2,5-dien-7-on (**176**), 3β -Hydroxylanosta-8,9,24-trien (Agnosterol) (**177**) und 3β -Hydroxylanosta-8-en-7-on (**178**)²³⁴.

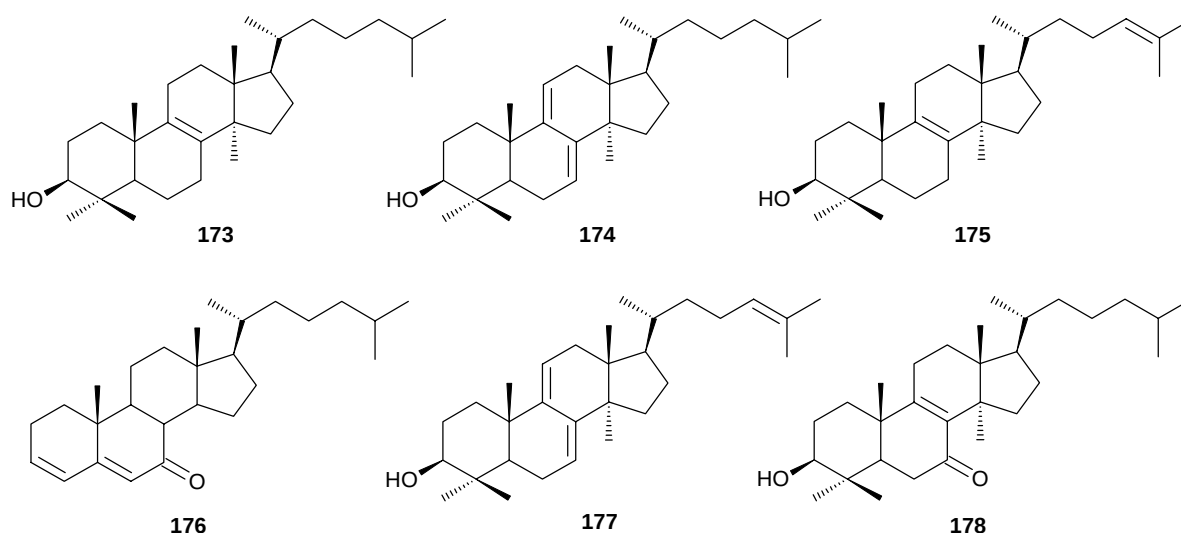


Abbildung 80 Sechs Steroide aus dem Wollfett von Schafen.

1971 konnte Ito fünf homologe Carbonsäuren aus den Säurefraktionen des Wollfetts isolieren²³⁵. Durch entsprechende Derivatisierungen, wie Methylierung und Acetylierung, gelang neben der Strukturaufklärung, auch die Zuordnung der drei Stereozentren. Es handelte sich dabei um 5-[5-(1-Hydroxyalkyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäure mit Kettenlängen von C₁₄-C₁₈. In den später erschienenen Übersichtsartikeln fanden sich keine weiteren Verweise auf diese neue Verbindungsklasse, die in ihrer Struktur Ähnlichkeit zu den Prostaglandinen aufweist.

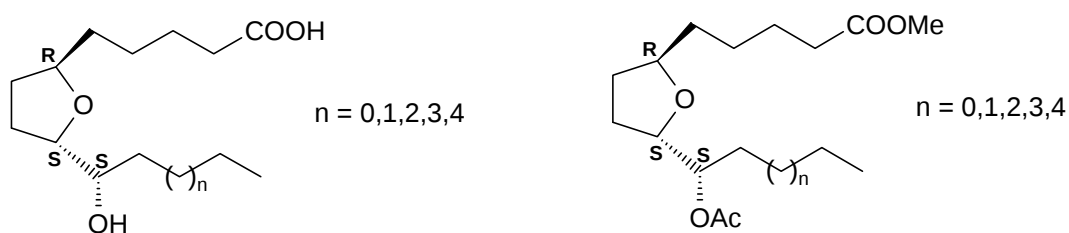


Abbildung 81 5-[5-(1-Hydroxyalkyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäure mit Kettenlängen von C₁₄-C₁₈ weisen strukturelle Ähnlichkeit zu Prostaglandinen auf (links). Daneben die Struktur der derivatisierten Verbindungen.

4.6 Methodenentwicklung zur Gewinnung von Extrakten aus der Kolostralmilch, dem Fruchtwasser und den Leisten-(Schwanz)-drüsensekreten von Schafen

Das Probenmaterial vom Hausschaf *Ovis aries* wurde von Dr. Benoist Schaal vom Laboratoire de Compartement Animal in Nouzilly, Frankreich zur Verfügung gestellt. Eine ausführliche Aufstellung des Probenvolumens (Tabelle 33) und der Probenaufarbeitung (Abschnitte 6.11.5, 6.11.6 und 6.11.7) sind im experimentellen Teil dieser Arbeit beschrieben. Die Gewinnung von Proben aus Fruchtwasser und Kolostrum wurde bereits im Methodenteil des Abschnitts 4.2 ausführlich beschrieben. Die Milchproben vom Schaf wurden im „Non-Target-Screening“ analog der Aufarbeitung des menschlichen Kolostrums gewonnen. Zur Isolierung einer homologen Reihe unbekannter Verbindungen aus diesem Ausgangsmaterial wurde die Methode etwas modifiziert. Die Fruchtwasserproben wurden mit einer leicht veränderten Methode aufgearbeitet, da erheblich mehr Ausgangsmaterial zur Verfügung stand. Des weiteren wurde eine neue Methode entwickelt, die es ermöglichte, die Inhaltsstoffe des Schwanzdrüsensekrets von *Ovis aries* zu analysieren.

4.6.1 Aufarbeitung und Extraktion des Kolostrums zur Isolierung unbekannter Komponenten

Durch die zuvor durchgeführte Analyse nach oben beschriebener Methode, konnte eine homologe Reihe von Substanzen nachgewiesen werden. Durch nachfolgende Aufarbeitungsmethode konnte diese angereichert und sauber abgetrennt werden (s. Abbildung 82).

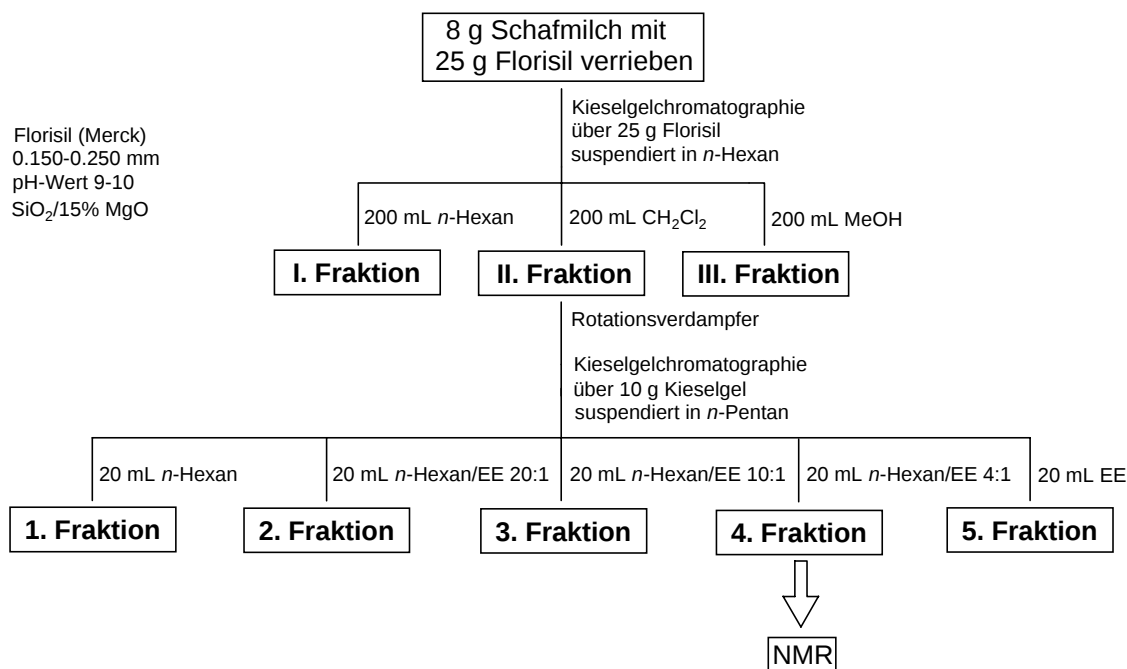


Abbildung 82 Schema zur Aufarbeitung des Kolostrums von Schafen zur Isolierung einer homologen Reihe unbekannter Verbindungen.

Dabei wurden 8 g Kolostrum wie in Abschnitt 6.11.5 vorbereitet und über Florisil in drei Fraktionen getrennt. Die II. Fraktion wird am Rotationsverdampfer eingeengt und über eine Kieselgelsäule in fünf Fraktionen unterschiedlicher Polaritäten getrennt. Die unbekannten Verbindungen konnten in der 4. Fraktion sauber identifiziert und mit NMR-spektroskopischen Methoden aufgeklärt werden. Diese Daten werden zusammen mit einer Auflistung der Inhaltsstoffe der I.-III. Fraktion in den nachstehenden Abschnitten ausgeführt.

4.6.2 Aufarbeitung und Extraktion des Fruchtwassers von Schafen

In Anlehnung an die Ausführungen in Abschnitt 4.2 wurden bei der Aufarbeitung des Fruchtwassers von Schafen 45 mL Ausgangsmaterial eingesetzt und mit sechs verschiedenen Lösungsmittelgemischen unterschiedlicher Polarität im letzten Schritt fraktioniert (s. Abbildung 83). Die genaue Vorgehensweise bei der Aufarbeitung ist in Abschnitt 6.11.6 dieser Arbeit beschrieben.

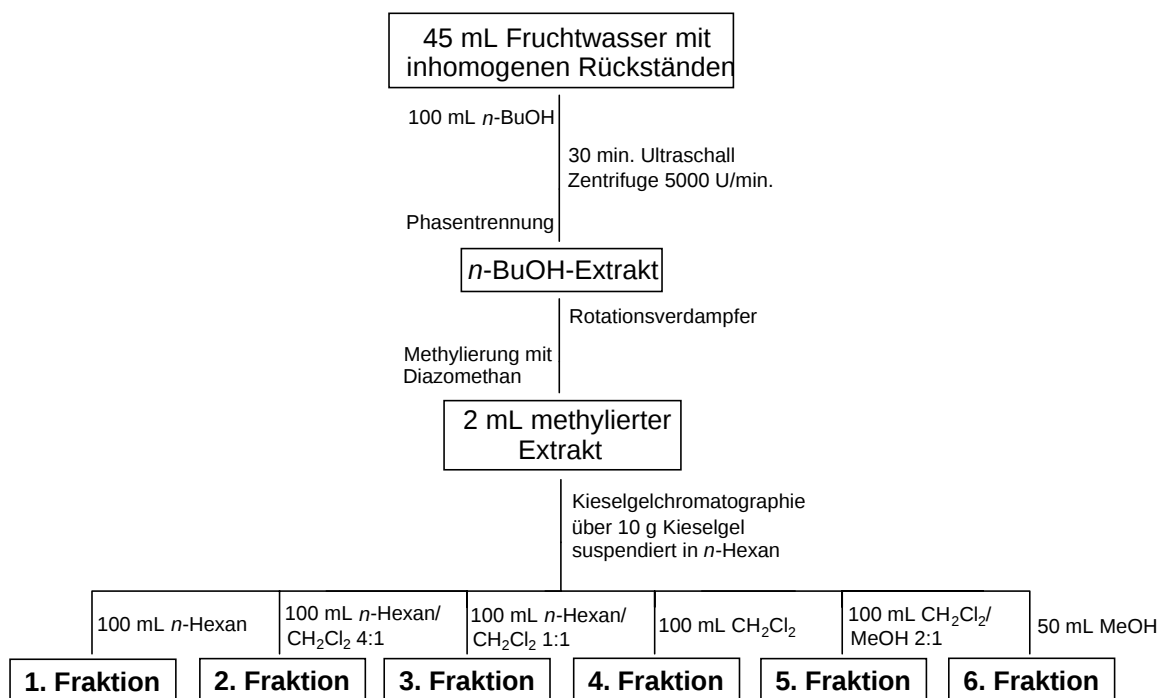


Abbildung 83 Extraktionsschema zur Aufarbeitung des Fruchtwassers von Schafen.

4.6.3 Aufarbeitung und Extraktion des Leisten-(Schwanz)-drüsensekrets

50 mg Inguinaldrüsensekret vom Hausschaf wurden mit 5 mg 12-Hydroxydodekansäure (interner Standard) zur Quantifizierung unbekannter polarer Verbindungen und 2 mL *n*-Pentan versetzt.

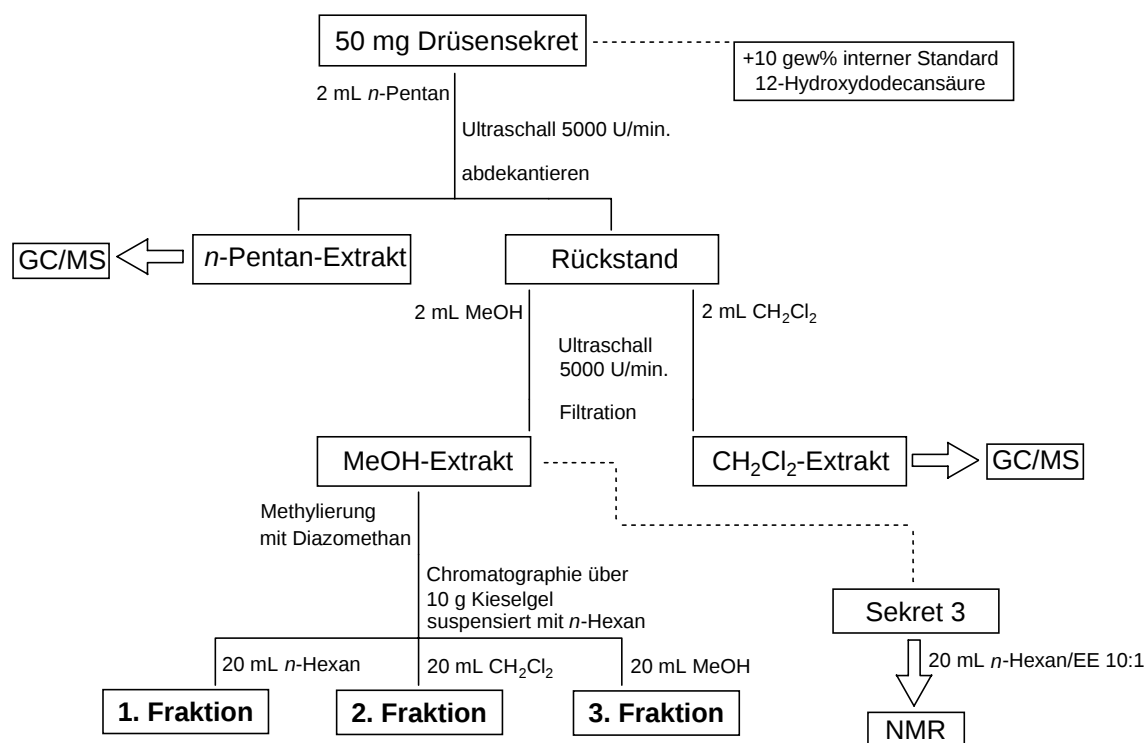


Abbildung 84 Extraktionsschema zur Aufarbeitung des Inguinaldrüsensekrets.

Im Abschnitt 6.11.7 dieser Arbeit ist die Aufarbeitung der Sekrete ausführlich beschrieben. Bei der Analyse der neun Schwanzdrüsensekrete konnte eine Reihe unbekannter Verbindungen nachgewiesen werden. Im Sekret 3 stellte eine dieser Substanzen die Hauptkomponente dar. Zur Isolierung dieser Verbindung wurde der interne Standard nicht hinzugefügt und im letzten Schritt konnte mit dem Laufmittelgemisch Hexan/EE 10:1 die Reinsubstanz über Kieselgel gewonnen und NMR-spektroskopisch vermessen werden.

Wurde der Rückstand nach der ersten Ultraschallbehandlung statt mit Methanol in Dichlormethan suspendiert, so konnten auch die freien Säuren anstelle der Methylester isoliert werden.

4.7 Ergebnisse der Analysen von Extrakten des Hausschafs *Ovis aries*

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse der Analyse von Fruchtwasser, Milch bzw. Kolostrum und Schwanzdrüsensekret neun verschiedener Mutterschafe dargestellt, die nach der Aufarbeitung über GC getrennt und mittels MS analysiert wurden. Die Aufarbeitung erfolgte nach den Verfahren, die bereits im Methodenteil eingeführt wurden. Die Chromatogramme einzelner Fraktionen sind analog zu den jeweiligen Aufarbeitungsschemen benannt. Durch das „Single Ion Monitoring“ (SIM)-Verfahren in der Massenspektrometrie konnten charakteristische Ionenspuren wichtiger Verbindungen hervorgehoben und somit leichter identifiziert werden.

4.7.1 Identifizierung flüchtiger Verbindungen im Kolostrum von Schafen

Alle neun Kolostrumproben wurden jeweils nach bekannter Methode fraktioniert und derivatisiert. Exemplarisch sind die Chromatogramme der Proben von Mutterschaf 9 grafisch dargestellt.

4.7.1.1 Inhaltsstoffe der I. Fraktion

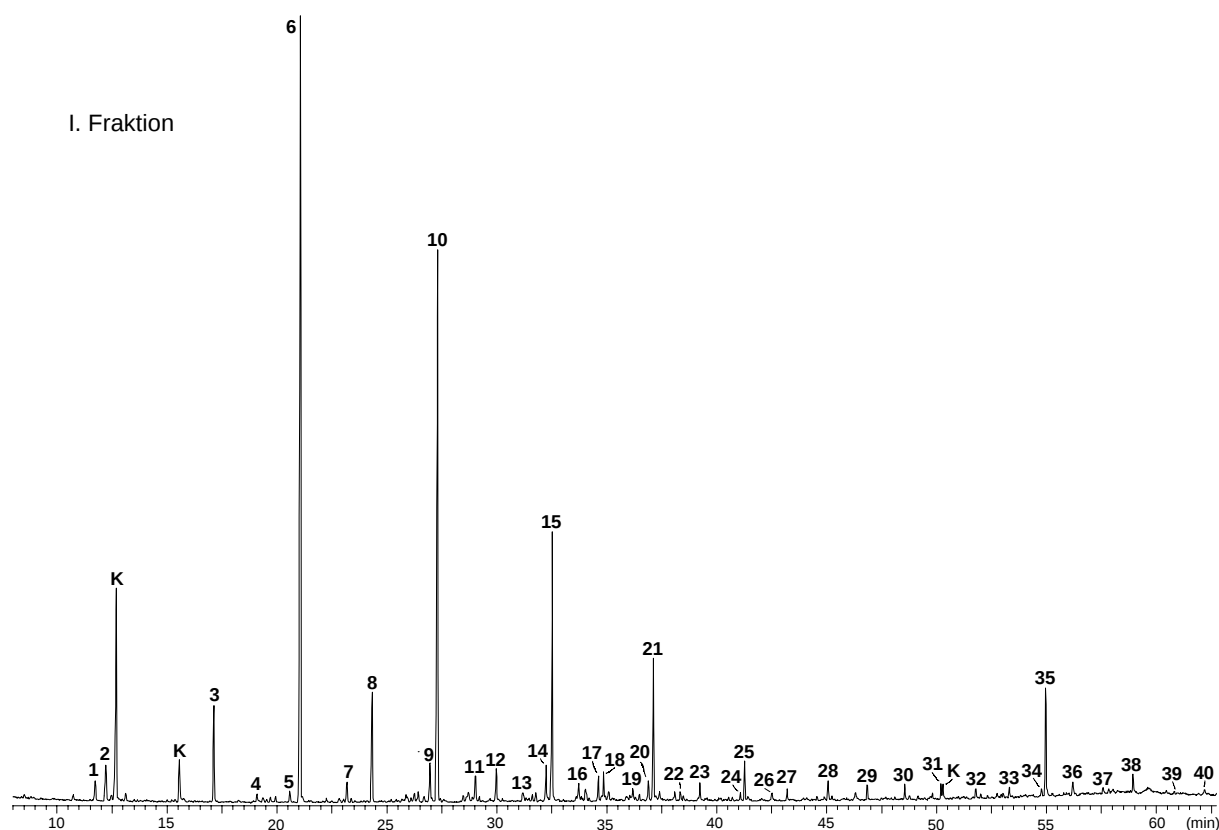


Abbildung 85 Totalionenstromchromatogramm der I. Fraktion von Schafmilch 9. (DB-1 30 m, Temperaturprogramm: 60°C, 10 min. isotherm, 5°C/min. auf 300°C, 30 min. isotherm).

Neben einigen 1-Alkanolen und Squalen (**S35**) konnten bei praktisch allen Milchproben dieser Fraktion eine Serie homologer *n*-Alkane von Decan bis Tritriacontan identifiziert werden. Einige Proben beinhalteten zudem *iso*-methylverzweigte Kohlenwasserstoffe. Tabelle 23 zeigt alle hier identifizierten Verbindungen.

Nr.	Verbindung	1	2	3	4	5	7	8	9	10
S1	<i>n</i> -Butanol	n.d.	S	N	N	S	N	N	N	n.d.
S2	<i>n</i> -Decan	N	N	N	N	N	N	N	N	N
S3	<i>n</i> -Undecan	N	S	H	H	H	H	H	H	N
S4	<i>iso</i> -Dodecan	S	N	N	N	S	N	N	N	S
S5	Hexanol	n.d.	N	N	N	N	N	N	N	N
S6	<i>n</i> -Dodecan	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S7	<i>iso</i> -Tridecan	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S8	<i>n</i> -Tridecan	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S9	Octanol	N	H	N	N	N	N	N	N	H
S10	<i>n</i> -Tetradecan	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S11	<i>iso</i> -Pentadecan	S	N	N	S	N	N	N	N	N
S12	<i>n</i> -Pentadecan	N	N	N	N	N	N	N	N	N
S13	<i>iso</i> -Hexadecan	n.d.	S	S	n.d.	S	S	S	S	n.d.
S14	Decanol	N	N	H	N	N	N	N	N	H
S15	<i>n</i> -Hexadecan	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S16	<i>iso</i> -Heptadecan	S	S	S	n.d.	S	n.d.	S	S	n.d.
S17	Undecanol	n.d.	N	N	n.d.	N	N	N	N	n.d.
S18	<i>n</i> -Heptadecan	N	N	N	N	N	N	N	N	N
S19	<i>iso</i> -Octadecan	S	n.d.	S	n.d.	S	S	S	S	n.d.
S20	Dodecanol	N	N	N	N	N	N	N	N	N
S21	<i>n</i> -Octadecan	H	N	H	H	H	H	H	H	H
S22	<i>iso</i> -Nonadecan	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S23	<i>n</i> -Nonadecan	S	N	N	S	N	n.d.	N	S	N
S24	Tetradecanol	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S25	<i>n</i> -Eicosan	N	N	N	N	N	N	N	N	N
S26	<i>iso</i> -Heneicosan	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S27	<i>n</i> -Heneicosan	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S28	<i>n</i> -Docosan	N	N	N	N	N	N	N	N	N
S29	<i>n</i> -Tricosan	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S30	<i>n</i> -Tetracosan	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S31	<i>n</i> -Pentacosan	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S32	<i>n</i> -Hexacosan	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S33	<i>n</i> -Heptacosan	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S34	<i>n</i> -Octacosan	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S35	Squalen	H	N	H	H	N	H	H	H	H
S36	<i>n</i> -Nonacosan	S	S	S	S	S	n.d.	S	S	S
S37	<i>n</i> -Tricontan	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S38	<i>n</i> -Hentricontan	n.d.	S	S	n.d.	n.d.	S	S	S	n.d.
S39	<i>n</i> -Dotricontan	n.d.	S	n.d.	n.d.	n.d.	S	S	S	n.d.
S40	<i>n</i> -Tritricontan	n.d.	S	n.d.	n.d.	S	S	S	S	n.d.

Tabelle 23 Inhaltsstoffe der I. Fraktion vom Kolostrum.

4.7.1.2 Inhaltsstoffe der II. Fraktion

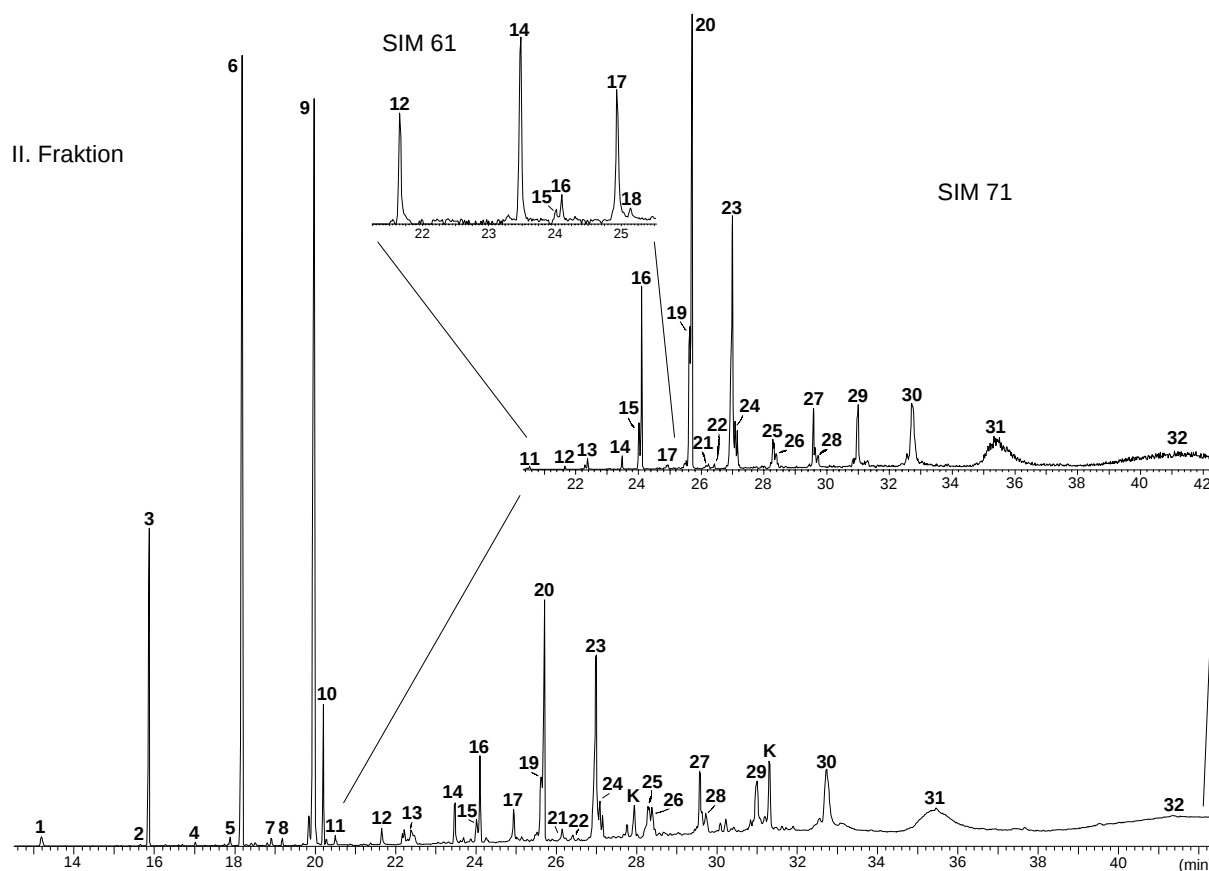


Abbildung 86 Totalionenstromchromatogramm der II. Fraktion von Schafmilch 9. Ausschnitte aus dem SIM 61 und SIM 71. (DB-1 30 m, Temperaturprogramm: 100°C, 5 min. isotherm, 10°C/min. auf 340°C, 60 min. isotherm).

Die Trennung der DB-1 Kapillarsäule erreichte die Grenze bei der Verbindung **S30** mit einer Molmasse von 540 g/mol. Detektierbar waren noch **S32** mit 596 g/mol, wobei keine scharfen Peaks mehr zu erhalten waren.

Charakteristische Fettsäuremethylester, wie Myristin-, Palmitin-, oder Stearinsäuremethylester konnten in der II. Fraktion nachgewiesen werden. Durch das „Single Ion Monitoring“ (SIM) mit m/z 61 sowie m/z 71 (s. Abbildung 86) konnten die beiden homologen Verbindungsserien besser dargestellt und zugeordnet werden. Die Verbindungen **S12**, **S14**, **S17** und **S18** konnten bereits im menschlichen Kolostrum identifiziert werden. Diese 1-Monoglyceride weisen ein deutliches Fragmentation m/z 61 auf, so dass sie sich durch SIM-Technik sehr gut nachweisen lassen. Desweiteren konnten 18 1,3-Diglyceride gefunden werden, bei denen stets eine OH-Gruppe mit Buttersäure verestert ist. m/z 71 ist in der Regel Basispeak aller Massenspektren und ermöglichte somit auch den Nachweis sehr geringer Konzentrationen einiger Homologer mittels des SIM 71. Für die zweite Carbonsäure konnten Decansäure bis Triacotansäure, sowie einige ungesättigte Fettsäuren bestimmt werden. **S21** konnte als

iso-Heptadecansäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester identifiziert werden. Zusammen mit S22 stellten beide Substanzen die einzigen Verbindungen mit ungeraden Fettsäure-Substituenten innerhalb dieser homologen Reihe dar.

Nr.	Verbindung	1	2	3	4	5	7	8	9	10
S1	Laurinsäuremethylester	n.d.	S	S	S	S	S	S	S	S
S2	Myristoleinsäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S3	Myristinsäuremethylester	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S4	Pentadecansäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S5	Palmitoleinsäuremethylester	S	S	S	N	S	S	S	S	N
S6	Palmitinsäuremethylester	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S7	<i>iso</i> -Heptadecansäuremethylester	n.d.	S	S	S	S	S	S	S	S
S8	Heptadecansäuremethylester	n.d.	S	S	S	S	S	S	S	S
S9	Ölsäuremethylester	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S10	Stearinsäuremethylester	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S11	Decansäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S12	Myristinsäure-2,3-dihydroxypropylester*	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S13	Laurinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S14	Palmitinsäure-2,3-dihydroxypropylester*	N	N	S	S	N	N	N	N	N
S15	Myristoleinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	N	N	N	N	N	N	N	N	N
S16	Myristinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S17	Ölsäure-2,3-dihydroxypropylester*	N	N	N	N	N	N	N	N	N
S18	Stearinsäure-2,3-dihydroxypropylester*	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S19	Palmitoleinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S20	Palmitinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S21	<i>iso</i> -Heptadecansäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S22	Heptadecansäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S23	Ölsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S24	Stearinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	N	N	N	N	N	N	N	N	N
S25	Eicosensäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	N	N	N	N	N	N	N	N	N
S26	Eicosensäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	N	N	N	N	N	N	N	N	N
S27	Docosensäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S28	Docosensäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	N	N	N	N	N	N	N	N	N

S29	Tetracosansäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S30	Hexacosansäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S31	Octacosansäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S32	Tricontansäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	H	H	H	H	H	H	H	H	H

Tabelle 24 Inhaltsstoffe der II. Fraktion vom Kolostrum.

4.7.1.3 Isolierung von 1,3-Diglyceriden

Das Kolostrum des Mutterschafs 9 wurde analog der üblichen Milchaufarbeitung über Florisil fraktioniert. Die II. Fraktion wurde anschließend in fünf weitere Fraktionen unterschiedlicher Polaritäten aufgetrennt. Abbildung 87 zeigt die Chromatogramme der letzten vier Fraktionen. Die 1. Fraktion enthielt neben Kontaminanten Spuren einiger *n*-Alkane, die bereits in der I. Fraktion identifiziert werden konnten (s. Abbildung 87).

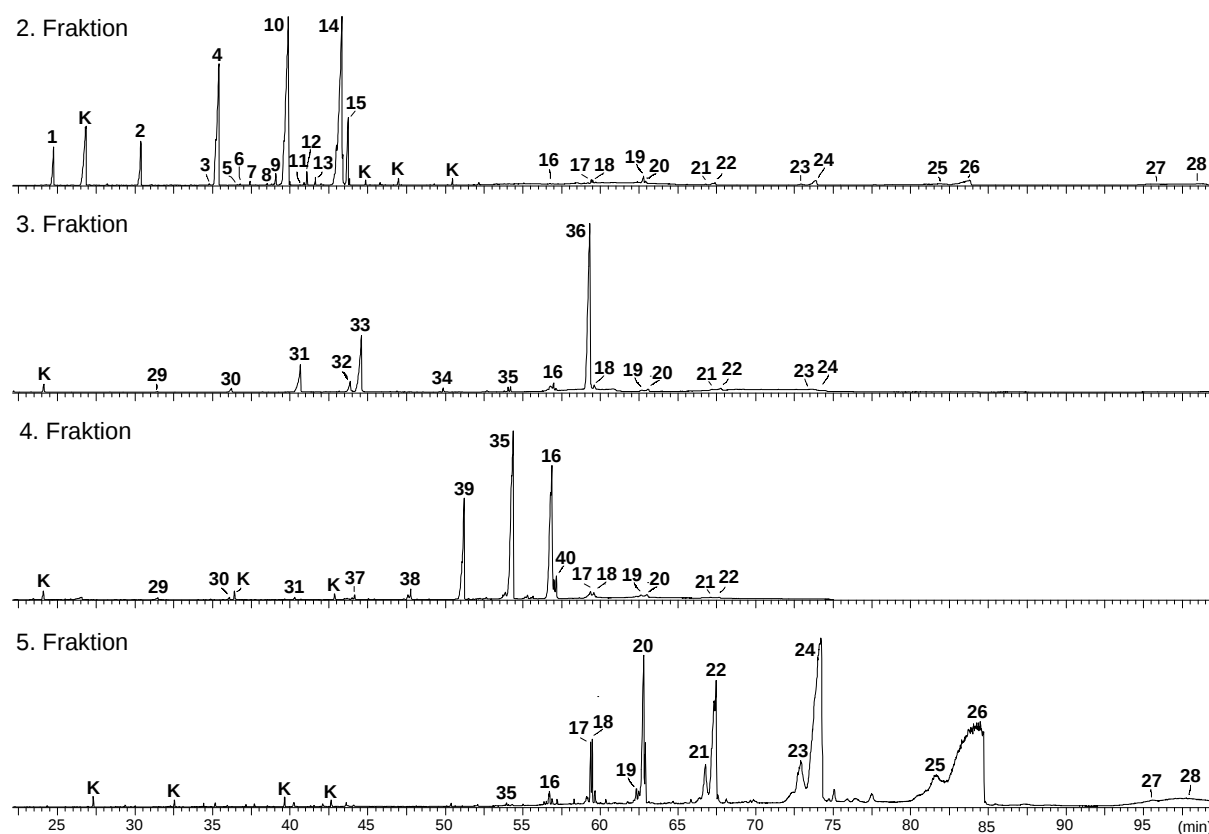


Abbildung 87 Auftrennung der II. Fraktion zur Isolierung der unbekannten Homologen. (DB-1 30 m, Temperaturprogramm: 60°C, 10 min. isotherm, 5°C/min. auf 300°C, 40 min. isotherm).

Aus der Abbildung 87 wurde deutlich, dass eine Anreicherung der Verbindungen **S16**, **S36** und **S40** in der 4. Fraktion gelang. Höhere Homologe konnten dagegen mit der 5. Fraktion

abgetrennt werden. Durch Zusatz von Methanol fand eine schnelle Umesterung der 1,3-Diglyceride statt, die eine Isolierung bzw. Identifizierung in Vorversuchen erschwert hatten. Tabelle 25 zeigt die identifizierten Verbindungen dieser Messungen.

Nr.	Verbindung	Nr.	Verbindung
S1	Decansäuremethylester	S22	Tetracosansäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*
S2	Laurinsäuremethylester	S23	Hexacosensäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*
S3	Myristoleinsäuremethylester	S24	Hexacosansäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*
S4	Myristinsäuremethylester	S25	Octacosensäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*
S5	<i>iso</i> -Pentadecansäuremethylester	S26	Octacosansäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*
S6	<i>anteiso</i> -Pentadecansäuremethylester	S27	Tricontensäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*
S7	Pentadecansäuremethylester	S28	Tricontansäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*
S8	<i>iso</i> -Hexadecansäuremethylester	S29	Laurinsäure
S9	Palmitoleinsäuremethylester	S30	Myristinsäure
S10	Palmitinsäuremethylester	S31	Palmitinsäure
S11	<i>iso</i> -Heptadecansäuremethylester	S32	Ölsäure
S12	<i>anteiso</i> -Heptadecansäuremethylester	S33	Stearinsäure
S13	Heptadecansäuremethylester	S34	Palmitinsäure-2,3-dihydroxy-propylester*
S14	Ölsäuremethylester	S35	Ölsäure-2,3-dihydroxy-propylester*
S15	Stearinsäuremethylester	S36	Palmitinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*
S16	Ölsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	S37	Cholesterolacetat
S17	Eicosensäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	S38	Decansäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*
S18	Eicosansäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	S39	Laurinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*
S19	Docosensäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	S40	Myristinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*
S20	Docosansäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*	S41	Stearinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*
S21	Tetracosensäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester*		

Tabelle 25 Inhaltsstoffe der 2.- 4. Fraktion nach der Trennung der II. Fraktion.

4.7.1.4 Massenspektren von 1,3-Diglyceriden

Exemplarisch sind drei Massenspektren dieser homologen 1,3-Diglyceride abgebildet. Des weiteren sind die atomaren Zusammensetzungen der Fragmentationen (HR-MS) angegeben. Bei

allen 18 Verbindungen war Buttersäure mit einer endständigen Alkoholfunktion verestert (3-Position). Die zweite endständige Hydroxy-Gruppe (1-Position) war variabel mit Fettsäuren unterschiedlicher Kettenlängen verestert.

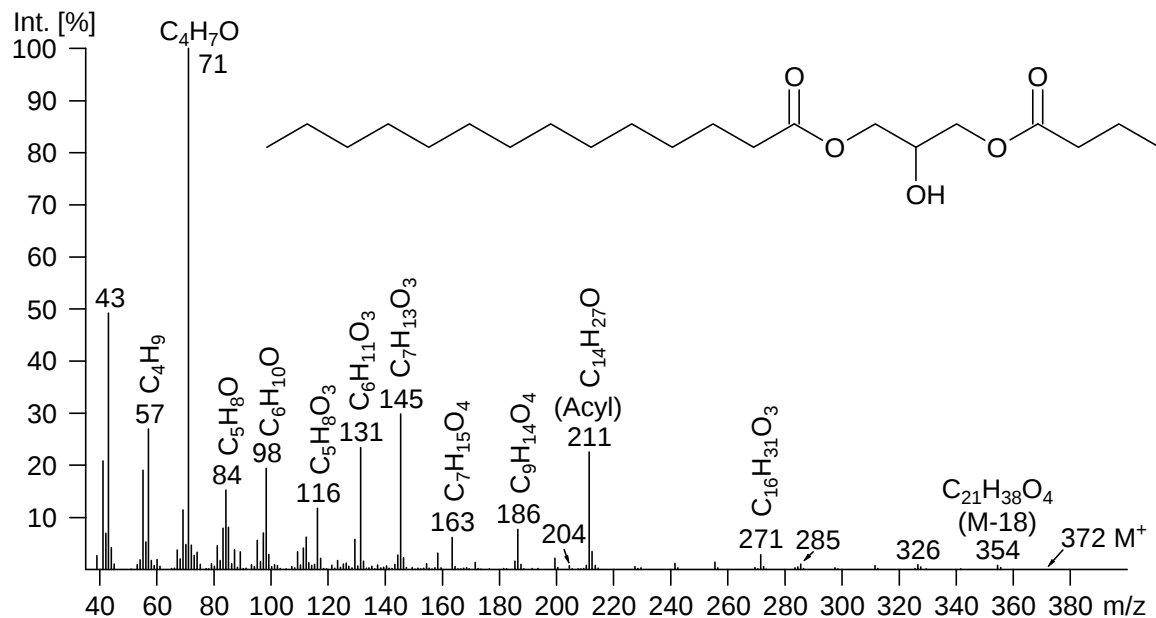


Abbildung 88 Massenspektrum und Ergebnisse aus der HR-MS von Myristinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester (**S16**).

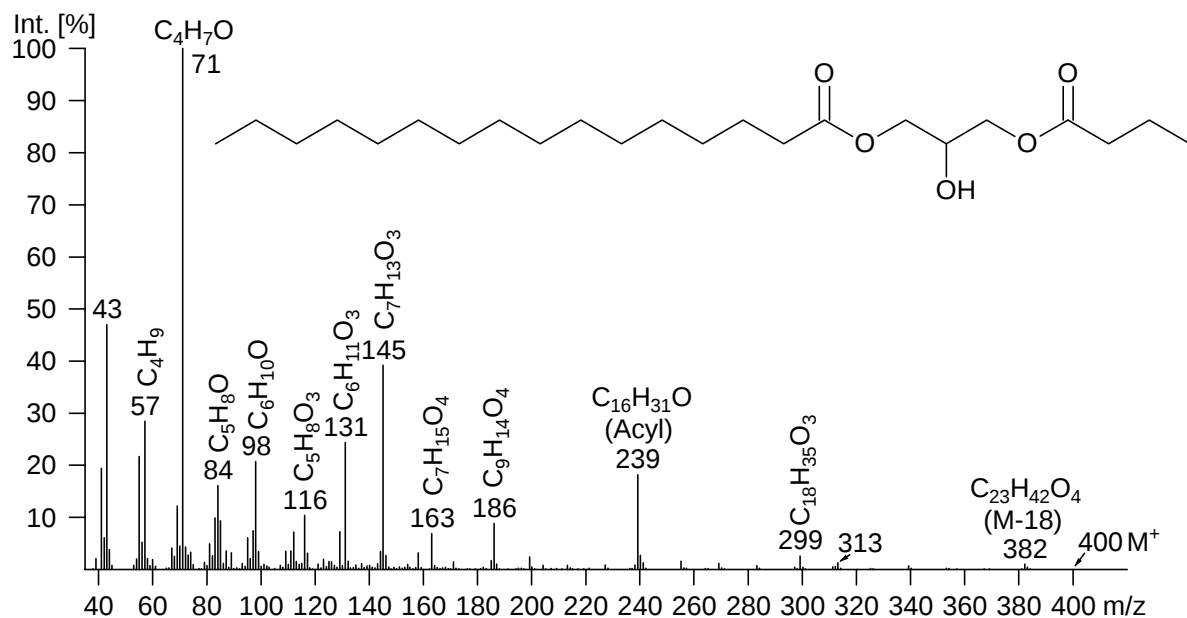


Abbildung 89 Massenspektrum und Ergebnisse aus der HR-MS von Palmitinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester (**S20**).

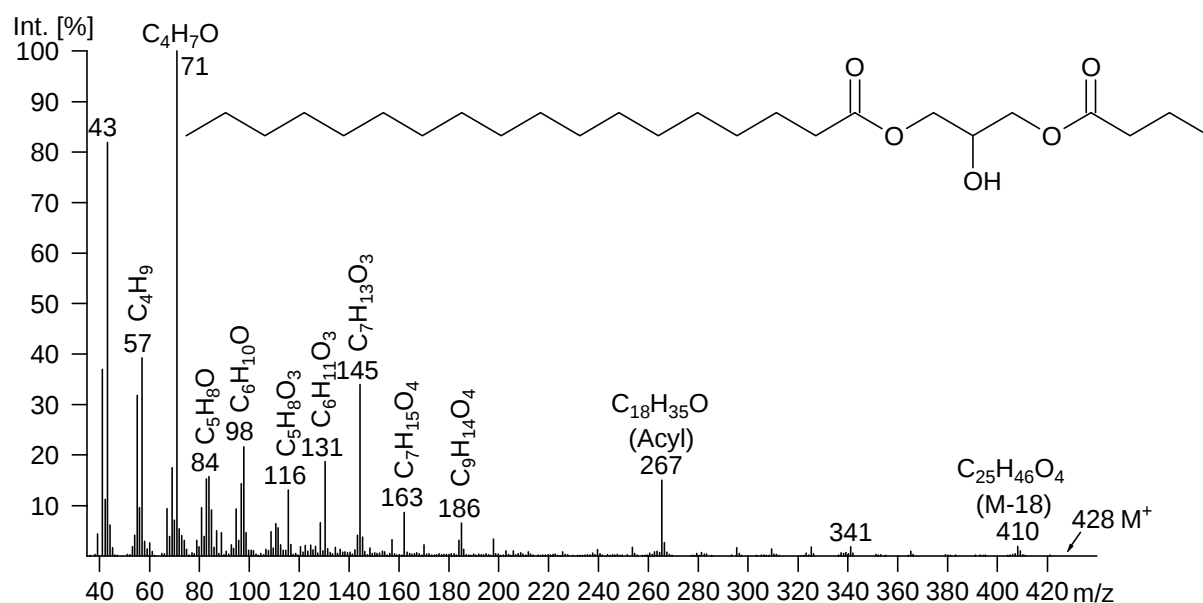


Abbildung 90 Massenspektrum und Ergebnisse aus der HR-MS von Stearinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester (**S24**).

Die massenspektrometrische Fragmentierung der Substanzen ist in Abbildung 91 exemplarisch für Myristinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester dargestellt.

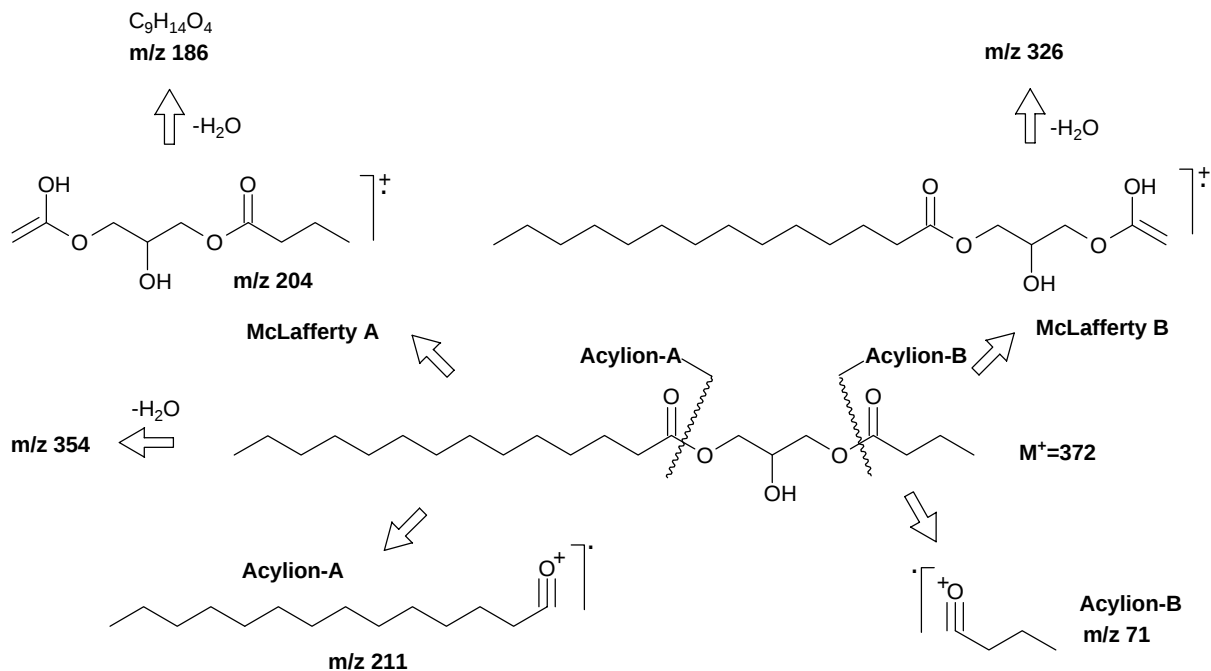


Abbildung 91 Fragmentierungsschema von Myristinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester (**S16**).

Alle Massenspektren wiesen als Basispeak m/z 71 auf, daß den Acylrest **B** aus dem Buttersäure-Substituenten repräsentierte. Die Molmassen waren nicht detektierbar, doch war

für alle Homologen $M-H_2O$ charakteristisch. Die Acylionen **A** gaben Aufschluss über die Länge des zweiten Fettsäure-Substituenten, wie in den drei Beispielen oben mit m/z 211, m/z 239 sowie m/z 267. Das McLafferty-Ion **A** m/z 204 aus der Umlagerungsreaktion über den längeren Fettsäure-Rest war bei einigen homologen 1,3-Diglyceriden schwach detektierbar. Durch Eliminierung von Wasser resultierte m/z 186, daß bei allen Verbindungen intensive Signale lieferte. Das McLafferty-Ion **B**- H_2O war nur beim Myristinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester (**S16**) mit m/z 326 schwach zu erkennen.

Die charakteristischen Fragmentionen aller identifizierten Fettsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester sind in Tabelle 26 aufgelistet. Spalte 1 ordnet die entsprechenden Acylionen-**A** den Verbindungen zu. Wie bereits oben dargestellt wurde, wiesen alle Verbindungen als Acylion-**B** m/z 71 auf (Spalte 2). In den beiden nächsten Spalten sind die McLafferty-Ionen **A** und **B** aufgelistet, die allerdings jeweils einer Eliminierung von Wasser unterlagen (McL.- H_2O). Die Molmasse M^+ und $M-18$ der Substanzen komplettieren die Tabelle 26. Die eingeklammerten Ionen konnten nicht detektiert werden.

Verbindung	Acylion-A	Acylion-B	McL. ^A - H_2O	McL. ^B - H_2O	$M-H_2O$	M^+
Decansäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	155	71	186	(270)	298	(316)
Laurinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	183	71	186	(298)	326	(344)
Myristoleinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	209	71	186	(324)	352	(370)
Myristinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	211	71	186	326	354	(372)
Palmitoleinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	237	71	186	(352)	380	(398)
Palmitinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	239	71	186	(354)	382	(400)
iso-Heptadecansäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	253	71	186	(368)	396	(414)
Heptadecansäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	253	71	186	(368)	396	(414)
Ölsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	265	71	186	(380)	408	(426)
Stearinsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	267	71	186	(382)	410	(428)
Eicosensäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	293	71	186	(408)	436	(454)

Eicosansäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	295	71	186	(410)	438	(456)
Docosensäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	321	71	186	(436)	464	(482)
Docosensäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	323	71	186	(438)	466	(484)
Tetracosensäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	349	71	186	(464)	492	(510)
Tetracosensäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	351	71	186	(466)	494	(512)
Hexacosensäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	377	71	186	(492)	520	(538)
Hexacosensäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	379	71	186	(494)	522	(540)
Octacosensäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	405	71	186	(520)	548	(566)
Octacosensäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	407	71	186	(522)	550	(568)
Tricontensäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	433	71	186	(548)	576	(594)
Tricontensäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester	435	71	186	(550)	578	(596)

Tabelle 26 Fragmentationen der Fettsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester.

4.7.1.5 NMR-spektroskopische Untersuchungen von 1,3-Diglyceriden

Für die Substitution von zwei verschiedenen Fettsäuren am Glycerin-Gerüst waren drei Isomere denkbar, deren Strukturen in Abbildung 92 dargestellt sind. Die Zuordnung konnte mit NMR-Experimenten gelingen, da für die 1,3- bzw. 1,2-disubstituierten Glyceride Unterschiede in der chemischen Verschiebung von Signalen im ^1H -NMR- bzw. ^{13}C -NMR-Spektrum der Glycerin-Struktur zu erwarten waren. Dagegen würde eine Differenzierung der beiden möglichen 1,2-Diglyceride ohne Referenzsubstanzen schwierig sein.

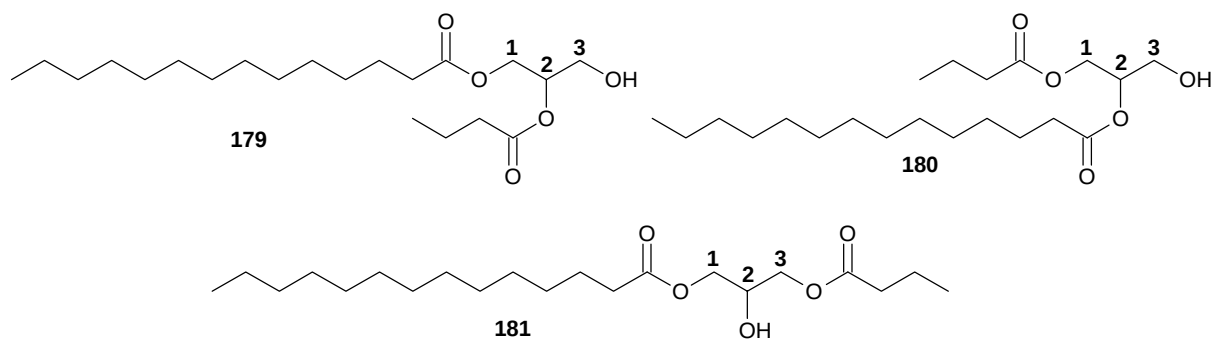


Abbildung 92 Mögliche Isomere eines Diglycerids mit den Fettsäuren Buttersäure und Myristinsäure **179-181**.

Die NMR-spektroskopischen Untersuchungen der 4. und 5. Fraktion ergaben im wesentlichen identische Ergebnisse. Abbildung 93 zeigt einen Ausschnitt aus dem $^1\text{H}^{13}\text{C}$ -COSY-Experiment des Naturstoffgemisches der 4. Fraktion. Dieser Ausschnitt umfasst die Signale und chemischen Verschiebungen der Kerne im Glycerin-Gerüst zwischen 50-140 ppm bzw. 4.2-6.1 ppm. Die ^{13}C -Signale konnten anhand von ^{13}C -DEPT-Messungen unterschieden werden. Auffällig waren die zwei Multipletts mit einer chemischen Verschiebung im ^1H -NMR-Spektrum von 4.30-4.20 bzw. 4.10-4.00 ppm, die jeweils zwei Protonen zugeordnet werden konnten. Sie koppelten mit nur einem ^{13}C -Signal bei 62.5 ppm. Die Zuordnung einer Methin-Gruppe war eindeutig. Sie zeigte Signale bei 69.8 ppm bzw. 5.35 ppm. Des weiteren waren noch die olefinischen Kopplungen der ungesättigten Fettsäure-Substituenten, wie z.B. der Ölsäure oder der Palmitoleinsäure erkennbar.

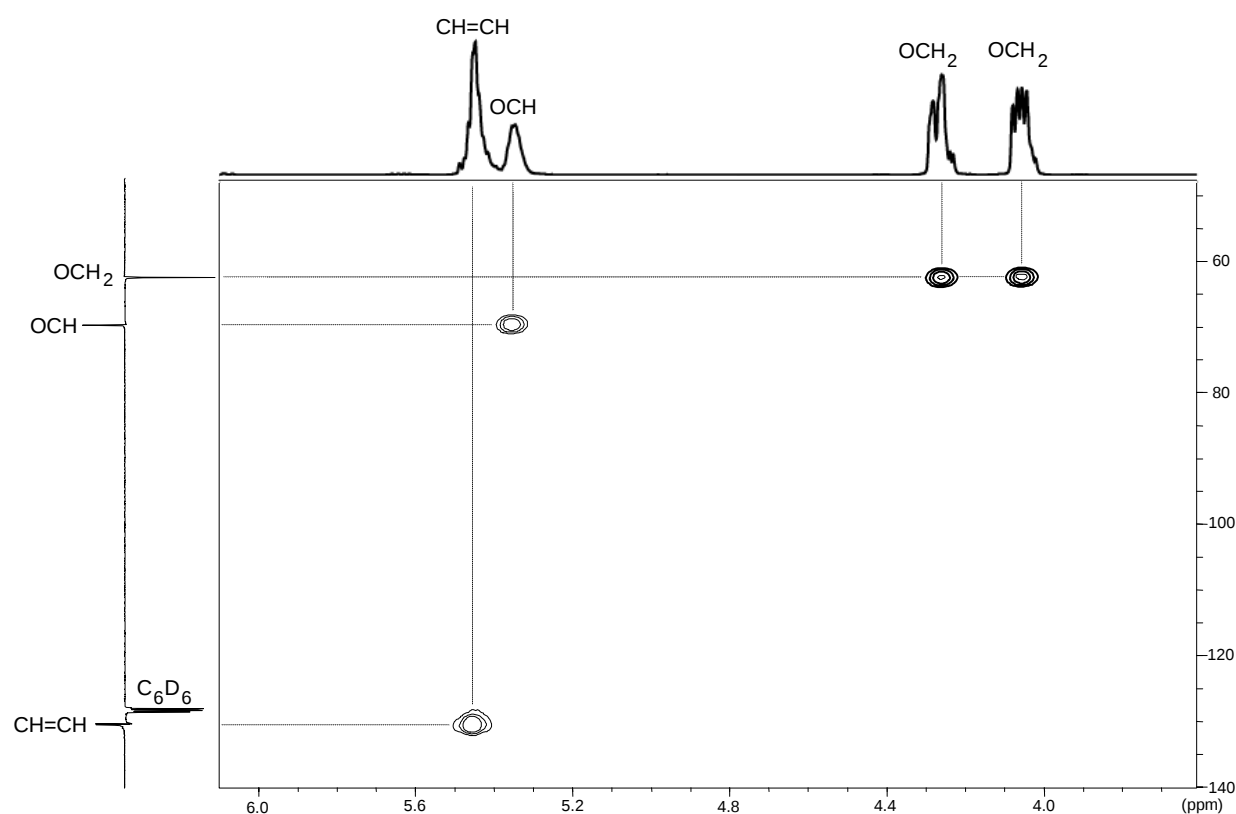


Abbildung 93 Ausschnitt aus dem $^1\text{H}^{13}\text{C}$ -COSY der homologen 1,3-Glyceride der 4. Fraktion.

Die chemische Verschiebung der Methylen-Gruppen, insbesondere im ^{13}C -DEPT-Spektrum, weist auf 1,3-Substitution der beiden Fettsäuren am Glycerin-Gerüst hin, was durch den Vergleich von Literaturdaten in nachfolgender Tabelle 27 unterstützt wurde^{236,237,238}.

Verbindung	Position im Glycerin-Gerüst					
	1		2		3	
	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C
Glycerintrilaurat	-	62.4	-	69.2	-	62.4
Glycerintributyrat	-	62.1	-	68.9	-	62.1
Glycerin-1-oleat*	-	65.7	-	70.9	-	64.0
Glycerin-1,2-bisbutyrat	4.32- 4.28	62.1	5.08	72.0	3.72	61.3
Glycerin-1,2-bislaurat	-	62.0	-	71.9	-	61.2
Glycerin-1,2-bisoleat	-	62.2	-	72.0	-	61.2
Glycerin-1,3-bisbutyrat	4.13- 4.28	65.0	4.07	68.1	4.13- 4.28	65.0
Glycerin-1,3-bislaurat	-	64.8	-	68.0	-	64.8
Glycerin-1,3-bisoleat	-	65.0	-	68.1	-	65.0
Naturstoffgemisch*	4.30- 4.21	62.5	5.35	69.8	4.08- 4.00	62.5

Tabelle 27 Chemische Verschiebungen von Mono-, Di- und Triglyceriden (* eigene Messergebnisse). Angaben in [ppm].

Die Messdaten belegten, dass erhebliche Unterschiede in der chemischen Verschiebung der Kerne in der 3-Position des Glycerin-Gerüsts bestanden. Die Differenz der Kopplungssignale bei 1,2-disubstituierten Glyceriden lagen bei 0.8-1.0 ppm in ¹³C-NMR-Messungen und etwa bei 0.6 ppm im ¹H-NMR-Spektrum. Im Naturstoffgemisch der homologen Verbindungen konnte im ¹³C-NMR-Spektrum keine Unterscheidung der Signale in Position 1 und 3 vorgenommen werden, was oben postulierte 1,3-Disubstitution bewies. Zudem lag die Differenz der beiden Methylen-Signale im ¹H-NMR-Spektrum bei weniger als 0.2 ppm. Dabei hatten verschiedene Fettsäuresubstituenten keinen entscheidenden Einfluss auf die chemische Verschiebung der Signale am Glycerin-Gerüst, was durch die Auswahl der Werte in Tabelle 27 verdeutlicht wurde.

4.7.1.6 Inhaltsstoffe der III. Fraktion

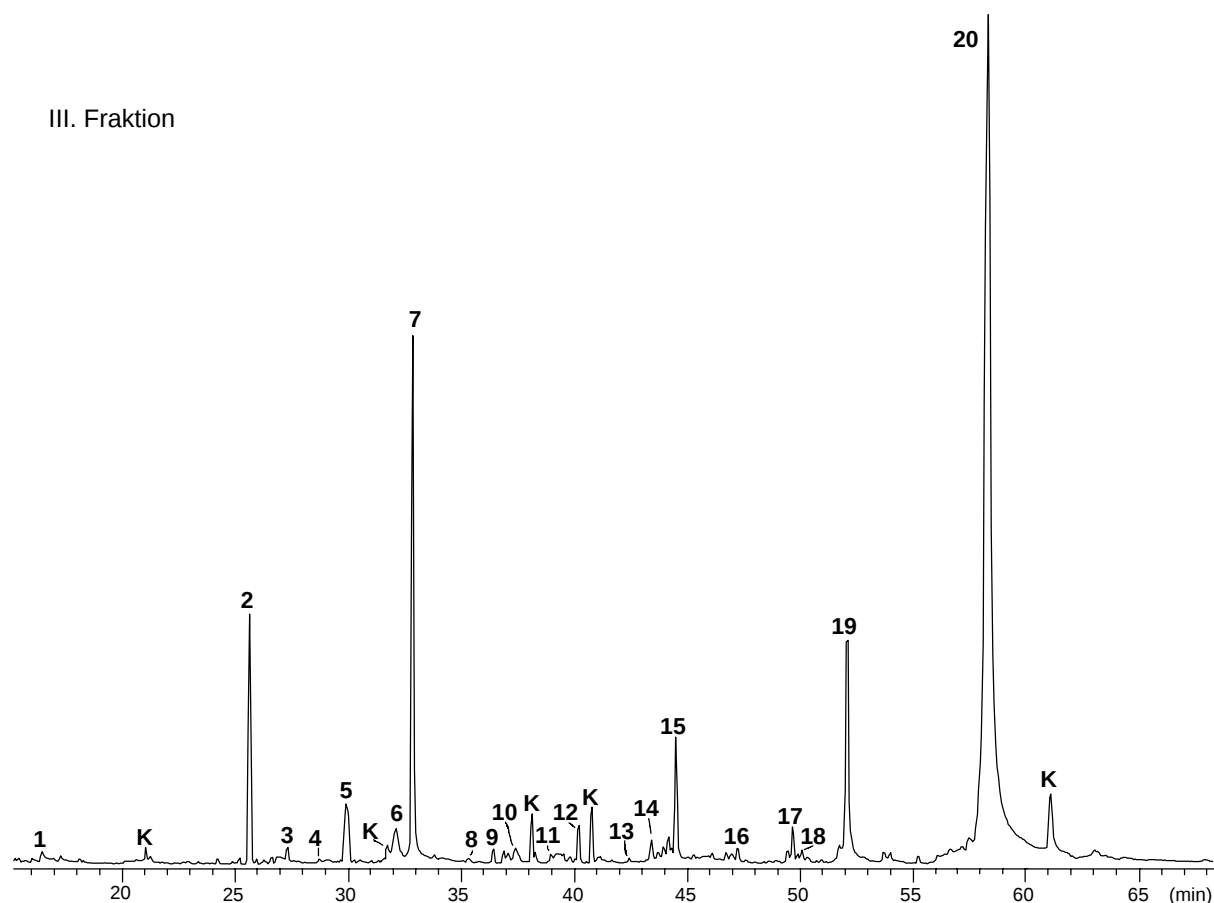


Abbildung 94 Totalionenstromchromatogramm der III. Fraktion von Schafmilch 9. (FFAP 60 m, Temperaturprogramm: 60°C, 5 min. isotherm, 3°C/min. auf 220°C, 30 min. isotherm).

Es konnten Verbindungen in der Schafmilch identifiziert werden, die bereits in menschlicher Muttermilch nachgewiesen wurden. Eine Ausnahme stellte dabei die Verbindung **S17** dar. Das Massenspektrum dieser Substanz ist in Abbildung 95 gezeigt. Unterschiede zu den vergleichbaren Fraktionen des menschlichen Kolostrums lagen in den Konzentrationen der Verbindungen. So stellte **S20** die Hauptkomponente in den Proben der Schafmilch, die wiederum nur als Nebenkomponeute in der Muttermilch nachgewiesen werden konnte. In Tabelle 28 sind die Inhaltsstoffe dieser Messung aufgeführt.

Nr.	Verbindung	1	2	3	4	5	7	8	9	10
S1	Furfurylmethylether	S	n.d.	S	S	S	S	S	S	n.d.
S2	Furfural	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S3	2-Furylmethylketon	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S4	3-Oxobutanol	n.d.	n.d.	S	n.d.	S	n.d.	S	S	n.d.
S5	5-Methylfurfural	N	N	N	N	N	N	N	N	N
S6	Isomaltol	N	N	N	N	N	N	N	N	N

S7	Furfurylalkohol	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S8	5-Methyl-2-hydroxymethylfuran	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S9	Laurinsäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S10	2(5H)-Furanon	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S11	Acetamid	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S12	Myristinsäuremethylester	N	N	N	N	N	N	N	N	N
S13	Maltol	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S14	Furan-2-carbonsäuremethylester	N	N	N	N	N	N	N	N	N
S15	4-Hydroxy-2,5-dimethyl-2-hydrofuran-3-on	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S16	4-Methylphenol	n.d.	n.d.	S	n.d.	S	n.d.	S	S	n.d.
S17	5-Formyl-2-furan-carbonsäuremethylester*	N	N	N	N	N	N	N	N	N
S18	Palmitinsäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S19	3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihdropyran-4-on	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S20	5-(Hydroxymethyl)-furfural	H	H	H	H	H	H	H	H	H

Tabelle 28 Inhaltsstoffe der III. Fraktion vom Kolostrum.

Massenspektrum von 5-Formyl-2-furancarbonsäuremethylester (S17)

Die Molmasse mit $M = 154$ g/mol war deutlich erkennbar. Das Molekül lieferte nach Decarbonylierung m/z 126. Dieses Fragmentation war auch Basispeak im Massenspektrum von 5-Formyl-2-furancarbonsäuremethylester (S17).

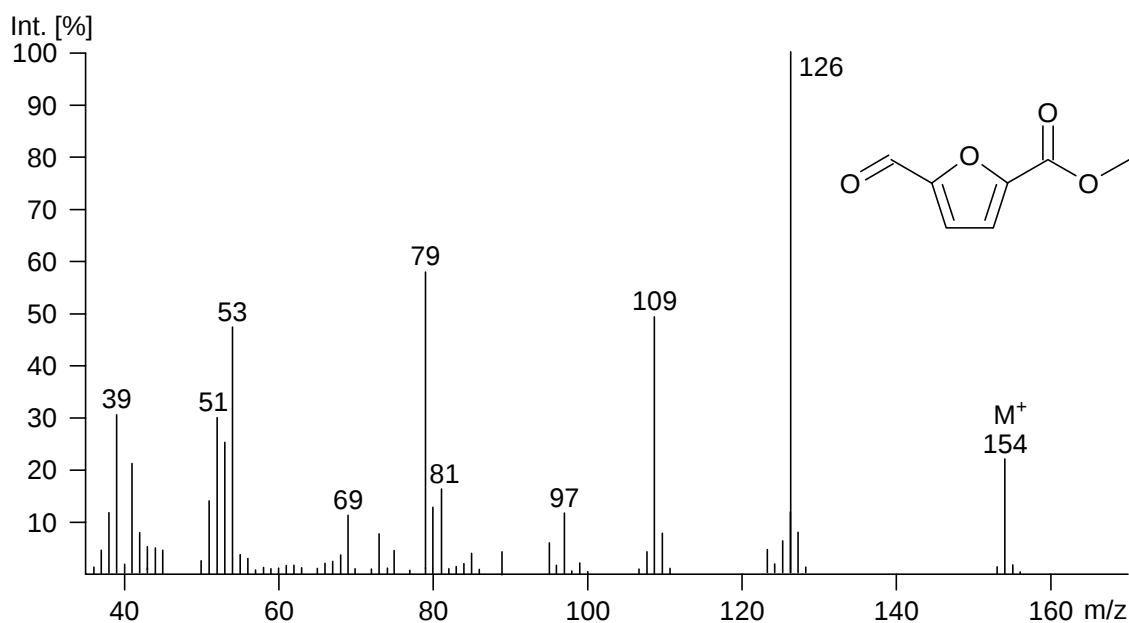


Abbildung 95 Massenspektrum von 5-Formyl-2-furancarbonsäuremethylester (S17).

4.7.2 Identifizierung flüchtiger Verbindungen im Schwanzdrüsensekret von Schafen

Neun wachähnliche Schwanzdrüsensekrete von verschiedenen Mutterschafen wurden mit dem im Methodenteil vorgestellten Aufarbeitungsverfahren fraktioniert. Es wurden die Chromatogramme von einzelnen Extrakten dargestellt und die Inhaltsstoffe tabellarisch aufgeführt. Die Massenspektren der in den Listen mit einem * markierten Verbindungen werden eingehender diskutiert. Wie bereits in den vorangegangenen Kapiteln wurden die Verbindungen anhand der Gesamtflächen im Totalionenstromchromatogramm in Hauptkomponente ($H > 5\%$), Nebenkomponekte ($N > 0.5\%$) und Spurenkomponente ($S < 0.5\%$) unterteilt. K steht für Kontaminant und n.d. für not detected. Die polaren Inhaltsstoffe der 2. Fraktion wurden durch Zugabe von 10 Gewichtsprozenten 12-Hydroxydodekansäure als internem Standard quantifiziert, wobei die Integrale der Peakflächen miteinander verglichen wurden.

4.7.2.1 Die *n*-Pentan-Fraktion der Schwanzdrüsensekrete

Die *n*-Pentan-Extrakte wurden nach Ultraschallextraktion am Rotationsverdampfer vorsichtig eingeeengt und mittels GC-MS analysiert. Abbildung 96 zeigt exemplarisch das Chromatogramm dieser Fraktion von Mutterschaf 2. In weiteren Abbildungen werden einige Verbindungsklassen der Inhaltsstoffe mit dem SIM-Verfahren (Erläuterung s.o.) hervorgehoben und mit Referenzverbindungen verglichen, welche die Strukturvorschläge in Tabelle 29 verifizieren sollen.

Pentan-Fraktion

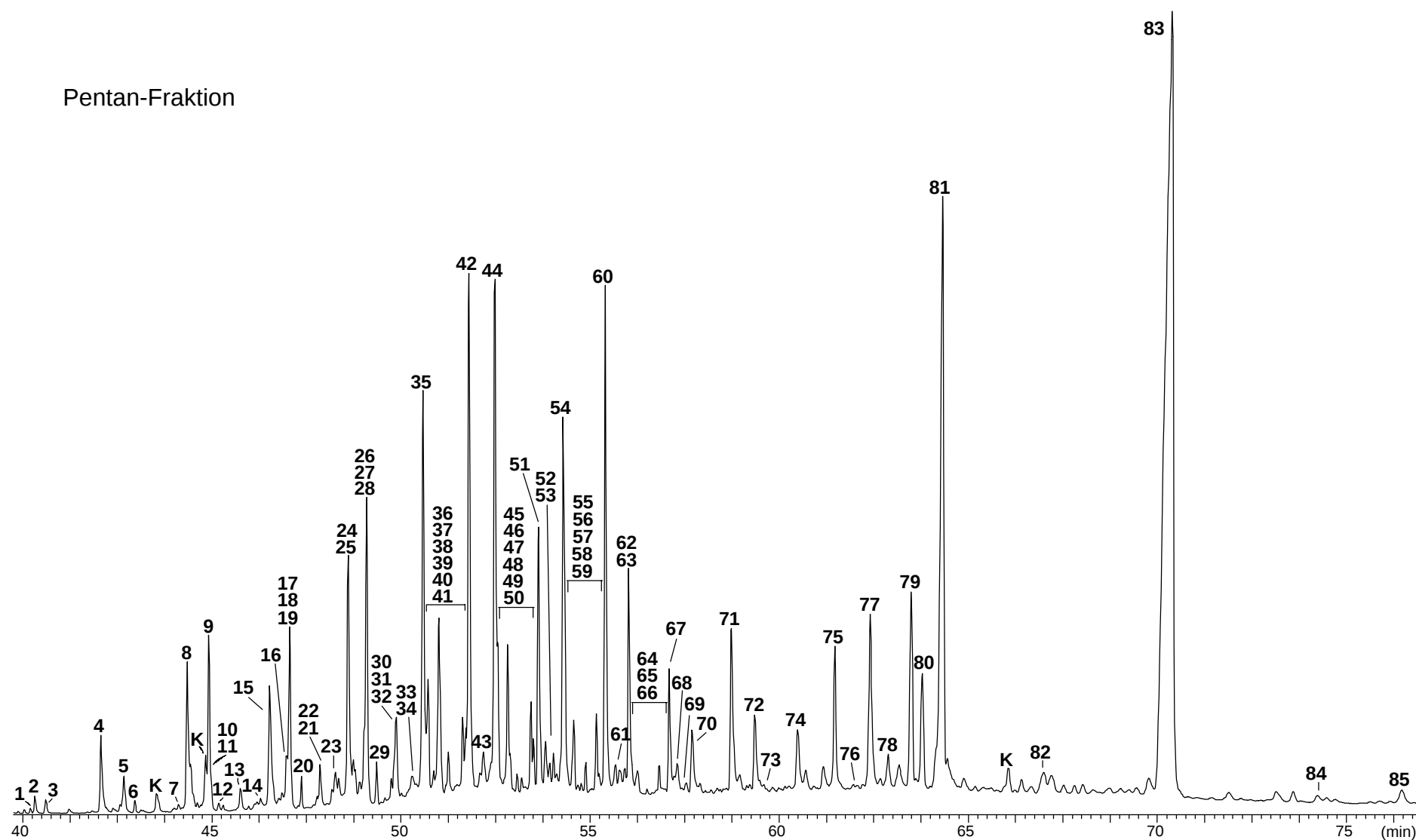


Abbildung 96 Totalionenstromchromatogramm der *n*-Pentan-Fraktion des Schwanzdrüsensekrets von Mutterschaf 2. (DB-1 60 m, Temperaturprogramm: 60°C, 10 min. isotherm, 5°C/min. auf 300°C, 40 min. isotherm).

Die Zusammensetzung der Inhaltstoffe dieser Fraktion war für die neun Schafe sehr unterschiedlich. Neben qualitativen, waren besonders quantitative Unterschiede in der Zusammensetzung der *n*-Pentan-Fractionen zu beobachten. Die Proben prägten im wesentlichen eine Vielzahl verzweigter und unverzweigter 1-Alkanole. In niedrigeren Konzentrationen lag bei den meisten Proben eine Reihe von 2-Alkanolen vor. Die Hauptkomponente stellten bei allen Proben Cholesta-3,5-dien (**S81**) und Cholesterylacetat (**S83**) dar. In Spuren konnten auch Lanosterol (**175**) und Dihydrolanosterol (**173**) identifiziert werden. Des weiteren konnten in Proben 1-Methylalkylacetate, 1-Methylalkylpropionate, 1-Methylalkylbutyrate und 1-Methylalkylvaleriate mit Kettenlängen der 2-Alkanoyl-Substituenten von C₁₅-C₂₂, die sogar z.T. *iso*-Methylverzweigungen aufwiesen, identifiziert werden.

Nr.	Verbindung	1	2	3	4	5	7	8	9	10
S1	12-Methyltridecanol	n.d.	S	S	S	S	S	S	n.d.	S
S2	Tetradecanol	n.d.	S	S	S	S	n.d.	S	n.d.	S
S3	Pentadecan-2-ol	n.d.	S	S	S	S	S	S	n.d.	S
S4	Pentadecanol	S	N	S	N	N	N	N	H	N
S5	Hexadecan-2-ol	n.d.	S	n.d.	S	n.d.	S	S	S	S
S6	14-Methylpentadecanol	N	N	N	N	S	n.d.	S	N	S
S7	15-Methylhexadecan-2-ol	n.d.	S	S	S	n.d.	n.d.	S	S	S
S8	Hexadecanol	H	H	H	H	N	H	H	H	N
S9	Heptadecan-2-ol	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S10	15-Methylhexadecanol	H	H	H	H	N	H	S	H	N
S11	1-Methyltetradecylpropionat	n.d.	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S12	1-Methylpentadecylacetat	n.d.	S	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S13	1,12-Dimethyltridecylbutyrat	S	S	S	n.d.	n.d.	S	n.d.	n.d.	n.d.
S14	16-Methylheptadecan-2-ol	n.d.	S	S	S	n.d.	n.d.	S	S	n.d.
S15	Heptadecanol	N	H	N	H	N	N	N	H	N
S16	1-Methyltetradecylbutyrat	S	S	S	n.d.	n.d.	S	n.d.	n.d.	n.d.
S17	Octadecan-2-ol	N	N	N	N	N	S	S	S	S
S18	16-Methylheptadecanol	H	H	H	H	N	S	H	H	N
S19	1-Methylpentadecylpropionat	S	N	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S20	1-Methylhexadecylacetat	n.d.	N	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S
S21	1-Methyltetradecylvaleriat	S	S	S	n.d.	n.d.	n.d.	S	S	S
S22	1,13-Dimethyltetradecylbutyrat	S	N	S	n.d.	n.d.	S	n.d.	n.d.	n.d.
S23	17-Methyloctadecan-2-ol	N	N	n.d.	N	N	n.d.	S	S	S
S24	Octadecanol	H	H	H	H	N	N	H	H	N
S25	1-Methylpentadecylbutyrat	S	N	S	S	n.d.	S	n.d.	n.d.	n.d.
S26	Nonadecan-2-ol	S	N	N	N	n.d.	S	S	S	S
S27	1-Methylhexadecylpropionat	S	N	S	n.d.	n.d.	n.d.	S	S	S
S28	17-Methyloctadecanol	H	H	H	H	N	N	N	H	N
S29	1-Methylheptadecylacetat	n.d.	N	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

S30	1-Methylpentadecylvaleriat	S	N	S	n.d.	n.d.	n.d.	S	S	S
S31	1,14-Dimethylpentadecylbutyrat	S	N	S	n.d.	n.d.	S	S	S	S
S32	17-Methyloctadecanol	N	N	N	N	N	N	N	H	H
S33	1,15-Dimethylhexadecylpropionat	n.d.	N	n.d.	n.d.	n.d.	N	S	n.d.	n.d.
S34	18-Methylnonadecan-2-ol	n.d.	S	S	S	n.d.	n.d.	S	S	S
S35	Nonadecanol	H	H	H	H	N	N	N	H	N
S36	1-Methylhexadecylbutyrat	S	H	S	S	n.d.	S	S	S	S
S37	1-Methylheptadecylpropionat	S	H	N	n.d.	H	n.d.	S	S	S
S38	Eicosan-2-ol	N	N	N	N	N	N	S	S	S
S39	1-Methyloctadecylacetat	n.d.	N	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S40	1-Methylhexadecylvaleriat	S	H	S	H	n.d.	S	S	S	S
S41	1,15-Dimethylhexadecylbutyrat	S	H	N	S	n.d.	S	S	S	S
S42	18-Methylnonadecanol	H	H	H	H	H	N	H	H	H
S43	1,16-Dimethylheptadecylpropionat	n.d.	N	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S44	Eicosanol	H	H	H	H	H	N	H	H	H
S45	1-Methylheptadecylbutyrat	S	H	S	S	n.d.	S	S	S	S
S46	1-Methyloctadecylpropionat	S	H	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	S	S
S47	Heneicosan-2-ol	N	N	N	N	N	N	S	S	S
S48	1-Methylnonadecylacetat	n.d.	N	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S49	1-Methylheptadecylvaleriat	S	H	S	n.d.	n.d.	S	S	S	S
S50	1,16-Dimethylheptadecylbutyrat	N	N	S	n.d.	n.d.	S	S	S	S
S51	19-Methyleicosanol	H	H	H	H	N	H	H	H	H
S52	1,17-Dimethyloctadecylpropionat	n.d.	N	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S53	1,16-Dimethylheptadecylvaleriat	S	N	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	S	n.d.
S54	Heineicosanol	H	H	H	H	N	H	N	H	H
S55	1-Methyloctadecylbutyrat	N	N	S	S	n.d.	S	S	S	S
S56	Docosan-2-ol	H	H	H	H	N	N	S	S	S
S57	1-Methylnonadecylpropionat	S	S	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.
S58	1-Methyloctadecylvaleriat	S	H	S	n.d.	n.d.	S	S	S	S
S59	1,17-Dimethyloctadecylbutyrat	n.d.	N	S	n.d.	n.d.	S	S	n.d.	S
S60	20-Methylheneicosanol	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S61	1,17-Dimethyloctadecylvaleriat	S	N	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	S	n.d.
S62	Docosanol	H	H	H	H	H	N	H	N	H
S63	1-Methylnonadecylbutyrat	n.d.	N	S	n.d.	n.d.	S	S	S	S
S64	1-Methyleicosanylpropionat	n.d.	N	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S65	1-Methylnonadecylvaleriat	S	N	S	n.d.	n.d.	S	S	S	S
S66	1,18-dimethylnonadecylbutyrat	n.d.	N	n.d.	n.d.	n.d.	S	S	n.d.	n.d.
S67	21-Methyltricosanol	H	H	H	H	N	H	N	H	H
S68	1,18-Dimethylnonadecylvaleriat	S	N	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.
S69	1-Methyleicosanylbutyrat	n.d.	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S70	Tricosanol	N	N	N	N	N	N	N	S	S
S71	22-Methyltricosanol	N	H	N	H	N	N	N	H	H
S72	Tetracosanol	N	N	N	N	N	N	N	H	H
S73	1-Methylheneicosanylbutyrat	n.d.	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S74	23-Methyltetracosanol	N	N	N	N	n.d.	n.d.	n.d.	H	N
S75	Steroid (368)	H	H	H	H	N	N	N	H	N
S76	24-Methylpentacosanol	n.d.	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.

S77	Hexacosanol	H	H	H	H	H	N	N	N	H
S78	Steroid (368)	N	N	N	N	N	N	N	N	N
S79	Steroid (368)	H	H	H	H	H	N	N	N	H
S80	Steroid (368)	H	H	H	H	H	N	N	N	H
S81	Cholest-3,5-dien	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S82	Cholesta-3,5-dien-7-on	N	N	N	N	N	N	N	N	N
S83	Cholesterolacetat	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S84	Lanosterol	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S85	Dihydrolanosterol	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Tabelle 29 Inhaltsstoffe der *n*-Pentan-Fraktion des Schwanzdrüsensekrets von Hausschafen.

4.7.2.2 Identifizierung von 2-Acyloxyalkanen

Identifizierung von 1-Methylalkylacetaten

In einigen Proben konnten die homologen Acetate **S12**, **S20**, **S29**, **S39** und **S48** nachgewiesen werden. Durch SIM-Messung gelang es auch niedrigkonzentrierte 1-Methylalkylacetate zuzuordnen. Durch die Referenzverbindungen 1-Methylpentadecylacetat (**R1**) und 1-Methylheptadecylacetat (**R2**) ließen sich die entsprechenden Verbindungen im Naturextrakt verifizieren. Aufgrund des Retentionsverhaltens und der charakteristischen Massenspektren dieser Verbindungen ließen sich die anderen Homologen eindeutig zuordnen. Abbildung 97 zeigt das SIM 61 sowie die Referenzverbindungen im Chromatogramm **A**.

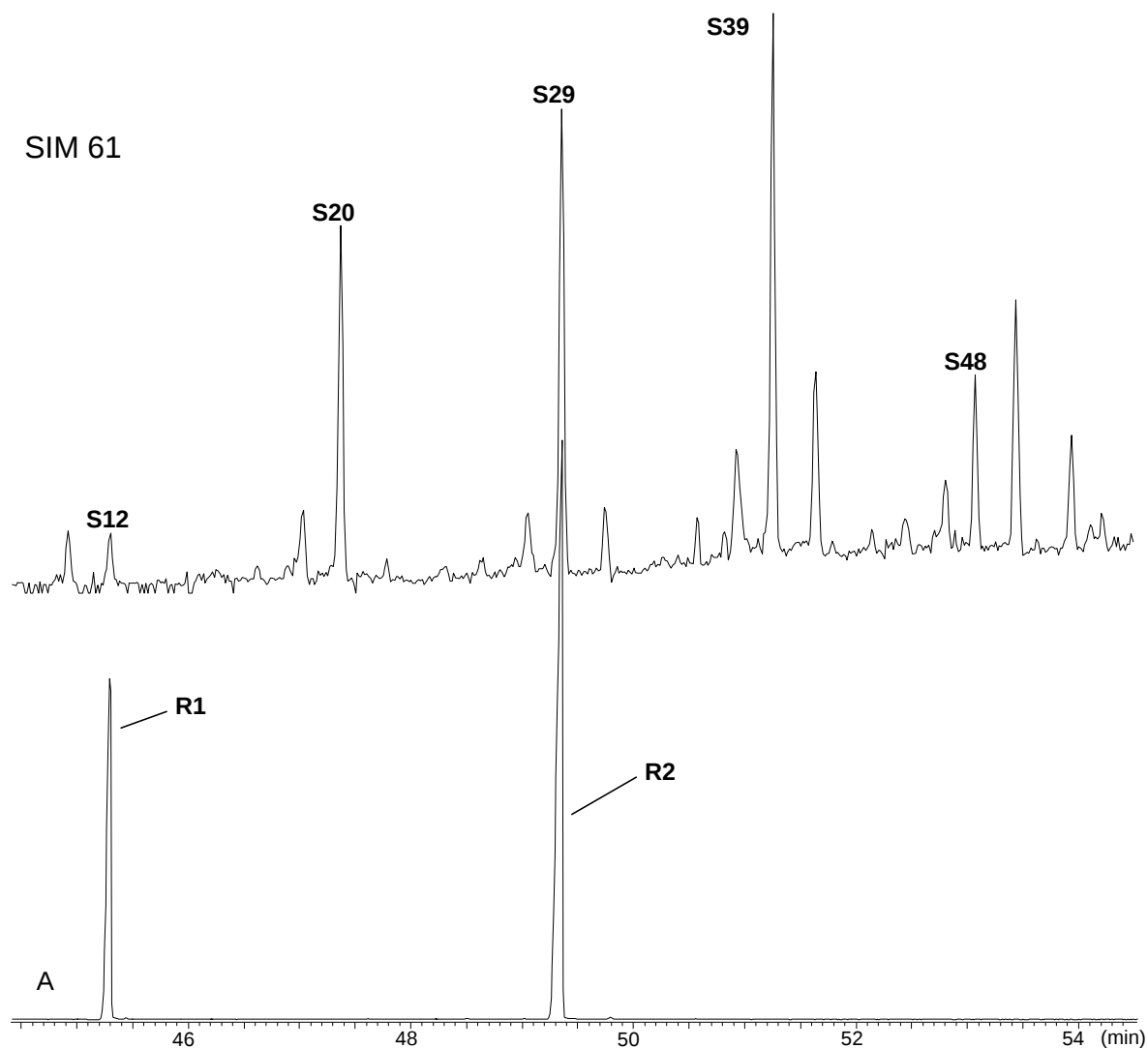


Abbildung 97 Ausschnitt aus dem SIM 61 Chromatogramm der *n*-Pentan-Fraktion des Schwanzdrüsensekrets 2 (oben). Chromatogramm **A** zeigt die Referenzverbindungen 1-Methylpentadecylacetat (**R1**) und 1-Methylheptadecylacetat (**R2**) (unten).

Massenspektren von 1-Methylalkylacetaten

Charakteristisch für die Elektronenstoß induzierte Fragmentierung von 1-Methylalkylacetate war die Abspaltung des Acylions m/z 43, das gleichzeitig den Basispeak für alle hier identifizierten Acetate darstellte. Die nachfolgenden Abbildungen zeigen die Massenspektren der Verbindungen **S29** und **S39** dieser Substanzklasse.

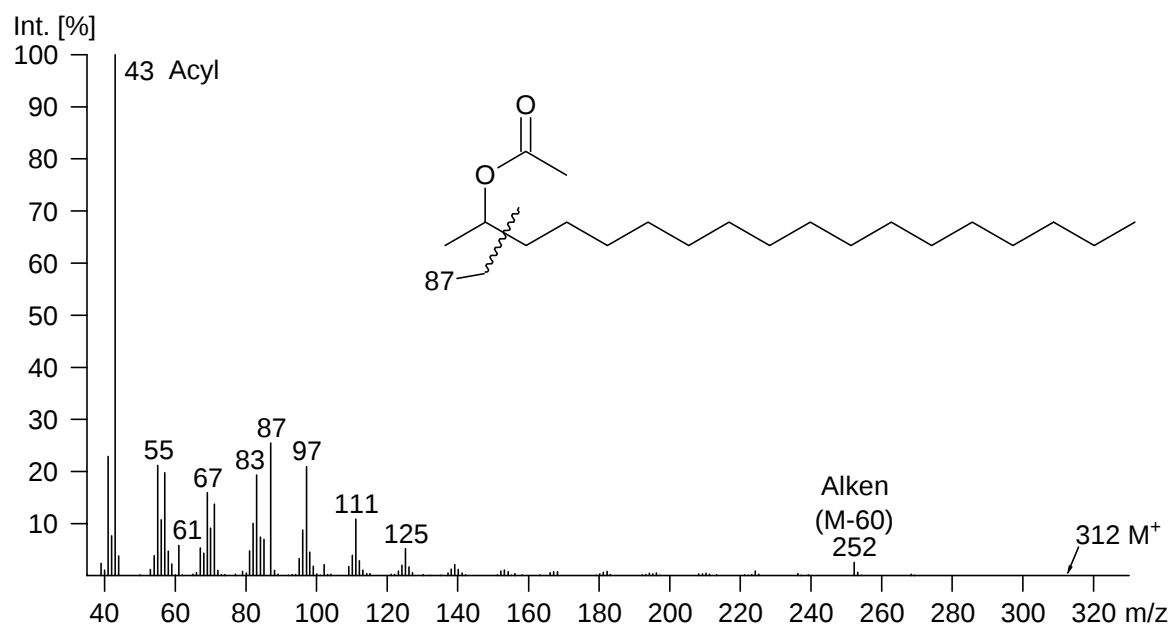


Abbildung 98 Massenspektrum von 1-Methylheptadecylacetat (S29).

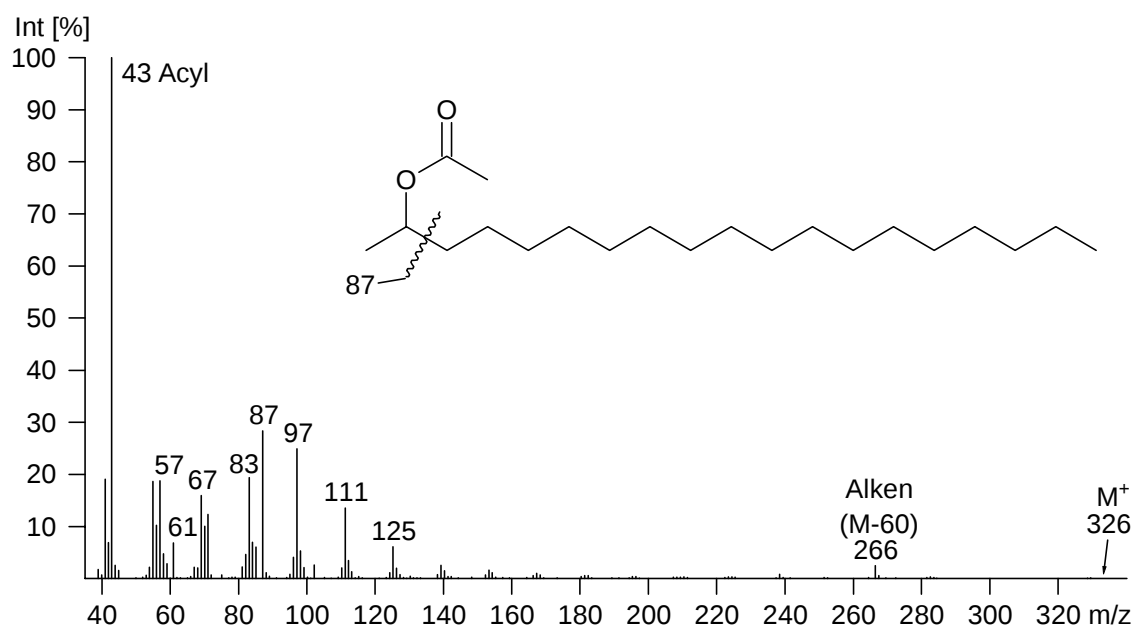


Abbildung 99 Massenspektrum von 1-Methyloctadecylacetat (S39).

Signifikant war zudem m/z 61, daß protonierte Essigsäure repräsentierte. Das Molekülion war nicht zu erkennen, doch war für alle Spektren M-60 zuzuordnen. Durch α -Bruch neben der Acetoxygruppe wurde mit m/z 87 die Position der Sauerstofffunktion deutlich.

Identifizierung von 1-Methylalkylpropionaten

Die Propionate **S11**, **S19**, **S27**, **S33**, **S37**, **S43**, **S46**, **S52**, **S57** und **S64** konnten in einigen Proben nachgewiesen werden. Aufgrund von Peaküberlagerungen in den Chromatogrammen war durch die Darstellung des SIM 75 eine Zuordnung der homologen Propionate einfach. Durch die Referenzverbindungen 1-Methyltetradecylpropionat (**R3**) und 1-Methylpentadecylpropionat (**R4**) wurden die Strukturvorschläge verifiziert.

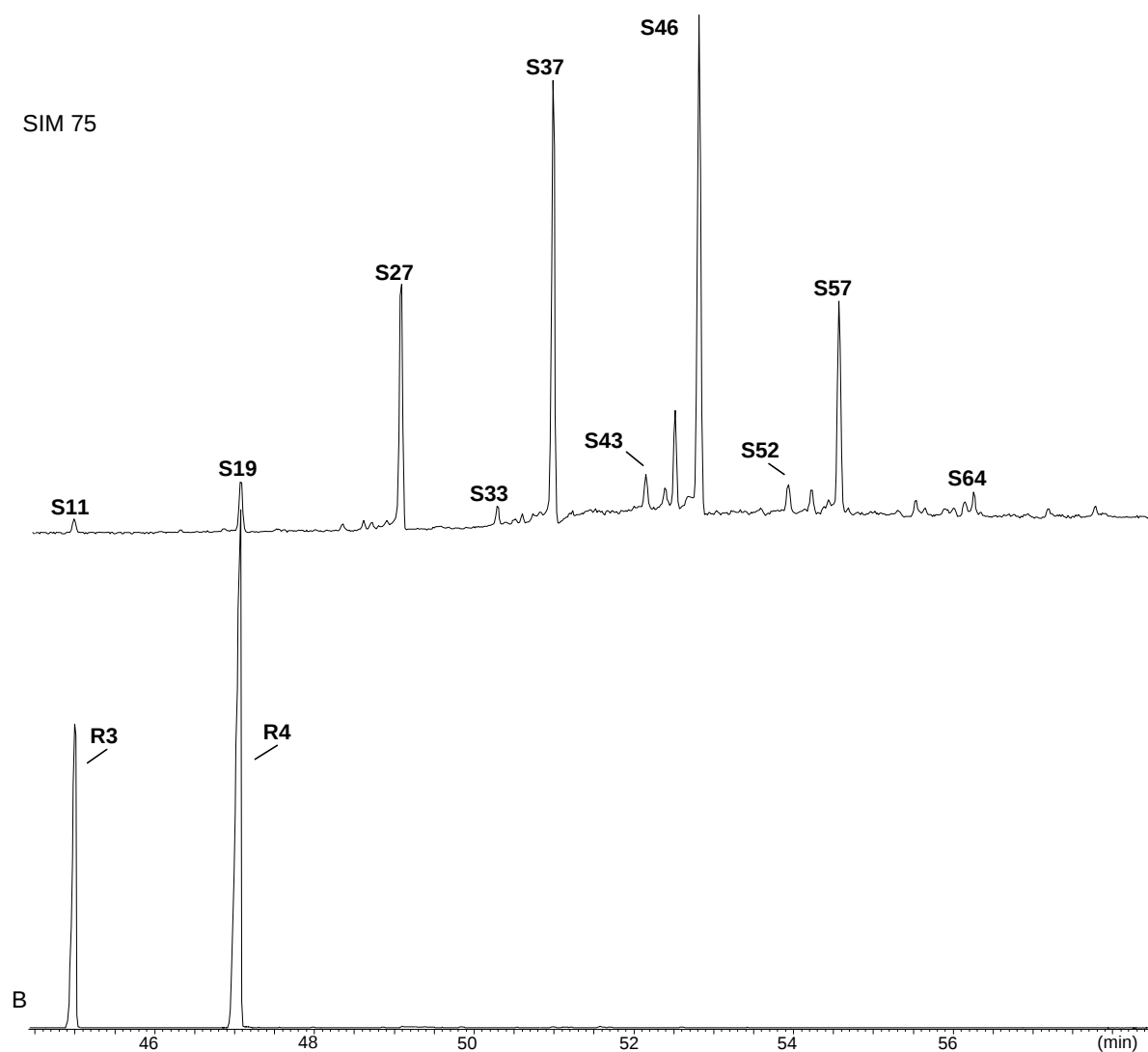


Abbildung 100 Ausschnitt aus dem SIM 75 Chromatogramm der *n*-Pentan-Fraktion des Schwanzdrüsensekrets 2 (oben). Chromatogramm **B** zeigt die Referenzverbindungen 1-Methyltetradecylpropionat (**R3**) und 1-Methylpentadecylpropionat (**R4**) (unten).

Massenspektren von 1-Methylalkylpropionaten

Die Fragmentierung der 1-Methylalkylpropionate im Massenspektrum war denen der Acetate ähnlich (s. oben), wobei hier aufgrund der Propionsäure vergleichbare Bruchstücke 14 Masseneinheiten schwerer waren.

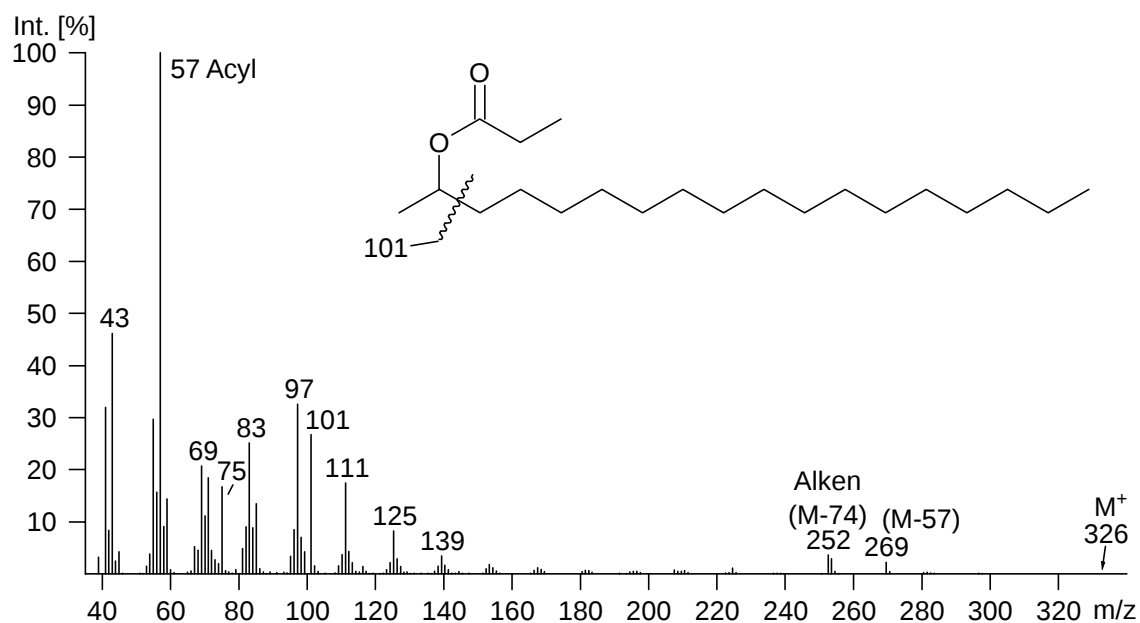


Abbildung 101 Massenspektrum von 1-Methylheptadecylpropionat (S37).

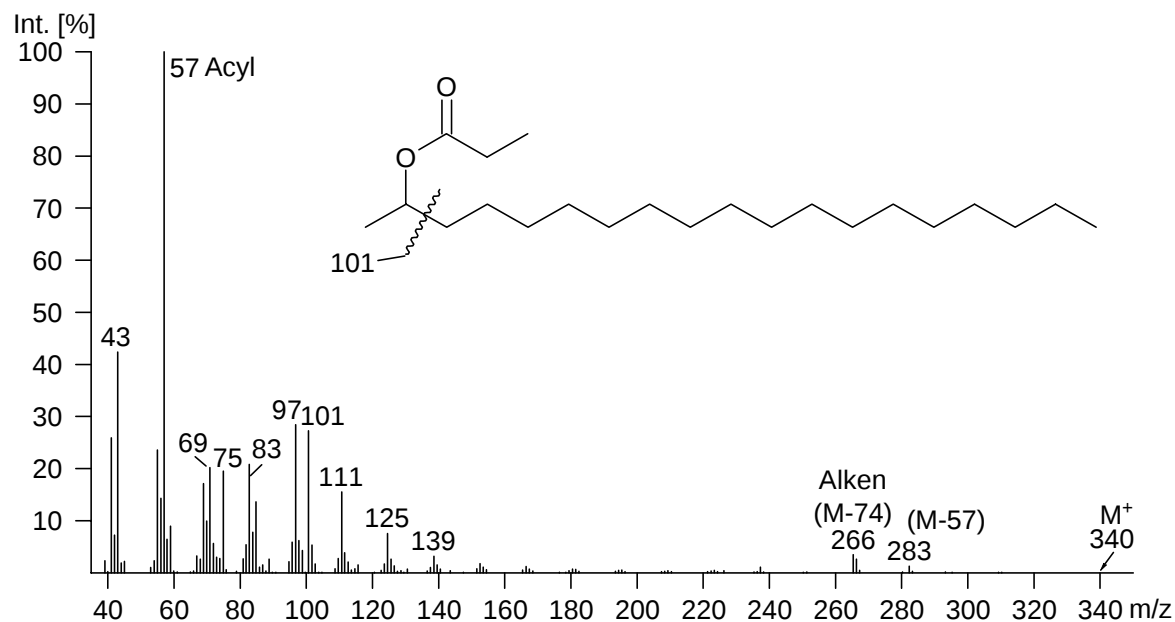


Abbildung 102 Massenspektrum von 1-Methyloctadecylpropionat (S46).

Das Acylion lieferte somit m/z 57 und auch die Abspaltung M-57 war charakteristisch. Auch bei diesen Propionaten war M-74 deutlich zu erkennen, und das Ion m/z 75 repräsentierte erneut die protonierte Carbonsäure. Auch die α -Spaltung neben der Verzweigung lieferte mit m/z 101 ein um 14 Masseneinheiten schwereres Ion als das entsprechende Acetat.

Identifizierung von 1-Methylalkylbutyraten

15 1-Methylalkylbutyraten konnten in den *n*-Pentan-Fractionen der Drüsensekrete identifiziert werden, wobei davon **S13**, **S22**, **S31**, **S41**, **S50**, **S59** sowie **S66** eine *iso*-Methylverzweigung am 2-Alkanylrest aufweisen. Bei den synthetisierten Referenzsubstanzen **R5** und **R7** war die Buttersäure methylverzweigt. Sie eluierten etwas früher von der Kapillarsäule als die Strukturvorschläge **S13** bzw. **S22**.

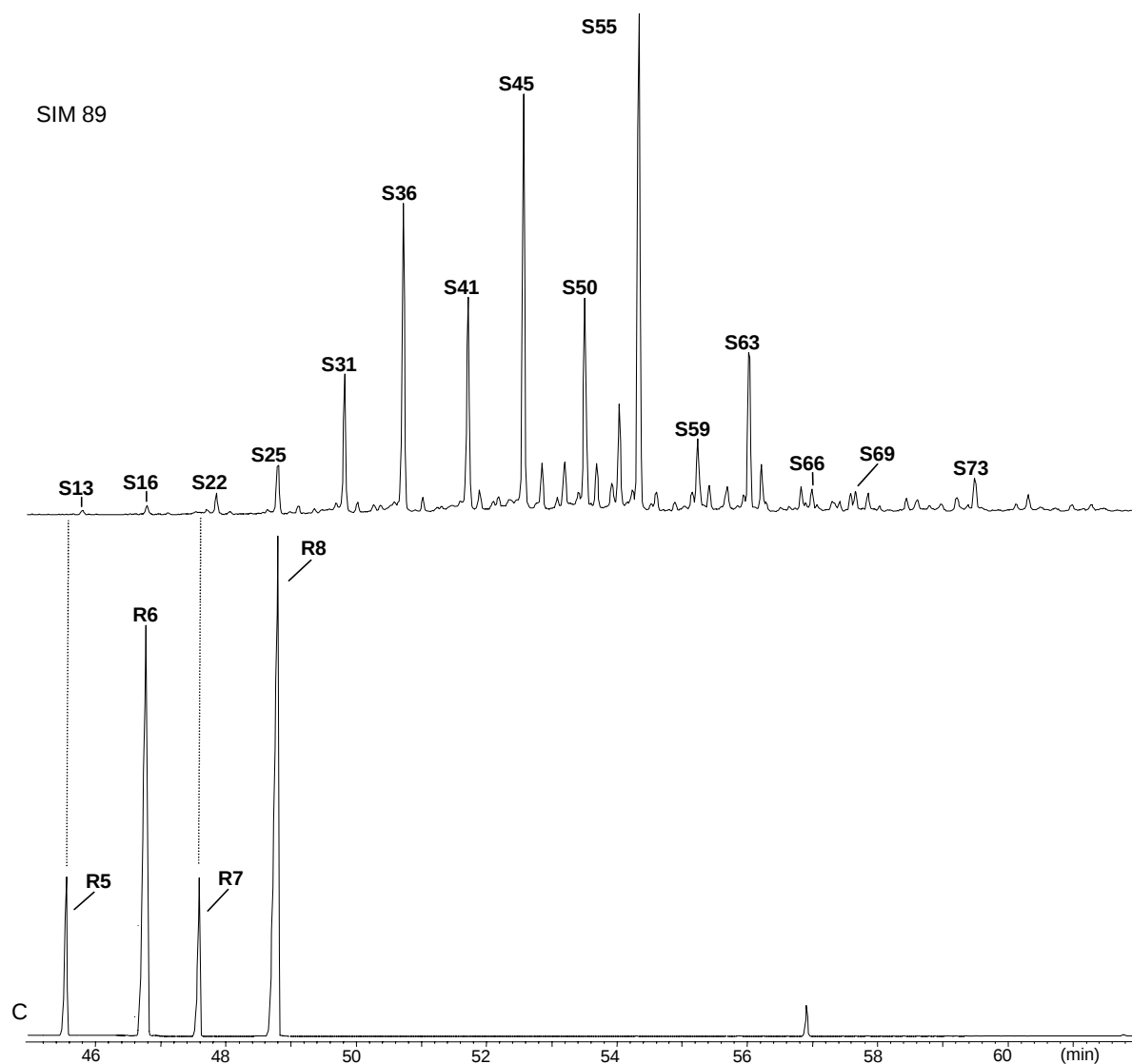


Abbildung 103 Ausschnitt aus dem SIM 89 Chromatogramm der *n*-Pentan-Fraktion des Schwanzdrüsensekrets 2 (oben). Chromatogramm **C** zeigt die Referenzverbindungen 1-Methyltetradecyl-*iso*-butyrat (**R5**), 1-Methyltetradecylbutyrat (**R6**), 1-Methylpentadecyl-*iso*-butyrat (**R7**) und 1-Methylpentadecylbutyrat (**R8**) (unten).

Massenspektren von 1-Methylalkylbutyraten

Für die 1-Methylalkylbutyrate waren die Fragmentionen m/z 71, m/z 89 und m/z 115 charakteristisch. Diese Ionen konnten analog der oben beschriebenen Abspaltungen der Acetate und Propionate erklärt werden. M-71 und M-88 waren hingegen die Gegenionen zur Acyl-Abspaltung bzw. der Eliminierung von Buttersäure.

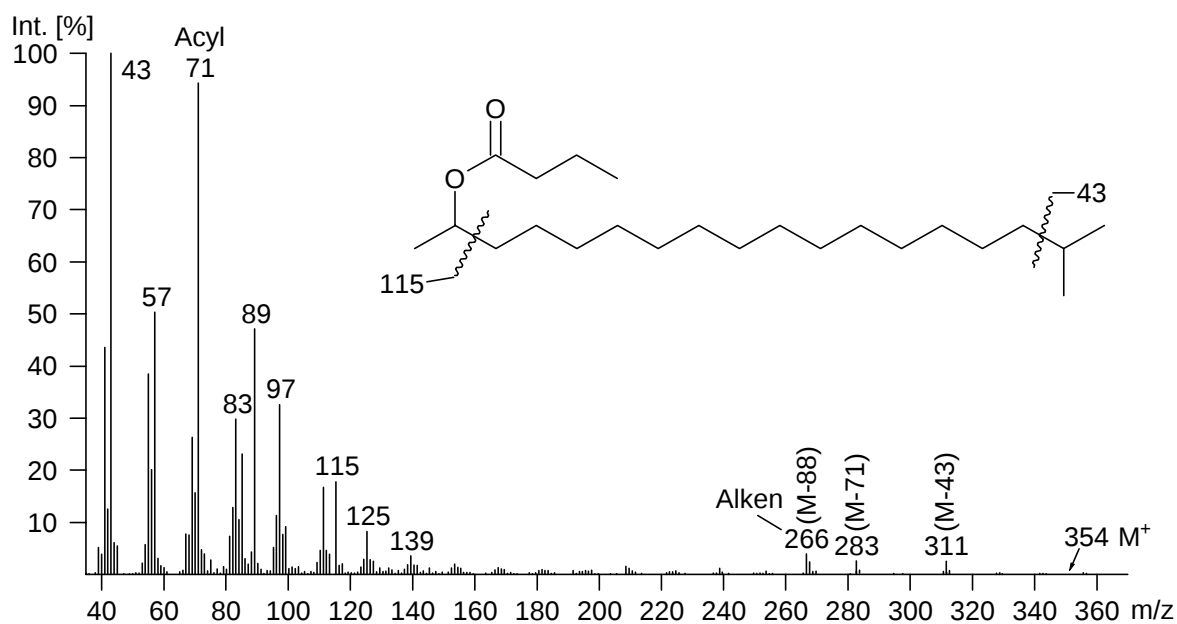


Abbildung 104 Massenspektrum von 1,16-Dimethylheptadecylbutyrat (S50).

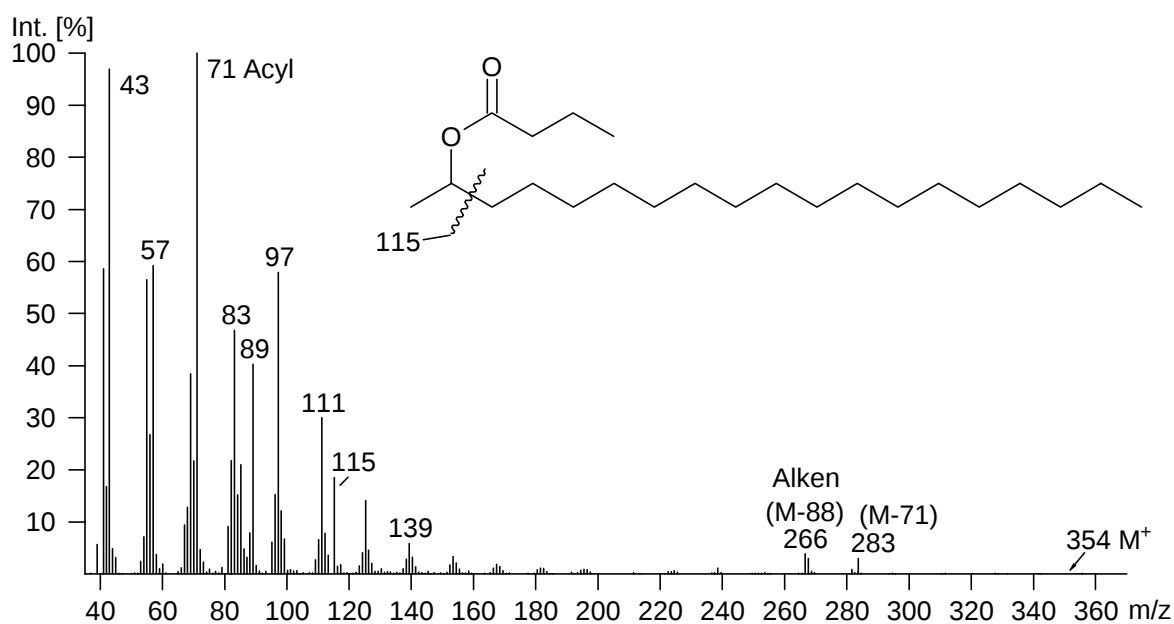


Abbildung 105 Massenspektrum von 1-Methyloctadecylbutyrat (S55).

Identifizierung von 1-Methylalkylvaleriaten

Abbildung 106 zeigt das SIM 103 Chromatogramm, dass die Zuordnung der Valeriate ermöglichte. Chromatogramm **D** verifizierte diese Strukturvorschläge durch die synthetisierten Referenzsubstanzen 1-Methylheptadecylvaleriat (**R9**) und 1-Methyloctadecylvaleriat (**R10**).

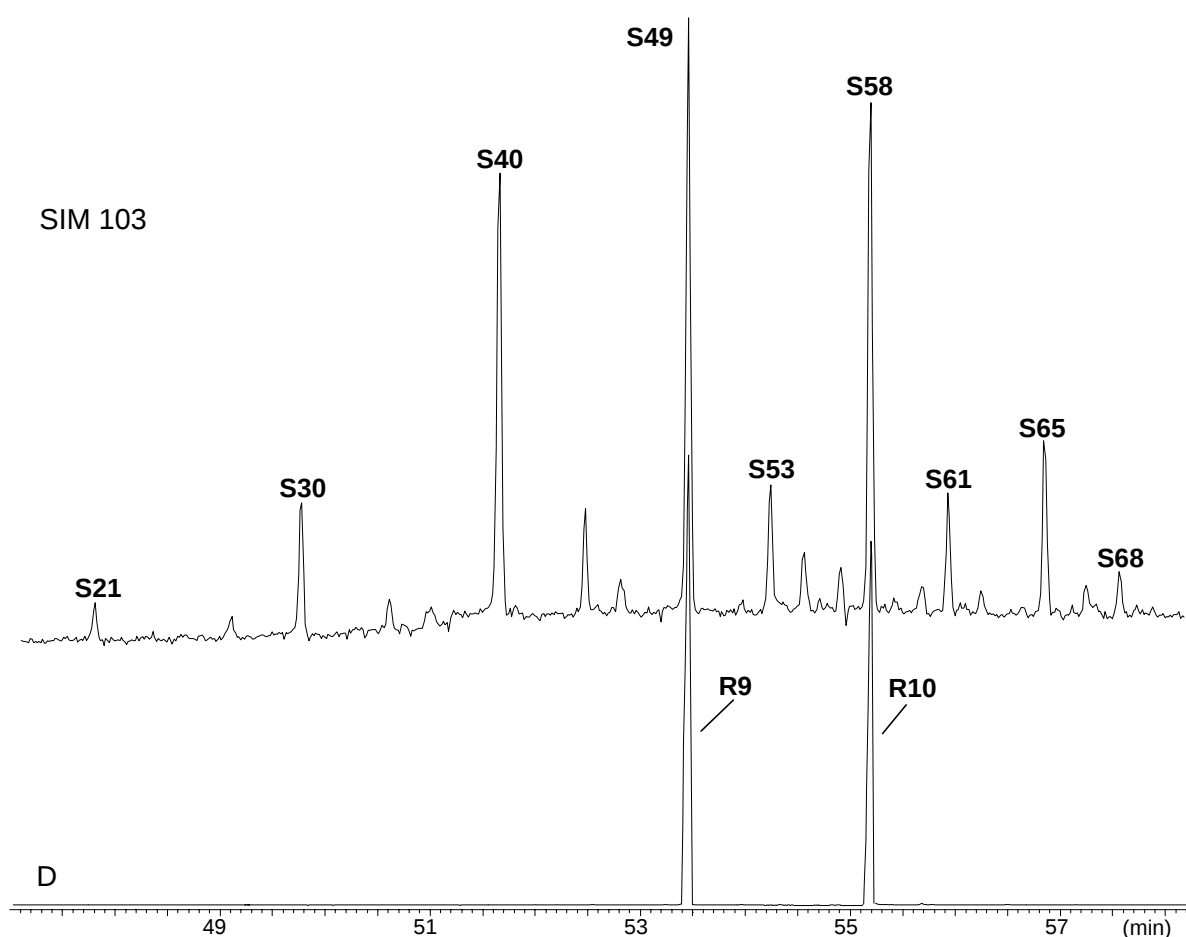


Abbildung 106 Ausschnitt aus dem SIM 103 Chromatogramm der *n*-Pentan-Fraktion des Schwanzdrüsensekrets 2 (oben). Chromatogramm **D** zeigt die Referenzverbindungen 1-Methylheptadecylvaleriat (**R9**) und 1-Methyloctadecylvaleriat (**R10**) (unten).

Massenspektren von 1-Methylalkylvaleriaten

Die Valeriate **S21**, **S30**, **S40**, **S49**, **S53**, **S58**, **S65** und **S68** wiesen alle Ionen mit m/z 85, m/z 103 sowie m/z 129 auf. Dieses Muster war vergleichbar mit oben beschriebenen Massenspektren. M-85 und M-102 ließ auf die molaren Massen der homologen Valeriate schließen.

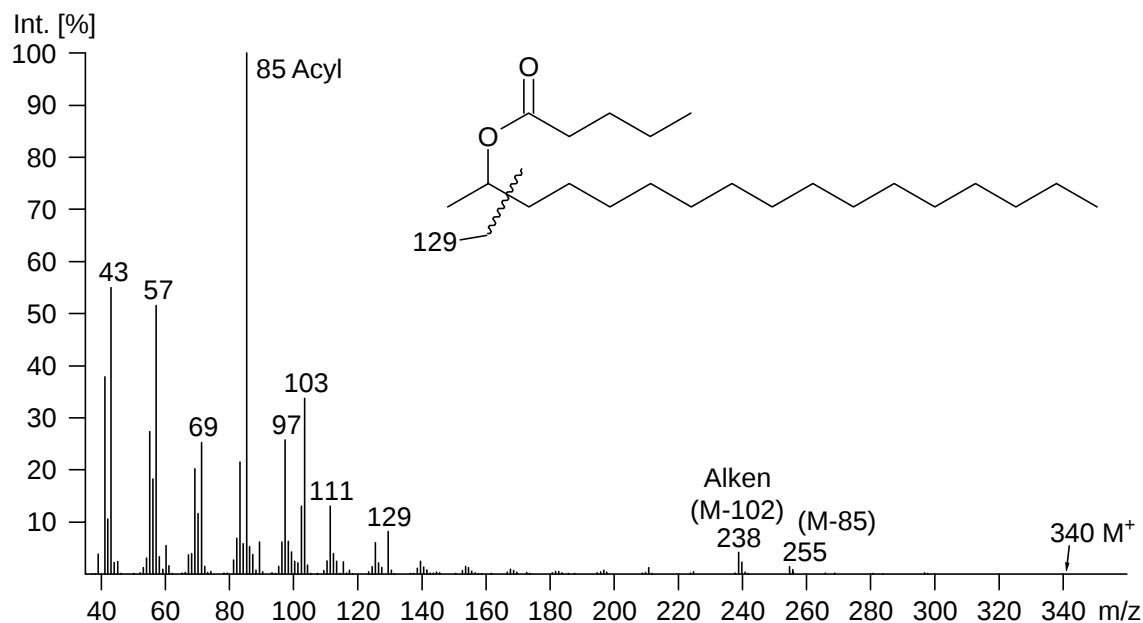


Abbildung 107 Massenspektrum von 1-Methylhexadecylvaleriat (**S40**).

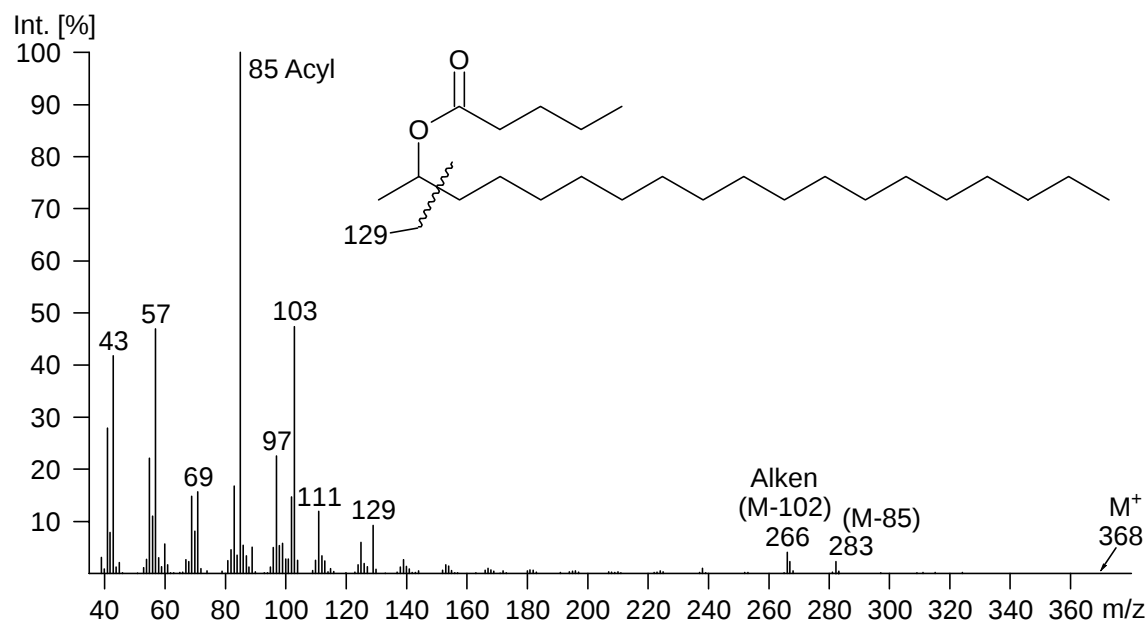


Abbildung 108 Massenspektrum von 1-Methyloctadecylvaleriat (**S58**).

4.7.3 Inhaltsstoffe der 2. Fraktion von Schwanzdrüsensekrete der Schafe

Der methanolische Extrakt wurde mit Diazomethan methyliert und über eine Kieselgeltrennsäule in drei Fraktionen unterschiedlicher Polaritäten fraktioniert. Die 2. Fraktion (Dichlormethan) enthielt eine Reihe von Verbindungen die mittels GC-MS getrennt und analysiert wurden. Die beiden anderen Fraktionen beinhalteten lediglich Kontaminanten aus der Methylierungsreaktion. Am Anfang der Aufarbeitung wurde 12-Hydroxydodecansäure (10 Gew.%) den Sekreten als interner Standard zugesetzt, der in Form seines Methylesters in der 2. Fraktion detektiert werden konnte. Da die Drüsensekrete Hydroxycarbonsäure-Derivate enthielten, hat dieser Standard ähnliche Polarität, chromatographische Eigenschaften und Responsfaktor im MS, was eine gute Voraussetzung zur Quantifizierung der Naturstoffe erwarten ließ. Des weiteren eluierte der Standard einige Minuten vor den zu untersuchenden Verbindungen im Chromatogramm und überlagerte somit keine Substanzen.

Exemplarisch ist das Totalionenstromchromatogramm des Schwanzdrüsensekrets von Mutterschaf 2 in Abbildung 109 dargestellt. Da alle neun Extrakte von verschiedenen Schafen stammten, waren einige Inhaltsstoffe nur bei einigen Tieren zu finden. Die Tabelle 30 zeigt alle identifizierten Verbindungen der neun Extrakte und die dazugehörigen Quantifizierungen der Haupt- und Nebenkompenten. Die Verbindungen mit einem S konnten als Spurenkomponenten ($S < 0.5\%$) nachgewiesen werden. Verbindungen, die mit n.d. (not detected) gekennzeichnet sind, konnten in den Proben nicht gefunden werden. Mit einem * markierte Substanzen werden genauer diskutiert.

2. Fraktion

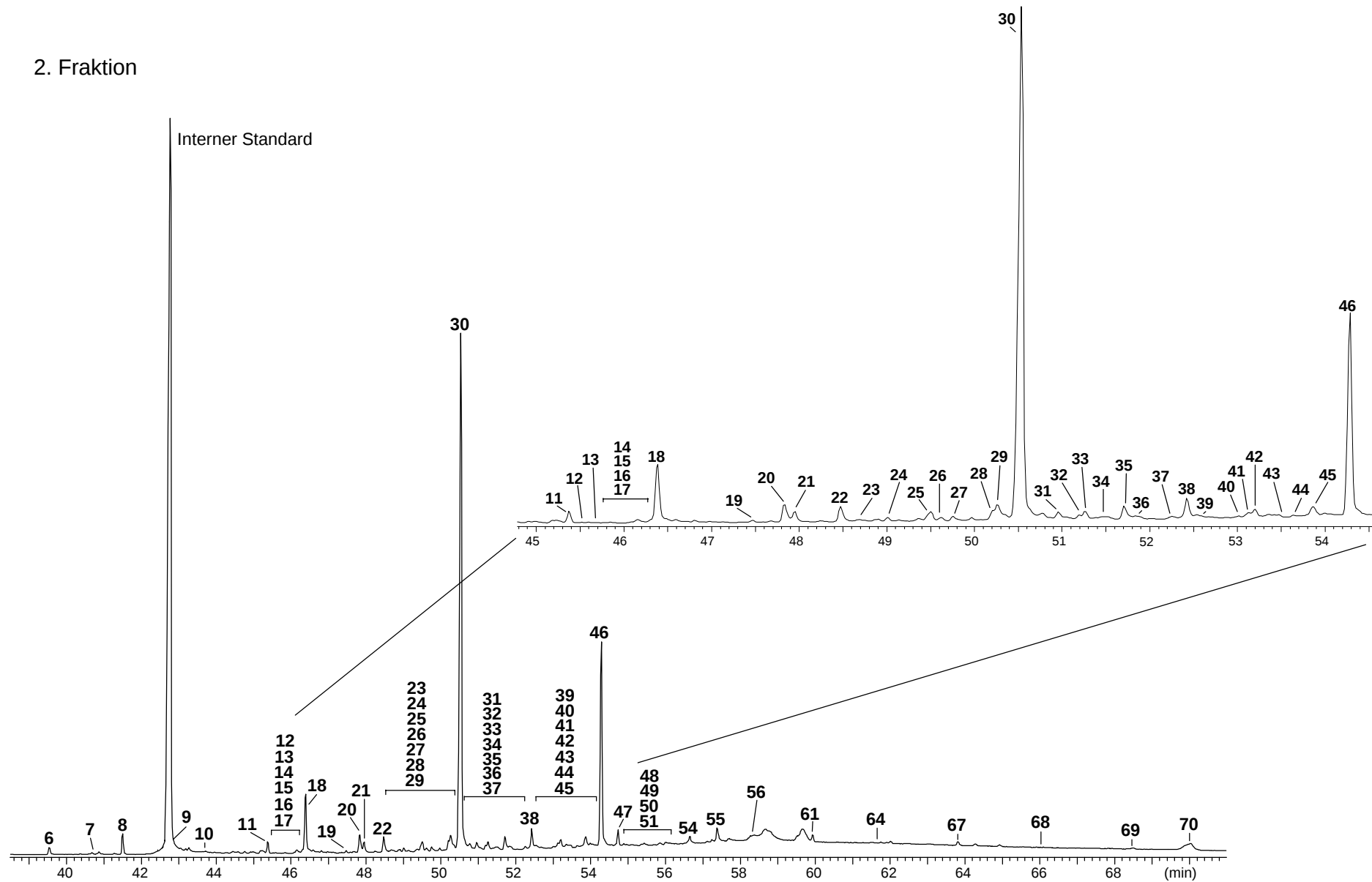


Abbildung 109 Totalionenstromchromatogramm der 2. Fraktion des Schwanzdrüsensekrets von Mutterschaf 2. (DB-1 60 m, Temperaturprogramm: 60°C, 10 min. isotherm, 5°C/min. auf 300°C, 40 min. isotherm).

Nr.	Verbindung	1 47.4 mg	2 49.0 mg	3 47.2 mg	4 49.6 mg	5 42.0 mg	7 47.8 mg	8 46.7 mg	9 55.2 mg	10 32.9 mg
S1	Butandisäuredimethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S2	Pentandisäuredimethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S3	Hexandisäuredimethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S4	Decansäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S5	Laurinsäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S6	5-[5-(1-Hydroxypropyl)-tetrahydrofuran-2-yl]- pentansäuremethylester*	S	S	n.d.	13 µg	n.d.	n.d.	2 µg	37 µg	S
S7	12-Methyltridecansäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S8	Myristinsäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S9	Pentadecansäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S10	5-[5-(1-Hydroxybutyl)-tetrahydrofuran-2-yl]- pentansäuremethylester*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.	S
S11	Palmitinsäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S12	8-[5-(1-Butyl)-tetrahydrofuran-2-yl]- octansäuremethylester*	S	n.d.	S	S	S	n.d.	S	S	S
S13	5-[5-(1-Oxopentyl)-tetrahydrofuran-2-yl]- pentansäuremethylester*	S	n.d.	n.d.	S	n.d.	n.d.	S	59 µg	n.d.
S14	5-[5-(1-Oxopentyl)-tetrahydrofuran-2-yl]- pentansäuremethylester*	S	n.d.	n.d.	S	n.d.	n.d.	S	60 µg	n.d.
S15	2-Hydroxypentadecansäuremethylester*	S	n.d.	n.d.	S	5 µg	S	S	S	S
S16	3-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]- propansäuremethylester*	S	n.d.	S	S	S	n.d.	S	S	S
S17	15-Methylhexadecansäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S18	5-[5-(1-Hydroxypentyl)-tetrahydrofuran-2-yl]- pentansäuremethylester*	155 µg	370 µg	134 µg	189 µg	126 µg	328 µg	176 µg	109 µg	128 µg
S19	Heptadecansäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S20	7-[5-(1-Hexyl)-tetrahydrofuran-2-yl]- heptansäuremethylester*	172 µg	154 µg	S	107 µg	48 µg	154 µg	S	131 µg	S
S21	2-Hydroxyhexadecansäuremethylester*	S	S	S	S	S	S	74 µg	40 µg	S

S22	5-[5-(1-Hydroxyhexyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	29 µg	78 µg	22 µg	S	18 µg	67 µg	29 µg	S	28 µg
S23	16-Methylheptadecansäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S24	Ölsäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S25	Stearinsäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S26	5-[5-(1-Hydroxy-5-methylhexyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	S	76 µg	S	S	13 µg	S	n.d.	n.d.	S
S27	5-[5-(1-Oxoheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	151 µg	S	S	121 µg	27 µg	68 µg	67 µg	774 µg	163 µg
S28	5-[5-(1-Oxoheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	352 µg	S	S	367 µg	24 µg	65 µg	103 µg	774 µg	163 µg
S29	2-Hydroxyheptadecansäuremethylester*	S	n.d.	S	S	S	S	S	S	S
S30	5-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	2022 µg	2820 µg	1374 µg	2177 µg	1406 µg	4839 µg	1296 µg	1790 µg	1399 µg
S31	2-Hydroxyoctadecansäuremethylester*	S	n.d.	S	S	n.d.	n.d.	S	S	n.d.
S32	5-[5-(1-Hydroxy-3-methoxycarbonylpropyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	S	34 µg	S	S	n.d.	S	S	S	S
S33	5-[5-(1-Hydroxy-6-methylheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.	n.d.	S	S	n.d.
S34	Nonadecansäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S35	5-[5-(1-Oxoöctyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.	n.d.	S	n.d.	n.d.
S36	5-[5-(1-Oxoöctyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.	n.d.	S	n.d.	n.d.
S37	7-[5-(1-Octyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-heptansäuremethylester *	n.d.	77 µg	S	S	15 µg	63 µg	S	S	S
S38	5-[5-(1-Hydroxyöctyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	104 µg	154 µg	46 µg	144 µg	43 µg	169 µg	110 µg	170 µg	63 µg
S39	18-Methylnonadecansäuremethylester	n.d.	n.d.	S	n.d.	S	n.d.	S	S	n.d.
S40	5-[5-(1-Hydroxy-4-methoxycarbonylbutyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	S	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	S	n.d.
S41	Eicosansäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S42	5-[5-(1-Hydroxy-7-methyloctyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	n.d.	S	S	n.d.	S	S	n.d.	n.d.	S

S43	5-[5-(1-Oxononyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	50 µg	S	S	29 µg	S	33 µg	8 µg	95 µg	S
S44	5-[5-(1-Oxononyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	135 µg	S	S	58 µg	S	34 µg	12 µg	95 µg	S
S45	5-[5-(1-Hydroxy-6-methyloctyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	125 µg	S	S	S	n.d.	S	S	155 µg	n.d.
S46	5-[5-(1-Hydroxynonyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	580 µg	931 µg	317 µg	429 µg	299 µg	588 µg	509 µg	181 µg	581 µg
S47	5-[5-(1-Hydroxy-5-methoxycarbonylpentyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	S	67 µg	S	39 µg	15 µg	57 µg	S	20 µg	29 µg
S48	Heneicosansäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S49	5-[5-(1-Hydroxydecyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	n.d.	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S50	20-Methylheneicosansäuremethylester	S	S	S	n.d.	S	S	n.d.	n.d.	S
S51	5-[5-(1-Hydroxy-9-methyldecyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	n.d.	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S52	5-[5-(1-Oxoundecyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	10 µg	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.	17 µg	
S53	5-[5-(1-Oxoundecyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	21 µg	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.	51 µg	n.d.
S54	Docosansäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S55	5-[5-(1-Hydroxyundecyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	29 µg	278 µg	n.d.	62 µg	12 µg	100 µg	S	249 µg	S
S56	Tricosansäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S57	5-[5-(1-Oxotridecyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.
S58	5-[5-(1-Oxotridecyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.
S59	22-Methyltricosansäuremethylester	n.d.	S	n.d.	S	S	S	n.d.	S	n.d.
S60	5-[5-(1-Hydroxytridecyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.
S61	Tetracosansäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S62	5-[5-(1-Hydroxy-12-methyltridecyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.

S63	23-Methyltetracosansäuremethylester	n.d.	n.d.	S	S	n.d.	n.d.	S	n.d.	n.d.
S64	Pentacosansäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S65	24-Methylpentacosansäuremethylester	S	n.d.	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.
S66	5-[5-(1-Hydroxypentadecyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.
S67	Hexacosansäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S68	Heptacosansäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S69	Octacosansäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S70	Cholesterolacetat	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Tabelle 30 Inhaltsstoffe der 2. Fraktion des Schwanzdrüsenextraktes von den Mutterschafen.

Neben aliphatischen Fettsäuremethylestern und drei kurzen Dicarbonsäuren **S1**, **S2** sowie **S3**, enthielten die Proben eine Vielzahl bislang nicht beschriebener Verbindungen. Strukturvorschläge für diese Substanzen werden im nachfolgenden Kapitel eingehend diskutiert. Auffällig war die Zusammensetzung der einzelnen Drüsensekrete, die sich in ihrer Zusammensetzung und Konzentration einzelner Komponenten erheblich unterschieden. Die Quantifizierung verdeutlichte die erheblichen Mengen einzelner Hydroxytetrahydrofuransäure-Derivate in den Naturproben. Im Sekret 7 konnten 4.8 mg in 47.8 mg Ausgangsmaterial der Verbindung **S30** ermittelt werden.

4.7.3.1 Massenspektren von 2-Hydroxyalkansäuremethylestern

In den Schwanzdrüsensekreten der Schafe konnten drei homologe 2-Hydroxyalkansäuren bzw. ihre Methylester mit Kettenlängen von C₁₆-C₁₈ nachgewiesen werden. Es handelte sich dabei um die Verbindungen **S21**, **S29** und **S31**. Exemplarisch ist das Massenspektrum von 2-Hydroxyhexadecansäure in Abbildung 110 dargestellt.

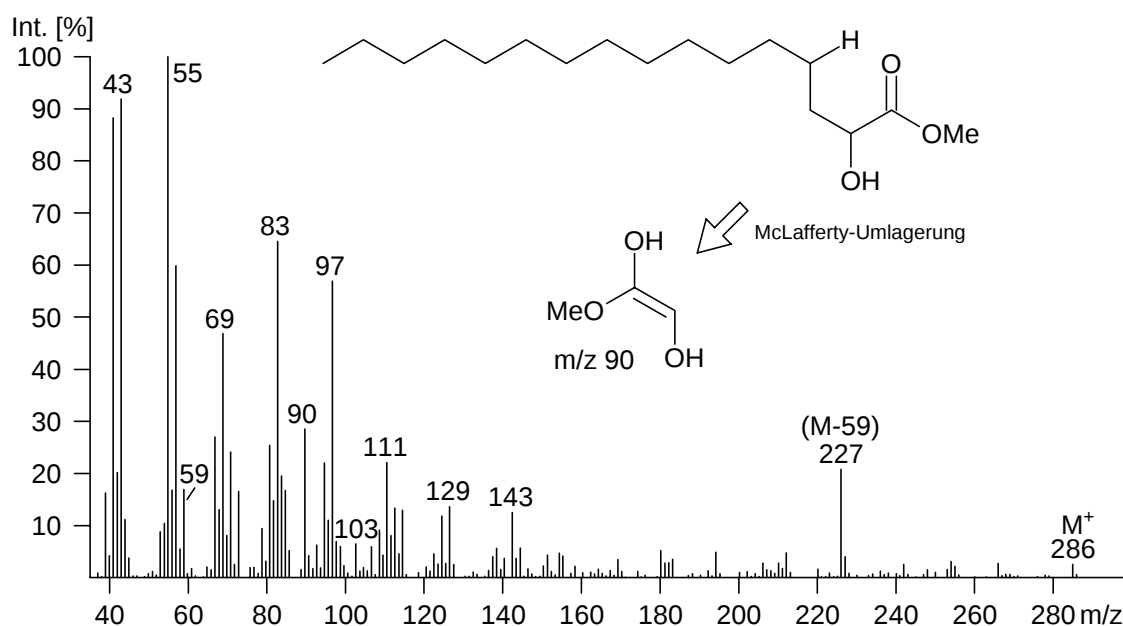


Abbildung 110 Massenspektrum von 2-Hydroxyhexadecansäuremethylester (**S21**).

Während die Molekülionen nur schwache Intensitäten aufwiesen, war das Fragmention M-59 aus der Abspaltung von Methoxycarbonyl deutlich zu erkennen. Charakteristisch für diese Substanzen war zudem die Bildung des McLafferty-Ions m/z 90 und die β -Spaltung zum Fragmention m/z 103.

4.7.3.2 Identifizierung von 5-[5-(1-Hydroxyalkyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylestern

Es gelang, 17 Verbindungen dieser Substanzklasse in den neun verschiedenen Drüsenextrakten nachzuweisen. Der Schwanzdrüsenextrakt 3 enthielt die Komponente **S30/182** in hoher Konzentration, und es konnten mit oben beschriebener Aufarbeitungsmethode etwa 2 mg 5-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester (**S30/182**) rein isoliert werden. Abbildung 111 zeigt das Ergebnis dieser Trennung.

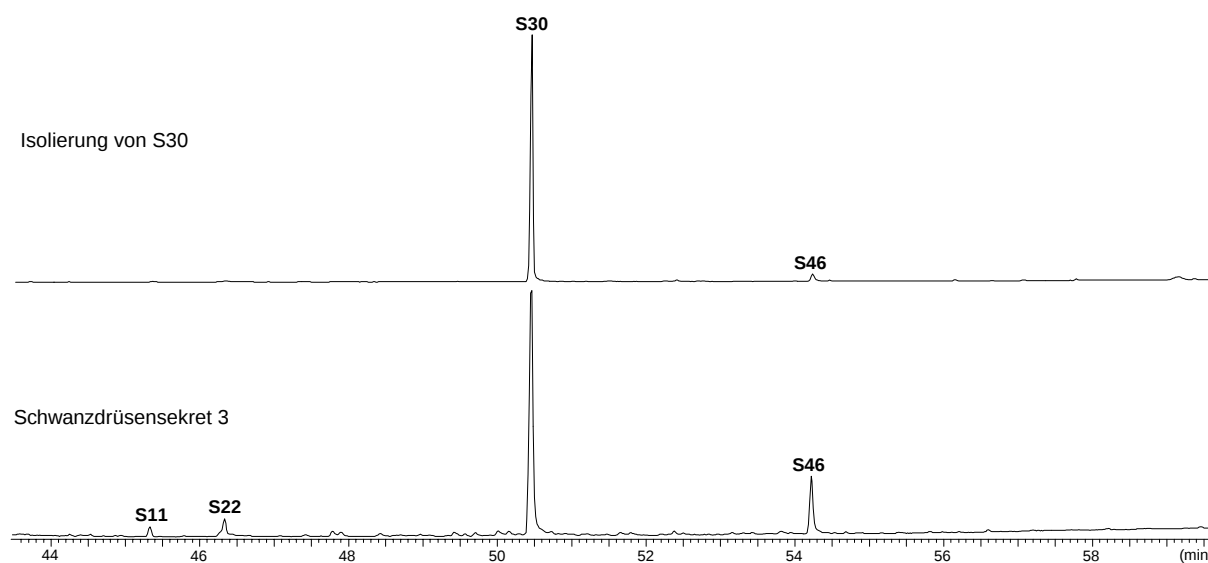


Abbildung 111 Isolierung von 5-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester (**S30/182**) aus dem Schwanzdrüsensekret 3.

Zur Verifizierung des Strukturvorschlags wurden Ergebnisse hochauflösender Massenspektrometrie und einiger Derivate abgebildet. Die NMR-spektroskopischen Daten, sowie Messergebnisse aus literaturverwandten Verbindungen untermauerten die vorgeschlagene Struktur.

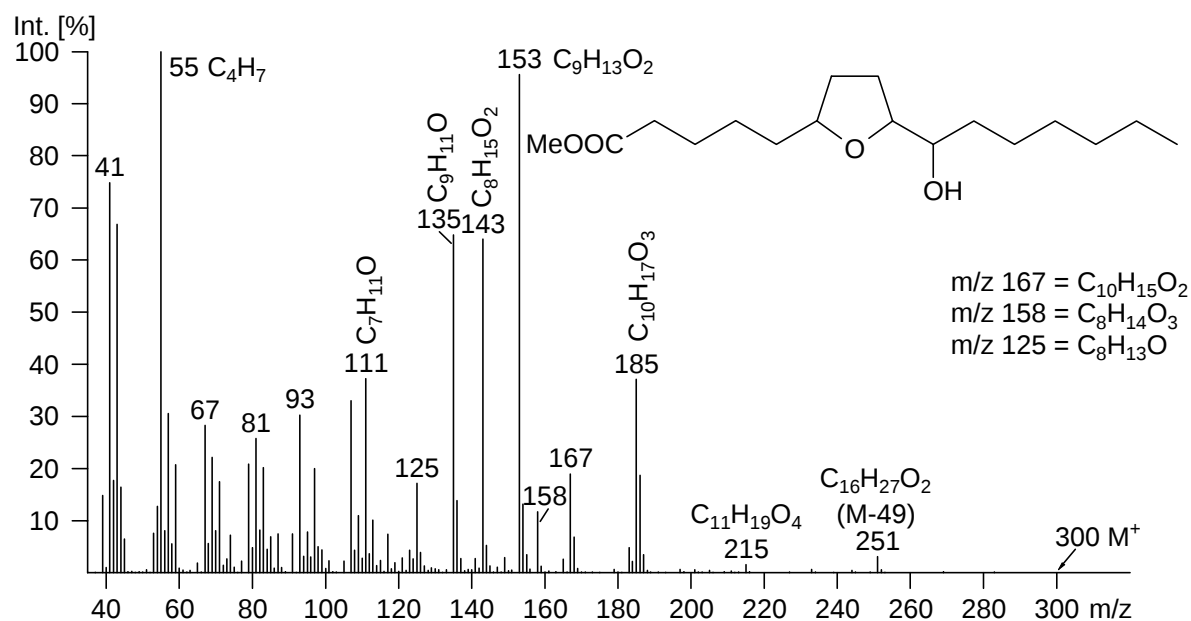


Abbildung 112 Massenspektrum und Ergebnisse aus der HR-MS von 5-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester (**S30/182**).

Das Molekülion war bei allen Verbindungen dieser Substanzklasse nicht zu detektieren. Nur das Fragmention M-49 gab Aufschluss über die Kettenlänge der jeweiligen Komponente. Diese Abspaltung setzte sich aus der Eliminierung von H₂O und des Methoxyrests der Esterfunktion (M-H₂O-MeO⁻) zusammen. Das Fragmentierungsschema des Moleküls wird in Abbildung 113 gezeigt.

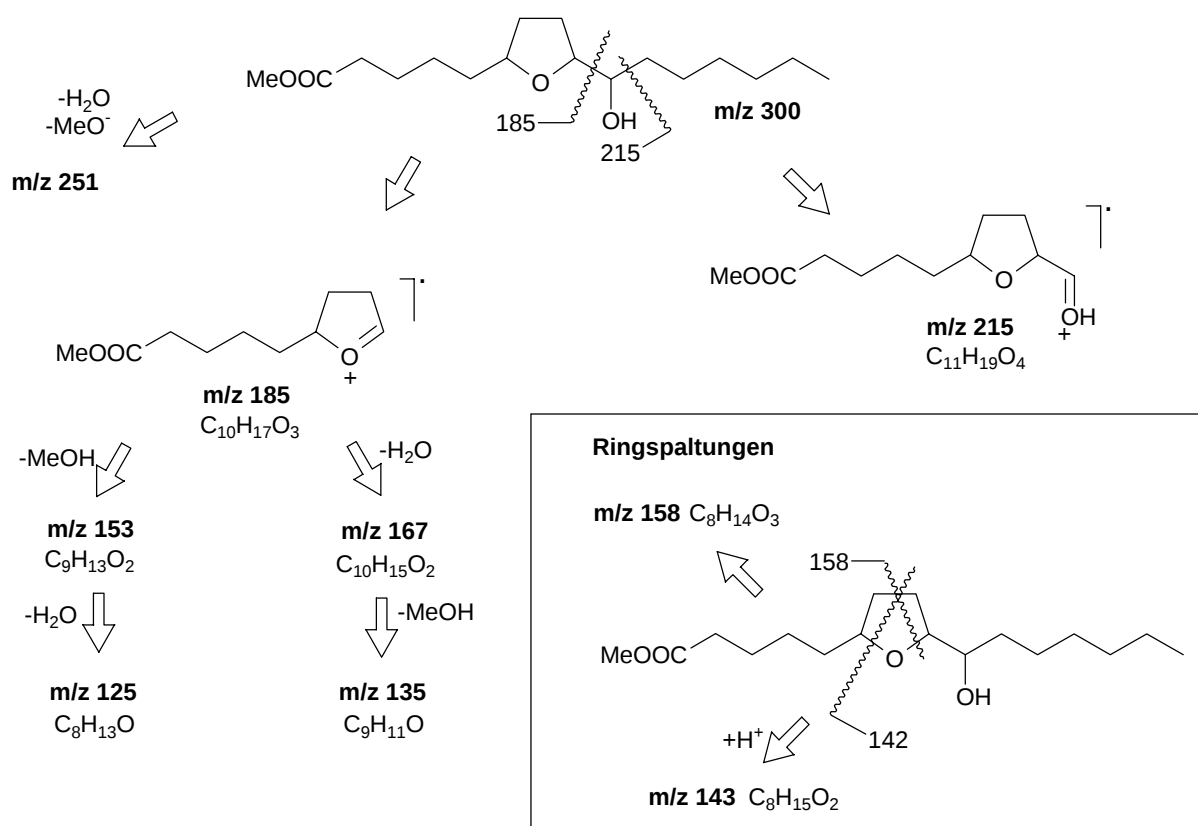


Abbildung 113 Fragmentierungsschema von 5-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester (S30/182).

Während das Ion m/z 215 durch Spaltung hinter der Hydroxy-Gruppe entstand, bildete sich das Hauptfragment m/z 185 ($C_{10}H_{17}O_3$) durch Spaltung neben dem Tetrahydrofuranring. Aus diesem Bruchstück entstanden durch Eliminierung von Wasser und/oder Methanol die Ionen m/z 167, m/z 153, m/z 135 sowie m/z 125. Auch die Fragmentierung auf der „Säureseite“ des Tetrahydrofuranrings würde im vorliegenden Fall m/z 185 liefern, doch stimmte die elementare Zusammensetzung ($C_{11}H_{21}O_2$) nicht mit den experimentellen Daten überein. Charakteristisch waren außerdem Ringspaltungen, die die Ionen m/z 143 und m/z 158 lieferten. Aufgrund des Fragmentions m/z 158 ließen sich Rückschlüsse auf die Kettenlänge des Carbonsäure- bzw. Methylesterrests am Tetrahydrofuranring anstellen. Im hier beschriebenen Fall handelte es sich um eine Pentansäure bzw. einen Pentansäuremethylester.

In der Literatur war diese Fragmentierung beschrieben²⁰⁷ und belegt die bereits durch Massenspektrometrie gewonnenen Erkenntnisse der Zusammensetzung von m/z 158. Abbildung 114 zeigt die Fragmentierung von 8-(5-Methoxycarbonylmethyltetrahydrofuran-2-yl)-octansäuremethylester (**183**). Statt des Pentansäurerests hatte diese Verbindung einen Essigsäuresubstituenten (bzw. Octansäure-Rest), der durch die Spaltung des

Tetrahydrofuranrings an beschriebener Position m/z 116 lieferte (das Komplement, m/z 200, wurde nicht detektiert), dass die Masse von drei Methylenheiten weniger aufwies.

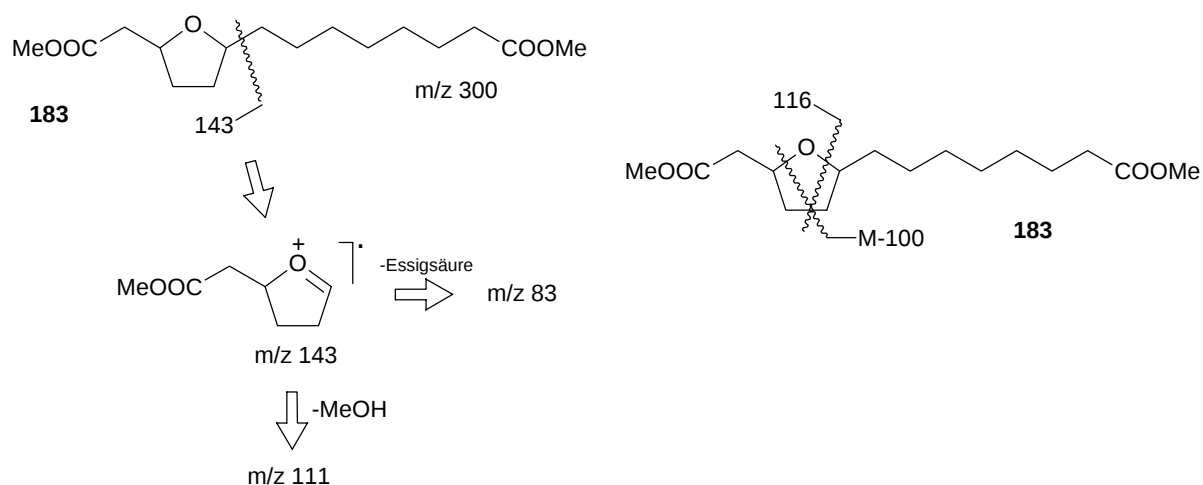


Abbildung 114 Fragmentierungsschema von 8-(5-Methoxycarbonylmethyltetrahydrofuran-2-yl)-octansäuremethylester (**183**) nach Rau²⁰⁷.

Derivatisierungsreaktionen mit der isolierten Verbindung 182

Zur zusätzlichen Absicherung der Struktur und des Strukturvorschlags für die Fragmentierung im Massenspektrometer, konnte das Drüsensekret 3 im Ultraschallbad zuerst mit *n*-Pentan und anschließend mit Methanol- d_4 in leicht modifizierter Aufarbeitungsmethode dargestellt werden.

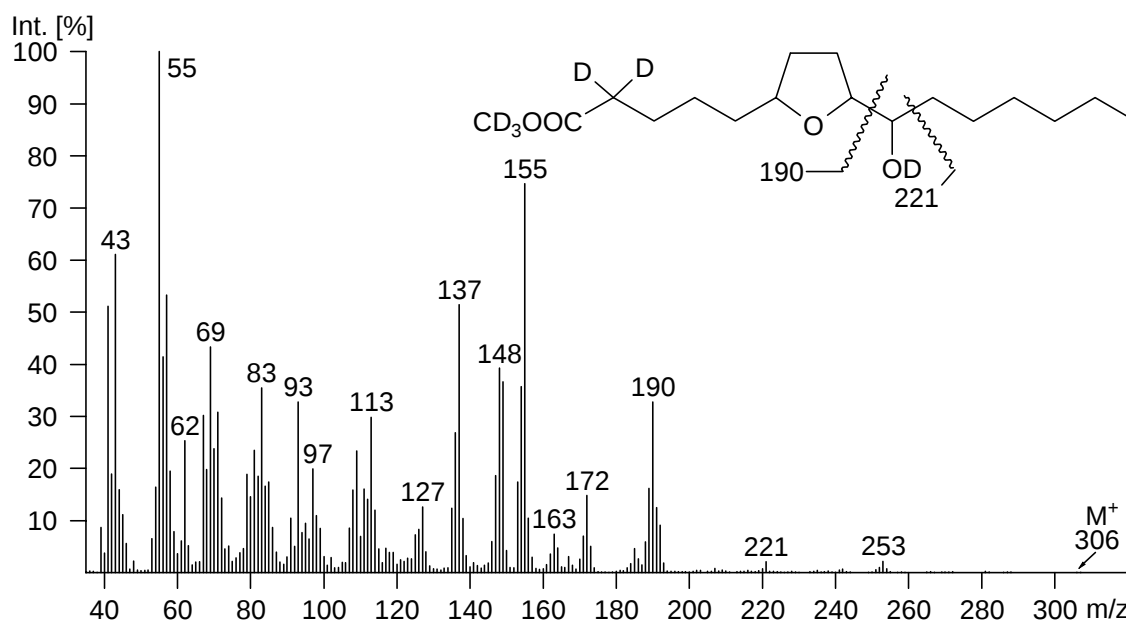


Abbildung 115 Massenspektrum von 2,2-Dideutero-5-[5-(O-deuteroheptan-1-ol)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuretrideuteromethylester (**184**).

Alle sechs aciden Protonen des Moleküls wurden gegen Deuterium ausgetauscht, wodurch die molare Masse sich um 6 Gewichteinheiten erhöhte. Durch Eliminierung von D₂O und Methoxy-d₃ resultierte m/z 253. Die Masse des Hauptfragments erhöhte sich demzufolge von m/z 185 auf m/z 190. Die daraus entstehenden Fragmentationen wiesen alle höhere Massen, als ihre nicht deuterierten Analoga auf (m/z 172/167, m/z 163/158, m/z 155/153, m/z 148/143, m/z 137/135, m/z 127/125, u.a.). Die Entstehung von m/z 143 im undeuterierten Produkt konnte mit dieser Methode zumindest erklärt werden. Da das analoge Fragmentation mit m/z 148 eine um 5 g/mol höhere Masse aufwies, mußte es aus einer Ringspaltung hervorgehen und den Methylester-Substituenten beinhalten.

Das Massenspektrum der 5-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäure (**184**) ist in Abbildung 116 dargestellt. Im Gegensatz zur Aufarbeitung der Sekrete mit Methanol, das zur Veresterung der Carbonsäure-Seite führte, konnten durch Aufarbeitung mit Dichlormethan die freien Carbonsäuren erhalten werden. Das Massenspektrum lieferte alle zu erwartenden Fragmentationen. Statt m/z 158 war m/z 144 für die Ringspaltung signifikant. Auch die Masse des Hauptfragments mit m/z 171 war um 14 Masseneinheiten niedriger als bei den entsprechenden Methylestern.

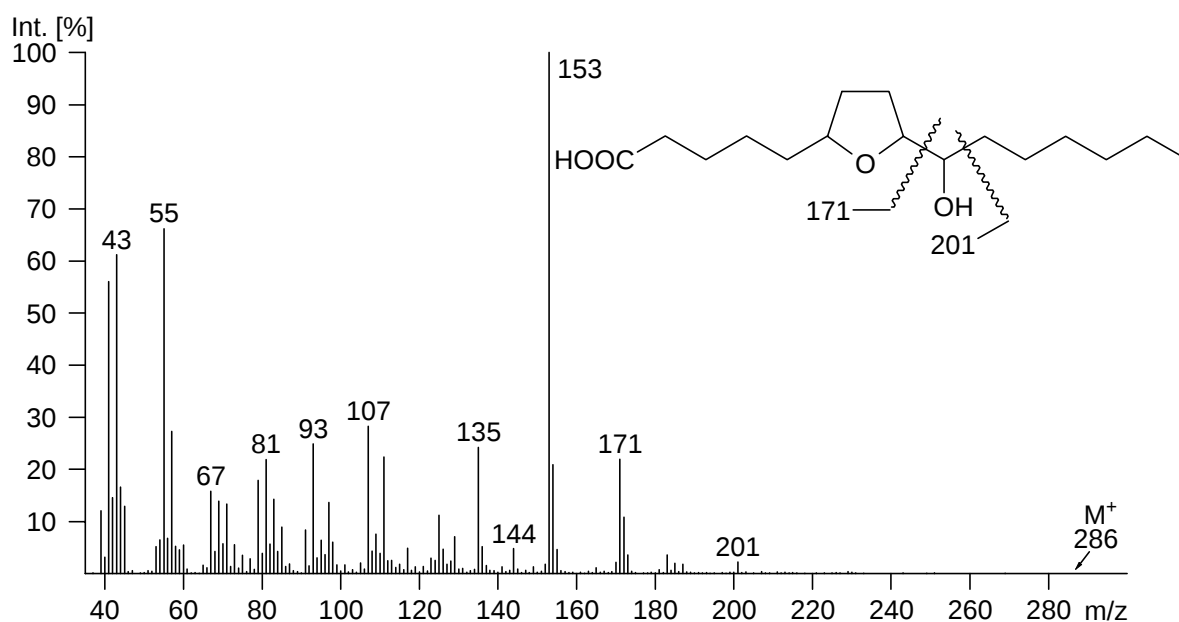


Abbildung 116 Massenspektrum von 5-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäure (**184**).

Eine Acetylierung der Sekrete führte dagegen zu keinen neuen Erkenntnissen über die Struktur, da die charakteristischen Bruchstücke der Grundstruktur aus den Fragmentationen m/z 185 bzw.

m/z 171 resultierten und durch die Derivatisierung keiner Veränderung unterlagen. Die Eliminierung von Wasser konnte allerdings nicht mehr stattfinden, wurde aber durch die Abspaltung von Essigsäure ersetzt, das ein Ion m/z 282 lieferte.

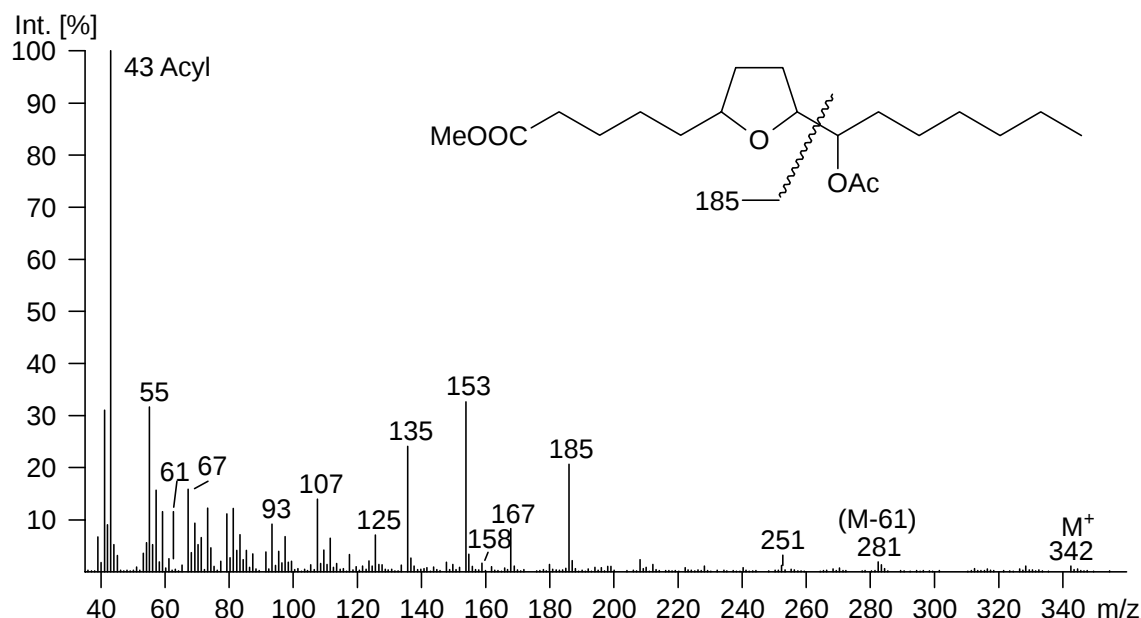


Abbildung 117 Massenspektrum von 5-[5-(1-Acetoxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester (**186**).

Dieses Massenspektrum ist bei Ito *et al.* auszugsweise beschrieben, der die Verbindung aus dem Wollfett von Schafen isolierte bzw. derivatisierte²³⁵.

NMR-spektroskopische Untersuchungen von 5-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester (**S30/182**)

Durch die Isolierung von **S30/182** gelang die Strukturaufklärung der Verbindung. Anhand von NOE-Messungen konnten Aussagen über die relative Konfiguration getroffen werden. Zudem waren bereits strukturverwandte Substanzen eingehender untersucht worden. Aufgrund größerer Substanzmengen konnte Ito *et al.* gezielte Reaktionen zur Aufklärung der absoluten Konfiguration anstellen²³⁵. Abbildung 118 beschreibt einen Ausschnitt aus der ¹H¹³C-COSY-Messung des 5-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester (**S30/182**).

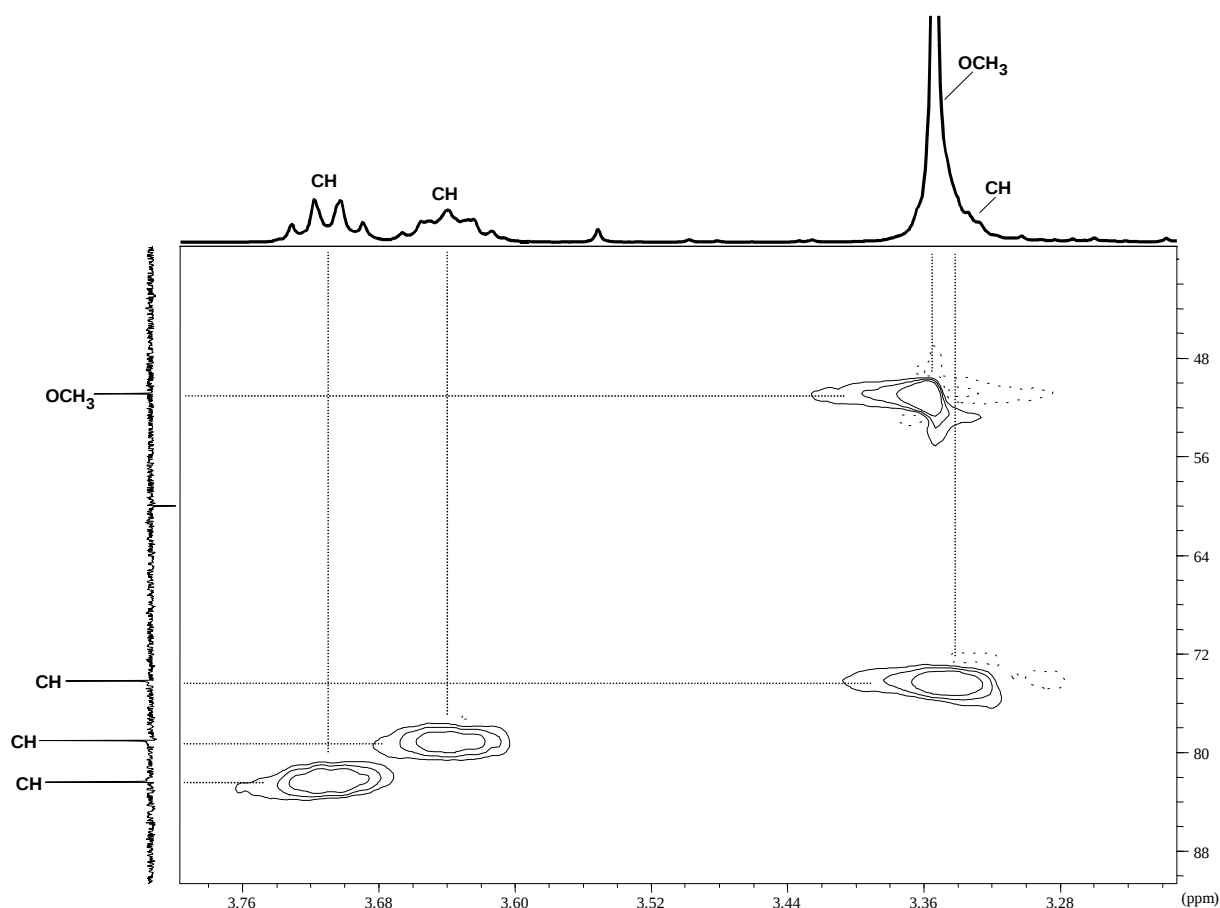
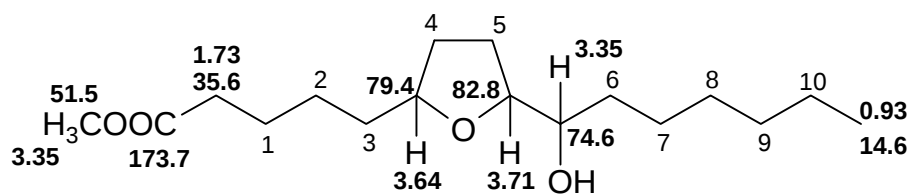


Abbildung 118 Ausschnitt aus dem $^1\text{H}^{13}\text{C}$ -COSY des 5-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylesters (**S30/182**).

Es konnten eindeutig drei Methin-Gruppen im ^{13}C -DEPT-Spektrum bei 82.76, 79.40 und 74.56 ppm identifiziert werden, die mit den entsprechenden Protonen im ^1H -Spektrum bei 3.75, 3.64 sowie 3.35 ppm koppelten. Letzteres wurde im ^1H -NMR-Spektrum vom Singulett der Methylgruppe der Esterfunktion überdeckt. Durch 2D-NMR-Spektroskopie ($^1\text{H}^1\text{H}$ -COSY bzw. $^1\text{H}^{13}\text{C}$ -COSY) konnte dieses Signal aber eindeutig zugeordnet werden (s.o.). Abbildung 119 zeigt alle chemischen Verschiebungen für die Verbindung **S30/182**. Die genaue Zuordnung der Methylen-Signale 1-10 im ^{13}C -NMR- und ^1H -NMR-Spektrum wurde nicht vorgenommen. Das Gesamtintegral im ^1H -Spektrum über diesen Bereich entsprach 20 Protonen. $^1\text{H}^1\text{H}$ -COSY-Messungen zeigten, dass die Methylengruppen 3, 4, 5 sowie 6 diastereotrop waren.



Methylen-Gruppen 1-10 = 1.65-1.15 ppm bzw. 34.0-23.0 ppm

Abbildung 119 Zuordnung der NMR-Daten für die Verbindung **182**.

Abbildung 120 bestätigte die oben dargestellte Zuordnung der NMR-Signale für 5-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester (**182**) aufgrund des Vergleichs mit Literaturdaten. Fujimoto *et al.* gelang es dabei, ein Acetogenin-Derivat **187**, daß zwei Tetrahydrofuranringe enthielt, mittels NMR-spektroskopischer Methoden und synthetischer Modellverbindungen **188** und **189** aufzuklären²³⁹.

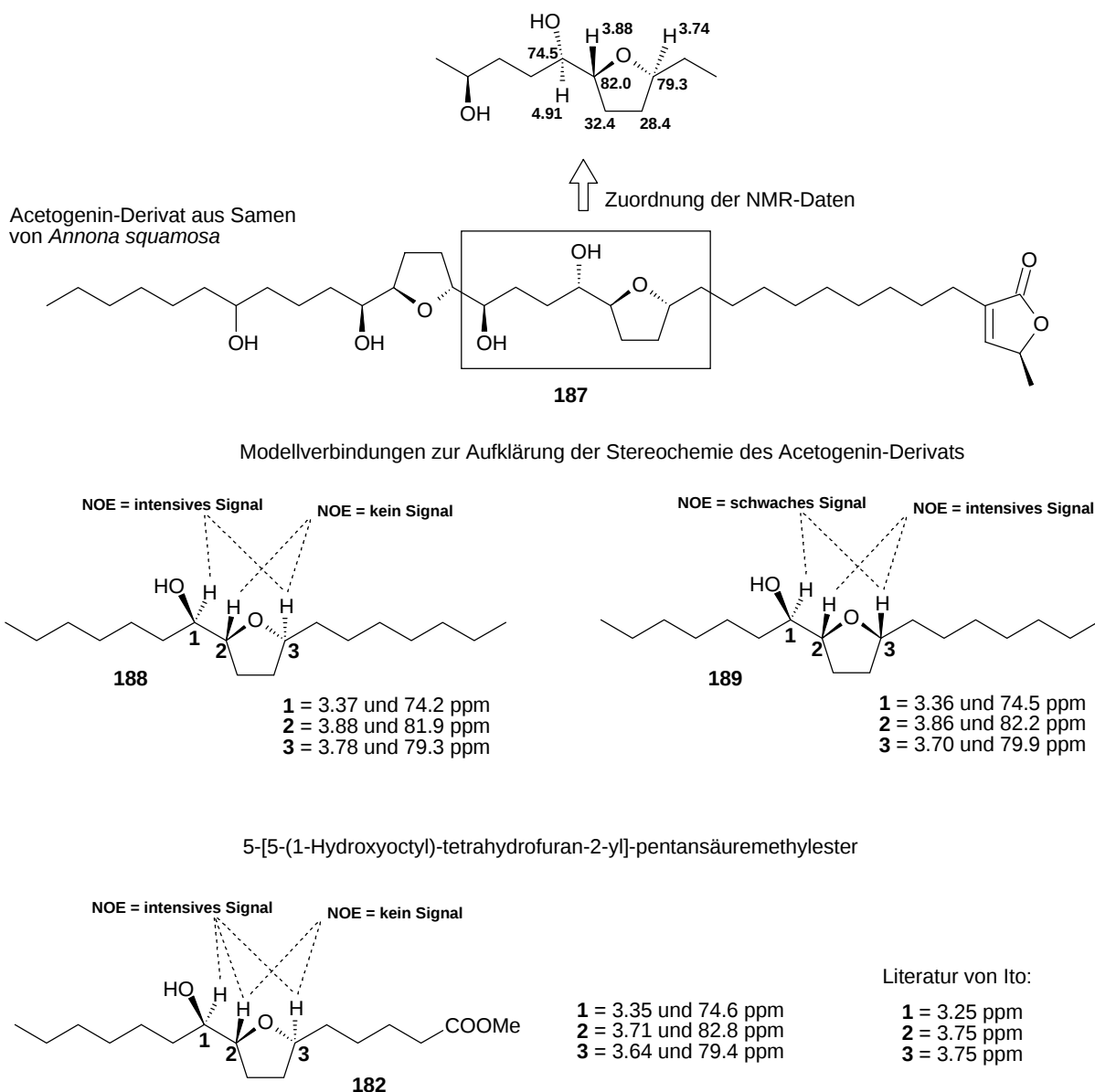


Abbildung 120 Vergleich der NMR-Daten mit Ergebnissen aus der Literatur^{235,239}.

Des weiteren konnten die Autoren durch NOE-Messungen die relative Konfiguration der Modellverbindungen bestimmen. Der Vergleich mit diesen Messergebnissen bestätigte die relative Struktur von **182**. Zur Bestimmung der absoluten Konfiguration der Verbindung ist allerdings eine stereoselektive Synthese notwendig.

Aufgrund der hier durch chromatografische Verfahren isolierten Substanzmenge von **182** von ca. 2 mg konnten die nach Ito durchgeführten Derivatisierungen zur Aufklärung der absoluten Konfiguration nicht durchgeführt werden. Der für 5-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester (**S30**) ermittelte optische Drehwert von $[\alpha]_D = + 8.9$ ($c = 1.0$ in *n*-Hexan) und $[\alpha]_D = + 10.5$ ($c = 1.0$ in C_6D_6) stimmte mit den Messwerten von Ito *et al.* überein.

4.7.3.3 Identifizierung von 5-[5-(1-Oxoalkyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylestern

Die Verbindungen **S27/190** und **S28/191** eluierten von einer Trennsäule mit der unpolaren DB-1-Phase ca. 1 Minute vor dem 5-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester (s. Abbildung 121) und lieferten nahezu identische Massenspektren mit Molmassen von $M^+ = 298$ g/mol. Da die Trennung an einer polaren FFAP-Kapillarsäule ein ähnliches Retentionsverhalten zeigte, konnten diese Komponenten z.B. keine Strukturverwandten von **S30/182** mit Unsättigungen in den Ketten sein, denn die ungesättigten Verbindungen würden voraussichtlich später als **S30/182** von dieser Phase eluieren. Außerdem gelang es nicht, DMDS-Derivate von **S27/190** bzw. **S28/191** darzustellen.

Die zuvor isolierte Verbindung **S30/182** wurde daraufhin mit PDC oxidiert und lieferte eine Verbindung mit gleichem Massenspektrum und Retentionszeit wie **S28/191** (Chromatogramm A, Mitte). Ein zusätzlicher Beweis wurde durch sauer katalysierte Keto-Enol-Äquibrierung mit Toluolsulfonsäure und dem zuvor derivatisierten Extrakt A erbracht. Es entstand die Verbindung **S27/190** (Chromatogramm B, unten). Die Verbindungen **S27/190** und **S28/191** waren somit diastereomere 5-[5-(1-Oxoheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester. Abbildung 121 zeigt zudem den Vergleich mit dem Naturextrakt 9 aus der Schwanzdrüse von *Ovis aries*.

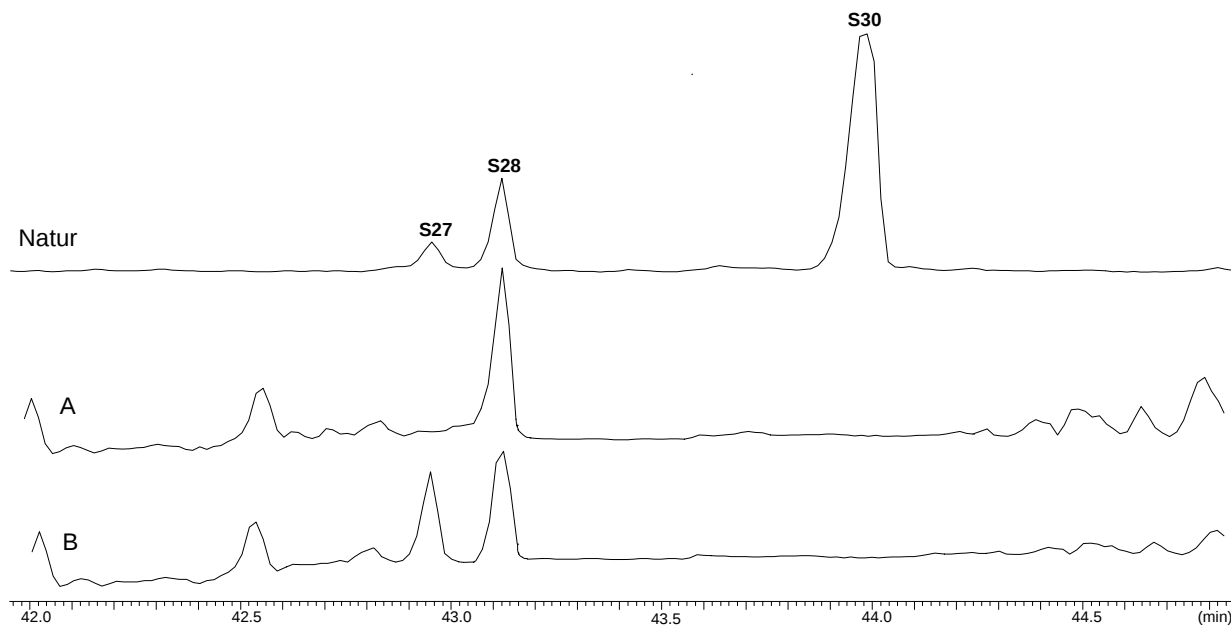


Abbildung 121 Ausschnitt aus dem Chromatogramm des Schwanzdrüsensekrets 9 (oben). **A)** Oxidation von **S30** mit Pyridiniumdichromat. **B)** Sauer katalysierte Keto-Enol-Äquibrierung von **S28** (DB-1 60 m, Temperaturprogramm: 60°C, 10 min. isotherm, 5°C/min. auf 300°C, 40 min. isotherm).

Das Massenspektrum von **S28/191** ist in Abbildung 122 dargestellt. Mit Ausnahme von $M^+ = 298$ bzw. m/z 249 (M-49) war das Massenspektrum dem der Hydroxytetrahydrofuransäuren sehr ähnlich.

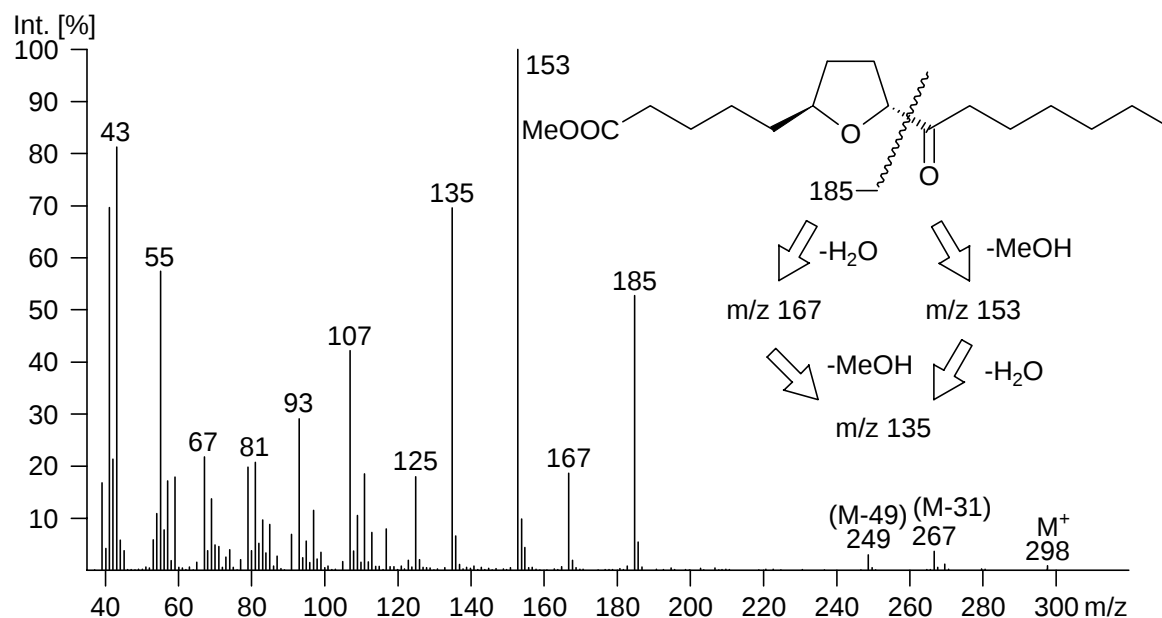


Abbildung 122 Massenspektrum der Verbindung **S28/191**.

In allen untersuchten Drüsenextrakten konnten weitere fünf homologe Diastereomerenpaare von 5-[5-(1-Oxoalkyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester **S13** und **S14**, **S35** und **S36**, **S43** und **S44**, **S52** und **S53**, **S57** und **S58** identifiziert werden.

4.7.3.4 Identifizierung von 5-[5-(1-Hydroxy- ω -methoxycarbonylalkyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylestern

Es konnten insgesamt drei Homologe **S32**, **S40** sowie **S47** einer bislang unbekannten Naturstoffklasse detektiert werden. Die Massenspektren wiesen große Ähnlichkeiten mit denen der 5-[5-(1-Hydroxyalkyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester auf. Es trat dabei ein Fragmentation auf, daß durch den Bruch **X** in Abbildung 123 beschrieben werden könnte.

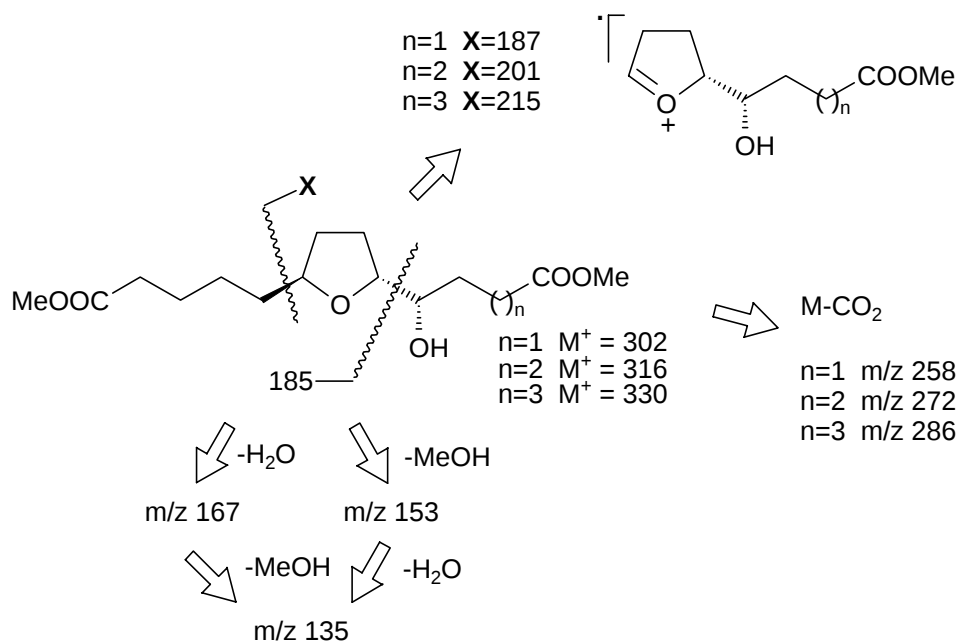


Abbildung 123 Zerfallsschema für Substanzen mit den vorgeschlagenen Strukturen **S32**, **S40**, **S47**.

Weitere charakteristische Fragmentationen $m/z \ 185$, $m/z \ 167$, $m/z \ 153$ und $m/z \ 135$ entsprachen den oben bereits beschriebenen Ionen im Massenspektrum der Hydroxyalkyltetrahydrofuransäuremethylester. Unglücklicherweise lagen diese Verbindungen nur in sehr geringen Konzentrationen in den Naturextrakten vor, sodass hochaufgelöste Massenspektren nicht erhalten werden und die Isolierung für NMR-spektroskopische Untersuchungen nicht gelingen konnten.

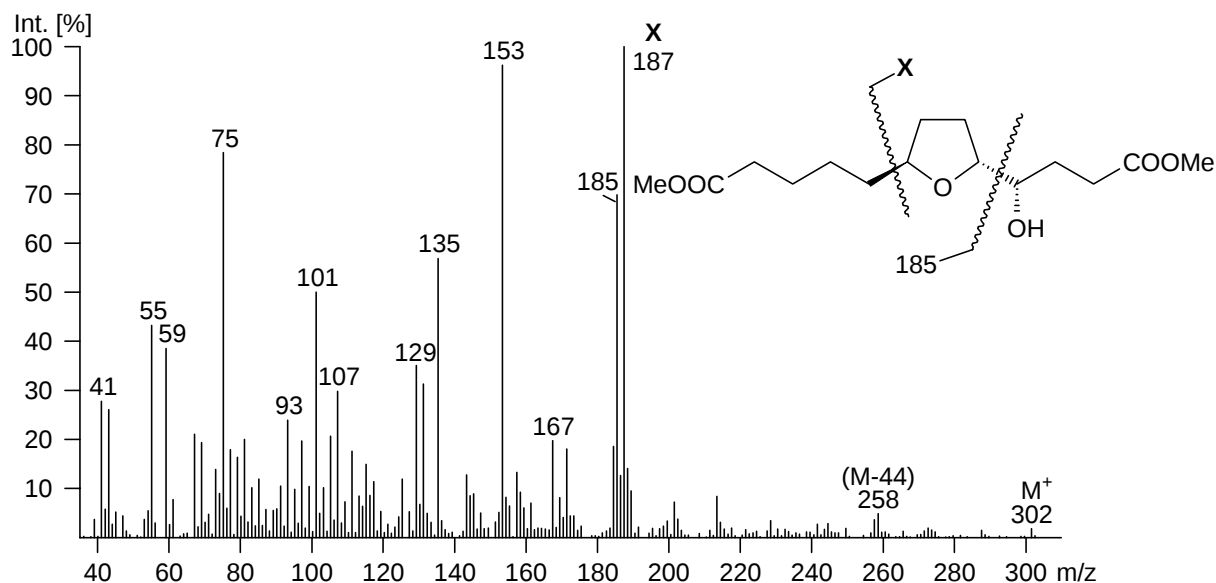


Abbildung 124 Massenspektrum der Verbindung S32.

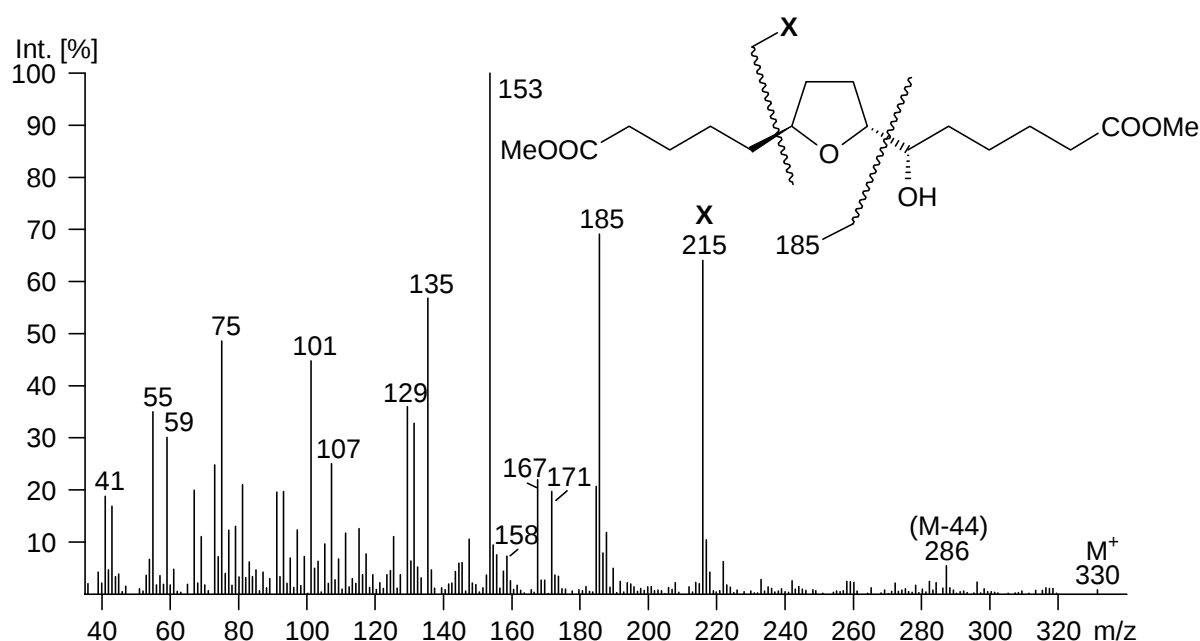


Abbildung 125 Massenspektrum der Verbindung S47.

4.7.3.5 Identifizierung von 3-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-propansäuremethylestern

Ein Strukturvorschlag für die Verbindung S16 ergab sich aus den bereits oben dargestellten charakteristischen Zerfallsmustern für 5-[5-(1-Hydroxyalkyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester. Das Hauptfragment m/z 157 war 28 Massen leichter als das vergleichbare Fragmentation m/z 185. Zusammen mit der signifikanten Fragmentierung durch

Abbildung 126 Fragmentierungsschema von 3-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-propansäuremethylester **S16**.

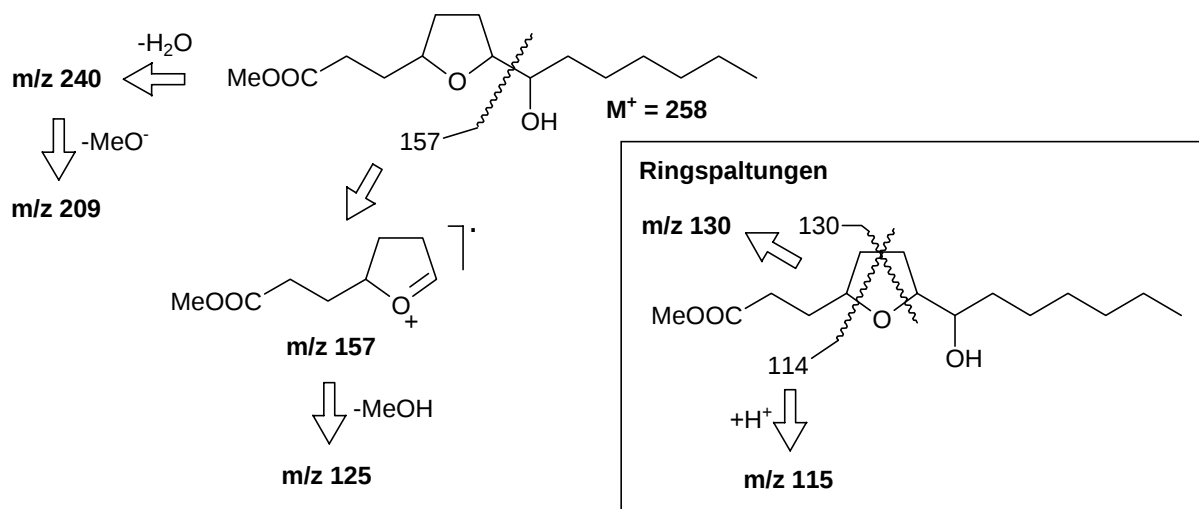


Abbildung 126 Fragmentierungsschema von 3-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-propansäuremethylester **S16**.

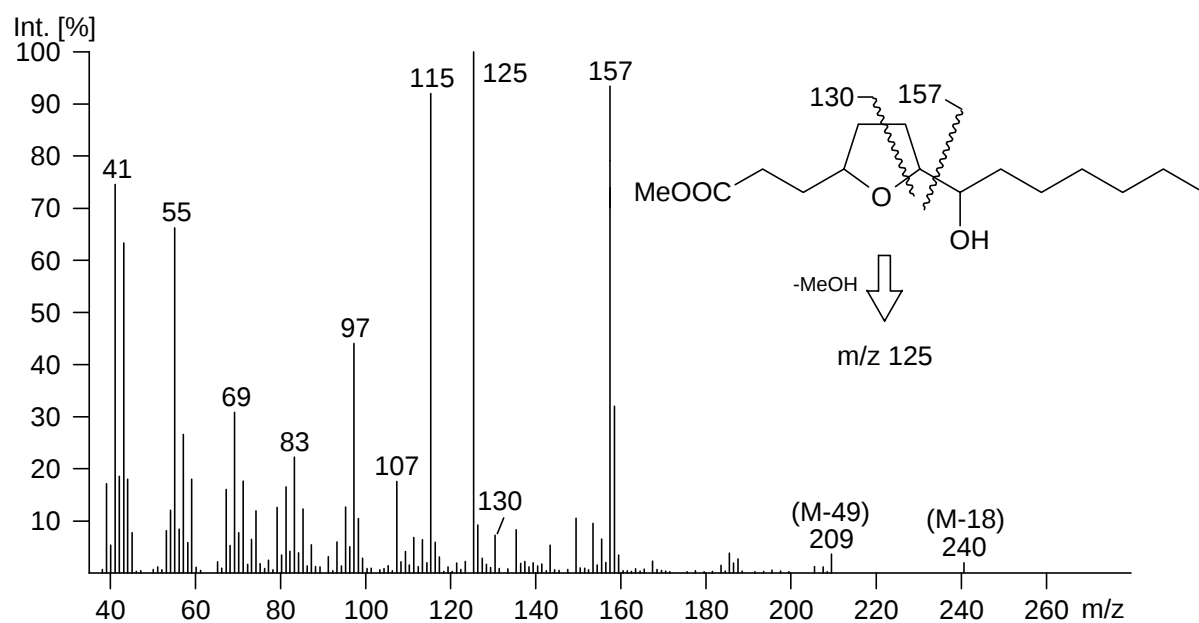


Abbildung 127 Massenspektrum des Strukturvorschlags **S16**.

4.7.3.6 Weitere Verbindungen im Schwanzdrüsenextrakt der Schafe

Die Verbindungen **S12**, **S20** sowie **S37** konnten in einigen Schwanzdrüsenextrakten nachgewiesen werden. Lediglich für **S20** konnten dabei Ergebnisse aus HR-MS-Messungen für die Hauptfragmente präsentiert werden, da die Komponenten nur in äußerst geringen Konzentrationen in den Extrakten vorlagen. In den nachfolgenden drei Massenspektren werden diese Verbindungen gezeigt und Strukturvorschläge unterbreitet. Eine Anreicherung bzw. Isolierung durch chromatografische Verfahren gelang nicht.

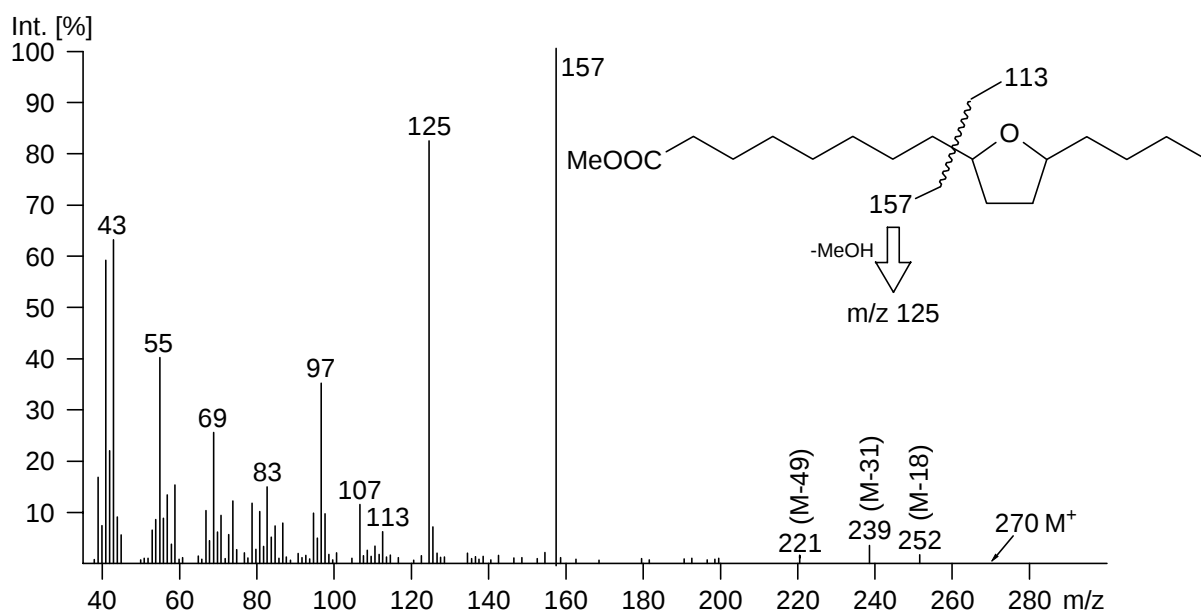


Abbildung 128 Massenspektrum des Strukturvorschlags **S12**.

Der Strukturvorschlag 8-[5-(1-Butyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-octansäuremethylester (**S12**) könnte das Massenspektrum in Abbildung 128 erklären. Ergebnisse aus HR-MS-Messungen für Verbindung **S20** in Abbildung 129 erhärteten obigen Strukturvorschlag, denn Signale für die Hauptfragmente waren um 14 Massen verschoben. Auffällig bei den Substanzen **S20** und **S37** war die ungerade Kohlenstoffanzahl mit C₁₇ sowie C₁₉. Wahrscheinlich waren diese Verbindungen Decarboxylierungsprodukte einer C₁₈-Tetrahydrofurandicarbonsäure bzw. C₂₀-Tetrahydro-furandicarbonsäure.

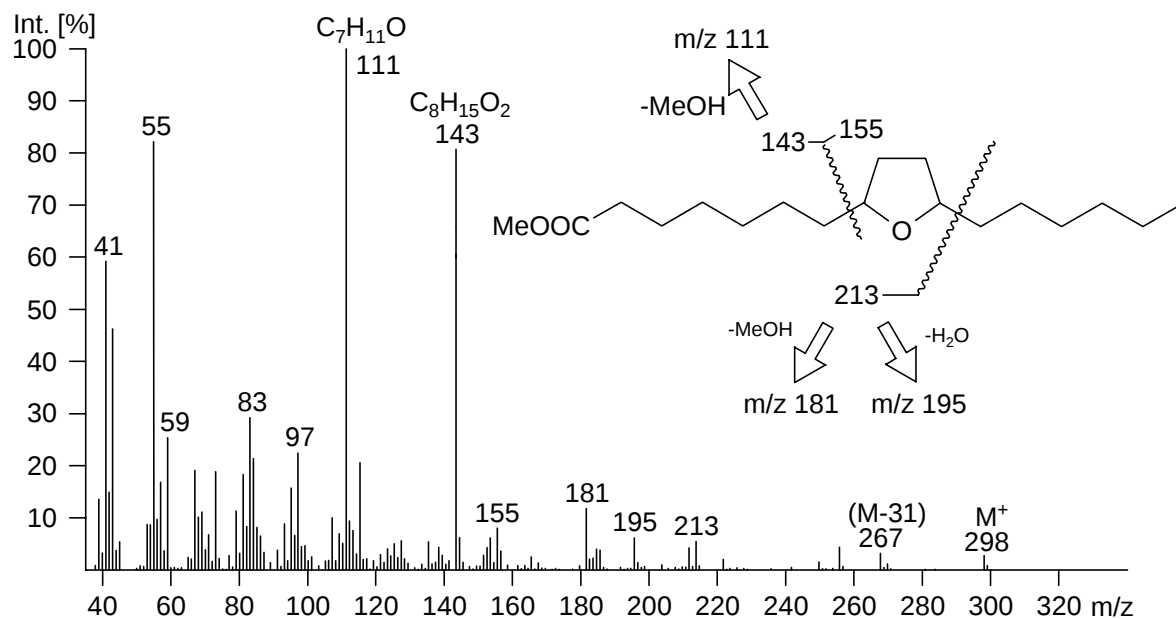


Abbildung 129 Massenspektrum und Ergebnisse aus der HR-MS der Hauptfragmente von Verbindung **S20**.

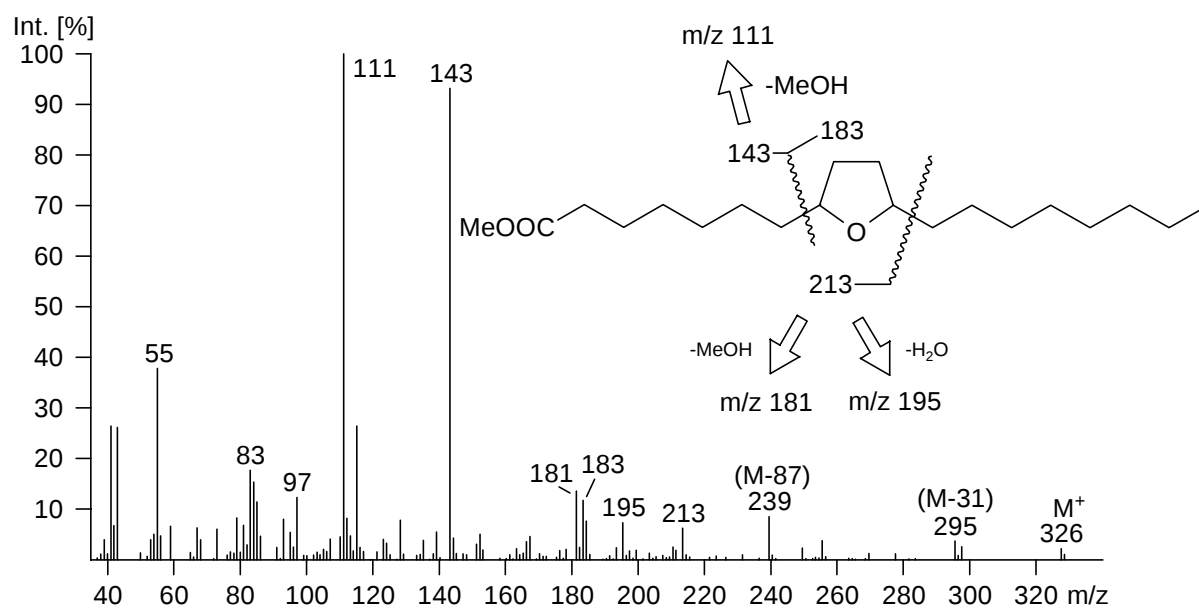


Abbildung 130 Massenspektrum des Strukturvorschlags **S37**.

Die Massenspektren der 7-[5-(1-Alkyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-heptansäuremethylester charakterisierte neben dem in der Grafik angegebenen Zerfall von $M^+ - 87$, die Fragmentationen m/z 239 und m/z 211. Es stellte das Gegenion der typischen α -Spaltung von Methylestern dar.

4.7.4 Identifizierung flüchtiger Verbindungen aus Fruchtwasser der Schafe

Im nachfolgenden Abschnitt werden die Ergebnisse aus den Fruchtwasseranalysen von *Ovis aries* zusammengestellt. Gravierende Unterschiede in der Zusammensetzung lieferte nur die 1. Fraktion aus der hier gewählten Aufarbeitungsmethode (s.o.). In den übrigen Fraktionen konnten neben unverzweigten Fettsäuremethylestern von Decan- bis Tetracosansäuremethylester auch wenige *iso*-methylverzweigte Carbonsäuremethylester, wie *iso*-Pentadecan-, *iso*-Hexadecan- und *iso*-Heptadecansäuremethylester nachgewiesen werden. Eine spezielle Verteilung in den unterschiedlichen Naturproben konnte dabei nicht festgestellt werden. Des weiteren wurden Myristolein-, Palmitolein- und Ölsäuremethylester identifiziert. Lediglich in der 4. Fraktion konnten bei allen Tieren Aconitsäuretrimethylester (**192**) und Citronensäuretrimethylester (**193**) identifiziert werden, deren Massenspektren unten abgebildet sind. **192** war auch in der 1. Fraktion Hauptkomponente aller Proben.

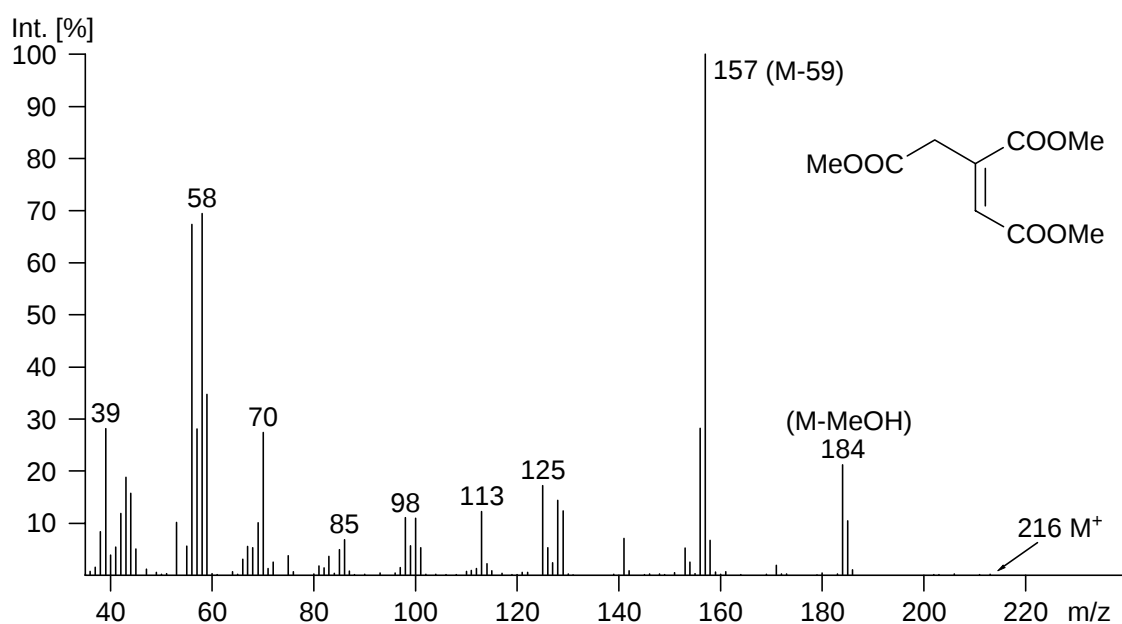


Abbildung 131 Massenspektrum von Aconitsäuretrimethylester (**192**) der 4. Fraktion aus Fruchtwasserproben der Schafe.

Das Massenspektrum in Abbildung 131 wurde durch Abspaltung von M-59 dominiert, die das Fragmentation m/z 157 lieferte. Die Eliminierung von Methanol erklärte das Ion m/z 184. Erneute Abspaltung von Methanol aus m/z 157 lieferte m/z 125.

Dagegen wies das Massenspektrum in Abbildung 132 des Citronensäuretrimethylesters (**193**) wenige Gemeinsamkeiten auf. Der Basispeak des Spektrums konnte entweder durch

Eliminierung von H_2O mit anschließender Abspaltung eines der beiden Carbmethoxymethylen-Fragmente erklärt werden.

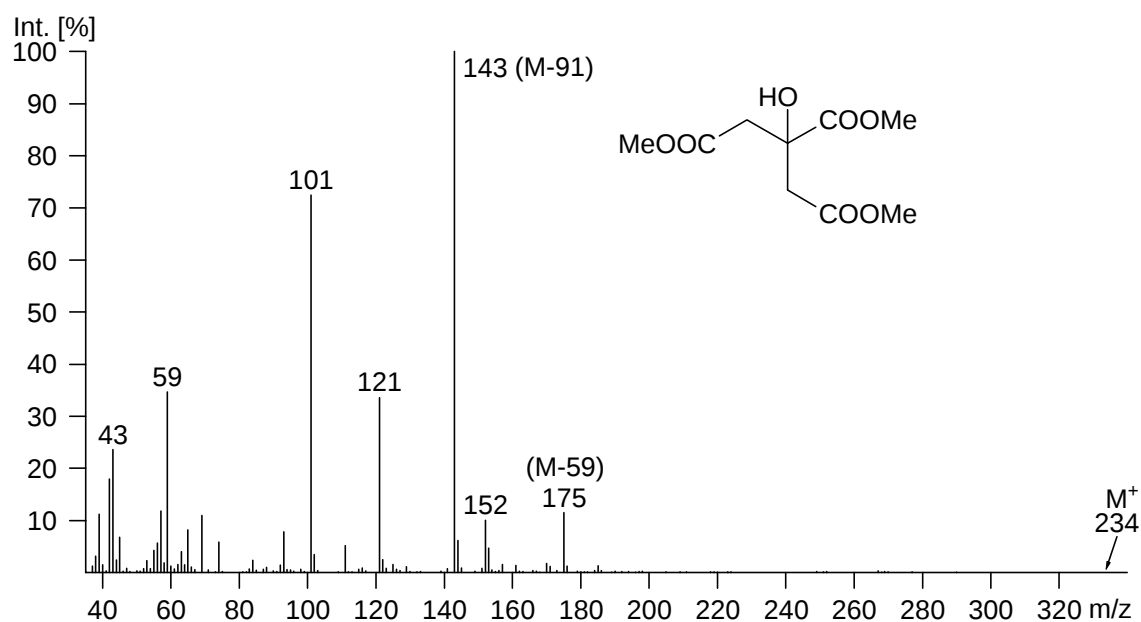


Abbildung 132 Massenspektrum von Citronensäuretrimethylester (193).

Abbildung 133 zeigt exemplarisch das Totalionenstromchromatogramm der 1. Fraktion aus der Fruchtwasseraufarbeitung von Hausschaf 5. Im Anschluss sind die Inhaltsstoffe aller neun Fruchtwasserproben der *n*-Hexan-Fraktion tabelliert. Verbindungen, die mit einem * markiert sind, werden eingehender diskutiert. Verbindungen mit n.d. (not detected) gekennzeichnet, konnten in den einzelnen Proben nicht zugeordnet werden. Die Abkürzungen H, N und S wurden bereits in den vorangegangenen Kapiteln eingeführt. K stellen Kontaminanten dar.

4.7.4.1 Inhaltsstoffe der 1. Fraktion

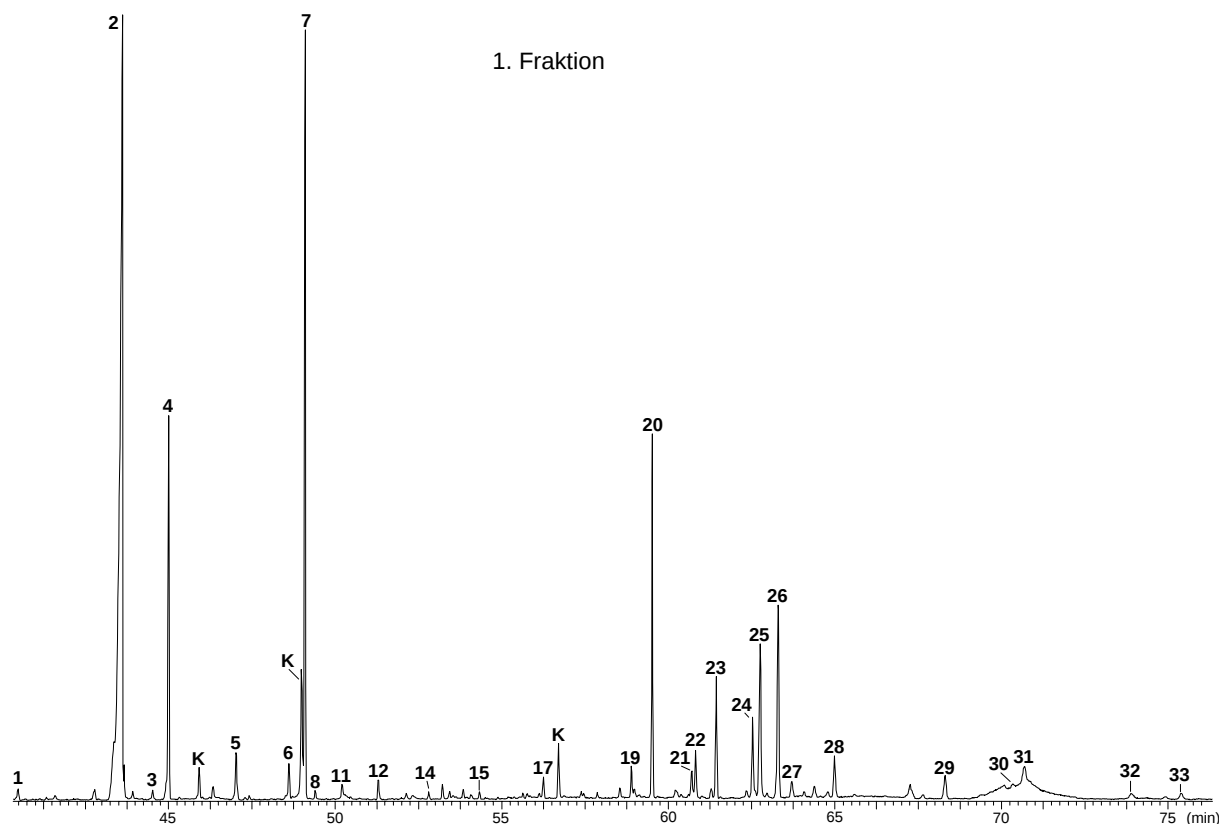


Abbildung 133 Ausschnitt aus dem Totalionenstromchromatogramm der 1. Fraktion von Schafffruchtwater 5 (Optima-5 60 m, Temperaturprogramm: 60°C, 10 min. isotherm, 5°C/min. auf 300°C, 30 min. isotherm).

Die Zusammensetzung der unterschiedlichen Fruchtwasserproben der 1. Fraktion wiesen erhebliche Unterschiede in Qualität und Quantität auf. Neben den vier Steroiden **S27**, **S30**, **S32** sowie **S33** und dem Aconitsäuretrimethylester (**192**), konnten die aliphatischen Fettsäuremethylester in allen Proben nachgewiesen werden. Dagegen konnten verschiedene Tetrahydrofursäuremethylester nur in unterschiedlichen Proben zugeordnet werden. So waren **S9** und **S10** nur Bestandteile des Fruchtwassers 1 oder **S21** und **S25** nur in der Probe 5 nachzuweisen. Der 7-[5-(1-Heptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-heptansäuremethylester (**S8**) stellte hier eine neue Verbindung dar, denn sie konnte nicht in den Schwanzdrüsenextrakten der Schafe nachgewiesen werden. Diese Verbindung wies im Gegensatz zu den zuvor besprochenen Homologen eine gerade Zahl von Kohlenstoffen in der Kette auf (Tabelle 31).

Nr.	Verbindung	1	2	3	4	5	7	8	9	10
S1	Myristinsäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S2	Aconitsäuretrimethylester	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S3	Palmitoleinsäuremethylester	N	S	S	N	S	S	N	N	N
S4	Palmitinsäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S5	Hexadecansäureisopropylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S6	Ölsäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S7	Stearinsäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S8	7-[5-(1-Heptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-heptansäuremethylester	n.d.	n.d.	S	n.d.	S	n.d.	n.d.	S	n.d.
S9	5-[5-(1-Oxoheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S10	5-[5-(1-Oxoheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S11	5-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester	S	S	n.d.	S	S	S	S	n.d.	n.d.
S12	5-(1-Octyltetrahydrofuran-2-yl)-heptansäuremethylester	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.	S	n.d.	n.d.
S13	5-[5-(1-Hydroxyoctyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S14	Eicosansäuremethylester	S	S	S	S	n.d.	n.d.	n.d.	S	S
S15	5-[5-(1-Hydroxynonyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.	S	n.d.	n.d.
S16	5-[5-(1-Hydroxy-4-methoxycarbonylbutyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester	N	n.d.	n.d.	n.d.	N	N	n.d.	n.d.	n.d.
S17	21-Methyldocosansäuremethylester	n.d.	n.d.	S	S	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S18	5-[5-(1-Hydroxydecyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester	n.d.	S	S	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S
S19	22-Methyltricosansäuremethylester	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	S	n.d.	n.d.	n.d.
S20	Tetracosansäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S21	5-[5-(1-Hydroxyundecyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S22	23-Methyltetracosansäuremethylester	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S23	Squalen	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S24	24-Methylpentacosansäuremethylester	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S25	5-[5-(1-Hydroxydodecyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S26	Hexacosansäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S27	Cholesta-3,5-dien	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S28	25-Methylhexacosansäuremethylester	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S29	Octacosansäuremethylester	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S30	Cholesterylacetat	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S31	Nonacosansäuremethylester	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	S	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
S32	Lanosterol	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S33	Dihydrolanosterol	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Tabelle 31 Inhaltsstoffe des Fruchtwassers von Schafen.

4.7.4.2 Massenspektren von weiteren 5-[5-(1-Hydroxyalkyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylestern

Nachfolgend werden die Massenspektren von zwei weiteren homologen Hydroxyfuransäuremethylestern aus dem Fruchtwasser von *Ovis aries* abgebildet. Für beide Spektren war $M^+ - 49$ ($M^+ - H_2O - MeO^-$) charakteristisch und ermöglichte die Zuordnung der molaren Masse. Die Fragmentierungen wurden im vorangegangenen Kapitel eingehend diskutiert.

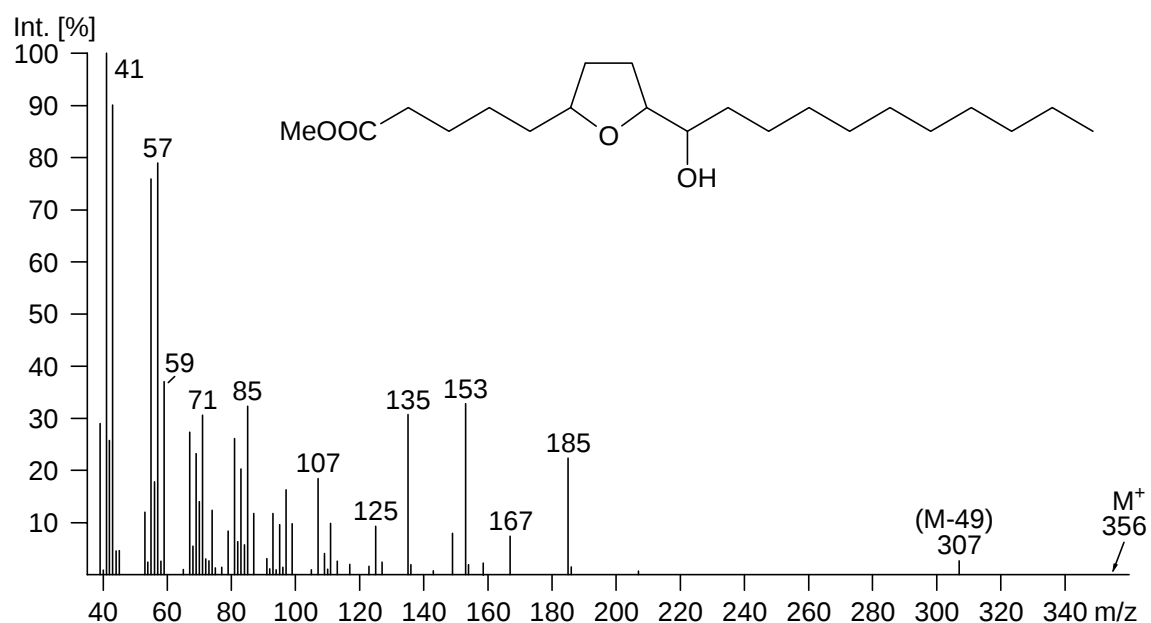


Abbildung 134 Massenspektrum von 5-[5-(1-Hydroxyundecyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester (S21).

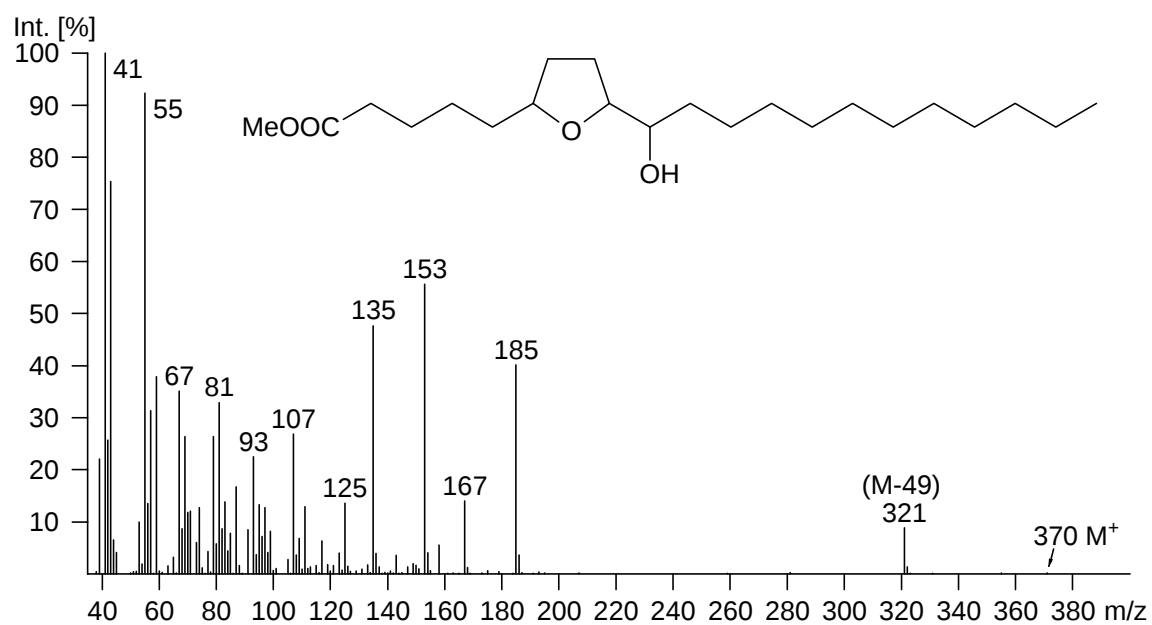


Abbildung 135 Massenspektrum von 5-[5-(1-Hydroxydodecyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester (S25).

4.8 Diskussion der Ergebnisse aus Teil 2b

Aus der Einleitung zu diesem Thema wird deutlich, dass Schafe über einen ausgeprägten Geruchssinn verfügen und ihn im Sozial- und Sexualleben einsetzen. Der Widder kann z.B. am veränderten Geruch des Urins eines Weibchens wahrnehmen, wann sie zur Begattung bereit ist¹⁵. Noch eindrucksvoller sind die Beobachtungen des Aufbaus einer intensiven Mutter-Kind-Beziehung zwischen dem neugeborenen Lamm und dem Mutterschaf basierend auf der olfaktorischen Wahrnehmung. Dabei sind die Tiere gegenseitig in der Lage anhand spezifischer Geruchsmerkmale Differenzierungen bei Artgenossen vorzunehmen²²⁰. Diese Möglichkeit stellt erst die Grundlage für die Entwicklung einer Herdensozietät der Schafe dar²¹⁹. Grundsätzlich besteht die Ansicht, dass erst nach der Geburt die Bindung zwischen Muttertier und Neugeborenem in einem kurzen, „kritische Periode“ genannten Zeitraum, aufgebaut wird²²¹.

Die Erstmilch (Kolostrum) stellt möglicherweise einen wichtigen Faktor in der Überwindung der oben dargestellten „kritischen Periode“ im Aufbau der Mutter-Kind-Beziehung dar, denn es wird beobachtet, dass die Lämmer in den ersten Stunden nach der Geburt häufig bei der Mutter trinken und beide dichtgedrängt zusammenstehen²¹⁹. Neben naheliegenden Aspekten einer schnellen Nährstoffzufuhr durch die Nahrungsaufnahme, könnten möglicherweise im Kolostrum enthaltene Semiochemikalien helfen, den Zeitraum für den Aufbau der Mutter-Kind-Beziehung zu verkürzen. Eine weitere Überlegung für dieses Phänomen könnte aus einer Übertragung des spezifischen Eigengeruchs durch bestimmte Substanzen über das Kolostrum vom Muttertier auf die Lämmer resultieren, wie es z.B. bei der Gewöhnlichen Stachelmaus *Acomys cahirinus* zu beobachten ist¹⁸⁶.

Neben den bereits im menschlichen Kolostrum nachgewiesenen Tetrahydrofuran- und Pyron-Derivaten, die als Geschmacks- und Aromastoffe bekannt sind, können 18 1,3-Diglyceride durch Säulenchromatographie isoliert und anschließend mit NMR-spektroskopischen Verfahren charakterisiert werden. Des weiteren finden sich 1-monosubstituierte Glyceride in dieser Fraktion, die bereits in der Humanmilch identifiziert wurden. Die 1,3-disubstituierten Glyceride können dagegen nur im Kolostrum der Schafe nachgewiesen werden. In der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung aller neun Milchproben können nur unwesentliche Unterschiede festgestellt werden, die keine Rückschlüsse auf individuelle Geruchskomponenten enthalten. Die gleiche Erkenntnis konnte bereits bei den Ergebnissen aus der Analyse von Humanmilch gewonnen werden. Im Gegensatz zu den nicht spezifischen Unterschieden der Inhaltsstoffe im Bukett der Kolostrumproben, können individuelle

Substanzpattern in den hier untersuchten neun Leisten- bzw. Schwanzdrüsensekreten festgestellt werden. Dabei gibt es Konzentrationsunterschiede einzelner Verbindungen in den Extrakten, die z.T. mittels internem Standard quantifiziert werden konnten, aber auch erhebliche qualitative Unterschiede in der Zusammensetzung der Sekrete. Es können insgesamt 155 Verbindungen in den Drüsenfraktionen, darunter zahlreiche neue Verbindungen, zugeordnet und identifiziert werden. Auffällig ist zudem die Vielzahl und die hohe Konzentration ungewöhnlicher Verbindungen. So wird z.B. bei Schaf 7 in ca. 50 mg Drüsensekret fast 5 mg 5-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester nachgewiesen. Diese Ergebnisse könnten die ausgeprägte Individualerkennung der Schafe erklären, die an olfaktorischen Geruchsreizen aus diesen Drüsen z.B. ihre Jungen von Fremdtieren zu unterscheiden vermögen.

In der 1. Fraktion der Fruchtwasserproben des Hausschafs konnten neben Aconitsäuretrimethylester die Steroide Cholesta-3,5-dien, Dehydrolanosterol (**173**), Lanosterol (**175**), Cholesta-3,5-dien-7-on (**176**) und Cholesterylacetat, sowie Fettsäuremethylester identifiziert werden. Erstaunlicherweise können auch Hydroxy- und Oxotetrahydrofuransäuremethylester zugeordnet werden. Darüberhinaus gelingt die Identifizierung von 7-[5-(1-Heptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-heptansäuremethylester, der in den Drüsensekreten zuvor nicht nachgewiesen werden kann. Auch hier ist die quantitative und qualitative Zusammensetzung der neun verschiedenen Proben signifikant unterschiedlich.

Diese Tatsache lässt den Schluss zu, dass bereits vor der Geburt der Nachwuchs individuellen Geruchsreizen ausgesetzt ist. Eine pränatale Dotierung des Individualgeruchs ist somit sehr wahrscheinlich. Der Aufbau der intensiven Mutterschaft-Lamm-Bindung setzt demnach viel früher, als bisher beschrieben, ein. Die „kritische Periode“ kann somit mit dem Zeitraum beschrieben werden, worin das Muttertier den Eigengeruch des Nachwuchses erlernt. Für zukünftige Untersuchungen wäre es wichtig, die Schwanzdrüsensekrete der Lämmer zu analysieren und mit den Ergebnissen einer Fruchtwasseruntersuchung zu vergleichen. Übereinstimmende Inhaltsstoffe würden für eine Dotierung des Eigengeruchs der Lämmer noch vor der Geburt sprechen.

5 Zusammenfassung

Deutsche Fassung

In Zusammenarbeit mit biologisch und medizinisch orientierten Kooperationspartnern wurden flüchtige Substanzen untersucht, die von Menschen und dem Hausschaf *Ovis aries* abgegeben werden. Gegenstand dieser Untersuchungen war einerseits die Identifizierung und Synthese von intraspezifischen Signalstoffen (Pheromonen), die in der Mutter-Kind-Beziehung bzw. der Mutterschaf-Lamm-Erkennung eine Rolle spielen könnten, und andererseits von interspezifisch aktiven Substanzen (Kairomonen), die Gelbfiebermücken, *Aedes aegypti*, bei der Wirtsfindung nutzen.

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit konnte eine Anreicherungs-methode für flüchtige Substanzen von der menschlichen Hautoberfläche entwickelt werden, die auf *Aedes*-Mücken stark attraktiv wirkende Proben lieferte. Die Untersuchung der Verbindungen erfolgte durch gekoppelte Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) und Synthese der anhand analytischer Daten erarbeiteten Struktur-vorschläge. Dabei konnten 38 Fettsäuren identifiziert werden. Es gelang, 17 methylverzweigte Fettsäuren nach einem Baukastenprinzip zu synthetisieren. Alle nachgewiesenen Carbonsäuren wurden in Verhaltenstests den Gelbfiebermücken in Kombination mit dem Synergisten L-Milchsäure angeboten. So steigerten die Fettsäuren Tetradecan-, iso-Tetradecan- und anteiso-Tetradecansäure die Attraktivität der bereits als aktiv bekannten L-Milchsäure um 100%. Eine Reihe identifizierter Verbindungen, deren Ursprung möglicherweise auf die oxidativen Spaltung von Squalen zurückzuführen ist, erhöhten den Reiz der L-Milchsäure nicht signifikant. Dabei handelte es sich unter anderem um zwei bicyclische Acetale **51** und **52**, die in diesem Zusammenhang bisher unbekannt waren. Diese Verbindungen konnten auch enantioselektiv dargestellt werden.

Im Kolostrum (Erstmilch) von Menschen und Schafen konnten neben den Pyronen 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydropyran-4-on (**138**) und Maltol (**153**), 13 Furan-Derivate identifiziert werden. Diese Komponenten sind als Geruchs- und Geschmacksinhaltsstoffe in Zusammenhang mit der Maillard-Reaktion bekannt, aber als Bestandteile der Muttermilch bzw. Schalmilch bislang nicht beschrieben. Des weiteren fanden sich einige 1-Acylglyceride in unpolaren Fraktionen des Kolostrums von Menschen und Schafen sowie zusätzlich 1,3-disubstituierte Glyceride im Kolostrum der Mutterschafe. Letztere konnten isoliert und

mittels NMR-spektroskopischer Experimente als Fettsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester aufgeklärt werden.

In Leisten-(Schwanz)-drüsensekreten von neun verschiedenen Schafen konnten insgesamt 155 Verbindungen zugeordnet werden. Auffällig war hierbei die Komplexität der nachgewiesenen Verbindungen, aber auch die qualitativ und quantitativ unterschiedliche Zusammensetzung jeder der untersuchten Sekrete. Es konnten neben 1-Alkanolen, 2-Alkanolen, 2-Acetoxyalkanen und 2-Hydroxycarbonsäuremethylestern auch die bereits im Lanolin (Wollfett) identifizierten Steroide Dihydrolanosterol (**173**) und Lanosterol (**175**) nachgewiesen werden. Darüber hinaus gelang die Zuordnung von 17 Vertretern der Klasse der 5-[5-(1-Hydroxyalkyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester. Aus einem der Sekrete konnten etwa 2 mg der Verbindung **182** isoliert und deren Struktur mit NMR-spektroskopischen Experimenten verifiziert werden. Für sechs 5-[5-(1-Oxoalkyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester, drei 5-[5-(1-Hydroxy- ω -methoxycarbonylalkyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester, zwei 7-[5-(1-Alkyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-heptansäuremethylester, 3-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-propansäuremethylester und 8-[5-(1-Butyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-octansäuremethylester wurden Strukturvorschläge erarbeitet. Lediglich fünf der hier nachgewiesenen 5-[5-(1-Hydroxyalkyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester sind von Ito *et al.* im Lanolin bereits beschrieben worden²³⁵, alle anderen Verbindungen stellen neue Naturstoffe dar. Einige dieser Verbindungen konnten zudem erstmals im Fruchtwasser der Hausschafe identifiziert werden, wobei auch hier quantitative und qualitative Unterschiede in der Zusammensetzung der flüchtigen Verbindungen bei den untersuchten Proben existierten.

Summary

In cooperation with partners whose chief interests were biological and medicinal, volatile substances given off by humans and the domestic sheep *Ovis aries* were investigated. The aim of these investigations was the identification and synthesis of intraspecific signal substances (pheromones) which are involved in mother-child relationships or ewe-lamb recognition, and also exploration of interspecifically active substances (Kairomones), which are used by the yellow fever mosquitoes *Aedes aegypti* for host location.

In the first part of the present investigations, a method of enriching the volatile substances emitted from human skin, which are particularly attractive to *Aedes* mosquitoes, was developed. The investigation of the compounds was carried out using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and subsequent synthesis of the potential structures for comparison. Thirty-eight fatty acids could thus be identified. Using a building-block strategy, 17 methylbranched fatty acids could be synthesised. All carboxylic acids identified were combined with the synergist L-lactic acid and tested with the yellow fever mosquitoes for their modifying behaviour capacity. It could be shown that the fatty acids tetradecanoic acid, *iso*-tetradecanoic acid and *anteiso*-tetradecanoic acid all enhanced the attractiveness of L-lactic acid by 100%. A series of identified compounds, probably originating from oxidative cleavage of squalene, did not significantly increase the attractiveness of L-lactic acid. This series also included the two bicyclic acetals **51** and **52**, which were previously unknown in this context. These compounds could also be synthesised enantioselectively.

In human and sheep colostrum (so-called “first milk”), the pyrones 3,5-dihydroxyl-6-methyl-2,3-dihydropyran-4-one (**138**) and maltol (**153**), as well as 13 furan derivatives, could be identified. These components are known as odour and taste components, in connection with the Maillard reaction, but have not been previously described as components of human milk or sheep milk. Furthermore, several 1-acyl glycerides found in the unpolar fractions of human and sheep colostrum, as well as 1,3-disubstituted glycerides were found in the corresponding fractions of sheep colostrum. An example of the latter type of compounds could be isolated from the colostrum of ewes and by NMR spectroscopy characterized as 1-acyloxy 3-butyloxy-2-hydroxypropane.

In inguinal gland secretions of nine different ewes, a total of 155 compounds could be identified. The complexity of the mixtures identified was surprising, as was the qualitatively

and quantitatively varying composition of each of the secretions. 1-Alkanols, 2-alkanols, 2-acetoxyalkanes and 2-hydroxycarboxylic methyl esters could be detected, as well as the steroids dihydrolanosterol (**173**) and lanosterol (**175**), which had already been identified in lanolin (wool fat). In addition, the structures of 17 5-[5-(hydroxyalkyl)-tetrahydrofuran-2-yl] pentanoic methyl esters could be assigned. Approximately, 2 mg of compound **182** could be isolated, and the structure could be verified by NMR spectroscopy. Tentative structures of six 5-[5-(1-oxoalkyl)-tetrahydrofuran-2-yl] pentanoic methyl esters, three 5-[5-(1-hydroxy- ω -methoxycarbonylalkyl)-tetrahydrofuran-2-yl] pentanoic methyl esters, two 7-[5-(1-alkyl)-tetrahydrofuran-2-yl] heptanoic methyl esters, 3-[5-(1-hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl] propanoic methyl ester and 8-[5-(1-butyl)-tetrahydrofuran-2-yl] octanoic methyl ester could be proposed. Only five of the 5-[5-(1-hydroxyalkyl)-tetrahydrofuran-2-yl] pentanoic methyl esters have been previously identified all other structures represent new natural products²³⁵. Several of these compounds could be found in the amniotic fluid of domestic sheep, which a significant qualitative and quantitative variation in the compositions of each of the samples could also be observed.

6 Experimenteller Teil

6.1 Gaschromatographie

Es wurden Geräte des Typs Carlo Erba GC6000 Vega Series 2, Hewlett Packard 5890 Series II, Satochrom (Firma Sato), GC8000 (Fisons) und Hewlett Packard 6890 verwendet. Hierbei diente Wasserstoff als Trägergas, und die Detektion erfolgte durch Flammenionisationsdetektoren (FID). Für die Trennungen wurden Kapillaren mit folgenden Belegungen verwendet:

DB-5MS fused silica, 30 m, 0.25 mm I.D., 0.25 µm Filmdicke.

Optima-5 fused silica, 60 m, 0.25 mm I.D., 0.25 µm Filmdicke.

FFAP fused silica, 50 m, 0.25 mm I.D., 0.25 µm Filmdicke.

HP-1 fused silica, 30 m, 0.25 mm I.D., 0.25 µm Filmdicke.

DB-Wax fused silica, 50 m, 0.25 mm I.D., 0.25 µm Filmdicke.

OV 1701 fused silica, 60 m, 0.25 mm I.D., 0.25 µm Filmdicke.

Chirale Phasen: Heptakis-(6-*O*-*tert*.-butyldimethylsilyl-2,3-di-*O*-methyl)- β -cyclodextrinphase (gelöst in OV-1701 50%), 25 m, 0.25 mm I.D.
2,6-Methyl-3-pentyl- β -cyclodextrinphase (gelöst in OV1701, 50%), 30 m, 0.25 mm I.D.

6.2 Massenspektrometrie

Massenspektren wurden an den Geräte-Kombinationen GC 8000 Series/MD800 (Fisons Instruments), HP5980/VG70-250 SE und HP6890/VG70-70 E (Hewlett-Packard und VG-Analytical) mit Elektronenstoßionisation (EI) von 70 eV und einer Quelltemperatur von 200°C im Massenbereich von 35 bis 600 amu erhalten. Als Trägergas diente Helium. Angegeben werden Massenzahlen (m/z) und relative Intensitäten (in %) bezogen auf das intensivste Signal. In Einzelfällen wurden Ausnahmen gemacht.

6.3 NMR-Spektroskopie

NMR-Spektren wurden mit folgenden Spektrometern aufgenommen:

AC-250 P (^1H mit 250 MHz; ^{13}C mit 62.9 MHz)

AMX-400 Firma Bruker (^1H mit 400 MHz; ^{13}C mit 101 MHz)

DRX-500 Firma Bruker (^1H mit 500 MHz; ^{13}C mit 126 MHz)

Alle Messungen wurden bei 300 K vorgenommen, als interner Standard diente Tetramethylsilan (TMS $\delta = 0$ ppm) und/oder das verwendete Lösungsmittel (CDCl_3 $\delta = 7.27$ ppm, C_6D_6 $\delta = 7.16$ ppm, Aceton- d_6 $\delta = 2.04$ ppm, DMSO- d_6 $\delta = 2.49$ ppm). Angaben über die chemischen Verschiebung δ erfolgen in ppm und sind auf die oben angegebenen Kalibrierungen geeicht. Für die Signalformen werden folgende Abkürzungen verwendet: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplett), q (Quartett), m (Multipllett). Die Zuordnung der ^{13}C -NMR-Signale erfolgte durch DEPT-Spektroskopie, wobei CH_3 und $\text{CH} = +$, $\text{CH}_2 = -$ und $\text{C}_{\text{quatär}} = 0$ bedeuten. Für die Strukturaufklärung einzelner Verbindungen wurden zusätzlich $^1\text{H}^1\text{H}$ -COSY-, $^1\text{H}^{13}\text{C}$ -COSY-, HMBC- und NOESY-Experimente durchgeführt.

6.4 FT-IR Spektroskopie

Die GC/FT-IR-Spektren wurden mit einem HP 6890 Series GC plus und einem HP 5965A Infrared Detector erzeugt. Übrige FT-IR-Spektren konnten mit einem ATI Mattson Genesis Gerät Series FT-IR aufgenommen werden.

6.5 Polarimeter

Drehwerte optisch aktiver Substanzen wurden mit einem Perkin-Elmer Polarimeter 241 oder 243 in 10 cm Küvetten mit einer Natriumlampe bei einer Wellenlänge von 589 nm gemessen.

6.6 Maillard-Reaktor

Zur Durchführung der Bräunungsreaktion wurde eine 3-Kopf-Kolben-Dosier-Förderpumpe Metripump E2/B2/144/510C der Firma Brookpump Crompton (Vertrieb über die Firma LDT Leveldosiertechnik). Als Ofen diente ein Gaschromatograph Fractovap 2900 der Firma Carlo Erba. Als Rohrreaktor diente eine ca. 50 m lange Edelstahlkapillare (2.1 mm I.D. und 1/8 inch A.D.) der Firma Chrompack.

6.7 Chemikalien und Chromatographie

Alle verwendeten Chemikalien wurden von den Firmen Merck, Aldrich, Fluka, Lancaster, Sigma, IGN und Bachem in der Qualität „zur Synthese“ bezogen und, soweit nicht anders angegeben, ohne weitere Reinigung eingesetzt. Alle Lösungsmittel werden nach gängigen Methoden absolutiert²⁴⁰.

Zur Dünnschichtchromatographie wurde Kieselgelfolie der Firma Merck 60 F₂₅₄ verwendet. Zur Detektion der zu untersuchenden Substanzen dienten ein Anisaldehyd-Tauchbad (2% Anisaldehyd, 2% konz. Schwefelsäure, 2% Essigsäure, in Ethanol), ein Molybdat-

Phosphorsäure-Tauchbad (Sonnenscheinsreagenz) oder auch eine UV-Lampe. Flüssigchromatographische Trennungen erfolgten flashchromatographisch an Merck Kieselgel 60 (240-400 mesh) mit unterschiedlichen Laufmittelgemischen, die jeweils angegeben sind, so dass der R_f -Wert zwischen 0.10 und 0.35 lag.

Für die Aufarbeitung einiger Naturproben wurde Florisil 0.150-0.250 mm (85% SiO_2 , 15% MgO) verwendet. Um reproduzierbare Trennungen zu gewährleisten, wurde das Florisil bei 110°C für 5 Stunden getrocknet und anschließend mit 5 g Wasser/100 g Florisil für drei Stunden konditioniert.

6.8 Adsorbentien

SuperQ: Divinylbenzol-Polymer mit der Formel $-(\text{C}_8\text{H}_8)_n$ (CAS-Nr. 9003-70-7) der Firma Alltech GmbH, Münchner Str. 14, 82008 Unterhaching.

Glaswolle: extra fein, Firma Assistent No. 1408/2.

Aktivkohle: für die Gaschromatographie 0.3-0.5 mm, mesh 35-50, Firma Merck.

Tenax: Poly-(2,6-Diphenylphenylenoxid), Tenax GC, mesh 80-100, Firma Chrompack.

6.9 Derivatisierung

Methylierung²⁴¹

In einer speziellen Destillationsapparatur (MNNG Diazomethane-generation apparatus, Aldrich) wurde 0.5 mg N-Nitroso-N-methylharnstoff tropfenweise mit 40%iger Natronlauge bis zum Stillstand der Gasentwicklung versetzt. Das entstehende Diazomethan kondensierte bei -170°C in einer Lösungsmittelvorlage, die dann zur Probe hinzugegeben wurde oder direkt in die Probenvorlage. Proben wurden zum Teil eingengt und anschließend gaschromatographisch und massenspektrometrisch untersucht.

Darstellung von N-Nitroso-N-methylharnstoff²⁴²

(Produkt ist kanzerogen!) 20.1 g (0.3 mol) Methylamin-hydrochlorid und 60.0 g (1 mol) Harnstoff werden in 150 mL Wasser gelöst und 3 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Es werden 22.1 g (0.32 mol) Natriumnitrit hinzugegeben und kühlt auf -10°C. Danach gießt man die erkaltete Reaktionslösung auf 600 g Eis/110 g konz. Schwefelsäure. Der gebildete Feststoff wird abgesaugt und aus Methanol umkristallisiert.

Acetylierung

10.0 mg Substanz werden mit 0.1 mL Pyridin und 1.0 mL Acetanhydrid bei 10°C ca. zwei Stunden lang gerührt. Zur Neutralisierung versetzt man den Reaktionsansatz mit wenig Natriumhydrogencarbonat und gibt dann etwas Wasser hinzu. Es wird mit Diethylether oder Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und eventuell vor der gaschromatographischen Analyse eingeengt.

Silylierung

50 µL des zu untersuchenden Extraktes werden in einem Schraubdeckelgläschen mit 5 µL BSTFA/TMCS (Kat.) 99:1 versetzt und 60 Minuten lang bei 50°C gerührt. Überschüssiges BSTFA/TMCS wird im Argonstrom abgeblasen und der Rückstand in einem geeigneten Lösungsmittel aufgenommen. (BSTFA: N,O-bis-Trimethylsilyltrifluoracetamid/TMCS: Trimethylchlorsilan).

Derivatisierung mit Dimethylsulfid

10 µL Extrakt werden mit 5 µL einer 5%igen Iod-Lösung und 50 µL Dimethylsulfid versetzt. Die Mischung wird 12 Stunden lang bei 60°C gehalten. Danach werden 20 mL einer 10%igen Natriumthiosulfat-Lösung hinzugegeben, um überschüssiges Iod zu zerstören. Man trennt die organische Phase ab, trocknet über Magnesiumsulfat und engt die Probe gegebenenfalls etwas ein.

6.10 Bereitstellung der Naturproben

6.10.1 Probe GEM012

Der ethanolische Probe GEM012 wurde von Dr. Martin Geier der Universität Regensburg gesammelt, aufgearbeitet und für biologische Referenztests zur Verfügung gestellt. Dabei werden Hände und Unterarme von ca. 50 Personen mit Ethanol getränkten Wattepad über einen Zeitraum von 10 Minuten abgerieben. Die Wattepad werden gesammelt und mit Ethanol extrahiert. Das Lösungsmittel wird auf ca. 50 mL Volumen am Rotationsverdampfer eingeengt.

6.10.2 Muttermilch und Fruchtwasser

Es wurden 8 menschliche Fruchtwasserproben aus der 15. Schwangerschaftswoche und während der Geburt gesammelt. Alle Proben stammten aus dem November 1998. Die

jeweiligen Volumina liegen zwischen 3 und 25 mL. Außerdem wurden 5 Muttermilchproben/Kolostrum aus dem gleichen Zeitraum von 10 bis 50 mL Volumen gewonnen. Sofort nach Probennahme wurden die Proben bei -18°C tiefgefroren. Tabelle 32 zeigt das Probenvolumen mit speziellen Anmerkungen. Alle Proben wurden von Herrn Prof. Dr. Volker Lehmann vom Perinatal-Zentrum des Allgemeinen Krankenhauses in Hamburg-Altona zur Verfügung gestellt.

Nr.	Anmerkung	Volumen	Datum der Gewinnung
	Fruchtwasserproben		
1	Fruchtwasser von Zwillingen	3 mL	02.11.98
2	Fruchtwasser 15. Schwangerschaftswoche	13 mL	03.11.98
3	Fruchtwasser	24 mL	04.11.98
4	Fruchtwasser 15. Schwangerschaftswoche	8 mL	05.11.98
5	Fruchtwasser von Zwillingen	16 mL	05.11.98
6	Fruchtwasser	21 mL	17.11.98
7	Fruchtwasser	24 mL	23.11.98
8	Fruchtwasser	14 mL	27.11.98
	Kolostrum		
1	Erstmilch/Kolostrum	40 mL	09.11.98
2	Erstmilch/Kolostrum	40 mL	19.11.98
3	Erstmilch/Kolostrum	15 mL	17.11.98
4	Erstmilch/Kolostrum	10 mL	22.11.98
5	Erstmilch/Kolostrum	25 mL	23.11.98

Tabelle 32 Naturproben vom Menschen.

6.10.3 Naturproben von Schafen

Folgende Naturproben von Schafen wurden von Herrn Dr. Benoist Schaal vom Laboratoire de Comportement Animal in Nouzilly, Frankreich zusammengestellt. Die Mutterschafe sind mit ID-Nummern registriert. Die Probenmengen, Datum sowie die Uhrzeit der Probennahme sind in Tabelle 33 aufgelistet. Sofort nach der Probennahme werden die Proben bei -70°C tiefgefroren.

ID	Fruchtwasser	Kolostrum	Leistendrüsensekret/ Schwanzdrüsensekret
50224	200 mL (12.09./22.05 Uhr)	100 mL (13.09./20.30 Uhr)	100 mg (14.09./17.30)
70094	200 mL (12.09./22.15 Uhr)	50 mL (13.09./20.35 Uhr)	100 mg (12.09./22.00)
70165	100 mL (13.09./00.05 Uhr)	200 mL (13.9./20.45 Uhr)	100 mg (15.09./08.45)
60272	200 mL (13.09./00.10 Uhr)	50 mL (13.9./20.55 Uhr)	100 mg (15.09./08.50)
50225	250 mL (13.09./02.35 Uhr)	100 mL (13.9./21.05 Uhr)	100 mg (15.09./08.55)
40019	450 mL (13.09./05.00 Uhr)	100 mL (13.09./21.10 Uhr)	-
62140	150 mL (13.09./13.30 Uhr)	150 mL (13.09./21.20 Uhr)	100 mg (14.09./17.35)

60274	350 mL (13.09./16.30 Uhr)	250 mL (13.09./21.25 Uhr)	100 mg (14.09./17.40)
60329	350 mL (13.09./21.30 Uhr)	200 mL (13.09./21.35 Uhr)	100 mg (14.09./17.45)
70034	200 mL (14.09./02.00 Uhr)	100 mL (14.09./03.15 Uhr)	100 mg (14.09./17.50)

Tabelle 33 Naturproben vom Schaf.

6.11 Gewinnung der Naturextrakte

6.11.1 Headspace-Proben von der menschlicher Haut

Flüchtige Komponenten des menschlichen Arms einer Versuchsperson können mit Hilfe des Closed Loop Stripping Analysis (CLSA)-Verfahrens gewonnen werden. Der Arm befindet sich dafür über einen Zeitraum von 90 Minuten in einer Armmanschette aus Glas, die in einem geschlossenen Kreislauf über Teflonschläuche mit einer Membranpumpe verbunden ist. Vor der Pumpe befindet sich ein Filter, der mit unterschiedlichen Adsorbensmaterialien befüllt sein kann. Die Filter werden nach den Versuchen mit 20 µL eines geeigneten Lösungsmittels extrahiert, eventuell derivatisiert und mittels GC-MS untersucht.

Zur Quantifizierung der detektierten Verbindungen wird ein interner Standard (2-Undecanon), der in einem Schmelzpunktröhrchen im Closed-Loop-System hinter die Membranpumpe platziert wird und ein externer Standard (20 ng 2-Nonanon/20 µL Extraktionsmittel), verwendet.

6.11.2 Headspace-Proben von Sandablationen der menschlichen Hand

Es werden 5-10 g Seesand 10 Minuten lang intensiv zwischen den Händen gerieben. Dieser mit Abrieb von der Hautoberfläche beladene Sand wird in ein Reaktionsgefäß gegeben und in einem kleinen Heizofen auf 60°C erhitzt. Im Kreislauf einer CLSA-Apparatur wird nun über einen Zeitraum von 90 Minuten ein Luftstrom durch den Sand geleitet, wobei dieser leicht verwirbelt wird. Hinter den Reaktor ist ein SuperQ-Filter geschaltet, der nach der Versuchszeit mit einem geeigneten Lösungsmittel extrahiert oder thermisch desorbiert wird. Die angereicherten Substanzen werden mittels GC-MS analysiert.

6.11.3 Kolostrum/Muttermilch von Menschen

Aufarbeitung der Muttermilch durch Extraktion über Florisil:

Es werden 8 g Muttermilch mit 25 g Florisil in einem Achatmörser verrieben und vorsichtig auf eine Säule aufgetragen, in der sich bereits 25 g Florisil befinden, das in 100 mL Methanol SupraSolv suspendiert ist. Beim Auftragen muss immer Lösungsmittel über dem Florisil stehen.

Es wird mit 800 mL Methanol SupraSolv extrahiert. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer bei reduziertem Druck auf ca. 2 mL Volumen langsam eingengt.

Die gelbliche Lösung wird anschließend in der oben beschriebenen Apparatur mit Diazomethan umgesetzt. Über 10 g Kieselgel wird mit einem Eluationsgradienten diese Lösung in 5 Fraktionen mit unterschiedlicher Polarität fraktioniert.

1. Fraktion: 20 mL *n*-Pentan
2. Fraktion: 20 mL *n*-Pentan/Ethylacetat 3:1
3. Fraktion: 20 mL *n*-Pentan/Ethylacetat 1:1
4. Fraktion: 20 mL Ethylacetat
5. Fraktion: 20 mL Methanol

Die so erhaltenen Fraktionen werden vorsichtig in einem Wasserbad erwärmt, auf etwa 100 µL Volumen eingengt und mittels GC-MS untersucht.

6.11.4 Fruchtwasser von Menschen

10 mL Fruchtwasser werden langsam aufgetaut und zusammen mit inhomogenen Rückständen mit 20 mL *n*-Butanol SupraSolv versetzt. Die Suspension wird 60 Minuten lang im Ultraschallbad extrahiert, anschließend auf 2 Zentrifugengläser verteilt und bei 5000 U/min. 20 Minuten lang zentrifugiert. Die Phasen werden getrennt und die organische Phase wird am Rotationsverdampfer bei reduziertem Druck auf ca. 2 mL Lösungsmittelvolumen eingengt. In einer speziellen Destillationsapparatur (s.o.) wird die *n*-Butanol-Phase dreimal direkt mit Diazomethan umgesetzt. Über eine Gradientensäule wird der Extrakt in 3 Fraktionen verschiedener Polarität getrennt.

1. Fraktion: 50 mL *n*-Hexan
2. Fraktion: 50 mL Dichlormethan
3. Fraktion: 50 mL Methanol

Die Fraktionen werden durch Erwärmen in einem Wasserbad auf 100 µL eingengt und mittels GC-MS untersucht.

6.11.5 Kolostrum von Schafen

Es werden 8 g Kolostrum vom Schaf mit 25 g Florisil in einem Achatmörser verrieben und vorsichtig auf eine Säule aufgetragen, in der bereits 25 g Florisil suspendiert in 100 mL *n*-Hexan Uvasol vorgelegt sind. Es werden drei Fraktionen mit jeweils 200 mL Volumen von *n*-Hexan, Dichlormethan und Methanol erhalten. Alle Fraktionen werden am Rotationsverdampfer bei reduziertem Druck eingengt. Die *n*-Hexan-Fraktion wird nicht weiter behandelt und mittels GC-MS untersucht. Die Dichlormethan-Fraktion wird auf 10 g Kieselgel aufgetragen und in fünf Fraktionen unterschiedlicher Polarität getrennt.

1. Fraktion: 20 mL *n*-Hexan
2. Fraktion: 20 mL *n*-Hexan/Ethylacetat 20:1
3. Fraktion: 20 mL *n*-Hexan/Ethylacetat 10:1
4. Fraktion: 20 mL *n*-Hexan/Ethylacetat 4:1
5. Fraktion: 20 mL Ethylacetat

Die fünf erhaltenen Fraktionen werden auf ca. 100 µL eingengt und analysiert.

Die Methanol-Fraktion wird in einer speziellen Destillationsapparatur (s.o.) mit Diazomethan umgesetzt, über 1 g Kieselgel filtriert und mittels GC-MS untersucht.

6.11.6 Fruchtwasser von Schafen

45 mL Fruchtwasser werden langsam aufgetaut und zusammen mit inhomogenen Rückständen mit 100 mL *n*-Butanol SupraSolv versetzt. Die Suspension wird 60 Minuten lang im Ultraschall extrahiert, anschließend auf 4 Zentrifugengläser verteilt und bei 5000 U/min. 20 Minuten lang zentrifugiert. Die Phasen werden getrennt, und die organische Phase wird am Rotationsverdampfer bei reduziertem Druck auf ca. 2 mL eingengt. In einer speziellen Destillationsapparatur (s.o.) wird die *n*-Butanol-Phase dreimal direkt mit Diazomethan umgesetzt. Über eine Gradientensäule wird der Extrakt in sechs Fraktionen verschiedener Polarität getrennt.

1. Fraktion: 100 mL *n*-Hexan
2. Fraktion: 100 mL *n*-Hexan/Dichlormethan 4:1
3. Fraktion: 100 mL *n*-Hexan/Dichlormethan 1:1
4. Fraktion: 100 mL Dichlormethan
5. Fraktion: 100 mL Dichlormethan/Methanol 2:1
6. Fraktion: 50 mL Methanol

Die Fraktionen werden durch Erwärmen in einem Wasserbad auf 100 µL eingengt und mittels GC-MS untersucht.

6.11.7 Inguinaldrüsenwachs von Schafen

50 mg Inguinaldrüsenwachs eines Schafs werden mit 5 mg 12-Hydroxydodekansäure (interner Standard) versetzt, mit 2 mL *n*-Pentan Uvasol versetzt und 30 Minuten lang bei Raumtemperatur im Ultraschallbad extrahiert. *n*-Pentan wird dekantiert, auf ca. 0.5 mL im Wasserbad eingengt und mittels GC-MS untersucht. Der Rückstand wird im Argonstrom von Lösungsmittelspuren befreit und in 2 mL Methanol SupraSolv suspendiert. Der Rückstand wird erneut 30 Minuten lang bei Raumtemperatur im Ultraschallbad extrahiert. Danach wird abfiltriert und der methanolische Extrakt direkt in einer speziellen Apparatur (s.o.) mit Diazomethan umgesetzt. Es wird über 5 g Kieselgel filtriert und mit 20 mL Methanol nachgespült. Nach dem Einengen im Wasserbad wird die Probe gaschromatographisch und massenspektrometrisch analysiert.

6.12.1 Synthesen der Verbindungen aus Teil 1:

Darstellung von (6*E*,10*E*,14*E*,18*E*)-2,3-Epoxy-2,6,10,15,19,23-hexamethyl-6,10,14,18,22-tetracosapentaen (48), (10*E*,14*E*,18*E*)-*trans*-6,7-Epoxy-2,6,10,15,19,23-hexamethyl-2,10,14,18,22-tetracosapentaen (49) und (6*E*,14*E*,18*E*)-*trans*-10,11-Epoxy-2,6,10,15,19,23-hexamethyl-2,6,14,18,22-tetracosapentaen (50)

Eine Lösung von 5.0 g (12 mmol) Squalen in 125 mL Dichlormethan werden im Eisbad auf 0°C gekühlt. Unter starkem Rühren werden über einen Zeitraum von 30 Minuten 3.2 g (1.5 eq., 18 mmol) *meta*-Chlorperbenzoesäure (*m*-CPBA) hinzugegeben. Es wird für weitere 30 Minuten gerührt. Der Ansatz wird mit 50 mL Wasser hydrolysiert, die Phasen getrennt und die organische Phase dreimal mit einer gesättigten Kochsalz-Lösung gewaschen. Es wird über Natriumhydrogencarbonat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert.

Das Rohprodukt wird über Kieselgel säulenchromatographisch (Laufmittel: Petrolether/Diethylether 98:2) gereinigt.

Ausbeute: 0.12 mg (0.28 mmol) Produktgemisch aus **48**, **49** und **50**.

Charakterisierung:

(6*E*,10*E*,14*E*,18*E*)-2,3-Epoxy-2,6,10,15,19,23-hexamethyl-6,10,14,18,22-tetracosapentaen

(48):

MS (EI, 70eV): *m/z* 426 (M^+ , 1), 408 (1), 203 (5), 161 (4), 147 (8), 121 (10), 109 (11), 93 (13), 81 (28), 69 (100), 41 (57).

(10*E*,14*E*,18*E*)-*trans*-6,7-Epoxy-2,6,10,15,19,23-hexamethyl-2,10,14,18,22-tetracosapentaen

(49):

MS (EI, 70eV): *m/z* 408 (1), 339 (1), 203 (5), 161 (4), 147 (8), 135 (8), 121 (10), 109 (13), 81 (28), 69 (100), 41 (57).

(6*E*,14*E*,18*E*)-*trans*-10,11-Epoxy-2,6,10,15,19,23-hexamethyl-2,6,14,18,22-tetracosapentaen

(50):

MS (EI, 70eV): *m/z* 426 (M^+ , 1), 408 (1), 203 (3), 161 (5), 147 (7), 121 (12), 109 (10), 93 (15), 81 (31), 69 (100), 41 (53).

Darstellung von (4*E*,8*E*)-5,9,13-Trimethyl-4,8,12-tetradecatrienal (44), (4*E*,8*E*,12*E*)-4,9,13,17-Tetramethyl-4,8,12,16-octadecatetraenal (45) und (4*E*,8*E*,12*E*,16*E*)-4,8,13,17,21-Pentamethyl-4,8,12,16,20-docosapentaenal (46)

0.12 mg (0.28 mmol) Produktgemisch aus (6*E*,10*E*,14*E*,18*E*)-2,3-Epoxy-2,6,10,15,19,23-hexamethyl-6,10,14,18,22-tetracosapentaen **(48)**, (10*E*,14*E*,18*E*)-*trans*-6,7-Epoxy-2,6,10,15,19,23-hexamethyl-2,10,14,18,22-tetracosapentaen **(49)** und (6*E*,14*E*,18*E*)-*trans*-10,11-Epoxy-2,6,10,15,19,23-hexamethyl-2,6,14,18,22-tetracosapentaen **(50)** werden in 15 mL Diethylether gelöst und mit 0.1 g (0.419 mmol) *para*-Periodsäure versetzt. Es wird 90 Minuten lang bei Raumtemperatur gerührt und der Reaktionsverlauf per dünnschichtchromatographischer Kontrolle (Laufmittel: Petrolether/Diethylether 7:1) verfolgt. Die Reaktion wird mit 10 mL Wasser abgebrochen, die Phasen getrennt und die organische Phase dreimal mit 10 mL gesättigter Kochsalz-Lösung extrahiert. Es wird über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Produktgemisch kann mittels präparativer Gaschromatographie (Phase: [SE-30]-Säule/Beladung: 10% Träger W-HP aus Edelstahl der Länge 1.85 m, 4.3 mm I.D. und dem Temperaturprogramm: 80°C isotherm 5 min., mit 5°C/min. auf 170°C) aufgetrennt werden.

Ausbeute: 2 mg (0.008 mmol) (4*E*,8*E*)-5,9,13-Trimethyl-4,8,12-tetradecatrienal **(44)**.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 + TMS) δ [ppm] = 9.7 (s, 1H, CHO), 5.2-5.0 (m, 3H, CH(C4,C8,C12)), 2.4-2.3 (m, CH_2 (C2)), 2.1-2.0 (m, 10H, CH_2 (C3,C6,C7,C10,C11)), 1.7-1.6 (m, 12H, 4 x CH_3).

MS (EI, 70eV): m/z 248 (10), 231 (3), 205 (10), 177 (7), 161 (14), 136 (73), 69 (100), 55 (29), 41 (62).

Ausbeute: 2 mg (0.0063 mmol) (4*E*,8*E*,12*E*)-4,9,13,17-Tetramethyl-4,8,12,16-octadecatetraenal (**45**).

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 + TMS) δ [ppm] = 9.7 (s, 1H, CHO), 5.2-5.0 (m, 4H, CH(C5,C8,C12,C16)), 2.4-2.3 (m, CH_2 (C2)), 2.1-1.9 (m, 14H, CH_2 (C3,C6,C7,C10,C11,C14,C15)), 1.7-1.6 (m, 15H, 5 x CH_3).

MS (EI, 70eV): m/z 316 (8), 299 (2), 298 (3), 273 (5), 247 (14), 205 (12), 192 (15), 149 (24), 137 (50), 93 (30), 81 (55), 69 (100), 55 (34), 41 (52).

Ausbeute: 0.1 mg (4*E*,8*E*,12*E*,16*E*)-4,8,13,17,21-Pentamethyl-4,8,12,16,20-docosapentaenal (**46**).

MS (EI, 70eV): m/z 384 (M^+ , 3), 191 (2), 149 (5), 138 (6), 137 (6), 136 (5), 123 (10), 121 (9), 108 (11), 106 (10), 104 (5), 95 (19), 93 (15), 91 (7), 82 (6), 81 (59), 79 (9), 77 (5), 70 (5), 69 (100), 68 (10), 67 (14), 55 (12), 53 (7), 43 (8), 41 (39).

Darstellung von 2-(4-Methylpent-3-enyl)-2,5,5-trimethyl-1,3-dioxan (55)

6.2 g (49 mmol) 6-Methyl-5-hepten-2-on (**54**) werden mit 17.9 g (172 mmol, 3.5 eq.) 2,2-Dimethylpropan-1,3-diol in 175 mL Toluol gelöst und 5 Stunden unter azeotropem Wasserentzug erhitzt. Nach dem Abkühlen wird durch einen Faltenfilter filtriert, am Rotationsverdampfer eingedunstet und das Rohprodukt säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat 50:1) gereinigt.

Ausbeute: 8.55 g (40.3 mmol) entspricht 82.1% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 5.18-5.05 (m, 1H, CH), 3.52-3.42 (m, 4H, $\text{CH}_2(\text{C4})$, $\text{CH}_2(\text{C6})$), 1.80-1.65 (m, 4H, $\text{CH}_2(\text{C7})$, $\text{CH}_2(\text{C8})$), 1.60 (s, 3H, CH_3), 1.68 (s, 3 H, CH_3), 1.36 (s, 3H, CH_3), 1.02 (s, 3H, CH_3), 0.90 (s, 3H, CH_3).

MS (EI, 70eV): m/z 212 (M^+ , 1), 129 (34), 111 (10), 108 (8), 107 (7), 83 (9), 71 (12) 70 (8), 69 (57), 68 (13), 67 (14), 58 (7), 57 (10), 56 (35), 55 (35), 54 (7), 53 (8), 52 (10), 45 (8), 44 (12), 43 (100), 41 (92).

Darstellung von 2-(3,4-Epoxy-4-methylpentyl)-2,5,5-trimethyl-1,3-dioxan (56)

6.0 g (28 mmol) 2-(4-Methylpent-3-enyl)-2,5,5-trimethyl-1,3-dioxan (**55**) werden in einer Lösung aus 120 mL Dichlormethan und 30 mL einer 10%igen wässrigen Natriumhydrogencarbonat-Lösung gelöst und auf 0°C gekühlt. Danach werden innerhalb einer Stunde 9.2 g (42 mmol, 1.5 eq.) *m*-CPBA (80%) zugegeben und 4 Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Phase wird mit 60 mL einer 1 N Natriumhydroxid-Lösung und zweimal mit je 50 mL Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Rohprodukt wird eingeeengt und säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat 20:1) gereinigt.

Ausbeute: 4.2 g (18 mmol) entspricht 65.8% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 3.58-3.53 (m, 2H, CH_2), 3.44-3.40 (m, 2H, CH_2), 2.75 (t, 1H, CH), 1.93-1.65 (m, 4 H, $\text{CH}_2(\text{C7})$, $\text{CH}_2(\text{C8})$), 1.38 (s, 3H, CH_3), 1.32 (s, 3H, CH_3), 1.28 (s, 3 H, CH_3), 1.03 (s, 3H, CH_3), 0.90 (s, 3H, CH_3).

MS (EI, 70eV): m/z 228 (M^+ , 1), 213 (6), 143 (2), 129 (24), 109 (4), 99 (8), 85 (4), 83 (4), 71 (7), 70 (6), 69 (21), 59 (6), 56 (14), 55 (15), 43 (100), 41 (51), 39 (21).

Darstellung von 1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (51)

3.1 g (13.7 mmol) 2-(3,4-Epoxy-4-methylpentyl)-2,5,5-trimethyl-1,3-dioxan (**56**) werden innerhalb einer Minute zu 80 mL 1 N Salzsäure gegeben und 20 Minuten lang bei Raumtemperatur gerührt. Die wässrige Phase wird mit Natriumchlorid gesättigt, viermal mit Diethylether extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat

getrocknet. Das Reaktionsgemisch wird am Rotationsverdampfer eingengt und der Rückstand in 100 mL abs. Dichlormethan aufgenommen. Zu der Lösung werden fünf Tropfen Trifluoressigsäure pipettiert und 20 Minuten lang am Rotationsverdampfer bei leicht reduziertem Druck erhitzt. Das Lösungsmittel wird langsam abgezogen, und das Vorgehen wird wiederholt. Der Rückstand wird in 35 mL *n*-Pentan aufgenommen und in 40 mL kalte 0.8 N Kaliumcarbonat-Lösung eingerührt. Nach 10 Minuten werden die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wird mit Natriumchlorid gesättigt und dreimal mit 50 mL *n*-Pentan extrahiert. Die Pentan-Phasen werden vereinigt und über Natriumsulfat getrocknet. Das Rohprodukt wird eingengt und säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat 8:1) gereinigt. Einfacher gelingt die Reinigung durch Destillation unter reduziertem Druck (K.p.: 28-29°C/ 1 Torr).

Ausbeute: 0.4 g (2.7 mmol) entspricht 20.5% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 4.22 (d, 1H, CH), 2.03-1.98 (m, 1H, $\text{H}_{\text{endo}}(\text{C6})$), 1.83-1.72 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C5})$), 1.66-1.61 (m, 1H, $\text{H}_{\text{exo}}(\text{C6})$), 1.58 (s, 3H, $\text{CH}_3(\text{C1})$), 1.28 (s, 3H, $\text{CH}_3(\text{C3})$), 1.20 (s, 3H, $\text{CH}_3(\text{C3})$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 109.2 (C1), 83.5 (C4), 80.4 (C3), 35.4 (C5), 27.9 (C6), 24.8 (C9), 23.6 (C10), 19.4 (C8).

MS (EI, 70eV): m/z 142 (M^+ , 1), 127 (4), 100 (9), 99 (5), 85 (6), 84 (50), 83 (24), 72 (74), 57 (17), 55 (14), 43 (100).

Darstellung von (S,S)-(-)-1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (51a)

Zu einer Suspension aus 21.0 g AD-mix- α und 50 mL eines Gemisches aus *tert.*-Butanol und Wasser (Verhältnis 1:1) werden bei 0°C 2.0 g (15.8 mmol) 6-Methyl-5-hepten-2-on (**54**) zugegeben. Es wird 36 Stunden lang bei 0°C gerührt, bis sich ein Farbumschlag von orange nach gelb einstellt. Zum Abbruch der Reaktion werden 23.0 g (121 mmol) Natriumdisulfit zugefügt und nach starker Gasentwicklung bei Raumtemperatur 80 mL Dichlormethan zugegeben, der Rückstand gewaschen, mit 100 mL Wasser versetzt und gerührt, bis sich der Feststoff gelöst hat. Nach Trennung der Phasen wird die wässrige Lösung dreimal mit je 80 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit je 200 mL 1 N Kaliumhydroxid-Lösung extrahiert. Alle wässrigen Phasen werden vereinigt, mit

Natriumchlorid gesättigt und dreimal mit je 200 mL Diethylether gewaschen. Die etherischen Phasen werden vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Zur weiteren Umsetzung wird das Rohprodukt in 150 mL trockenem Dichlormethan aufgenommen mit 10 Tropfen Trifluoressigsäure versetzt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer langsam bei Normaldruck und 40°C abdestilliert. Dieser Vorgang wird unter dünnschichtchromatographischer Verfolgung noch zweimal durchgeführt. Das Lösungsmittel wird dann vollständig abdestilliert und das Rohprodukt in 50 mL *n*-Pentan aufgenommen. Die Lösung wird unter Rühren in eine vorgekühlte (Eis/Kochsalz-Gemisch) 2 N Kaliumcarbonat-Lösung eingerührt. Die wäßrige Phase wird dreimal mit jeweils 50 mL *n*-Pentan gewaschen, die organischen Phasen vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Anschließend wird das Rohprodukt im Ölpumpenvakuum (0.1 Torr) destilliert, der Reaktionskolben wird dabei langsam auf 55-60°C erwärmt und die Vorlage mit flüssigem Stickstoff gekühlt.

Ausbeute: 260 mg (1.83 mmol) entspricht 12.2% d. Th.

Charakterisierung:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ [ppm] = 4.22 (d, 1H, **CH**), 2.03-1.98 (m, 1H, **H_{endo}**(C6)), 1.83-1.72 (m, 2H, **CH₂**(C5)), 1.66-1.61 (m, 1H, **H_{exo}**(C6)), 1.58 (s, 3H, **CH₃**(C1)), 1.28 (s, 3H, **endo-CH₃**(C3)), 1.20 (s, 3H, **exo-CH₃**(C3)).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ [ppm] = 109.2 (**C1**), 83.5 (**C4**), 80.4 (**C3**), 35.4 (**C5**), 27.9 (**C6**), 24.8 (**CH₃**(C1)), 23.6 (**endo-CH₃**(C3)), 19.4 (**exo-CH₃**(C3)).

MS (EI, 70eV): m/z 142 (M⁺, 1), 127 (4), 100 (9), 99 (5), 85 (6), 84 (50), 83 (24) 72 (74), 57 (17), 55 (14), 43 (100).

Spezifischer Drehwert: α (589 nm, 20°C): -2.6° (c = 1.36, *n*-Pentan).

Enantiomerenüberschuß: 92.7 % ee.

(Die optische Reinheit wird mittels chiraler Gaschromatographie an einer Heptakis-(6-*O*-*tert*.-butyldimethylsilyl-2,3-di-*O*-methyl)-β-cyclodextrinphase (gelöst in OV-1701 50%, 25 m, 0.25 mm I.D.) bei 50°C isotherm bestimmt).

Darstellung von (*R,R*)-(+)-1,3,3-Trimethyl-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (51b)

Zu einer Suspension aus 5.6 g AD-mix- β und 50 mL eines Gemisches aus *tert.*-Butanol und Wasser (Verhältnis 1:1) werden bei 0°C 1.0 g (7.9 mmol) 6-Methyl-5-hepten-2-on (**54**) zugegeben. Es wird 36 Stunden bei 0°C gerührt, bis sich ein Farbumschlag von orange nach gelb einstellt. Zum Abbruch der Reaktion werden 15.0 g (79 mmol) Natriumdisulfit zugefügt und nach starker Gasentwicklung bei Raumtemperatur 80 mL Dichlormethan zugegeben. (Die weitere Vorgehensweise ist analog zur Darstellung von **51a** oben).

Ausbeute: 480 mg (3.4 mmol) entspricht 43.3 % d. Th.

Charakterisierung:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ [ppm] = 4.22 (d, 1H, CH), 2.03-1.98 (m, 1H, H_{endo}(C6)), 1.83-1.72 (m, 2H, CH₂(C5)), 1.66-1.61 (m, 1H, H_{exo}(C6)), 1.58 (s, 3H, CH₃(C1)), 1.28 (s, 3H, *endo*-CH₃(C3)), 1.20 (s, 3H, *exo*-CH₃(C3)).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ [ppm] = 109.2 (C1), 83.5 (C4), 80.4 (C3), 35.4 (C5), 27.9 (C6), 24.8 (CH₃(C1)), 23.6 (*endo*-CH₃(C3)), 19.4 (*exo*-CH₃(C3)).

MS (EI, 70eV): *m/z* 142 (M⁺, 1), 127 (4), 100 (9), 99 (5), 85 (6), 84 (50), 83 (24), 72 (74), 57 (17), 55 (14), 43 (100).

Spezifischer Drehwert: α (589 nm, 20°C): +2.8° (c = 1.25, *n*-Pentan).

Enantiomerenüberschuß: 98 % ee.

(Die optische Reinheit wird mittels chiraler Gaschromatographie an einer Heptakis-(6-*O-tert.*-butyldimethylsilyl-2,3-di-*O*-methyl)- β -cyclodextrinphase (gelöst in OV-1701 50%, 25 m, 0.25 mm I.D.) bei 50°C isotherm bestimmt).

Darstellung von 1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (52)

6.5 g (33.5 mmol) technisches Geranylaceton (35% Nerylaceton) (**59**) werden in einer Lösung aus 200 mL Dichlormethan und 50 mL einer 10%igen wässrigen Natriumhydrogencarbonat-Lösung suspendiert und auf 0°C gekühlt. Danach werden innerhalb von zwei Stunden 13.7 g (63.7 mmol) (1.9 eq.) *m*-CPBA (80%) zugegeben. Danach

wird noch drei Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Phase wird abgetrennt, einmal mit 70 mL 1 N Natriumhydroxid-Lösung und zweimal mit je 50 mL Wasser gewaschen. Nach Trocknung der organischen Phase über Natriumsulfat wird das Rohprodukt in 150 mL abs. Dichlormethan gelöst, mit fünf Tropfen Trifluoressigsäure versetzt und 20 Minuten lang unter Rückfluß erhitzt. Das Lösungsmittel wird langsam unter reduziertem Druck am Rotationsverdampfer eingeengt und das obige Vorgehen dreimal wiederholt. Der Rückstand wird in 50 mL *n*-Pentan aufgenommen und in 40 mL kalte 0.8 N Kaliumcarbonat-Lösung eingerührt. Nach 10 Minuten werden die Phasen getrennt, die wäßrige Phase mit Natriumchlorid gesättigt und dreimal mit 50 mL *n*-Pentan extrahiert. Die *n*-Pentan-Phasen werden vereinigt und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert und der Rückstand säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat 12:1 und 0.8% Triethylamin) vorgereinigt. Die Trennung von Edukten und Produkten gelingt durch erneute Säulenchromatographie über Kieselgel (Laufmittel: Dichlormethan). Es eluieren nacheinander *endo*-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxa-bicyclo[2.2.1]heptan (**52a**) und *exo*-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxa-bicyclo[2.2.1]heptan (**52b**) von der Säule.

Ausbeute: 10 mg (0.07 mmol) *endo*-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxa-bicyclo[2.2.1]heptan (**52a**) entspricht 3.7% d. Th.

80 mg (0.56 mmol) *exo*-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]-heptan (**52b**) entspricht 1.2% d. Th.

Charakterisierung:

¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆) δ [ppm] = 5.21 (t, 1H, CH(C12)), 4.03 (d, 1H, CH(C4)), 2.23-2.00 (m, 2H, CH₂(C11)), 1.72-1.58 (m, 2H, CH₂(C10)), 1.68 (s, 3H, (*E*)-CH₃(C14)), 1.61-1.40 (m, 2H, CH₂(C5)), 1.56 (s, 3H, (*Z*)-CH₃(C4)), 1.54 (s, 3H, CH₃(C8)), 1.48 (m, 2H, CH₂(C6)), 1.11 (s, 3H, CH₃(C9)).

¹³C-NMR (126 MHz, C₆D₆) δ [ppm] = 130.0 (C13), 125.4 (C12), 109.0 (C1), 82.2 (C4), 82.1 (C3), 41.1 (C10), 36.2 (C5), 26.0 ((*E*)-CH₃(C14)), 25.3 (C6), 23.5 (C11), 21.1 (CH₃(C9)), 19.8 (CH₃(C8)), 17.8 ((*Z*)-CH₃(C14)).

endo-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxa-bicyclo[2.2.1]heptan (**52a**):

MS (EI, 70eV): m/z 210 (M^+ , 1), 135 (2), 128 (12), 127 (7), 125 (3), 121 (2), 113 (2), 111 (2), 110 (3), 109 (5), 107 (4), 99 (2), 95 (5), 85 (6), 84 (10), 83 (7), 82 (4), 81 (3), 79 (2), 71 (7), 70 (3), 69 (8), 68 (2), 67 (5), 58 (2), 57 (2), 56 (2), 55 (12), 54 (2), 53 (6), 45 (2), 44 (5), 43 (100), 42 (4), 41 (37), 40 (7), 39 (11).

exo-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxa-bicyclo[2.2.1]heptan (**52b**):

MS (EI, 70eV): m/z 210 (M^+ , 1), 150 (2), 135 (5), 128 (6), 127 (6), 109 (6), 107 (3), 99 (4), 95 (4), 85 (3), 84 (15), 83 (4), 82 (2), 81 (2), 71 (6), 70 (3), 69 (9), 68 (2), 67 (5), 58 (2), 57 (2), 55 (12), 53 (6), 45 (2), 44 (4), 43 (100), 42 (4), 41 (34), 40 (4), 39 (9).

Darstellung von *endo*-(*S,S*)-(-)-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (52c**) und *exo*-(*S,S*)-(-)-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**52e**)**

Zu einer Suspension aus 50.0 g AD-mix- α und 100 mL eines Gemisches aus *tert.*-Butanol und Wasser (Verhältnis 1:1) werden bei 0°C 7.1 g (36.3 mmol) 6,10-Dimethyl-(5*E*,9)-undecadien-2-on (technisches Geranylaceton: 65 % Geranylaceton, 35 % Nerylaceton) (**59**) zugegeben. Es wird bei 0°C 42 Stunden gerührt, bis sich ein Farbumschlag von orange nach gelb einstellt. Zum Abbruch der Reaktion werden 55.0 g (291 mmol) Natriumdisulfit zugefügt und nach starker Gasentwicklung werden bei Raumtemperatur 150 mL Dichlormethan zugegeben, der Rückstand gewaschen, mit 200 mL Wasser versetzt und so lange gerührt, bis sich der Feststoff gelöst hat. Nach Trennung der Phasen wird die wässrige Lösung dreimal mit je 150 mL Dichlormethan extrahiert, anschließend die organischen Phasen vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert.

Zur weiteren Umsetzung wird das Rohprodukt in 200 mL trockenem Dichlormethan aufgenommen und mit fünf Tropfen Trifluoressigsäure versetzt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer langsam bei Normaldruck und 40°C abdestilliert. Dieser Vorgang wird unter dünnschichtchromatographischer Verfolgung nochmals durchgeführt. Das Lösungsmittel wird dann vollständig abdestilliert und das Rohprodukt in 80 mL *n*-Pentan aufgenommen. Die Lösung wird unter Rühren in eine gekühlte (Eis/Kochsalz-Gemisch) 2 N Kaliumcarbonat-Lösung eingerührt. Die wässrige Phase wird dreimal mit jeweils 80 mL *n*-Pentan gewaschen, die organischen Phasen vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet und

das Lösungsmittel abdestilliert. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Dichlormethan/Petrolether 2:1, 0.5% Triethylamin) gereinigt.

Ausbeute:

2.2 g (10.5 mmol) *endo*-(*S,S*)-(-)-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**52c**) entspricht 28.8% d. Th.

140 mg (0.7 mmol) *exo*-(*S,S*)-(-)-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**52e**) entspricht 1.8% d. Th.

Charakterisierung:

¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆) δ [ppm] = 5.21 (t, 1H, CH(C12)), 4.03 (d, 1H, CH(C4)), 2.23-2.00 (m, 2H, CH₂(C11)), 1.72-1.58 (m, 2H, CH₂(C10)), 1.68 (s, 3H, (*E*)-CH₃(C14)), 1.61-1.40 (m, 2H, CH₂(C5)), 1.56 (s, 3H, (*Z*)-CH₃(C4)), 1.54 (s, 3H, CH₃(C8)), 1.48 (m, 2H, CH₂(C6)), 1.11 (s, 3H, CH₃(C9)).

¹³C-NMR (126 MHz, C₆D₆) δ [ppm] = 130.0 (C13), 125.4 (C12), 109.0 (C1), 82.2 (C4), 82.1 (C3), 41.1 (C10), 36.2 (C5), 26.0 ((*E*)-CH₃(C14)), 25.3 (C6), 23.5 (C11), 21.1 (CH₃(C9)), 19.8 (CH₃(C8)), 17.8 ((*Z*)-CH₃(C14)).

endo-(*S,S*)-(-)-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxa-bicyclo[2.2.1]heptan (**52c**):

MS (EI, 70eV): m/z 210 (M⁺, 1), 135 (2), 128 (12), 127 (7), 125 (3), 121 (2), 113 (2), 111 (2), 110 (3), 109 (5), 107 (4), 99 (2), 95 (5), 85 (6), 84 (10), 83 (7), 82 (4), 81 (3), 79 (2), 71 (7), 70 (3), 69 (8), 68 (2), 67 (5), 58 (2), 57 (2), 56 (2), 55 (12), 53 (6), 45 (2), 44 (5), 43 (100), 42 (4), 41 (37), 40 (7), 39 (11).

exo-(*S,S*)-(-)-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxa-bicyclo[2.2.1]heptan (**52e**):

MS (EI, 70eV): m/z 210 (M⁺, 1), 150 (2), 135 (5), 128 (6), 127 (6), 109 (6), 107 (3), 99 (4), 95 (4), 85 (3), 84 (15), 83 (4), 82 (2), 81 (2), 71 (6), 70 (3), 69 (9), 68 (2), 67 (5), 58 (2), 57 (2), 55 (12), 53 (6), 45 (2), 44 (4), 43 (100), 42 (4), 41 (34), 40 (4), 39 (9).

Spezifischer Drehwert:

endo-Produkt **52c**: α (589 nm, 20°C): -21.5° (c = 1.36, *n*-Pentan).

exo-Produkt **52e**: α (589 nm, 20°C): -78.2° (c = 1.25, *n*-Pentan).

Enantiomerenüberschuß:

endo-Produkt **52c**: 91.4 % ee.

exo-Produkt **52e**: 90.1 % ee.

(Die optische Reinheit wird mittels chiraler Gaschromatographie an einer Heptakis-(6-*O*-*tert*.-butyldimethylsilyl-2,3-di-*O*-methyl)- β -cyclodextrinphase (gelöst in OV-1701 50%, 25 m, 0.25 mm I.D.) bei 50°C isotherm bestimmt).

Darstellung von *endo*-(*R,R*)-(+)-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (52d**) und *exo*-(*R,R*)-(+)-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**52f**)**

Zu einer Suspension aus 50.0 g AD-mix- β und 100 mL eines Gemisches aus *tert*.-Butanol und Wasser (Verhältnis 1:1) werden bei 0°C 7.1 g (36 mmol) 6,10-Dimethyl-(5*E*,9)-undecadien-2-on (technisches Geranylaceton: 65% Geranylaceton und 35% Nerylaceton) (**59**) zugegeben. Es wird bei 0°C 42 Stunden gerührt.

(Die weitere Vorgehensweise ist analog der Darstellung von **52c** bzw. **52e** oben).

Ausbeute:

230 mg (1.1 mmol) *endo*-(*R,R*)-(+)-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**52d**) entspricht 3.0% d. Th.

40 mg (0.2 mmol) *exo*-(*R,R*)-(+)-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxabicyclo[2.2.1]heptan (**52f**) entspricht 0.5% d. Th.

Charakterisierung:

¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆) δ [ppm] = 5.21 (t, 1H, CH(C12)), 4.03 (d, 1H, CH(C4)), 2.23-2.00 (m, 2H, CH₂(C11)), 1.72-1.58 (m, 2H, CH₂(C10)), 1.68 (s, 3H, (*E*)-CH₃(C14)), 1.61-1.40 (m, 2H, CH₂(C5)), 1.56 (s, 3H, (*Z*)-CH₃(C4)), 1.54 (s, 3H, CH₃(C8)), 1.48 (m, 2H, CH₂(C6)), 1.11 (s, 3H, CH₃(C9)).

¹³C-NMR (126 MHz, C₆D₆) δ [ppm] = 130.0 (C13), 125.4 (C12), 109.0 (C1), 82.2 (C4), 82.1 (C3), 41.1 (C10), 36.2 (C5), 26.0 ((*E*)-CH₃(C14)), 25.3 (C6), 23.5 (C11), 21.1 (CH₃(C9)), 19.8 (CH₃(C8)), 17.8 ((*Z*)-CH₃(C14)).

endo-(*R,R*)-(+)-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxa-bicyclo[2.2.1]heptan (**52d**):
MS (EI, 70eV): m/z 210 (M^+ , 1), 135 (2), 128 (12), 127 (7), 125 (3), 121 (2), 113 (2), 111 (2), 110 (3), 109 (5), 107 (4), 99 (2), 95 (5), 85 (6), 84 (10), 83 (7), 82 (4), 81 (3), 79 (2), 71 (7), 70 (3), 69 (8), 68 (2), 67 (5), 58 (2), 57 (2), 56 (2), 55 (12), 53 (6), 45 (2), 44 (5), 43 (100), 42 (4), 41 (37), 40 (7), 39 (11).

exo-(*R,R*)-(+)-1,3-Dimethyl-3-(4-methylpent-3-enyl)-2,7-dioxa-bicyclo[2.2.1]heptan (**52f**):
MS (EI, 70eV): m/z 210 (M^+ , 1), 150 (2), 135 (5), 128 (6), 127 (6), 109 (6), 107 (3), 99 (4), 95 (4), 85 (3), 84 (15), 83 (4), 82 (2), 81 (2), 71 (6), 70 (3), 69 (9), 68 (2), 67 (5), 58 (2), 57 (2), 55 (12), 53 (6), 45 (2), 44 (4), 43 (100), 42 (4), 41 (34), 40 (4), 39 (9).

Spezifischer Drehwert:

endo-Produkt **52d**: α (589 nm, 20°C): = +16.2° (c = 1.08, *n*-Pentan).

exo-Produkt **52f**: α (589 nm, 20°C): = +80.3° (c = 0.11, *n*-Pentan).

Enantiomerenüberschuß:

endo-Produkt **52d**: 81.2 % ee.

exo-Produkt **52f**: 88.5 % ee.

(Die optische Reinheit wird mittels chiraler Gaschromatographie an einer Heptakis-(6-*O*-*tert*.-butyldimethylsilyl-2,3-di-*O*-methyl)- β -cyclodextrinphase (gelöst in OV-1701 50%, 25 m, 0.25 mm I.D.) bei 50°C isotherm bestimmt).

6.12.2 Synthesen von Alkylbromiden

Darstellung von 2-Bromhexan

Eine Lösung von 25.0 g (245 mmol) 2-Hexanol in 250 mL abs. Diethylether wird auf 0°C gekühlt und langsam mit 22.7 g (85 mmol) frisch destilliertem Phosphortribromid versetzt. Der Ansatz wird anschließend bei Raumtemperatur 2 Stunden lang gerührt. Die Reaktionslösung wird mit Wasser hydrolysiert und die organische Phase abgetrennt. Die wäßrige Phase wird noch dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und unter Normaldruck destilliert.

Ausbeute: 20.0 g (121 mmol) entspricht 50.1% d. Th.

Charakterisierung:

MS (EI, 70eV): m/z 166 (M^+ , 0.1), 164 (M^+ , 0.1), 121 (1), 109 (1), 99 (3), 86 (53), 69 (4), 57 (14), 56 (7), 55 (13), 53 (2), 44 (3), 43 (100), 42 (16), 41 (31), 39 (11).

Darstellung von 1-Brom-2-methylbutan

27.5 g (313 mmol) 2-Methylbutan-1-ol werden in 250 mL abs. Diethylether gelöst, im Eisbad auf 0°C gekühlt und unter Argonatmosphäre langsam mit 33.8 g (125 mmol) Phosphortribromid versetzt. Bei Raumtemperatur wird 1.5 Stunden lang gerührt. Die Reaktionslösung wird anschließend mit 200 mL Wasser hydrolysiert und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wird dreimal mit jeweils 30 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit.

Ausbeute: 38.3 g (253 mmol) entspricht 81.0% d. Th.

Charakterisierung:

MS (EI, 70eV): m/z 152 (M^+ , 1), 150 (M^+ , 1), 123 (4), 121 (4), 95 (3), 93 (3), 81 (1), 79 (1), 71 (100), 57 (30), 55 (39), 43 (65), 41 (82).

Darstellung von (S)-1-Brom-2-methylbutan

Eine Lösung von 10.0 g (113 mmol) (S)-2-Methyl-1-butanol in 100 mL abs. Diethylether wird auf 0°C gekühlt und langsam mit 12.3 g (46 mmol) Phosphortribromid versetzt. Der Ansatz wird 90 Minuten lang bei Raumtemperatur gerührt und dann mit 50 mL Wasser hydrolysiert.

Nach Trennung der organischen Phase wird die wässrige Phase dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Anschließend wird das Lösungsmittel destillativ im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 15.9 g (105 mmol) entspricht 93.8% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 3.85 (m, 1H, CH), 3.50 (dd, 1H, CH_2Br), 3.40 (m, 1H, CH_2Br), 1.72 (m, 1H, CH_2), 1.55 (m, 1H, CH_2), 1.20 (m, 3H, $\text{CH}_3(\text{C}2)$), 0.90 (m, 3H, $\text{CH}_3(\text{C}4)$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 41.15 (CH_2Br), 35.51 (CH), 25.53 (CH_2), 15.29 (CH_3), 11.13 (CH_3).

Darstellung von (*R*)-1-Brom-2-methylbutan

Eine Lösung von 5.0 g (57 mmol) (*R*)-2-Methyl-1-butanol in 50 mL abs. Diethylether wird auf 0°C gekühlt und langsam mit 6.2 g (23 mmol) Phosphortribromid versetzt. Der Ansatz wird 90 Minuten lang bei Raumtemperatur gerührt und dann mit 30 mL Wasser hydrolysiert.

Nach Trennung der organischen Phase wird die wässrige Phase dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Anschließend wird das Lösungsmittel destillativ im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 7.6 g (51 mmol) entspricht 52.6% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 3.83 (m, 1H, CH), 3.47 (dd, 1H, CH_2Br), 3.38 (m, 1H, CH_2Br), 1.75-1.70 (m, 1H, $\text{CH}_2(\text{C}3)$), 1.54 (m, 1H, $\text{CH}_2(\text{C}3)$), 1.18 (m, 3H, $\text{CH}_3(\text{C}2)$), 0.87 (m, 3H, $\text{CH}_3(\text{C}4)$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 41.09 (CH_2Br), 35.46 (CH), 25.49 (CH_2), 15.19 ($\text{CH}_3(\text{C}2)$), 11.11 ($\text{CH}_3(\text{C}4)$).

6.12.3 Synthesen von Wittigsalzen

Darstellung von 2-Butyltriphenylphosphoniumbromid (70)

26.9 g (70 mmol) Propyltriphenylphosphoniumbromid werden unter Argonatmosphäre in 400 mL abs. THF gelöst und in einem Ethanol-Trockeneis-Kältebad auf -20°C gekühlt. Anschließend tropft man vorsichtig 44 mL (70 mmol) einer 1.6 molaren *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan hinzu und rührt 30 Minuten lang. Es werden 9.9 g (70 mmol) frisch

destilliertes Methyljodid hinzugetropft und erneut 30 Minuten gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abdestilliert und das Produkt mit heißem abs. Toluol gewaschen.

Ausbeute: 16.1 g (40 mmol) entspricht 57.5% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 8.00-7.72 (m, 15H, $\text{CH}_{\text{Ar.}}$), 5.32 (m, 1H, CH), 2.06 (m, 2H, CH_2), 1.33 (m, 6H, 2 x CH_3).

Darstellung von 2-Methylbutyltriphenylphosphinbromid (71)

38.3 g (253 mmol) 1-Brom-2-methylbutan werden in 500 mL abs. Toluol gelöst und mit 66.4 g (253 mmol) Triphenylphosphinbromid versetzt. Die Lösung wird unter Rückfluß und Feuchtigkeitsausschluß 24 Stunden lang erhitzt. Das entstandene Produkt wird über eine Fritte abfiltriert und mit heißem abs. Toluol gewaschen.

Ausbeute: 31.3 g (76 mmol) entspricht 29.9% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 7.89-7.79 (m, 15H, $\text{CH}_{\text{Ar.}}$), 3.82-3.69 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C1})$), 1.79 (m, 1H, CH), 1.48 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C3})$), 0.97 (d, 3H, $\text{CH}_3(\text{C2})$), 0.81 (t, 3H, $\text{CH}_3(\text{C4})$).

Darstellung von 3-Methylpentyltriphenylphosphinbromid (72)

30.6 g (299 mmol) 3-Methyl-1-pentanol werden in 250 mL abs. Diethylether gelöst, im Eisbad auf 0°C gekühlt und unter Argonatmosphäre langsam mit 32.3 g (120 mmol) Phosphortribromid versetzt. Bei Raumtemperatur wird 90 Minuten lang gerührt. Die Reaktionslösung wird anschließend mit 200 mL Wasser hydrolysiert und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wird dreimal mit jeweils 100 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert.

Es werden 30.9 g (187 mmol) des Rohproduktes erhalten, in 500 mL abs. Toluol gelöst und mit 49.1 g (187 mmol) Triphenylphosphin versetzt. Die Lösung wird unter Rückfluß und Feuchtigkeitsausschluß 24 Stunden erhitzt. Das entstandene Rohprodukt wird über eine Fritte abfiltriert und mit heißem abs. Toluol gewaschen. Nachfolgend wird über Kieselgel (Laufmittel: 200 mL Dichlormethan, dann 150 mL Methanol) filtriert.

Ausbeute: 26.8 g (63 mmol) entspricht 33.5% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 7.83-7.72 (m, 15H, $\text{CH}_{\text{Ar.}}$), 3.72 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C1})$), 1.79-1.54 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C2})$), 1.73 (m, 1H, CH), 1.41 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C4})$), 0.95 (d, 3H, $\text{CH}_3(\text{C3})$), 0.78 (t, 3H, $\text{H}_3(\text{C5})$).

Darstellung von (S)-2-Methylbutyltriphenylphosphoniumbromid (73)

Eine Lösung von 15.9 g (105 mmol) (S)-1-Brom-2-methylbutan in 100 mL abs. Toluol wird mit 28.0 g (107 mmol) Triphenylphosphin versetzt. Die Lösung wird unter Rückfluß und Feuchtigkeitsausschluß vier Tage lang erhitzt.

Das Lösungsmittel wird destillativ im Vakuum entfernt. Der ausgefallene Feststoff wird mit heißem Toluol gewaschen. Zur Reinigung wird eine Säulenfiltration über Kieselgel (Laufmittel: 300 mL Dichlormethan, dann 200 mL Methanol) durchgeführt.

Ausbeute: 2.0 g (4.9 mmol) entspricht 4.7% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 7.93 (m, 6H, CH_{ortho}), 7.81 (m, 3H, CH_{para}), 7.73 (m, 6H, CH_{meta}), 1.75 (m, 3H, $\text{CH}_2(\text{C1})$), 1.52 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C3})$), 0.97 (t, 3H, $\text{CH}_3(\text{C2})$), 0.85 (t, 3H, $\text{CH}_3(\text{C4})$).

Darstellung von (R)-2-Methylbutyltriphenylphosphoniumbromid (74)

Eine Lösung von 7.5 g (50 mmol) (R)-1-Brom-2-methylbutan in 80 mL abs. Toluol wird mit 13.6 g (52 mmol) Triphenylphosphin versetzt. Die Lösung wird unter Rückfluß und Feuchtigkeitsausschluß vier Tage lang erhitzt. Das Lösungsmittel wird destillativ im Vakuum entfernt. Der ausgefallene Feststoff wird mit heißem Toluol gewaschen. Zur Reinigung wird

eine Säulenfiltration über Kieselgel (Laufmittel: 200 mL Dichlormethan, dann 150 mL Methanol) durchgeführt.

Ausbeute: 0.2 g (0.5 mmol) entspricht 1.0% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 7.91-7.70 (m, 15H, CH_{Ar}), 1.73 (m, 3H, $\text{CH}_2(\text{C1})$), 1.50 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C3})$), 0.94 (t, 3H, $\text{CH}_3(\text{C2})$), 0.82 (t, 3H, $\text{CH}_3(\text{C4})$).

Darstellung von 2-Hexyltriphenylphosphoniumbromid (75)

Ein Gemisch aus 20.0 g (121 mmol) 2-Bromhexan wurden in 200 mL abs. Toluol gelöst und mit 32.2 g (123 mmol) Triphenylphosphin 48 Stunden lang auf 190°C unter Feuchtigkeitsausschluß erhitzt. Es bilden sich zwei Phasen. Das Lösungsmittel wird abdestilliert, und der Feststoff wird mit heißem abs. Toluol gewaschen. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über 150 g Kieselgel filtriert, indem man mit 500 mL Dichlormethan die Nebenprodukte abtrennt und anschließend mit 200 mL Methanol das Wittigsalz gewinnt.

Ausbeute: 2.3 g (5.4 mmol) entspricht 4.4% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{TMS}$) δ [ppm] = 8.15-7.88 (m, 15H, CH_{Ar}), 4.44-4.28 (m, 1H, CH), 1.93-1.32 (m, 6H, CH_2), 1.18 (m, 3H, $\text{CH}_3(\text{C1})$), 0.98 (t, 3H, $\text{CH}_3(\text{C6})$).

Darstellung von Hexyltriphenylphosphinbromid

Es werden 133 g (0.81 mol) 1-Bromhexan und 211 g (0.81 mol) Triphenylphosphin in 1 L abs. Toluol gelöst und 48 Stunden unter Rückfluß und Feuchtigkeitsausschluß gekocht. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und mit heißem abs. Toluol gewaschen. Nachfolgend wird über Kieselgel (Laufmittel: 500 mL Dichlormethan, dann 400 mL Methanol) filtriert.

Ausbeute: 170.9 g (0.40 mol) entspricht 49.6% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 7.76-7.65 (m, 15H, $\text{CH}_{\text{Ar.}}$), 3.85-3.75 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C1})$), 1.49-1.61 (m, 4H, $\text{CH}_2(\text{C2,C3})$), 1.12-1.31 (m, 4H, $\text{CH}_2(\text{C4,C5})$), 0.85 (t, 3H, CH_3).

Darstellung von Octyltriphenylphosphinbromid

Es werden 133 g (0.69 mol) 1-Bromoctan und 180 g (0.69 mol) Triphenylphosphin in 1 L abs. Toluol gelöst und 48 Stunden lang unter Rückfluß und Feuchtigkeitsausschluß erhitzt. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und mit heißem abs. Toluol gewaschen. Nachfolgend wird über Kieselgel (Laufmittel: 500 mL Dichlormethan, dann 400 mL Methanol) filtriert.

Ausbeute: 167.1 g (0.37 mol) entspricht 53.3% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 7.89-7.65 (m, 15H, $\text{CH}_{\text{Ar.}}$), 3.85-3.73 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C1})$), 1.61-1.49 (m, 4H, $\text{CH}_2(\text{C2,C3})$), 1.12-1.31 (m, 8H, $\text{CH}_2(\text{C4-C7})$), 0.83 (t, 3H, CH_3).

Darstellung von Decyltriphenylphosphinbromid (78)

Es werden 132 g (0.60 mol) 1-Bromdecan und 157.0 g (0.60 mol) Triphenylphosphin in 1 L abs. Toluol gelöst und 48 Stunden lang unter Rückfluß und Feuchtigkeitsausschluß erhitzt. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und mit heißem abs. Toluol gewaschen. Nachfolgend wird über Kieselgel (Laufmittel: 500 mL Dichlormethan, dann 400 mL Methanol) filtriert.

Ausbeute: 130.5 g (0.27 mol) entspricht 45.2 % d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 7.91-7.65 (m, 15H, $\text{CH}_{\text{Ar.}}$), 3.91-3.70 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C1})$), 1.49-1.61 (m, 4H, $\text{CH}_2(\text{C2,C3})$), 1.12-1.31 (m, 12H, $\text{CH}_2(\text{C4-C9})$), 0.81 (t, 3H, CH_3).

Darstellung von Dodecyltriphenylphosphinbromid (79)

Es werden 30.0 g (122 mmol) 1-Bromdodecan und 32.0 g (122 mmol) Triphenylphosphin in 500 mL abs. Toluol gelöst und 48 Stunden unter Rückfluß und Feuchtigkeitsausschluß erhitzt. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und mit heißem abs. Toluol gewaschen. Nachfolgend wird über Kieselgel (Laufmittel: 500 mL Dichlormethan, dann 400 mL Methanol) filtriert.

Ausbeute: 36.0 g (70.5 mmol) entspricht 58.5% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 7.79-7.53 (m, 15H, $\text{CH}_{\text{Ar.}}$), 3.95-3.77 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C1})$), 1.66-1.57 (m, 4H, $\text{CH}_2(\text{C2,C3})$), 1.15-1.33 (m, 16H, $\text{CH}_2(\text{C4-C11})$), 0.87 (t, 3H, CH_3).

6.12.4 Synthesen der „Carbonyl-Bausteine“

Darstellung von Cyclohepten (83)

28.5 g (0.25 mol) Cycloheptanol werden in 6.5 mL 85%iger Phosphorsäure auf 160°C erhitzt. Cyclohepten und Wasser werden über einen Zeitraum von zwei Stunden azeotrop abdestilliert. Das zweiphasige Gemisch wird mit Natriumchlorid gesättigt und das Rohprodukt wird abgetrennt. Nach Trocknung über Magnesiumsulfat wird unter Einsatz einer Vigreux-Kolonnen destillativ gereinigt.

Ausbeute: 8.5 g (88 mmol) entspricht 35.4% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{TMS}$) δ [ppm] = 5.59 (m, 2H, 2 x CH), 1.96 (m, 4H, 2 x CH_2), 1.65-1.52 (m, 6H, 3 x CH_2).

Darstellung von 9-Oxononansäuremethylester (86)

3.0 g (10.1 mmol) Ölsäuremethylester (97) werden in 100 mL Dichlormethan und 20 mL einer 10%igen Natriumhydrogencarbonat-Lösung gelöst und in einem Eisbad auf 0°C gekühlt. Dazu werden 4.3 g (2.0 eq., 25 mmol) *m*-CPBA (80%) gegeben und drei Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Phase wird abgetrennt und mit gesättigter

Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser säurefrei gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat wird das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Das entstandene Epoxid wird in 100 mL Diethylether aufgenommen und mit 5.7 g (2.0 eq., 25 mmol) *para*-Periodsäure versetzt. Es wird 1.5 Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt. Abschließend wäscht man mit 1 N Natronlauge und Wasser säurefrei, trocknet über Magnesiumsulfat und destilliert das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer ab. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat 8:1) gereinigt.

Ausbeute: 1.3 g (6.7 mmol) entspricht 71.8% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 9.76 (t, 1H, CHO), 3.63 (s, 3H, COOCH_3), 2.42 (dt, 2H, $\text{CH}_2(\text{C8})$), 2.30 (t, 2H, $\text{CH}_2(\text{C2})$), 1.31 (m, 10H, $\text{CH}_2(\text{C3-C7})$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 203.5 (CHO), 174.2 (COOCH_3), 52.8 (COOCH_3), 44.1 ($\text{CH}_2(\text{C8})$), 34.5 (-), 29.5 (-), 28.5 (-), 28.3 (-), 25.3 (-), 22.0 (-).

MS (EI, 70eV): m/z 186 (M^+ , 1), 158 (12), 155 (27), 143 (38), 136 (8), 129 (5), 115 (17), 112 (7), 111 (63), 110 (8), 109 (20), 108 (7), 101 (17), 98 (19), 97 (13), 95 (11), 94 (12), 93 (6), 88 (7), 87 (87), 84 (13), 83 (56), 82 (13), 81 (11), 79 (9), 75 (7), 74 (100), 73 (8), 69 (28), 68 (10), 67 (24), 59 (43), 57 (18), 56 (9), 55 (87), 54 (10), 53 (11), 44 (10), 43 (34), 42 (24), 41 (70), 39 (31).

Darstellung von 10-(Tetrahydropyran-2-yloxy)-decan-1-ol

Es werden 20.0 g (115 mmol) 1,10-Decandiol in 200 mL abs. Dichlormethan und 60 mL abs. THF gelöst. Nach Zugabe einer katalytischen Menge von *p*-Toluolsulfonsäure werden 10.4 mL (115 mmol) DHP in 30 mL abs. Dichlormethan bei 0°C zugetropft.

Es wird 24 Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Phase wird dreimal mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen und die wässrige Phase noch zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Anschließend werden die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und nach Zugabe einer Spatelspitze festem Natriumhydrogencarbonat wird das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert.

Das Produktgemisch wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat 4:1) getrennt.

Ausbeute: 10.9 g (42 mmol) entspricht 36.8% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 4.58 (t, 1H, CH), 3.87 (m, 1H, OCH_2Thp), 3.77 (m, 1H, OCH_2), 3.62 (t, 2H, CH_2OH), 3.50 (m, 1H, OCH_2Thp), 3.38 (m, 1H, OCH_2), 1.55-1.30 (m, 22H, 11 x CH_2).

Darstellung von 10-(Tetrahydropyran-2-yloxy)-decanal (87)

Zu einer Lösung von 23.9 g (64 mmol) Pyridiniumdichromat (PDC) in 250 mL Dichlormethan werden unter Eiskühlung 10.9 g (42 mmol) 10-(Tetrahydropyran-2-yloxy)-decan-1-ol in 50 mL Dichlormethan zugetropft.

Nach Beendigung der Reaktion wird der Ansatz auf eine Kieselgelsäule gegeben und mit Diethylether vom PDC getrennt. Das Lösungsmittel wird destillativ im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat 15:1) gereinigt.

Ausbeute: 9.0 g (35 mmol) entspricht 83.1% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 9.75 (t, 1H, CHO), 4.57 (t, 1H, CH), 3.87 (m, 1H, OCH_2Thp), 3.73 (m, 1H, OCH_2), 3.50 (m, 1H, OCH_2Thp), 3.38 (m, 1H, OCH_2), 2.42 (td, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}2)$), 1.57-1.30 (m, 20H, CH_2).

Darstellung von 2-Oxopropansäuremethylester (88)

10.0 g (114 mmol) 2-Oxopropansäure werden zusammen mit 14 mL (300 mmol) Methanol und 0.6 mL konz. Schwefelsäure in 35 mL Tetrachlorkohlenstoff über Nacht unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlung der Reaktionslösung werden die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel destillativ im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat 5:1) gereinigt.

Ausbeute: 4.6 g (45.5 mmol) entspricht 40.1% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 3.88 (s, 3H, COOCH_3), 2.48 (s, 3H, $\text{CH}_3(\text{C}3)$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 191.69 (C=O), 172.39 (COOCH_3), 53.09 (COOCH_3), 26.72 ($\text{CH}_3(\text{C}3)$).

Darstellung von Lävulinsäuremethylester (89)

12.0 g (103 mmol) Lävulinsäure werden zusammen mit 12.5 mL Methanol, ca. 1 mL konz. Schwefelsäure und 35 mL Tetrachlorkohlenstoff über Nacht unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlung der Lösung wird ein großer Teil des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Rohprodukt wird durch Vakuumdestillation 67°C (6 Torr) gereinigt.

Ausbeute: 6.5 g (50 mmol) entspricht 49.7% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 + TMS) δ [ppm] = 3.68 (s, 3H, COOCH_3), 2.78 (t, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}3)$), 2.6 (t, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}2)$), 2.2 (s, 3H, $\text{CH}_3(\text{C}5)$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3 + TMS) δ [ppm] = 206.95 (C=O), 173.57 (COOMe), 52.14 (COOCH_3), 38.32 ($\text{CH}_2(\text{C}3)$), 30.21 ($\text{CH}_3\text{-CO}$), 28.11 ($\text{CH}_2(\text{C}2)$).

7.12.5 Synthese methylverzweigter Fettsäuren

Darstellung von (E,Z)-2-Methyltetradec-2-ensäuremethylester

Es werden 15.7 g (30 mmol) Dodecyltriphenylphosphoniumbromid (**79**) unter Argonatmosphäre bei -78°C in 100 mL abs. THF suspendiert. Dann werden 18.5 mL (30 mmol) einer 1.6 molaren Lösung von *n*-Butyllithium in *n*-Hexan zugetropft. Der Reaktionsansatz färbt sich dabei rot und wird im Argongegenstrom zu einer Lösung von 3.1 g (30 mmol) 2-Oxopropansäuremethylester in 150 mL abs. THF bei -78°C gegeben. Nach vier Stunden wird der Reaktionsansatz mit 50 mL Wasser hydrolysiert und dreimal mit Petrolether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel destillativ im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird in wenig Petrolether

aufgenommen und auf -10°C gekühlt. Ausgefallenes Triphenylphosphinoxid wird abfiltriert. Der Vorgang wird mehrfach wiederholt.

Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel Petrolether/Ethylacetat 30:1).

Ausbeute: 1.3 g (5 mmol) entspricht 18.1% d. Th.

Charakterisierung:

(*E*)-2-Methyltetradec-2-ensäuremethylester:

MS (EI, 70eV): m/z 254 (M^+ , 12), 223 (12), 157 (12), 127 (92), 114 (19), 101 (90), 96 (68), 88 (91), 81 (34), 69 (63), 67 (65), 55 (92), 43 (94), 41 (100).

(*Z*)-2-Methyltetradec-2-ensäuremethylester:

MS (EI, 70eV): m/z 254 (M^+ , 5), 223 (12), 127 (32), 101 (95), 88 (91), 69 (65), 67 (65), 57 (62), 55 (86), 43 (98), 41 (100).

Darstellung von (*E,Z*)-2-Methyltetradec-2-ensäure

Es werden 1.3 g (5 mmol) (*E,Z*)-2-Methyltetradec-2-ensäuremethylester zusammen mit 6.0 g (107 mmol) Kaliumhydroxid in 100 mL abs. Ethanol gelöst und 1 Stunde lang unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlung wird die Reaktionslösung bis auf die Trockene eingeeengt und der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen. Die Lösung wird mit halbkonzentrierter Salzsäure angesäuert und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet, und das Lösungsmittel wird destillativ im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 1.2 g (5 mmol) entspricht 99.3% d. Th.

Charakterisierung:

^{13}C -NMR (101 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 173.50 (COOH), 145.51 (CH_{trans}), 144.71 (CH_{cis}), 126.89 (C2), 29.84 (-), 29.54 (-), 28.32 (-), 27.11 (-), 27.01 (-), 24.81 (-), 24.13 (-), 22.79 (-), 21.55 (-), 20.49 (-), 14.12 ($\text{CH}_3(\text{C}2)$), 11.97 ($\text{CH}_3(\text{C}14)$).

MS (EI, 70eV): m/z 240 (M^+ , 0.14), 87 (24), 74 (10), 69 (17), 67 (14), 57 (21), 55 (35), 53 (14), 43 (91), 41 (100), 39 (27).

Darstellung von 2-Methyltetradecansäure (66)

Es werden 1.2 g (5.1 mmol) (*E,Z*)-2-Methyltetradec-2-ensäure in 50 mL *n*-Hexan gelöst und mit drei Spatelspitzen Pd/C-Katalysator versetzt. Dann wird die Reaktionslösung bei 45 bar Wasserstoffdruck hydriert. Nach beendeter Reaktion wird filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert.

Ausbeute: 0.9 g (3.8 mmol) entspricht 74.6% d. Th.

Charakterisierung:

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ [ppm] = 183.17 (COOH), 39.35 (CH), 30.84 (-), 29.10 (-), 28.37 (-), 27.79 (-), 27.34 (-), 25.66 (-), 24.90 (-), 22.70 (-), 22.29 (-), 21.01 (-), 20.43 (-), 18.83 (CH₃(C2)), 11.13 (CH₃(C14)).

MS (EI, 70eV): m/z 242 (M⁺, 2), 143 (7), 129 (8), 87 (44), 83 (6), 74 (100), 73 (10), 71 (6), 69 (17), 59 (5), 57 (20), 56 (8), 55 (35), 45 (11), 43 (44), 42 (8), 41 (51.37), 39 (8).

Darstellung von 12-Methyltetradecansäure (68)

5.2 g (12 mmol) 3-Methylpentyltriphenylphosphinbromid (**72**) werden unter Argonatmosphäre in 80 mL abs. THF suspendiert und im Eisbad auf 0°C gekühlt. Die Suspension wird tropfenweise mit 7 ml (12 mmol) einer 1.7 molaren *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan versetzt. Die Reaktionslösung bildet eine klare, tiefrote Lösung. Anschließend werden 2.3 g (12 mmol) 9-Oxononansäuremethylester unter Argonatmosphäre in 15 mL abs. THF gelöst, auf 0°C gekühlt und vorsichtig zur ersten Lösung hinzugegeben. Die ursprünglich tiefrote Lösung entfärbt sich schnell zu einer beigefarbenen Suspension. Abschließend wird 2 Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt.

Der Ansatz wird mit 100 mL Wasser hydrolysiert und mehrfach mit Petrolether extrahiert. Die organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Der Rückstand wird mit *n*-Hexan aufgenommen und das entstandene Triphenylphosphinoxid mehrfach ausgefroren. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat 30:1) gereinigt. Es werden 0.2 g (0.7 mmol) (5.8% d. Th.) (*E,Z*)-12-Methyltetradec-9-ensäuremethylester erhalten.

0.2 g (0.7 mmol) des Zwischenprodukts werden in 10 mL ethanolischer Kaliumhydroxid-Lösung (2.5 g in 50 mL Ethanol) gelöst und 1 Stunde lang unter Rückfluß gekocht. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abdestilliert und das entstandene Kaliumsalz der

Carbonsäure in wenig Wasser aufgenommen. Es bildet sich eine tiefrote Lösung. Mit halbkonzentrierter Salzsäure wird bis pH 1 angesäuert, mit Diethylether mehrfach extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Man erhält 130 mg (0.5 mmol) (75.3% d. Th.) (*E,Z*)-12-Methyltetradec-9-ensäure, die nicht weiter gereinigt wird.

Das (*E,Z*)-Gemisch der 12-Methyltetradec-9-ensäure wird in 20 mL *n*-Hexan gelöst und mit drei Spatelspitzen Palladium-Aktivkohle-Katalysator versetzt. Anschließend wird ca. 48 Stunden lang in einem Autoklaven mit 40 bar Wasserstoffdruck hydriert. Nach Abschluß der Reaktion wird der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt.

Ausbeute: 0.1 g (0.5 mmol) entspricht 98.6% d. Th.

Charakterisierung:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ [ppm] = 2.35 (t, 2H, CH₂(C2)), 1.68-1.59 (m, 1H, CH(C12)), 1.47-1.27 (m, 20H, CH₂(C3-C13)), 0.90-0.81 (m, 6H, 2 x CH₃).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ [ppm] = 180.40 (COOH), 36.66 (-), 34.43 (-), 34.13 (-), 30.01 (-), 29.95 (-), 29.70 (-), 29.65 (-), 29.47 (-), 29.27 (-), 29.09 (-), 27.12 (-), 23.52 (CH), 19.24 (CH₃(C12)), 11.42 (CH₃(C14)).

MS (EI, 70eV): m/z 242 (M⁺, 1), 241 (3), 239 (1), 227 (8), 214 (1), 213 (5), 209 (1), 199 (3), 191 (3), 185 (5), 172 (1), 171 (5), 167 (1), 157 (2), 144 (2), 143 (17), 135 (3), 129 (7), 125 (3), 115 (10), 111 (7), 101 (7), 97 (10), 95 (5), 87 (63), 81 (5), 75 (18), 74 (100), 69 (24), 67 (5), 65 (1), 59 (12), 57 (36), 55 (39), 53 (2), 43 (35), 41 (29).

Darstellung von (*E,Z*)-8-Methyldodec-7-ensäure

Es werden 8.3 g (86 mmol) Cyclohepten (**83**) in 150 mL abs. Dichlormethan gelöst und auf -70°C abgekühlt. Dann wird über einen Zeitraum von ca. zwei Stunden Ozon eingeleitet. Anschließend wird 30 Minuten lang Sauerstoff durch die Reaktionslösung geleitet, um überschüssiges Ozon zu entfernen. Es wird im Vakuum eingeengt (Kälteedestillation), der Rückstand anschließend in 100 mL abs. THF aufgenommen und auf -70°C gekühlt.

Inzwischen werden 35.7 g (86 mmol) Pentyltriphenylphosphoniumbromid in 150 mL abs. THF suspendiert und auf -70°C abgekühlt. 54 mL (87 mmol) einer 1.6 molaren

n-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan werden hinzugetropft. Anschließend werden 5 mL (85 mmol) Methyljodid zugetropft. Nach beendeter Reaktion wird wiederum mit 54 mL (85 mmol) einer 1.6 molaren *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan deprotoniert. Die beiden Lösungen werden im Argongegenstrom zusammengegeben.

Nach 4 Stunden wird der Reaktionsansatz mit 100 mL Wasser hydrolysiert. Es wird dreimal mit Petrolether extrahiert. Die wässrige Phase wird dann mit verdünnter Salzsäure angesäuert und dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel destillativ im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird in Petrolether aufgenommen und auf -10°C gekühlt. Das ausgefrorene Triphenylphosphinoxid wird abfiltriert und der Vorgang wiederholt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat 30:1) gereinigt.

Ausbeute: 0.2 g (0.9 mmol) entspricht 3.2% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 5.08 (m, 1H, CH), 2.35 (t, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}2)$), 1.43-1.21 (m, 14H, $\text{CH}_2(\text{C}3\text{-C}11)$), 0.85 (m, 6H, 2 x CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 176.13 (COOH), 126.55 (C8), 125.31 (CH_{trans}), 124.89 (CH_{cis}), 39.44 (-), 34.53 (-), 33.10 (-), 29.21 (-), 29.17 (-), 28.28 (-), 25.20 (-), 23.88 (-), 22.44 (CH_3), 14.31 (CH_3).

Darstellung von 8-Methyldodecansäure (69)

Es wird 0.2 g (0.9 mmol) (*E,Z*)-8-Methyldodec-7-ensäure in 5 mL *n*-Hexan gelöst und mit zwei Spatelspitzen Pd/C-Katalysator versetzt. Anschließend wird die Reaktionslösung bei 45 bar Wasserstoffdruck hydriert. Nach Beendung der Reaktion wird filtriert und das Lösungsmittel destillativ im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 0.1 g (0.5 mmol) entspricht 50.3% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 2.35 (t, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}2)$), 1.65 (m, 1H, CH), 1.48-1.25 (m, 16H, $\text{CH}_2(\text{C}3\text{-C}11)$), 0.90-0.85 (m, 6H, 2 x CH_3).

^{13}C -NMR (101 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 179.81 (COOH), 37.10 (-), 34.05 (-), 29.44 (-), 29.37 (-), 29.26 (-), 29.00 (-), 25.71 (-), 24.63 (-), 23.75 (CH), 22.74 (-), 14.03 (CH_3), 11.30 (CH_3).

MS (EI, 70eV): m/z 214 (M^+ , 1), 185 (1), 157 (19), 155 (10), 152 (2), 139 (5), 130 (3), 129 (11), 121 (4), 113 (6), 111 (4), 109 (4), 101 (14), 99 (15), 97 (11), 85 (32), 83 (15), 81 (10), 79 (6), 74 (6), 73 (64), 71 (31), 69 (23), 67 (15), 60 (27), 59 (13), 57 (87), 56 (24), 55 (86), 43 (100), 41 (77), 39 (16).

Darstellung von (*E,Z*)-9-Methyltetradec-8-ensäure

Es werden 9.5 g (86 mmol) Cycloocten (**82**) in abs. 150 mL Dichlormethan gelöst und auf -70°C abgekühlt. Dann wird über einen Zeitraum von ca. zwei Stunden Ozon eingeleitet. Anschließend wird 30 Minuten lang Sauerstoff durchgeleitet die Lösung geleitet, um überschüssiges Ozon auszutreiben. Das Lösungsmittel wird destillativ im Vakuum entfernt, der Rückstand wird anschließend in abs. THF aufgenommen und erneut auf -70°C gekühlt.

Inzwischen werden 36.9 g (86 mmol) Hexyltriphenylphosphoniumbromid in 150 mL abs. THF suspendiert und auf -70°C gekühlt. Dann werden 55 mL (86 mmol) einer 1.6 molaren *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan zugetropft und 5 mL (86 mmol) Methyljodid zugetropft. Nach beendeter Reaktion werden erneut 55 mL (86 mmol) einer 1.6 molaren *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan zugegeben. Es wird der erste Reaktionsansatz langsam im Argongegenstrom hinzugegeben.

Nach vier Stunden wird der Reaktionsansatz mit 100 mL Wasser hydrolysiert. Es wird dreimal mit Petrolether extrahiert. Die wässrige Phase wird mit verdünnter Salzsäure angesäuert und dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel destillativ im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird in Petrolether aufgenommen und auf -10°C gekühlt. Das ausgefrorene Triphenylphosphinoxid wird abfiltriert und der Vorgang wiederholt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: PE/EE 30:1) gereinigt.

Ausbeute: 0.3 g (1.3 mmol) entspricht 4.4% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 5.09 (m, 1H, CH), 2.35 (t, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}2)$), 1.38-1.30 (m, 18H, $\text{CH}_2(\text{C}3\text{-C}13)$), 0.87 (m, 6H, 2 x CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 177.35 (COOH), 125.34 ($\text{C}9$), 125.08 (CH_{trans}), 124.67 (CH_{cis}), 40.07 (-), 34.13 (-), 32.21 (-), 31.91 (-), 30.26 (-), 29.36 (-), 29.25 (-), 28.17 (-), 25.07 (-), 23.79 (-), 22.96 (CH_3), 14.49 (CH_3).

Darstellung von 9-Methyltetradecansäure (91)

Es werden 0.3 g (1.3 mmol) (*E,Z*)-9-Methyltetradec-8-ensäure in 15 mL *n*-Hexan gelöst und mit zwei Spatelspitzen Pd/C-Katalysator versetzt. Dann wird die Reaktionslösung bei 45 bar Wasserstoffdruck hydriert. Nach vollständiger Umsetzung wird filtriert und im Vakuum destilliert. Eine weitere Reinigung war nicht erforderlich.

Ausbeute: 60 mg (0.3 mmol) entspricht 19.8% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 2.35 (t, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}2)$), 1.63 (m, 1H, CH), 1.5-1.2 (m, 20H, $\text{CH}_2(\text{C}3\text{-C}13)$), 0.87 (m, 6H, 2 x CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{TMS}$) δ [ppm] = 179.59 (COOH), 37.46 (-), 34.34 (-); 32.68 (-), 30.20 (-), 30.12 (-), 29.69 (-), 29.49 (-), 27.41 (-), 27.17 (-), 25.12 (-), 23.36 (CH), 23.14 (-), 20.12 (CH_3), 11.83 (CH_3).

MS (EI, 70eV): m/z 242 (M^+ , 0.7), 153 (5), 143 (6), 111 (5), 101 (8), 97 (7), 87 (6), 83 (12), 73 (20), 71 (7), 69 (27), 67 (6), 60 (34), 57 (80), 55 (56), 53 (7), 45 (15), 43 (95), 41 (100), 39 (20).

Darstellung von (*E,Z*)-9-Methyltridec-8-ensäure

Es werden 9.5 g (86 mmol) Cycloocten (**82**) in abs. 150 mL Dichlormethan gelöst und auf -70°C abgekühlt. Dann wird über einen Zeitraum von ca. 2 Stunden Ozon eingeleitet. Anschließend wird 30 Minuten lang Sauerstoff durch die Lösung geleitet, um überschüssiges Ozon auszutreiben. Das Lösungsmittel wird destillativ im Vakuum entfernt, der Rückstand wird anschließend in abs. THF aufgenommen und erneut auf -70°C gekühlt.

Inzwischen werden 35.7 g (86 mmol) Pentyltriphenylphosphoniumbromid in 150 mL abs. THF suspendiert und auf -70°C gekühlt. Dann werden 55 mL (86 mmol) einer 1.6 molaren *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan zugetropft und 5 mL (86 mmol) Methyljodid zugetropft. Nach beendeter Reaktion werden erneut 55 mL (86 mmol) einer 1.6 molaren *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan zugegeben. Es wird der erste Reaktionsansatz langsam im Argongegenstrom hinzugegeben.

Nach 3 Stunden wird der Reaktionsansatz mit 100 mL Wasser hydrolysiert. Es wird dreimal mit Petrolether extrahiert. Die wässrige Phase wird mit verdünnter Salzsäure angesäuert und dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel destillativ im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird in Petrolether aufgenommen und auf -10°C gekühlt. Das ausgefrorene Triphenylphosphinoxid wird abfiltriert und der Vorgang wiederholt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: PE/EE 30:1) gereinigt.

Ausbeute: 0.9 g (4 mmol) entspricht 13.2% d. Th.

Charakterisierung:

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm] = 5.13 (m, 1H, CH), 2.35 (t, 2H, CH₂(C₂)), 1.40-1.31 (m, 16H, CH₂(C₃-C₁₂)), 0.85 (m, 6H, 2 x CH₃).

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃) δ [ppm] = 177.32 (COOH), 125.09 (C₇), 125.23 (CH_{trans}), 124.61 (CH_{cis}), 40.24 (-), 34.09 (-), 32.24 (-), 31.96 (-), 29.31 (-), 29.17 (-), 28.05 (-), 25.11(-), 23.85 (-), 22.91 (CH₃), 14.53 (CH₃).

Darstellung von 9-Methyltridecansäure (92)

Es werden 0.9 g (4 mmol) (*E,Z*)-9-Methyltridec-8-ensäure in 10 mL *n*-Hexan gelöst und mit zwei Spatelspitzen Pd/C-Katalysator versetzt. Dann wird die Reaktionslösung bei 45 bar Wasserstoffdruck hydriert. Nach vollständiger Umsetzung wird filtriert und im Vakuum destilliert. Eine weitere Reinigung war nicht erforderlich.

Ausbeute: 0.8 g (3.5 mmol) entspricht 86.9% d. Th.

Charakterisierung:

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm] = 2.35 (t, 2H, CH₂(C₂)), 1.63 (m, 1H, CH), 1.45-1.23 (m, 18H, CH₂(C₃-C₁₂)), 0.85 (m, 6H, 2 x CH₃).

^{13}C -NMR (126 MHz, CDCl_3 + TMS) δ [ppm] = 178.65 (COOH), 37.33 (-), 34.41 (-); 30.17 (-), 30.11 (-), 29.69 (-), 29.41 (-), 27.38 (-), 27.16 (-), 25.10 (-), 23.35 (CH), 23.10 (-), 15.12 (CH_3), 11.83 (CH_3).

MS (EI, 70eV): m/z 228 (M^+ , 2), 213 (2), 171 (18), 99 (15), 97 (14), 85 (28), 83 (17), 81 (6), 73 (42), 71 (40), 69 (23), 60 (15), 57 (100), 56 (23), 55 (75), 45 (5), 43 (83), 42 (6), 41 (47).

Darstellung von (*E,Z*)-7-Methyltetradec-6-ensäure

Es werden 7.0 g (85 mmol) Cyclohexen (**84**) in 150 mL abs. Dichlormethan gelöst und auf -70°C abgekühlt. Dann wird über einen Zeitraum von ca. zwei Stunden Ozon eingeleitet. Anschließend wird 30 Minuten lang Sauerstoff durch die Reaktionslösung geleitet, um überschüssiges Ozon zu entfernen. Es wird im Vakuum eingeengt (Kälteedestillation), der Rückstand anschließend in 100 mL abs. THF aufgenommen und auf -70°C gekühlt.

Inzwischen werden 38.8 g (85 mmol) Octyltriphenylphosphoniumbromid in 150 mL abs. THF suspendiert und auf -70°C abgekühlt. 54 mL (87 mmol) einer 1.6 molaren *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan werden hinzuge tropft. Anschließend werden 5 mL (85 mmol) Methyljodid zugetropft. Nach beendeter Reaktion wird wiederum mit 54 mL (85 mmol) einer 1.6 molaren *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan deprotoniert. Die beiden Lösungen werden im Argongegenstrom zusammengegeben.

Nach 4 Stunden wird der Reaktionsansatz mit 100 mL Wasser hydrolysiert. Es wird dreimal mit Petrolether extrahiert. Die wässrige Phase wird dann mit verdünnter Salzsäure angesäuert und dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel destillativ im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird in Petrolether aufgenommen und auf -10°C gekühlt. Das ausgefrorene Triphenylphosphinoxid wird abfiltriert und der Vorgang wiederholt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat 30:1) gereinigt.

Ausbeute: 1.0 g (4.2 mmol) entspricht 14.7% d. Th.

Charakterisierung:

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 5.09 (m, 1H, CH), 2.35 (t, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}_2)$), 1.41-1.24 (m, 18H, $\text{CH}_2(\text{C}_3\text{-C}_{13})$), 0.87-0.81 (m, 6H, 2 x CH_3).

^{13}C -NMR (126 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 176.53 (COOH), 126.12 (C7), 125.48 (CH_{trans}), 124.82 (CH_{cis}), 39.46 (-), 34.63 (-), 33.02 (-), 31.84 (-), 30.27 (-), 29.38 (-), 29.26 (-), 28.35 (-), 25.16 (-), 23.83 (-), 22.45 ($\text{CH}_3(\text{C7})$), 14.34 ($\text{CH}_3(\text{C14})$).

Darstellung von 7-Methyltetradecansäure (93)

Es wird 1.0 g (4.17 mmol) (*E,Z*)-7-Methyltetradec-6-ensäure in 15 mL *n*-Hexan gelöst und mit zwei Spatelspitzen Pd/C-Katalysator versetzt. Anschließend wird die Reaktionslösung bei 45 bar Wasserstoffdruck hydriert. Nach Beendigung der Reaktion wird filtriert und das Lösungsmittel destillativ im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 0.8 g (3.4 mmol) entspricht 81.8% d. Th.

Charakterisierung:

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 2.35 (t, 2H, $\text{CH}_2(\text{C2})$), 1.63 (m, 1H, **CH**), 1.47-1.26 (m, 20H, $\text{CH}_2(\text{C3-C13})$), 0.93-0.84 (m, 6H, 2 x CH_3).

^{13}C -NMR (101 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 179.87 (COOH), 37.07 (-), 34.04 (-), 31.94 (-), 29.65 (-), 29.60 (-), 29.45 (-), 29.37 (-), 29.26 (-), 29.08 (-), 24.73 (-), 23.83 (**CH**), 22.71 (-), 14.17 (CH_3), 11.17 (CH_3).

Massenspektrum von 7-Methyltetradecansäuremethylester:

MS (EI, 70eV): m/z 256 (M^+ , 0.4), 157 (11), 129 (7), 125 (8), 101 (7), 97 (19), 87 (63), 85 (6), 83 (17), 81 (6), 75 (15), 74 (100), 71 (14), 69 (27), 67 (8), 59 (20), 57 (34), 56 (14), 55 (70), 43 (68), 42 (11), 41 (54), 39 (7).

Darstellung von (*E,Z*)-14-Methylhexadec-12-ensäure

3.4 g (20 mmol) Cyclododecen (**80**) werden unter Argonatmosphäre in 200 mL abs. Dichlormethan gelöst und in einem Ethanol-Trockeneis-Kältebad auf -70°C gekühlt. Anschließend wird ca. 1 Stunde lang Ozon eingeleitet bis sich die Lösung blau verfärbt. Es wird 2 Stunden lang weitergerührt, bis kein Cyclododecen (**80**) dünnschichtchromatographisch mehr detektierbar (Laufmittel: Diethylether/Aceton 100:1) ist. Danach wird Sauerstoff solange in die Reaktionslösung geleitet, bis sie sich vollständig entfärbt hat. Das Dichlormethan wird ohne Erwärmung im Ölpumpenvakuum bei 0.1 Torr vorsichtig

soweit wie möglich entfernt. Der Rückstand wird in 100 mL abs. THF aufgenommen und auf -70°C gekühlt.

25.0 g (61 mmol) 2-Methylbutyltriphenylphosphoniumbromid (**71**) werden fein gemörst und unter Argonatmosphäre in 200 mL abs. THF suspendiert, in einem Ethanol-Trockeneis-Kältebad auf -70°C gekühlt und mit 36 mL (60 mmol) einer 1.7 molaren *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan versetzt. Die Suspension färbt sich dabei tiefrot.

Es werden die beiden Lösungen im Argongegenstrom zusammengegeben und zwei Stunden gerührt, bis eine weitgehende Entfärbung aufgetreten ist.

Der Ansatz wird mit 300 mL Wasser hydrolysiert, mit 200 mL Petrolether versetzt und mit 20%iger Salzsäure auf pH 1 angesäuert. Die Phasen werden getrennt, und die wässrige Phase wird dreimal mit Petrolether und zweimal mit einem Gemisch aus Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 1:1 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit 2.5 molarer Natriumhydroxid-Lösung gewaschen. Die Säure scheidet sich dabei als braungelbe, ölige Substanz ab. Sie wird abgetrennt, in Methanol aufgenommen, mit Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt. Das Triphenylphosphinoxid wird durch mehrfaches Ausfrieren größtenteils abgetrennt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton 30:1) gereinigt.

Ausbeute: 0.4 g (1.5 mmol) entspricht 7.6% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 5.13-4.90 (m, 2H, $\text{CH}(\text{C12},\text{C13})$), 2.35 (t, 2H, $\text{CH}_2(\text{C2})$), 2.00 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{C11})$), 1.65-1.59 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C12})$), 1.47-1.27 (m, 18H, $\text{CH}_2(\text{C3-C15})$), 0.91 (d, 3H, $\text{CH}_3(\text{C14})$), 0.84 (t, 3H, $\text{CH}_3(\text{C16})$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 178.94 (COOH), 136.12 ($\text{CH}(\text{C13})$), 128.61 ($\text{CH}(\text{C12})$), 33.89 (-), 33.39 (CH), 30.30 (-), 29.94 (-), 29.74 (-), 29.55 (-), 29.51 (-), 29.32 (-), 29.25 (-), 29.08 (-), 27.49 (-), 24.71 (-), 21.07 ($\text{CH}_3(\text{C14})$), 11.96 ($\text{CH}_3(\text{C16})$).

Darstellung von 14-Methylhexadecansäure (94)

0.4 g (1.5 mmol) (*E,Z*)-14-Methylhexadec-12-ensäure werden in 20 mL *n*-Hexan gelöst und mit drei Spatelspitzen Palladium-Aktivkohle-Katalysator versetzt. Anschließend wird ca. 48 Stunden lang in einem Autoklaven mit 40 bar Wasserstoffdruck hydriert. Nach Abschluß der Reaktion wird der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert.

Ausbeute: 0.4 g (1.5 mmol) entspricht 97.8% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 2.35 (t, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}2)$), 1.65 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}14)$), 1.38-1.19 (m, 24H, $\text{CH}_2(\text{C}3\text{-C}15)$), 0.91-0.83 (m, 6H, 2 x CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 179.76 (COOH), 37.06 (-), 34.82 (-), 34.42 (-), 30.45 (-), 30.14 (-), 30.10 (-), 30.07 (-), 30.01 (-), 29.92 (-), 29.85 (-), 29.66 (-), 29.48 (-), 27.53 (-), 24.10 (CH), 15.64 (CH_3), 11.83 (CH_3).

Massenspektrum des 14-Methylhexadecansäuremethylesters:

MS (EI, 70eV): m/z 285 ($\text{M}+1$, 0.7), 284 (M^+ , 3), 255 (3), 241 (6), 227 (4), 199 (8), 185 (9), 157 (3), 143 (20), 135 (3), 129 (7), 125 (4), 121 (3), 115 (5), 111 (7), 109 (39), 101 (8), 98 (4), 97 (17), 95 (6), 88 (5), 87 (749), 85 (5), 84 (4), 83 (21), 81 (7), 75 (20), 74 (100), 71 (13), 70 (7), 69 (34), 67 (8), 59 (19), 57 (55), 56 (13), 55 (61), 53 (4), 43 (64), 41 (52), 39 (5).

Darstellung von (*E,Z*)-7-Methylundec-6-ensäure

Es werden 7.0 g (85 mmol) Cyclohexen (**84**) in 150 mL abs. Dichlormethan gelöst und auf -70°C abgekühlt. Dann wird über einen Zeitraum von ca. 2 Stunden Ozon eingeleitet. Anschließend wird 30 Minuten lang Sauerstoff durch die Reaktionslösung geleitet, um überschüssiges Ozon zu entfernen. Es wird im Vakuum eingeeengt (Kälte-destillation), der Rückstand anschließend in 100 mL abs. THF aufgenommen und auf -70°C gekühlt.

Inzwischen werden 35.2 g (85 mmol) Pentyltriphenylphosphoniumbromid in 150 mL abs. THF suspendiert und auf -70°C abgekühlt. 54 mL (87 mmol) einer 1.6 molaren *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan werden hinzugetropft. Anschließend werden 5 mL (85 mmol) Methyljodid zugetropft. Nach beendeter Reaktion wird wiederum mit 54 mL (85 mmol) einer 1.6 molaren *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan deprotoniert. Die beiden Lösungen werden im Argongegenstrom zusammengegeben.

Nach 7 Stunden wird der Reaktionsansatz mit 100 mL Wasser hydrolysiert. Es wird dreimal mit Petrolether extrahiert. Die wässrige Phase wird dann mit verdünnter Salzsäure angesäuert und dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel destillativ im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird in Petrolether aufgenommen und auf -10°C gekühlt. Das ausgefrorene Triphenylphosphinoxid wird abfiltriert und der Vorgang wiederholt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat 30:1) gereinigt.

Ausbeute: 0.4 g (2 mmol) entspricht 7.1% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 5.11 (m, 1H, CH), 2.34 (t, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}2)$), 1.44-1.21 (m, 12H, $\text{CH}_2(\text{C}3\text{-C}10)$), 0.87 (m, 6H, 2 x CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 175.83 (COOH), 126.04 (C7), 125.39 (CH_{trans}), 124.79 (CH_{cis}), 37.41 (-), 34.61 (-), 31.83 (-), 29.37 (-), 28.33 (-), 25.16 (-), 23.79 (-), 22.40 (CH_3), 14.34 (CH_3).

Darstellung von 7-Methylundecansäure (95)

Es werden 0.4 g (2 mmol) (*E,Z*)-7-Methylundec-6-ensäure in 10 mL *n*-Hexan gelöst und mit zwei Spatelspitzen Pd/C-Katalysator versetzt. Anschließend wird die Reaktionslösung bei 45 bar Wasserstoffdruck hydriert. Nach Beendung der Reaktion wird filtriert und das Lösungsmittel destillativ im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 0.4 g (2 mmol) entspricht 99.1% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 2.35 (t, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}2)$), 1.62 (m, 1H, CH), 1.46-1.24 (m, 14H, $\text{CH}_2(\text{C}3\text{-C}10)$), 0.85 (m, 6H, 2 x CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 178.56 (COOH), 37.09 (-), 34.01 (-), 31.76 (-), 29.44 (-), 29.07 (-), 29.45 (-), 24.70 (-), 23.91 (CH), 22.55 (-), 14.17 (CH_3), 11.17 (CH_3).

MS (EI, 70eV): m/z 200 (M^+ , 0.1), 143 (10), 115 (3), 99 (8), 85 (24), 83 (10), 73 (47), 71 (28), 60 (29), 55 (63), 45 (22), 43 (82), 42 (27), 41 (100), 39 (26).

Darstellung von (*E,Z*)-13-Methylpentadec-12-ensäure

5.0 g (30 mmol) Cyclododecen (**80**) werden unter Argonatmosphäre in 200 mL abs. Dichlormethan gelöst und in einem Ethanol-Trockeneis-Kältebad auf -70°C gekühlt. Anschließend wird eine Stunde lang Ozon eingeleitet bis sich die Reaktionslösung blau verfärbt. Es wird noch für zwei Stunden gerührt, bis kein Edukt mehr dünnschichtchromatographisch detektierbar (Laufmittel: Diethylether/Aceton 100:1) ist. Danach wird Sauerstoff eingeleitet, um überschüssiges Ozon auszutreiben, bis sich die Lösung wieder entfärbt hat. Das Dichlormethan wird ohne Erwärmung im Ölpumpenvakuum bei ca. 0.1 Torr vorsichtig so weit wie möglich entfernt. Der Rückstand wird in 100 mL abs. THF aufgenommen und auf -70°C gekühlt.

36.1 g (90 mmol) 2-Butyltriphenylphosphoniumbromid (**70**) werden fein gemörsert, unter Argonatmosphäre in 200 mL abs. THF suspendiert und in einem Ethanol-Trockeneis-Kältebad auf -70°C gekühlt. Es werden vorsichtig 60 mL (96 mmol) einer 1.6 molaren *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan hinzugetropft, wobei sich die Suspension tiefrot verfärbt. Anschließend wird die zweite Reaktionslösung im Argongegenstrom zum ersten Ansatz hinzugegeben und zwei Stunden lang gerührt.

Es wird mit 300 mL Wasser hydrolysiert, mit 200 mL Petrolether versetzt und der Ansatz mit 20%iger Salzsäure auf pH 1 eingestellt. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit Petrolether und zweimal mit einem Gemisch aus Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 1:1 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit 2.5 molarer Natriumhydroxid-Lösung gewaschen. Die Säure scheidet sich dabei als braungelbe, ölige Substanz ab. Sie wird abgetrennt, in Methanol aufgenommen, mit Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingengt. Das Triphenylphosphinoxid wird durch mehrfaches Ausfrieren größtenteils abgetrennt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton 30:1) gereinigt.

Ausbeute: 0.5 g (1.8 mmol) entspricht 6.0% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Aceton- d_6) δ [ppm] = 5.11 (m, 1 H, $\text{CH}(\text{C12})$), 2.27 (t, 2 H, $\text{CH}_2(\text{C2})$), 2.01 (m, 4 H, $\text{CH}_2(\text{C11}, \text{C14})$), 1.58 (s, 3 H, $\text{CH}_3(\text{C13})$), 1.31 (s, 16 H, $\text{CH}_2(\text{C3-C10})$), 0.96 (t, 3 H, $\text{CH}_3(\text{C15})$).

MS (EI, 70eV): m/z 254 (M^+ , 1), 133 (1), 125 (1), 123 (2), 111 (2), 109 (2), 98 (2), 97 (7), 95 (4), 89 (2), 87 (2), 84 (5), 83 (28), 81 (8), 79 (3), 77 (1), 73 (5), 71 (11), 70 (67), 69 (20), 67 (13), 65 (2), 60 (9), 55 (100), 53 (7), 45 (16), 43 (20), 41 (53), 39 (10).

Darstellung von 13-Methylpentadecansäure (96)

0.5 g (1.8 mmol) (*E,Z*)-13-Methylpentadec-12-ensäure werden in 20 mL *n*-Hexan gelöst und mit drei Spatelspitzen Palladium-Aktivkohle-Katalysator versetzt. Anschließend wird ca. 48 Stunden lang in einem Autoklaven bei 40 bar Wasserstoffdruck hydriert. Nach Abschluß der Reaktion wird der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert.

Ausbeute: 0.5 g (1.8 mmol) entspricht 98.5% d. Th.

Charakterisierung:

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 177.9 (COOH), 36.9 (-), 34.5 (-), 31.8 (-), 30.3 (-), 29.9 (-), 29.9 (-), 29.8 (-), 29.7 (-), 29.5 (-), 29.4 (-), 27.3 (-), 25.0 (-), 22.8 (CH), 14.3 (CH_3), 11.4 (CH_3).

MS (EI, 70eV): m/z 256 (M^+ , 1), 255 (4), 242 (1), 241 (6), 227 (1), 223 (1), 213 (1), 205 (1), 199 (7), 195 (1), 186 (1), 185 (8), 171 (2), 163 (1), 157 (2), 149 (2), 143 (17), 135 (2), 129 (2), 125 (4), 115 (1), 111 (1), 109 (3), 101 (6), 97 (13), 95 (4), 93 (1), 88 (4), 87 (61), 85 (4), 83 (16), 81 (5), 79 (2), 75 (19), 74 (100), 71 (10), 69 (24), 67 (5), 65 (1), 59 (11), 57 (39), 55 (41), 53 (2), 51 (1), 44 (1), 43 (40), 41 (30), 39 (3), 37 (1).

Darstellung von 11-Methyltridecansäure (99)

5.0 g (12 mmol) 2-Methylbutyltriphenylphosphoniumbromid (**71**) werden unter Argonatmosphäre in 80 mL abs. THF suspendiert und im Eisbad auf 0°C gekühlt. Die Suspension wird tropfenweise mit 7 mL (12 mmol) einer 1.7 molaren *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan versetzt. Die Reaktionslösung bildet eine klare, tiefrote Lösung. Anschließend werden 2.3 g (12 mmol) 9-Oxononansäuremethylester unter Argonatmosphäre in 15 mL abs.

THF gelöst, auf 0°C gekühlt und vorsichtig zur ersten Lösung hinzugegeben. Die tiefrote Lösung entfärbt sich schnell zu einer beigefarbenen Suspension. Abschließend wird zwei Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt. Der Ansatz wird mit 100 mL Wasser hydrolysiert und mehrfach mit Petrolether extrahiert. Die organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Das Rohprodukt wird in *n*-Hexan aufgenommen und das entstandene Triphenylphosphinoxid mehrfach ausgefroren. Abschließend wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/ethylacetat 30:1) gereinigt. Es werden 0.6 g (2.5 mmol) (20.9% d. Th.) (*E,Z*)-11-Methyltridec-9-ensäuremethylester erhalten.

0.6 g (2.5 mmol) des Zwischenprodukts werden in 15 mL ethanolischer Kaliumhydroxid-Lösung (2.5 g in 50 mL Ethanol) gelöst und eine Stunde lang unter Rückfluß erhitzt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abdestilliert und das entstandene Kaliumsalz der Carbonsäure in wenig Wasser aufgenommen. Es bildet sich eine tiefrote Lösung. Mit halbkonzentrierter Salzsäure wird auf pH 1 angesäuert, mit Diethylether dreimal extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Man erhält 0.4 g (1.9 mmol) (75.3% d. Th.) (*E,Z*)-11-Methyltridec-9-ensäure, die nicht weiter gereinigt wird.

0.4 g (1.9 mmol) der Carbonsäure werden in 20 mL *n*-Hexan gelöst und mit drei Spatelspitzen Palladium-Aktivkohle-Katalysator versetzt. Anschließend wird ca. 48 Stunden lang in einem Autoklaven mit 40 bar Wasserstoffdruck hydriert. Der Katalysator wird abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Eine weitere Reinigung erfolgte nicht.

Ausbeute: 0.4 g (1.8 mmol) entspricht 92.6% d. Th.

Charakterisierung:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ [ppm] = 2.35 (t, 2H, CH₂(C2)), 1.67-1.59 (m, 1H, CH(C11)), 1.47-1.27 (m, 18H, CH₂(C3-C12)), 0.87-0.83 (m, 6H, 2 x CH₃).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ [ppm] = 180.49 (COOH), 36.64 (-), 34.44 (-), 34.15 (-), 30.04 (-), 29.71 (-), 29.63 (-), 29.53 (-), 29.47 (-), 29.10 (-), 27.13 (-), 23.70 (CH), 19.24 (CH₃), 11.42 (CH₃).

MS (EI, 70eV): m/z 228 (M^+ , 1), 227 (3), 225 (1), 213 (7), 200 (3), 199 (18), 195 (2), 185 (3), 177 (3), 171 (3), 157 (2), 144 (2), 143 (19), 139 (1), 129 (6), 125 (3), 115 (5), 111 (5), 101 (5), 97 (15), 95 (5), 87 (61), 75 (12), 74 (100), 69 (8), 67 (5), 65 (1), 59 (14), 57 (30), 55 (39), 53 (3), 43 (33), 41 (33).

Darstellung von (*E,Z*)-(*R*)-11-Methyltridec-9-ensäure

Es werden 0.2 g (0.5 mmol) (*R*)-2-Methylbutyltriphenylphosphoniumbromid (**74**) in 20 mL abs. THF suspendiert und auf -70°C gekühlt. Dann werden 0.3 ml (0.5 mmol) einer 1.6 molaren *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan zugetropft. Die Reaktionslösung färbt sich dabei tiefrot. 0.1 g (0.5 mmol) 9-Oxononansäuremethylester (**86**) werden in 5 mL THF gelöst und langsam zur Reaktion zugetropft.

Nach vier Stunden wird der Reaktionsansatz mit 20 mL Wasser hydrolysiert. Es wird mit verdünnter Salzsäure versetzt und dreimal mit Petrolether extrahiert. Die organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Der Rückstand wird in *n*-Hexan aufgenommen und auf -10°C abgekühlt. Triphenylphosphinoxid fällt aus und wird abfiltriert. Der Vorgang wird noch einmal wiederholt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat 10:1) gereinigt.

Das Zwischenprodukt wird in 20 mL einer Lösung aus 2.5 g (44 mmol) Kaliumhydroxid in 50 mL abs. Ethanol gegeben. Die Reaktionslösung wird eine Stunde unter Rückfluß erhitzt. Das Lösungsmittel wird abdestilliert, und der Rückstand wird in wenig Wasser aufgenommen, mit Salzsäure auf pH 1 angesäuert und mit 30 mL Diethylether extrahiert. Die organischen Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert.

Ausbeute: 38 mg (0.2 mmol) entspricht 34.6% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 5.13 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C9})$), 5.14 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C10})$), 2.24 (t, 2H, $\text{CH}_2(\text{C2})$), 1.61 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C11})$), 1.4-1.2 (m, 14H, CH_2), 0.90 (d, 3H, $\text{CH}_3(\text{C11})$), 0.83 (t, 3H, $\text{CH}_3(\text{C13})$).

^{13}C -NMR (101 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 179.03 (COOH), 135.89 (CH(C9)), 129.04 (CH(C10)), 34.21 (-), 33.06 (CH), 30.41 (-), 30.33 (-), 29.14 (-), 29.51 (-), 29.22 (-), 27.83 (-), 25.11 (-), 17.99 (CH_3 (C11)), 11.68 (CH_3 (C13)).

Darstellung von (R)-11-Methyltridecansäure (99a)

Es werden 38 mg (0.2 mmol) (E,Z)-(R)-11-Methyltridec-9-ensäure in 2 mL *n*-Hexan gelöst und mit zwei Spatelspitzen Pd/C-Katalysator versetzt. Dann wird die Reaktionslösung bei 40 bar Wasserstoffdruck hydriert. Nach vollständigem Umsatz wird filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Eine Reinigung war nicht erforderlich.

Ausbeute: 20 mg (0.09 mmol) entspricht 52.3% d. Th.

Charakterisierung:

^{13}C -NMR (126 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 178.12 (COOH), 36.50 (-), 34.30 (-), 29.77 (-), 29.14 (-), 29.01 (-), 28.82 (-), 28.62 (-), 28.15 (-), 27.35 (-), 25.48 (-), 23.11 (CH), 19.53 (CH_3 (C11)), 11.98 (CH_3 (C13)).

Massenspektrum von (R)-11-Methyltridecansäuremethylester:

MS (EI, 70eV): m/z 242 (M^+ , 2), 199 (9), 185 (4), 143 (22), 129 (7), 101 (5), 97 (19), 87 (69), 83 (17), 75 (11), 74 (100), 71 (5), 69 (26), 59 (15), 57 (33), 56 (9), 55 (44), 43 (32), 41 (30).

Spezifischer Drehwert: α (589 nm, 20°C):= - 4.90° (c = 1.0, Chloroform).

Darstellung von (E,Z)-(S)-11-Methyltridec-9-ensäure

Es werden 2.0 g (4.9 mmol) (S)-2-Methylbutyltriphenylphosphoniumbromid (**73**) in 100 mL abs. THF suspendiert und auf -70°C gekühlt. Dann werden 3 mL (4.9 mmol) einer 1.6 molaren *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan zugetropft. Die Reaktionslösung färbt sich dabei tiefrot. 0.9 g (4.9 mmol) 9-Oxononansäuremethylester (**86**) werden in 10 mL THF gelöst und langsam zur Reaktion zugetropft. (Die weitere Versuchsdurchführung wird analog zur Darstellung von (E,Z)-(R)-11-Methyltridec-9-ensäure fortgeführt).

Ausbeute: 0.4 g (1.8 mmol) entspricht 37.6% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 5.29 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C9})$), 5.10 (dd, 1H, $\text{CH}(\text{C10})$), 2.35 (t, 2H, $\text{CH}_2(\text{C2})$), 1.63 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C11})$), 1.41-1.23 (m, 14H, CH_2), 0.93 (d, 3H, $\text{CH}_3(\text{C11})$), 0.84 (t, 3H, $\text{CH}_3(\text{C13})$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 179.16 (COOH), 136.61 ($\text{CH}(\text{C9})$), 128.88 ($\text{CH}(\text{C10})$), 34.31 (-), 32.96 (CH), 30.68 (-), 30.25 (-), 29.54 (-), 29.50 (-), 29.44 (-), 27.84 (-), 25.09 (-), 21.48 ($\text{CH}_3(\text{C11})$), 12.38 ($\text{CH}_3(\text{C13})$).

Darstellung von (S)-11-Methyltridecansäure (99b)

Es werden 0.4 g (1.8 mmol) (*E,Z*)-(S)-11-Methyltridec-9-ensäure in 5 mL *n*-Hexan gelöst und mit zwei Spatelspitzen Pd/C-Katalysator versetzt. Dann wird die Reaktionslösung bei 45 bar Wasserstoffdruck 30 Stunden hydriert. Nach vollständigem Umsatz wird filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Eine weitere Reinigung war nicht erforderlich.

Ausbeute: 0.3 g (1.4 mmol) entspricht 76.6% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 2.35 (t, 2H, $\text{CH}_2(\text{C2})$), 1.63 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C11})$), 1.47-1.27 (m, 16H, $\text{CH}_2(\text{C4-C13})$), 0.84 (m, 6H, 2 x CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 179.64 (COOH), 37.02 (-), 34.30 (-), 30.36 (-), 30.01 (-), 29.88 (-), 29.82 (-), 29.62 (-), 29.45 (-), 27.47 (-), 25.78 (-), 23.88 (CH), 19.60 ($\text{CH}_3(\text{C11})$), 11.78 ($\text{CH}_3(\text{C13})$).

Massenspektrum von (S)-11-Methyltridecansäuremethylester:

MS (EI, 70eV): m/z 242 (M^+ , 2), 199 (7), 185 (9), 143 (18), 129 (6), 111 (5), 101 (6), 97 (16), 87 (61), 83 (17), 81 (5), 75 (13), 74 (100), 71 (7), 69 (23), 67 (5), 59 (14), 57 (30), 56 (8), 55 (42), 43 (34), 41 (33).

Spezifischer Drehwert: α (589 nm, 20°C): = + 4.90° (c = 1.0, Chloroform).

Darstellung von (*E,Z*)-10-Methylpentadec-9-ensäuremethylester

25.0 g (59 mmol) Hexyltriphenylphosphoniumbromid werden unter Argonatmosphäre in 200 mL abs. THF suspendiert und in einem Ethanol-Trockeneis-Kältebad auf -20°C abgekühlt. Anschließend tropft man vorsichtig 37 mL (59 mmol) einer 1.6 molaren *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan hinzu und rührt 30 Minuten lang. Es werden 8.4 g (59 mmol) frisch destilliertes Methyljodid hinzugegeben und erneut 30 Minuten lang gerührt. Danach wird erneut mit der selben Menge *n*-Butyllithium-Lösung das Wittigsalz deprotoniert. Es werden 11.0 g (59 mmol) 9-Oxononansäuremethylester (**86**) in 50 mL abs. THF gelöst und langsam zum Reaktionsansatz getropft. Nach 3 Stunden wird mit 100 mL Wasser hydrolysiert und mit Diethylether extrahiert. Die organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat 15:1) gereinigt.

Ausbeute: 1.0 g (3.7 mol) entspricht 6.3% d. Th.

Charakterisierung:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃ + TMS) δ [ppm] = 5.11 (t, 1H, CH), 3.65 (s, 3H, (COOCH₃), 2.35 (t, 2H, CH₂(C2)), 1.95 (m, 2H, CH₂(C8)), 1.49-1.22 (m, 18H, CH₂(C3-C14)), 0.95-0.80 (m, 6H, 2 x CH₃).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃ + TMS) δ [ppm] = 174.35 (COOCH₃), 136.34 (C10), 125.16 (CH_{trans}), 124.43 (CH_{cis}), 51.44 (COOCH₃), 34.13 (-), 31.60 (-), 31.54 (-), 29.82 (-), 29.16 (-), 29.11 (-), 27.86 (-), 27.75 (-), 27.68 (-), 26.92 (-), 24.97 (-), 23.44 (CH₃(C10)), 14.13 (CH₃(C15)).

Darstellung von 10-Methylpentadecansäure (100)

1.0 g (3.7 mmol) (*E,Z*)-10-Methylpentadec-9-ensäuremethylester werden zu einer Lösung von 2.5 g (0.04 mol) Kaliumhydroxid in 50 mL abs. Ethanol gegeben und 30 Minuten lang unter Rückfluß erhitzt. Man engt die Lösung bis zur Trockene ein, nimmt den Rückstand in 30 mL Wasser auf und stellt mit halbkonzentrierter Salzsäure den pH-Wert auf 1 ein. Die Lösung wird mit Diethylether extrahiert. Die organische Phase wird abgetrennt, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Es werden 0.4 g (1 mmol) (32.9% d. Th.) (*E,Z*)-10-Methyl-9-pentadecensäure erhalten. Die Carbonsäure wird in 4 mL *n*-Hexan aufgenommen und mit ca. 2.0 g Pd/C-Katalysator vier Tage lang bei 50 bar

Wasserstoffdruck hydriert. Anschließend wird der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert.

Ausbeute: 0.3 g (1.1 mmol) entspricht 90.3% d. Th.

Charakterisierung:

^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 179.82 (COOH), 37.10 (-), 34.04 (-), 33.87 (-), 32.77 (-), 29.95 (-), 29.73 (-), 29.50 (-), 29.09 (-), 27.06 (-), 26.77 (-), 24.70 (-), 23.74 (CH), 15.72 (CH_3), 14.11 (CH_3).

MS (EI, 70eV): m/z 256 (M^+ , 1), 185 (5), 167 (9), 158 (7), 149 (13), 138 (22), 129 (26), 125 (10), 116 (15), 115 (24), 112 (4), 111 (12), 109 (4), 101 (10), 99 (6), 98 (18), 97 (24), 87 (11), 85 (10), 83 (33), 73 (35), 71 (20), 70 (12), 69 (37), 60 (26), 57 (100), 56 (16), 55 (45), 43 (65), 42 (12), 41 (55), 39 (8).

Darstellung von (*E,Z*)-10-Methyltetradec-9-ensäuremethylester

Es werden 2.3 g (5.4 mmol) 2-Hexyltriphenylphosphoniumbromid (**75**) unter Argonatmosphäre in 70 mL abs. THF suspendiert, auf -30°C gekühlt und mit 3.7 mL (1.1 eq.) einer 1.6 molare *n*-Buthyllithium-Lösung in *n*-Hexan deprotoniert. Die Lösung verfärbt sich rot. Gleichzeitig werden 1.0 g (5.4 mmol) 9-Oxononansäuremethylester in 50 mL abs. THF gelöst, gekühlt und die erste Lösung vorsichtig im Argon-Gegenstrom hinzugegeben. Nach einer Stunde wird das Kältebad entfernt und 12 Stunden lang unter Argonatmosphäre bei Raumtemperatur weitergerührt.

Die Reaktionslösung wird mit 30 mL Wasser hydrolysiert und dreimal mit Diethylether extrahiert (DC-Kontrolle). Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und eingeengt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: PE/EE 40:1) gereinigt.

Ausbeute: 10 mg (0.04 mmol) entspricht 0.07% d. Th.

Charakterisierung:

^{13}C -NMR (101 MHz, CDCl_3 + TMS) δ [ppm] = 174.34 (COOMe), 130.01 (CH_{trans}), 129.77 (CH_{cis}), 128.62 ($\text{C10}_{\text{trans}}$), 128.12 (C10_{cis}), 52.42 ($\text{CH}_3\text{-O}$), 51.46 ($\text{CH}_3(\text{C10})$), 34.12 (-), 31.54 (-), 29.69 (-), 29.46 (-), 29.16 (-), 29.13 (-), 29.09 (-), 27.16 (-), 24.96 (-), 22.59 (-), 14.09 ($\text{CH}_3(\text{C14})$).

Darstellung von 10-Methyltetradecansäure (101)

Es werden 10 mg (0.04 mmol) (*E,Z*)-10-Methyltetradec-9-ensäuremethylester in 3 mL einer ethanolischen Kaliumhydroxid-Lösung (2.5 g Kaliumhydroxid in 50 mL abs. Ethanol) gegeben und eine Stunde unter Rückfluß erhitzt. Danach wird die Reaktionslösung am Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingeeengt und der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen. Die Lösung wird mit halbkonzentrierter Salzsäure auf pH 1 eingestellt und mit Diethylether extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert.

8 mg (0.03 mmol) (*E,Z*)-10-Methyltetradec-9-ensäure werden in 5 mL *n*-Hexan gelöst und mit zwei Spatelspitzen Pd/C-Katalysator versetzt. Dann wird die Reaktionslösung bei 40 bar Wasserstoffdruck hydriert. Nach vollständiger Umsetzung wird filtriert und im Vakuum das Lösungsmittel abdestilliert.

Ausbeute: 5 mg (0.02 mmol) entspricht 62.0% d. Th.

Charakterisierung:

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3 + TMS) δ [ppm] = 2.39-2.31 (t, 2H, $\text{CH}_2(\text{C2})$), 1.63 (m, 1H, CH), 1.4-1.1 (m, 20H, $\text{CH}_2(\text{C3-C13})$), 0.87 (m, 6H, 2 x CH_3).

^{13}C -NMR (101 MHz, CDCl_3 + TMS) δ [ppm] = 179.59 (COOH), 37.46 (-), 34.34 (-); 32.68 (-), 30.20 (-), 30.12 (-), 29.69 (-), 29.49 (-), 27.41 (-), 27.17 (-), 25.12 (-), 23.36 (CH), 23.14 (-), 20.12 (CH_3), 11.83 (CH_3).

MS (EI, 70eV): m/z 242 (M^+ , 1), 185 (13), 183 (3), 124 (9), 123 (9), 101 (11), 97 (18), 85 (19), 83 (22), 73 (43), 71 (25), 69 (40), 67 (20), 60 (24), 57 (70), 56 (37), 55 (100), 45 (5), 43 (78), 41 (82), 39 (16).

Darstellung von 10-Methyldodecansäure (102)

1.1 g (6.7 mmol) 2-Butyltriphenylphosphoniumbromid (**70**) werden unter Argonatmosphäre in 50 mL abs. THF suspendiert und im Eisbad auf 0°C gekühlt. Die Suspension wird tropfenweise mit 4.3 mL (6.7 mmol) einer 1.6 molaren *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan versetzt. Es bildet sich eine klare, tiefrote Lösung. Anschließend werden 1.3 g (6.7 mmol) 9-Oxononansäuremethylester unter Argonatmosphäre in 10 mL abs. THF gelöst, im Eisbad auf 0°C gekühlt und vorsichtig zur ersten Lösung hinzugegeben. Die ursprünglich tiefrote Lösung entfärbt sich dabei und wird zu einer beigefarbenen Suspension. Abschließend wird zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Der Ansatz wird dann mit 100 mL Wasser hydrolysiert und mehrfach mit Petrolether extrahiert. Die organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Der Ester wird in *n*-Hexan aufgenommen und das entstandene Triphenylphosphinoxid mehrfach ausgefroren. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat 30:1) gereinigt. Es werden 0.2 g (1.0 mmol) (34.4% d. Th.) (*E,Z*)-10-Methyldodec-9-ensäuremethylester erhalten.

0.2 g (1.0 mmol) des Zwischenprodukts werden in 5 mL ethanolischer Kaliumhydroxid-Lösung (2.5 g in 50 mL Ethanol) gelöst und 1 Stunde lang unter Rückfluß erhitzt. Das Ethanol wird am Rotationsverdampfer abdestilliert und das entstandene Kaliumsalz der Carbonsäure in wenig Wasser aufgenommen. Es bildet sich eine tiefrote Lösung. Mit halbkonzentrierter Salzsäure wird auf pH 1 angesäuert, mit Diethylether mehrfach extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Man erhält 180 mg (0.9 mmol) (83.9% d. Th.) (*E,Z*)-10-Methyldodec-9-ensäure.

180 mg (0.9 mmol) (*E,Z*)-10-Methyldodec-9-ensäure werden in 20 mL *n*-Hexan gelöst und mit drei Spatelspitzen Palladium-Aktivkohle-Katalysator versetzt. Anschließend wird ca. 48 Stunden lang in einem Autoklaven mit 40 bar Wasserstoffdruck hydriert. Nach Beendigung der Reaktion wird der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert.

Ausbeute: 0.2 g (0.8 mmol) entspricht 98.5% d. Th.

Charakterisierung:

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm] = 2.35 (t, 2H, CH₂(C2)), 1.64 (m, 1H, CH(C10)), 1.47-1.27 (m, 16H, CH₂(C3-C11)), 0.87-0.83 (m, 6H, 2 x CH₃).

^{13}C -NMR (126 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 179.81 (COOH), 36.64 (-), 34.81 (-), 34.43 (-), 30.34 (-), 29.91 (-), 29.87 (-), 29.65 (-), 29.48 (-), 27.47 (-), 23.59 (CH), 19.70 (CH_3), 11.80 (CH_3).

MS (EI, 70eV): m/z 214 (M^+ , 1), 213 (6), 211 (2), 199 (8), 186 (2), 185 (8), 181 (3), 157 (2), 144 (2), 143 (19), 139 (3), 129 (6), 125 (3), 115 (3), 111 (5), 101 (5), 97 (15), 93 (2), 88 (4), 87 (61), 83 (18), 81 (5), 75 (12), 74 (100), 71 (8), 69 (8), 67 (8), 65 (1), 59 (14), 57 (30), 55 (39), 53 (3), 51 (1), 45 (2), 43 (33), 41 (33).

Darstellung von (*E,Z*)-4-Methyltetradec-4-ensäuremethylester

11.7 g (24 mmol) Decyltriphenylphosphoniumbromid (**78**) werden unter Argonatmosphäre bei -70°C in 100 mL abs. THF gelöst. Es wird so lange ein *n*-Butyllithium-Lösung langsam zutropft, bis die Reaktionslösung gerade nicht mehr entfärbt wird (ca. 0.5 mL). Dann werden 15 mL (23 mmol) einer 1.6 molaren *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan langsam hinzugegeben.

3.0 g (23 mmol) Lävulinsäuremethylester (**89**) werden 100 mL abs. THF gelöst, auf -70°C gekühlt und im Argongegenstrom zum Ansatz getropft. Nach Beendigung der Zugabe wird die Reaktionslösung auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Zu der Suspension werden 50 mL Wasser gegeben, die Phasen getrennt und die wässrige Phase dreimal mit Petrolether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und eingeeengt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat 30:1).

Ausbeute: 0.7 g (3.0 mmol) entspricht 13.4% d. Th.

Charakterisierung:

(*E*)-4-Methyltetradec-4-ensäuremethylester

MS (EI, 70eV) m/z 255 ($\text{M}+1$, 2), 254 (M^+ , 8), 180 (20), 128 (69), 110 (56), 96 (84), 87 (20), 81 (95), 74 (45), 69 (93), 68 (79), 55 (94), 43 (66), 41 (100).

(*Z*)-4-Methyltetradec-4-ensäuremethylester

MS (EI, 70eV) m/z 255 ($\text{M}+1$, 2), 254 (M^+ , 8), 180 (20), 128 (69), 110 (56), 96 (84), 87 (20), 81 (95), 74 (45), 69 (93), 68 (79), 55 (94), 43 (66), 41 (100).

Darstellung von 4-Methyltetradecansäure (103)

0.7 g (3 mmol) (*E,Z*)-4-Methyltetradec-4-ensäuremethylester werden zusammen mit 1.8 g (32 mmol) Kaliumhydroxid in 30 mL abs. Ethanol gelöst und eine Stunde lang unter Rückfluß erhitzt. Das Lösungsmittel wird bis zur Trockene abgedampft, der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen (die Lösung verfärbt sich rot) und mit halbkonzentrierter Salzsäure auf pH 1 eingestellt. Es wird dreimal mit Diethylether extrahiert, die wässrige Phase wird dabei zusätzlich mit Natriumchlorid gesättigt. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet. Es werden 0.6 g (2.3 mmol) (76.3% d. Th.) (*E,Z*)-4-Methyltetradec-4-ensäure erhalten, die in 5 mL *n*-Hexan gelöst und in die Hydrierapparatur gegeben werden. Die Lösung wird mit 3 Spatelspitzen Pd/C-Katalysator versetzt und 30 Stunden lang bei Raumtemperatur und einem Wasserstoffdruck von 25 bar hydriert. Nach vollendeter Reaktion wird der Katalysator abfiltriert, der Rückstand mit Petrolether gewaschen und das Lösungsmittel abdestilliert.

Ausbeute: 0.5 g (2.1 mmol) entspricht 91.7% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 + TMS) δ [ppm] = 2.35 (t, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}2)$), 1.63 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}4)$), 1.46-1.20 (m, 20H, $\text{CH}_2(\text{C}3\text{-C}13)$), 0.91-0.83 (m, 6H, 2 x CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3 + TMS) δ [ppm] = 178.5 (COOH), 35.8 (-), 34.7 (-), 33.5 (-), 30.4 (-), 30.1 (-), 30.0 (-), 29.8 (-), 29.5 (-), 29.3 (-), 29.3 (-), 27.7 (-), 24.9 (CH), 16.5 (CH_3), 11.6 (CH_3).

Darstellung von 5-Methylpentadecansäure (104)

25.1 g (52 mmol) Decyltriphenylphosphoniumbromid (**78**) werden fein gemörsert, unter Argonatmosphäre in 150 mL abs. THF suspendiert und in einem Ethanol-Trockeneis-Kältebad auf -70°C gekühlt. Es wird vorsichtig mit 31 mL (52 mmol) einer 1.7 molaren *n*-Butyllithium-Lösung in *n*-Hexan deprotoniert. Die Suspension verfärbt sich dabei tiefrot.

8.2 g (52 mmol) 4-Acetylbuttersäureethylester werden unter Argonatmosphäre in 150 mL abs. THF gelöst und auf -70°C gekühlt. Anschließend wird die Lösung zum ersten Ansatz hinzugegeben. Die Reaktion wird 24 Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird mit 100 mL Wasser hydrolysiert, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mehrfach mit Petrolether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Der Rückstand

wird in *n*-Hexan aufgenommen und mehrfach ausgefroren. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat 30:1) gereinigt. Es werden 3.9 g (14 mmol) (26.8% d. Th.) (*E,Z*)-5-Methylpentadec-5-ensäureethylester erhalten.

3.9 g (14 mmol) des Zwischenprodukts werden in 100 mL ethanolischer Kaliumhydroxid-Lösung (2.5 g in 50 mL Ethanol) gelöst und eine Stunde lang unter Rückfluß erhitzt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abdestilliert und das entstandene Kaliumsalz der Carbonsäure in wenig Wasser aufgenommen. Es bildet sich dabei eine tiefrote Lösung. Mit halbkonzentrierter Salzsäure wird auf pH 1 eingestellt, mit Diethylether mehrfach extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Man erhält 1.3 g (4.9 mmol) (35.2% d. Th.) (*E,Z*)-5-Methylpentadec-5-ensäure, die ohne weitere Reinigung in 20 mL *n*-Hexan gelöst und mit drei Spatelspitzen Palladium-Aktivkohle-Katalysator versetzt wird. Anschließend wird 48 Stunden lang in einem Autoklaven bei 40 bar Wasserstoffdruck hydriert. Nach Abschluß der Reaktion wird der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert.

Ausbeute: 1.2 g (4.7 mmol) entspricht 95.4% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 2.35 (t, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}2)$), 1.63 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}5)$), 1.40-1.24 (m, 22H, $\text{CH}_2(\text{C}3\text{-C}14)$), 0.95-0.87 (m, 6H, 2 x CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 179.13 (COOH), 36.86 (-), 33.79 (-), 33.57 (-), 30.36 (-), 30.12 (-), 30.00 (-), 29.87 (-), 29.55 (-), 29.43 (-), 29.32 (-), 29.21 (-), 27.51 (-), 24.77 (CH), 20.23 (CH_3), 11.79 (CH_3).

Massenspektrum des 5-Methylpentadecansäuremethylesters:

MS (EI, 70eV): m/z 271 ($\text{M}+1$, 1), 270 (M^+ , 4), 239 (3), 228 (5), 227 (33), 220 (3), 199 (6), 194 (5), 157 (6), 143 (3), 130 (3), 129 (43), 125 (3), 113 (3), 112 (4), 111 (11), 109 (5), 102 (8), 101 (38), 99 (4), 98 (18), 97 (41), 95 (8), 94 (3), 93 (3), 88 (13), 87 (77), 85 (14), 83 (23), 79 (3), 75 (40), 74 (100), 71 (26), 70 (11), 69 (79), 67 (11), 59 (33), 57 (59), 56 (17), 55 (78), 53 (6), 45 (4), 43 (91), 41 (65), 39 (7).

6.12.6 Referenzsubstanzen zur Identifizierung der Verbindung mit der atomaren Zusammensetzung $C_4H_5NO_3$

Darstellung von *D,L*-3-Acetoxy-2,5-pyrrolidindion (**108**)

8.0 g (60 mmol) *D,L*-Äpfelsäure (**121**) werden in 30 mL Acetylchlorid suspendiert und 90 Minuten unter Rückfluß erhitzt. Dabei geht die *D,L*-Äpfelsäure (**121**) in Lösung. Nach Beendigung der Reaktion wird überschüssiges Acetylchlorid/Essigsäure zuerst am Rotationsverdampfer und dann im Ölpumpenvakuum abgezogen. Eine Charakterisierung des Zwischenproduktes **123** (gelbes Öl) erfolgte durch IR-Spektroskopie: IR [cm^{-1}] 1876, 1824, 1797, 1753 (Lit.: 1874, 1793, 1744).

Das Zwischenprodukt **123** wird ohne weitere Aufarbeitung in 50 mL abs. THF gelöst und über einen Zeitraum von 30 Minuten mit Ammoniak durchströmt. Die zähe Suspension beginnt dabei zu sieden. Man kühlt den Ansatz auf ca. $-20^{\circ}C$. Im Vakuum wird das Lösungsmittel und überschüssiger Ammoniak abdestilliert. Der dabei entstehende weiße Feststoff wird mit 35 mL Acetylchlorid über 3 Stunden bis zur Schwarzfärbung erhitzt. Die Lösung wird am Rotationsverdampfer eingeeengt, filtriert und säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Diethylether) vorgereinigt. Die entgültige Reinigung des Rohprodukts erfolgt säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Diethylether/Petrolether 10:1).

Ausbeute: 4.6 g (26.8 mmol) entspricht 45.0% d. Th.

Charakterisierung:

1H -NMR (400 MHz; $CDCl_3$ + TMS) δ [ppm] = 5.47 (m, J = 8.65 Hz, 5.08 Hz, 1H, CH), 3.20 (m, J = 18.57 Hz, 8.65 Hz, 1H, CH_2), 2.75 (m, J = 18.3 Hz, 5.08 Hz, 1H, CH_2), 2.18 (s, 3H, CH_3).

^{13}C -NMR (101 MHz; $CDCl_3$ + TMS) δ [ppm] = 173.6 (C=O), 173.1 (C=O), 169.8 (C=O), 68.3 (CH), 36.7 (CH_2), 20.5 (CH_3).

MS (EI, 70eV) m/z 116 ($M+1$, 0.1), 115 (M^+ , 1), 114 (3), 86 (13), 55 (12), 54 (4), 53 (3), 45 (3), 44 (7), 43 (100), 42 (20), 41 (4).

Darstellung von Morpholin-3,5-dion (110)

26.9 g (0.2 mol) Diglycolsäure (**120**) und 19.2 g (0.2 mol) Ammoniumcarbonat werden in einem Mörser fein verrieben und unter Argon bei 230°C fünf Stunden lang erhitzt. Die homologe Schmelze wird auf -70°C abgekühlt und mit 200 mL Wasser hydrolysiert. Es werden 1.0 g Aktivkohle hinzugegeben und 10 Minuten lang gerührt. Der Rückstand wird abfiltriert und mit 20 mL heißem Wasser gewaschen. Zur vollständigen Auskristallisation wird die Lösung 24 Stunden lang gekühlt.

Ausbeute: 10.3 g (89.6 mmol) entspricht 44.8% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 10.12 (s, 1H, N-H), 4.31 (s, 4H, CH_2).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 206.43 (C=O), 67.50 (CH_2).

MS (EI, 70eV) m/z 116 ($\text{M}+1$, 2), 115 (M^+ , 47), 87 (4), 86 (4), 85 (5), 72 (12), 56 (3), 45 (2), 44 (86), 43 (24), 42 (100), 40 (3).

Synthese von (L)-3-Methyl-1,3-oxazolidin-2,5-dion (117)

Zu einer Lösung aus 0.95 g (5 mmol) Boc-Sarkosin (**129**) in 25 mL abs. Dichlormethan werden unter Argon bei 0°C 1.2 g (6 mmol) PCl_3 hinzugegeben. Es wird zwei Stunden lang gerührt. Nach beendeter Reaktion wird der Feststoff über eine Fritte filtriert und mit Tetrachlorkohlenstoff mehrmals gewaschen.

Ausbeute: 0.24 g (2 mmol) entspricht 41.4% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 2.84 (s, 3H, CH_3), 2.05 (s, 2H, CH_2).

Darstellung von 3-Aminopropionsäure-N-carbonsäureanhydrid (124)

30 g (0.45 mol) gepulvertes Natriumazid und 48 ml (0.4 mol) Chlortrimethylsilan werden in 250 mL abs. Pyridin unter Rühren 10 Stunden lang zum Sieden erhitzt und die Lösung anschließend vom NaCl abfiltriert. Das Filtrat wird mit 60 g (0.6 mol) Bernsteinsäureanhydrid (**126**) vorsichtig versetzt und auf ca. 80°C erhitzt, wobei unter kräftiger

N₂-Entwicklung der Curtius-Abbau eintritt. Die anfänglich heftige Reaktion wird durch gelegentliches Kühlen reguliert. Nach dem Abklingen der Reaktion wird noch eine Stunde lang erhitzt und das Zwischenprodukt **128** destillativ im Wasserstrahlvakuum (95-97°C/8 Torr) isoliert.

Charakterisierung:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃+TMS) δ [ppm] = 3.43 (t, J = 6.31 Hz, 2H, CH₂-N), 2.49 (t, J = 6.31 Hz, 2H, CH₂-COO), 0.24 (s, 9H, Si(CH₃)₃).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃+TMS) δ [ppm] = 171.39 (O=C=N), 39.19 (CH₂-N), 37.54 (CH₂-COO), 0.29 (Si(CH₃)₃).

5.0 g (27 mmol) β-Isocyanatopropionsäuretrimethylsilylester (**128**) werden in 50 mL Diethylether gelöst, auf 0°C gekühlt und mit 0.3 g (17 mmol) Wasser versetzt. In einem Zeitraum von zwei Tagen bei 0°C bilden sich farblose Nadeln, die im Ölpumpenvakuum getrocknet werden. Unter Feuchtigkeitsausschluß ist die Verbindung haltbar.

Ausbeute: 1.3 g (11 mmol) entspricht 41.9% d. Th., bezogen auf **128**.

Charakterisierung:

¹H-NMR (400 MHz, Aceton-d₆) δ [ppm] = 7.34 (br., 1H, NH), 3.87 (m, 2H, CH₂-NH), 3.52 (t, 2H, CH₂-CO).

¹³C-NMR (101 MHz, Aceton-d₆) δ [ppm] = 206.67 (COO), 206.60 (COO), 36.22 (CH₂-CO), 29.75 (CH₂-NH).

6.12.7 Synthesen von Verbindungen aus dem Teil 2a:

Isolierung von 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydropyran-4-on (**138**)

Es werden 100 g (0.51 mol) β-D-Glucose und 45 g (0.51 mol) L-Alanin in jeweils 1 L Wasser gelöst, in einen Erlenmeyerkolben vereinigt und 30 Minuten lang im Ultraschallbad entgast. Über eine Pumpe wird diese Lösung durch einen Maillard-Reaktor gepumpt.

Die Reaktorparameter wurden wie folgt eingestellt:

Förderleistung der Dosierpumpe	13% Hub = 21 mL/min.
Druck	100-110 bar
Ofentemperatur	155-164°C
Reaktionszeit	9.9 Minuten

Das erhaltene rot-braune, wässrige Produktgemisch wird nach dem Durchlauf im Reaktor aufgefangen und nach dem Erkalten viermal mit je 1 L Petrolether 60/70, siebenmal mit je 1 L Diethylether, viermal mit je 1 L Ethylacetat und zweimal mit je 500 mL Dichlormethan extrahiert.

Die gesuchte Komponente konnte in der Ethylacetat-Fraktion nachgewiesen werden. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Die Trennung erfolgte säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat 3:2).

Eine vollständige Isolierung gelang nicht, doch konnte eine Anreicherung der gesuchten Verbindung erzielt werden.

Charakterisierung:

MS (EI, 70eV): m/z 145 (M+1, 5), 144 (M⁺, 73), 142 (3), 133 (4), 115 (9), 103 (3), 102 (3), 101 (50), 89 (13), 88 (4), 87 (8), 85 (5), 74 (4), 73 (34), 72 (36), 71 (4), 59 (7), 58 (9), 57 (5), 56 (5), 55 (32), 54 (4), 53 (4), 45 (50), 44 (66), 43 (100), 42 (9), 41 (5), 39 (6).

Darstellung von 2,5-Bis-(hydroxymethyl)-furan (140)

Zu einer Suspension von 1.1 g (28 mmol) NaBH₄ in 50 mL abs. Ethanol werden 3.5 g (28 mmol) 5-Hydroxymethylfurfural (**139**) vorsichtig hinzugegeben und drei Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird der Ansatz auf 30 mL Wasser gegossen und zweimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert.

Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Ethylacetat/Petrolether 2:1).

Ausbeute: 0.4 g (3 mmol) entspricht 33.1% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 + TMS) δ [ppm] = 6.34 (d, 2H, **CH**), 4.48 (s, 4H, **CH**₂).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3 + TMS) δ [ppm] = 154.61 (**C2,C5**), 108.80 (**C3,C4**), 57.83 (2 x **CH**₂).

MS (EI, 70eV): m/z 129 ($M+1$, 4), 128 (M^+ , 61), 127 (4), 111 (15), 110 (3), 109 (15), 98 (6), 97 (100), 89 (6), 88 (4), 84 (5), 83 (13), 81 (12), 80 (7), 69 (41), 68 (4), 65 (9), 55 (28), 53 (19), 52 (10), 51 (12), 50 (6), 44 (6), 43 (6), 42 (5), 41 (44), 40 (4), 39 (24).

Darstellung von 3-*O*- β -D-Galactopyranosyloxy-2-furfurylmethylketon (**143**)

Es werden 180.2 g (0.5 mol) α -Lactose-Monohydrat (**142**) in 250 mL Ethanol suspendiert. Danach werden 50 mL (0.5 mol) Piperidin hinzugegeben und über einen Zeitraum von 15 Minuten unter starkem Rühren 22 mL (0.5 mol) Eisessig hinzuge tropft. Die Suspension wird auf 80°C erwärmt und mit 10 mL Triethylamin versetzt. Nach fünf Stunden werden weitere 10 mL Triethylamin hinzugegeben und 15 Stunden lang bei 80°C gerührt. Danach erfolgt eine erneute Zugabe von 15 mL Triethylamin, um den pH-Wert alkalisch zu halten. Die Temperatur wird 24 Stunden lang beibehalten.

Die entstandene dunkelbraune, zähflüssige Lösung wird im Eisbad auf 5°C abgekühlt, mit 200 mL Ethanol versetzt und eine Stunde gerührt. Das braune Produkt wird vom Lösungsmittel befreit und mehrfach mit Ethanol gewaschen. Die Trocknung erfolgt im Ölpumpenvakuum, und das getrocknete Produkt wird aus Methanol umkristallisiert. Die Mutterlauge wird zur vollständigen Auskristallisation über Nacht in den Kühlschrank gestellt (mehrfache Wiederholung).

Ausbeute: 16.1 g (53 mmol) entspricht 10.5% d. Th.

Charakterisierung: hellbraunes Pulver vom Smp.: 203.4 °C (Lit.: 204.5 °C).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 7.78 (d, J = 2.04 Hz, 1H, **CH**(C5)/isomaltol), 6.78 (d, J = 2.03 Hz, 1H, **CH**(C4)/isomaltol), 4.48 (d, 1H, **CH**(C1)/galactosyl), 3.67 (m, 1H, **CH**(C4)/galactosyl), 3.49 (m, 2H, **CH**(C2,C5)/galactosyl), 3.37 (m, 1H, **CH**(C3)/galactosyl), 2.32 (s, 3H, **CH**₃).

^{13}C -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 183.81 (C=O/isomaltol), 153.10 (C1/isomaltol), 147.35 (C5/isomaltol), 137.51 (C2/isomaltol), 105.39 (C1/galactosyl), 103.20 (C4/isomaltol), 76.25 (C5/galactosyl), 73.56 (C3/galactosyl), 70.47 (C2/galactosyl), 68.38 (C4/galactosyl), 60.65 (C6/galactosyl), 27.69 (CH_3 /isomaltol).

Darstellung von Isomaltol (**141**)

50 mg (0.2 mmol) 3-O- β -D-Galactopyrannosyloxy-2-furylmethylketon (**143**) werden in 1 mL (100 mmol) $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ Puffer-Lösung mit pH 5.0 im Ultraschallbad über einen Zeitraum von 30 Minuten gelöst. Es wird eine katalytische Menge β -Galactosidase aus *Aspergillus oryzae* mit ca. 4 units pro mg (Sigma) hinzugegeben. Die Lösung wird bei 37°C 90 Minuten lang inkubiert (DC-Kontrolle (Laufmittel: Ethylacetat/Methanol/ H_2O 7:3:1)). Nach Beendigung der Reaktion wird das Enzym fünf Minuten bei 90°C denaturiert. Danach wird mit Chloroform extrahiert. Eine weitere Reinigung erfolgte nicht.

Ausbeute: 17 mg (0.2 mmol) entspricht 82.6% d. Th.

Charakterisierung:

^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 7.29 (d, J = 2.03 Hz, 1H, $\text{CH}(\text{C4})$), 6.30 (d, J = 2.04 Hz, 1H, $\text{CH}(\text{C5})$), 2.44 (s, 3H, CH_3).

^{13}C -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm] = 189.93 (C=O), 156.95 (C2), 146.17 (C4), 136.97 (C3), 104.93 (C5), 24.61 (CH_3).

MS (EI, 70eV): m/z 127 ($\text{M}+1$, 5), 126 (M^+ , 78), 112 (7), 111 (100), 105 (7), 101 (11), 97 (4), 84 (5), 83 (7), 82 (6), 77 (4), 75 (4), 73 (12), 70 (3), 69 (13), 60 (69), 59 (19), 58 (5), 57 (7), 56 (12), 55 (34), 54 (9), 53 (7), 51 (4), 46 (4), 43 (62), 42 (17), 41 (19), 39 (10).

Darstellung von 5-Methyl-2-hydroxymethylfuran (**145**)

Unter Argonatmosphäre werden zu einer Suspension von 0.7 g (15 mmol) Lithiumaluminiumhydrid in 50 mL abs. Diethylether 1.5 g (14 mmol) 5-Methylfurfural (**144**) in ebenfalls 50 mL abs. Diethylether so hinzuge tropft, dass die Reaktionslösung leicht siedet. Der Reaktionskolben wird in einem Wasserbad gekühlt. Nach beendeter Zugabe wird das Reaktionsgemisch noch 4 Stunden lang weitergerührt.

Die Reaktionslösung wird im Eisbad gekühlt und mit Eis hydrolysiert. Anschließend wird ausgefallenes Aluminiumhydroxid durch Zugabe von konz. Salzsäure wieder in Lösung gebracht. Es wird mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt.

Ausbeute: 0.9 g (8.1 mmol) entspricht 58.4%

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 + TMS) δ [ppm] = 6.14 (d, J = 3.05 Hz, 1H, **H-C3**), 5.90 (d, J = 3.05, 1H, **H-C4**), 4.51 (s, 2H, **CH₂**), 2.16 (s, 3H, **CH₃**).

MS (EI, 70eV): m/z 113 ($M+1$, 6), 112 (M^+ , 100), 111 (30), 109 (4), 97 (24), 96 (7), 95 (91), 94 (4), 84 (18), 83 (11), 79 (6), 69 (25), 68 (6), 67 (9), 66 (5), 65 (11), 60 (4), 58 (4), 55 (19), 53 (20), 52 (12), 51 (19), 50 (11), 49 (3), 43 (21), 41 (28), 39 (4).

Darstellung von Furfurylmethylether (160)

Es werden 1.8 g (75 mmol) Natriumhydrid in einen getrockneten Kolben eingewogen und dreimal mit 2 mL Petrolether gewaschen. Das gewaschene Natriumhydrid wird in 80 mL Tetrahydrofuran aufgenommen und mit 3.3 g (34 mmol) Furfurylalkohol (**161**) versetzt. Man rührt 30 Minuten lang bei Raumtemperatur, gibt 3.8 mL (34 mmol) Methyljodid hinzu und lässt 3 Stunden lang bei Raumtemperatur weiterrühren. Der Ansatz wird mit 20 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung versetzt und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wird dreimal mit 20 mL Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt.

Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat 25:1).

Ausbeute: 0.7 g (6 mmol) entspricht 17.2% d. Th.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 + TMS) δ [ppm] = 7.42 (d, 1H, **CH(C5)**), 6.35-6.32 (m, 2H, **CH(C4,C3)**), 4.40 (s, 2H, **CH₂**), 3.37 (s, 3H, **CH₃**).

^{13}C -NMR (101 MHz, CDCl_3 + TMS) δ [ppm] = 152.06 (C2), 143.22 (C5), 110.62 (C3), 109.66 (C4), 66.72 (CH_2), 58.25 (CH_3).

MS (EI, 70eV): m/z 113 ($\text{M}+1$, 4), 112 (M^+ , 24), 111 (14), 108 (3), 105 (3), 104 (3), 103 (5), 99 (4), 98 (3), 97 (5), 96 (5), 95 (6), 88 (6), 82 (21), 81 (74), 80 (5), 73 (7), 58 (14), 57 (10), 56 (7), 55 (12), 53 (38), 52 (10), 51 (9), 50 (8), 45 (20), 44 (45), 43 (100), 42 (33), 41 (12), 40 (18), 39 (13).

6.12.8 Synthesen von Verbindungen aus Teil 2b:

Isolierung homologer Carbonsäure-3-butyryloxy-2-hydroxypropylester

Es werden 8 g Kolostrum eines Schafs (ID 60329) mit 25 g Florisil in einem Achatmörser verrieben und vorsichtig auf eine Säule aufgetragen, in der bereits 25 g Florisil, suspendiert in 100 mL *n*-Hexan Uvasol, vorgelegt sind. Es werden 3 Fraktionen mit jeweils 200 mL Volumen von *n*-Hexan, Dichlormethan und Methanol erhalten. Die Dichlormethan-Fraktion wird am Rotationsverdampfer bei reduziertem Druck eingeeengt, auf Kieselgel aufgetragen und in fünf Fraktionen unterschiedlicher Polarität getrennt.

In der 3. Fraktion (Laufmittel: *n*-Hexan/Ethylacetat 4:1) werden die homologen Diglyceride isoliert. Es werden ca. 1.5 g dieser Verbindungen erhalten. Da es sich um Homologe handelt, können NMR-Experimente durchgeführt werden.

Charakterisierung:

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 5.49-5.41 (m, 2H, 2 x $\text{CH}_{\text{olefin}}$), 5.35 (m, 1H, CH), 4.31-4.22 (m, 2H, CH_2O), 4.10-4.02 (m, 2H, CH_2O), 2.21-1.97 (m, CH_2), 1.63-1.45 (m, CH_2), 1.44-1.05 (m, CH_2), 0.94-0.83 (m, 6H, 2 x CH_3).

^{13}C -NMR (126 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 172.80 (C=O), 172.58 (C=O), 130.47 ($\text{CH}_{\text{olefin}}$), 130.34 ($\text{CH}_{\text{olefin}}$), 69.75 (CH), 62.52 (CH_2O), 36.08-23.34 (-), 14.58 (CH_3), 13.88 (CH_3).

AAV der Referenzverbindungen R1-R10

Ein Gemisch aus je 0.2 g (0.70 mmol) zweier Methylcarbinole wird in ca. 3 mL Pyridin gelöst und auf 0°C gekühlt. 2 mL (21.7 mmol) des entsprechenden wasserfreien Carbonsäurechlorids werden über ein Kanüle langsam zu der Lösung hinzuge tropft und 10 Minuten lang gerührt. Danach wird das Eisbad entfernt und weitere 60 Minuten lang bei Raumtemperatur gerührt, wobei sich ein gelber Rückstand bildet. Der Ansatz wird mit 1 mL konzentrierter Salzsäure versetzt und mit 10 mL einer gesättigten, wässrigen Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert. Es wird mit Diethylether extrahiert und die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Produktgemisch wird säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Ethylacetat 15:1) gereinigt.

Charakterisierung:

1-Methylpentadecylacetat (**R1**):

MS (EI, 70eV): m/z 224 (2), 140 (2), 139 (3), 126 (3), 125 (6), 124 (2), 112 (4), 111 (10), 110 (3), 109 (2), 101 (2), 99 (2), 98 (6), 97 (20), 96 (7), 95 (5), 93 (2), 87 (20), 85 (9), 84 (9), 83 (22), 82 (10), 81 (8), 79 (3), 74 (2), 73 (3), 72 (3), 71 (14), 70 (12), 69 (27), 68 (8), 67 (8), 61 (5), 59 (4), 58 (6), 57 (25), 56 (17), 55 (33), 53 (3), 45 (12), 44 (12), 43 (100), 42 (12), 41 (40), 40 (13), 39 (8).

1-Methylheptadecylacetat (**R2**):

MS (EI, 70eV): m/z 252 (2), 139 (2), 126 (2), 125 (6), 124 (2), 112 (3), 111 (12), 110 (4), 109 (2), 102 (2), 99 (2), 98 (5), 97 (24), 96 (10), 95 (4), 87 (23), 85 (9), 84 (8), 83 (22), 82 (11), 81 (6), 71 (16), 70 (10), 69 (19), 68 (6), 67 (7), 61 (5), 59 (3), 58 (4), 57 (24), 56 (13), 55 (26), 53 (2), 45 (4), 44 (5), 43 (100), 42 (9), 41 (28), 40 (2), 39 (3).

1-Methyltetradecylpropionat (**R3**):

MS (EI, 70eV): m/z 284 (M^+ , 0.1), 211 (3), 210 (3), 125 (3), 115 (8), 112 (3), 111 (8), 101 (23), 98 (4), 97 (17), 96 (4), 85 (7), 84 (7), 83 (17), 82 (5), 81 (2), 75 (14), 72 (5), 71 (11), 70 (12), 69 (16), 68 (3), 67 (4), 58 (4), 57 (100), 56 (16), 55 (20), 54 (3), 45 (2), 43 (29), 42 (6), 41 (18), 39 (2).

1-Methylpentadecylpropionat (**R4**):

MS (EI, 70eV): m/z 298 (M^+ , 0.1), 125 (4), 115 (8), 112 (3), 111 (10), 101 (21), 98 (4), 97 (19), 96 (4), 85 (7), 84 (7), 83 (15), 82 (5), 81 (2), 75 (16), 72 (5), 71 (11), 70 (12), 69 (16), 68 (3), 67 (4), 58 (3), 57 (100), 56 (14), 55 (17), 54 (3), 45 (2), 43 (27), 42 (5), 41 (16), 39 (2).

1-Methyltetradecylbutyrat (**R6**):

MS (EI, 70eV): m/z 298 (M^+ , 0.1), 210 (2), 125 (3), 115 (8), 111 (7), 98 (3), 97 (12), 96 (2), 89 (19), 88 (4), 86 (3), 85 (5), 84 (6), 83 (10), 82 (4), 81 (3), 72 (3), 71 (82), 70 (13), 69 (12), 68 (3), 67 (4), 60 (3), 57 (32), 56 (13), 55 (29), 54 (5), 45 (3), 44 (4), 43 (100), 42 (15), 41 (56), 39 (7).

1-Methylpentadecylbutyrat (**R8**):

MS (EI, 70eV): m/z 312 (M^+ , 0.1), 224 (2), 210 (5), 125 (3), 115 (14), 112 (3), 111 (5), 99 (2), 98 (3), 97 (10), 96 (4), 89 (18), 88 (5), 86 (3), 85 (7), 84 (5), 83 (11), 82 (5), 72 (4), 71 (100), 70 (8), 69 (19), 68 (3), 67 (4), 60 (3), 58 (3), 57 (27), 56 (15), 55 (37), 54 (5), 45 (4), 44 (4), 43 (94), 42 (17), 41 (51), 39 (7).

1-Methyltetradecyl-iso-butyrat (**R5**):

MS (EI, 70eV): m/z 298 (M^+ , 0.1), 210 (5), 125 (4), 115 (15), 111 (8), 99 (4), 98 (4), 97 (14), 96 (4), 89 (24), 85 (14), 84 (7), 83 (14), 82 (5), 72 (4), 71 (100), 70 (14), 69 (17), 68 (3), 67 (4), 57 (46), 56 (17), 55 (31), 54 (4), 45 (6), 44 (4), 43 (99), 42 (13), 41 (45), 39 (5).

1-Methylpentadecyl-iso-butyrat (**R7**):

MS (EI, 70eV): m/z 312 (M^+ , 0.1), 225 (2), 224 (4), 210 (5), 125 (5), 115 (17), 112 (3), 111 (9), 99 (4), 98 (5), 97 (16), 96 (4), 89 (29), 85 (14), 84 (6), 83 (14), 82 (5), 72 (4), 71 (100), 70 (14), 69 (17), 68 (4), 67 (4), 57 (45), 56 (15), 55 (28), 54 (3), 45 (4), 44 (3), 43 (67), 42 (9), 41 (31), 39 (3).

1-Methylheptadecylvaleriat (**R9**):

MS (EI, 70eV): m/z 253 (2), 252 (4), 154 (2), 153 (2), 139 (3), 129 (9), 127 (2), 126 (2), 125 (6), 124 (2), 115 (2), 113 (2), 112 (3), 111 (13), 110 (3), 104 (2), 103 (40), 102 (14), 101 (3), 100 (3), 99 (4), 98 (6), 97 (24), 96 (7), 95 (3), 89 (2), 87 (4), 86 (5), 85 (100), 83 (20), 82 (8), 81 (4), 73 (2), 71 (18), 70 (11), 69 (19), 68 (5), 67 (5), 61 (2), 60 (6), 59 (2),

58 (3), 57 (48), 56 (14), 55 (27), 54 (4), 53 (2), 45 (3), 44 (3), 43 (49), 42 (10), 41 (35), 39 (4).

1-Methyloctadecylvaleriat (R10):

MS (EI, 70eV): m/z 369 ($M+1$, 0.1), 368 (M^+ , 0.1), 281 (2), 267 (3), 266 (4), 154 (2), 153 (2), 139 (3), 129 (10), 127 (2), 126 (2), 125 (7), 124 (2), 117 (2), 115 (2), 113 (3), 112 (4), 111 (15), 110 (4), 104 (3), 103 (49), 102 (16), 101 (3), 100 (3), 99 (5), 98 (7), 97 (28), 96 (9), 95 (4), 89 (2), 87 (4), 86 (6), 85 (100), 84 (9), 83 (24), 82 (10), 81 (5), 75 (2), 73 (3), 71 (20), 70 (11), 69 (20), 68 (5), 67 (6), 61 (2), 60 (6), 59 (2), 58 (4), 57 (57), 56 (16), 55 (31), 54 (4), 53 (2), 45 (3), 44 (4), 43 (55), 42 (11), 41 (38), 40 (3), 39 (4).

Isolierung von 5-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester (182)

Es werden 49 mg Inguinaldrüsenwachs eines Schafs (ID-Nr. 70094) mit 2 mL *n*-Pentan Uvasol versetzt und 30 Minuten lang bei Raumtemperatur im Ultraschallbad extrahiert. Das Lösungsmittel wird dekantiert, Lösungsmittelreste auf dem Rückstand im Argonstrom abgeblasen und in 2 mL Methanol Suprasolv suspendiert. Es wird erneut 30 Minuten lang bei Raumtemperatur im Ultraschallbad extrahiert. Der Rückstand wird abfiltriert und der methanolische Extrakt direkt in oben beschriebener Apparatur mit Diazomethan methyliert.

Eine Trennung erfolgte säulenchromatographisch an 10 g Kieselgel, wobei zuerst mit 50 mL *n*-Hexan Uvasol und dann mit 50 mL eines Laufmittels *n*-Hexan/Ethylacetat fraktioniert wird. Die zweite Fraktion wird bis zur Trockene eingeeengt, mehrfach mit Benzol- d_6 versetzt und azeotrop am Rotationsverdampfer von letzten Lösungsmittelspuren befreit.

Aubeute: 2 mg (0.007 mmol)

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 3.71 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}_9)$), 3.64 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}_6)$), 3.35 (m, 1H, $\text{CH}(\text{C}_{10})$), 3.35 (s, 3H, COOCH_3), 2.11 (t, 2H, $\text{CH}_2(\text{C}_2)$), 1.73-1.12 (m, 20H, $\text{CH}_2(\text{C}_3\text{-C}_{15})$), 0.95 (m, 3H, CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 173.26 (C=O), 82.76 ($\text{CH}(\text{C}_9)$), 79.40 ($\text{CH}(\text{C}_6)$), 74.56 ($\text{CH}(\text{C}_{10})$), 50.91 (COOCH_3), 35.60 (-), 33.99 (-), 33.96 (-), 32.71 (-), 32.26 (-), 29.87 (-), 28.50 (-), 26.13 (-), 26.05 (-), 25.22 (-), 23.04 (-), 14.30 (CH_3).

MS (EI, 70eV): m/z 300 (M^+ , 0.1), 251 (3), 215 (2), 187 (3), 186 (18), 185 (39), 183 (5), 168 (6), 167 (18), 165 (3), 158 (12), 155 (4), 154 (13), 153 (100), 149 (3), 144 (6), 143 (72), 141 (3), 137 (3), 136 (14), 135 (70), 126 (4), 125 (17), 124 (3), 123 (5), 121 (3), 117 (7), 113 (10), 112 (4), 111 (41), 109 (11), 108 (4), 107 (39), 99 (4), 98 (5), 97 (20), 96 (3), 95 (8), 94 (3), 93 (34), 91 (8), 87 (9), 85 (8), 84 (5), 83 (23), 82 (9), 81 (29), 80 (6), 79 (22), 77 (3), 74 (8), 73 (3), 71 (22), 70 (9), 69 (25), 68 (7), 67 (31), 59 (18), 58 (5), 57 (29), 56 (7), 55 (92), 54 (11), 53 (7), 45 (5), 44 (13), 43 (58), 42 (14), 41 (64), 39 (12).

Spezifischer Drehwert: α (589 nm, 18°C): + 8.92° (c = 1.0, *n*-Hexan).

α (589 nm, 18°C): +10.54° (c = 1.0, Benzol- d_6).

Darstellung von 5-[5-(1-Oxoheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester (191)

100 μ l einer 5-[5-(1-Hydroxyheptyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuremethylester-Lösung in Benzol- d_6 werden am Rotationsverdampfer eingeengt und in ca. 1 mL abs. Dichlormethan aufgenommen. Es wird mit einer Spatelspitze gepulvertem Molsieb 4Å versetzt und auf 0°C gekühlt. 0.1 g (0.56 mmol) Pyridiniumdichromat werden hinzugegeben und zwei Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt. Es wird über eine Fritte mit Kieselgel vom PDC getrennt und die Lösung umgehend mittels GC-MS vermessen. Es wird ein Peak im Gaschromatogramm detektiert.

Charakterisierung:

MS (EI, 70eV): m/z 298 (M^+ , 0.1), 267 (1), 249 (2), 186 (3), 185 (25), 167 (9), 155 (3), 154 (6), 153 (43), 143 (3), 136 (4), 135 (40), 125 (13), 117 (6), 113 (8), 111 (12), 109 (8), 108 (3), 107 (28), 99 (3), 97 (11), 95 (5), 93 (19), 91 (5), 87 (4), 85 (10), 84 (4), 83 (11), 82 (6), 81 (25), 80 (4), 79 (22), 77 (3), 74 (7), 73 (4), 71 (8), 70 (9), 69 (20), 68 (7), 67 (29), 65 (3), 59 (31), 58 (4), 57 (26), 56 (17), 55 (83), 54 (16), 53 (9), 45 (6), 44 (9), 43 (100), 42 (33), 41 (94), 40 (6), 39 (24).

Eine Keto-Enol-Äquilibrierung an C₉-Position kann anschließend erreicht werden, indem Dichlormethan abdestilliert wird, der Rückstand in 1 mL Benzol aufgenommen und eine Spatelspitze Toluol-4-sulfonsäure hinzugegeben wird. Man erhitzt zwei Stunden lang im Wasserbad auf 60°C und lässt weitere 12 Stunden lang bei Raumtemperatur rühren. Der Rückstand wird abfiltriert und anschließend mittels GC-MS vermessen. Es werden zwei Peaks im Gaschromatogramm detektiert.

Charakterisierung von Verbindung 190:

MS (EI, 70eV): m/z 298 (M^+ , 0.1), 267 (2), 249 (1), 248 (2), 186 (4), 185 (24), 167 (9), 155 (3), 154 (5), 153 (39), 143 (3), 136 (4), 135 (32), 125 (12), 123 (3), 117 (4), 113 (9), 111 (11), 109 (7), 108 (3), 107 (25), 99 (4), 98 (3), 97 (11), 96 (3), 95 (7), 94 (3), 93 (19), 92 (3), 91 (6), 87 (5), 85 (12), 84 (5), 83 (13), 82 (8), 81 (21), 80 (4), 79 (21), 77 (4), 74 (9), 73 (7), 72 (3), 71 (8), 70 (9), 69 (23), 68 (7), 67 (28), 65 (4), 60 (3), 59 (43), 58 (7), 57 (29), 56 (18), 55 (85), 54 (16), 53 (11), 45 (7), 44 (12), 43 (98), 42 (38), 41 (100), 40 (7), 39 (30).

Charakterisierung von Verbindung 191:

MS (EI, 70eV): m/z 298 (M^+ , 0.1), 267 (1), 249 (2), 186 (3), 185 (25), 167 (9), 155 (3), 154 (6), 153 (43), 143 (3), 136 (4), 135 (40), 125 (13), 117 (6), 113 (8), 111 (12), 109 (8), 108 (3), 107 (28), 99 (3), 97 (11), 95 (5), 93 (19), 91 (5), 87 (4), 85 (10), 84 (4), 83 (11), 82 (6), 81 (25), 80 (4), 79 (22), 77 (3), 74 (7), 73 (4), 71 (8), 70 (9), 69 (20), 68 (7), 67 (29), 65 (3), 59 (31), 58 (4), 57 (26), 56 (17), 55 (83), 54 (16), 53 (9), 45 (6), 44 (9), 43 (100), 42 (33), 41 (94), 40 (6), 39 (24).

Isolierung von 2,2-Dideutero-5-[5-(O-deuteroheptan-1-ol)-tetrahydrofuran-2-yl]-pentansäuretrideuteromethylester (184)

Es werden 72.5 mg Inguinaldrüsenwachs vom Schaf (ID-Nr. 70094) mit 2 mL *n*-Pentan Uvasol versetzt und 30 Minuten lang bei Raumtemperatur im Ultraschall extrahiert. Das Lösungsmittel wird abdekantiert, Lösungsmittelreste auf dem Rückstand im Argonstrom abgeblasen und in 2 mL Methanol- d_4 suspendiert. Es wird erneut 30 Minuten lang bei Raumtemperatur im Ultraschallbad extrahiert. Der Rückstand wird abfiltriert und der methanolische- d_4 Extrakt säulenchromatographisch an 10 g Kieselgel gereinigt, wobei zuerst mit 50 mL *n*-Hexan Uvasol und dann mit 50 mL eines Laufmittels *n*-Hexan/Ethylacetat fraktioniert wird. Die zweite Fraktion wird am Rotationsverdampfer eingeengt.

Charakterisierung von Verbindung 184:

MS (EI, 70eV): m/z 306 (M^+ , 0.1), 253 (2), 193 (2), 192 (10), 191 (15), 190 (38), 189 (21), 188 (8), 186 (3), 185 (5), 173 (6), 172 (18), 171 (10), 170 (3), 167 (3), 164 (6), 163 (9), 162 (5), 157 (4), 156 (13), 155 (88), 154 (48), 153 (20), 150 (5), 149 (42), 148 (47), 147 (24), 146 (7), 139 (4), 138 (13), 137 (62), 136 (37), 135 (14), 128 (5), 127 (14), 126 (10), 125 (8), 124 (3), 123 (3), 122 (3), 121 (3), 119 (4), 118 (5), 117 (4), 115 (5), 114 (14), 113 (35), 112 (17), 111 (17), 110 (8), 109 (26), 108 (19), 107 (10), 102 (3), 100 (4), 99 (9), 98 (11),

97 (19), 96 (7), 95 (11), 94 (10), 93 (37), 92 (6), 91 (12), 90 (4), 87 (4), 86 (10), 85 (17),
84 (17), 83 (36), 82 (19), 81 (26), 80 (16), 79 (21), 78 (6), 77 (4), 76 (3), 74 (5), 73 (5),
72 (17), 71 (30), 70 (21), 69 (42), 68 (20), 67 (33), 63 (5), 62 (25), 61 (5), 60 (3), 59 (8),
58 (22), 57 (50), 56 (38), 55 (100), 54 (16), 53 (7), 46 (6), 45 (11), 44 (16), 43 (53), 42 (18),
41 (49), 40 (4), 39 (9).

7 Sicherheitshinweise

Die folgende Liste umfasst sämtliche Verbindungen und Lösungsmittel, mit denen während dieser Arbeit umgegangen wurde. Die Gefahrstoffe sind mit den jeweiligen Gefahrensymbolen, R-Sätzen 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, sowie R- und S-Sätze gekennzeichnet.

Substanzname	Gefahrensymbol	R-Sätze	S-Sätze
Aceton	F	11-36-66-67	2-9-16-26
Aceton-d ₆	F	11	9-16-23.3-33
Acetonitril	F, T	11-23/24/25	16-27-45
Acetylchlorid	F, C	11-14-34	9-16-26-45
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
L-Äpfelsäure	C	20/22-36/37/38	26-36
Ammoniak	T, N	10-23-34-50	9-16-26-36/37/39- 45-61
Ammoniumcarbonat	Xn	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
1-Bromdecan	-	-	-
1-Bromdodecan	-	-	-
1-Bromhexan	-	10	-
2-Bromhexan	-	10	-
1-Bromoctan	-	-	-
1-Brompropan	Xn	10-20	7-24
BSTFA/TMCS	Xn	10-34	16-26-27-36/37/39
tert.-Butanol	F, Xn	11-20	9-16
Buttersäurechlorid	C, F	11-34	16-23-26-36-45
n-Butylbromid	F, Xi	11-36/37/38	16-26-33
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

m-Chlorperbenzoesäure	O, Xi	7-36/37/38	3/7-14.10-36/37/39
Cyclododecen	-	-	-
Cyclohexen	Xn, F	11-22-65	16-33-36/37-62
Cycloocten	Xi	10	16-3/7-29-33
1,10-Decandiol	-	-	-
Decansäure	Xi	36/38	-
Deuteriumoxid (D ₂ O)	-	-	-
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
Diglycolsäure	Xn	22	24/25
3,4-Dihydro-2 <i>H</i> -pyran	F, Xi	11-19-36/38	9-16-29-43.3
Dimethylformamid	T	61-E20/21-36	53-45
Dimethylsulfoxid	Xi	36/38	26
Dimethylsulfoxid-d ₆	Xi	36/38	26
Laurinsäure	-	-	-
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
Ethylacetoaceton	F	36/37/38	26-36/37/38
Florisil	-	-	-
2(5 <i>H</i>)-Furanon	-	-	-
Furfural	T	23/25	24/25-45
Furfurylalkohol	Xn	20/21/22	-
Flußsäure	T, C	26/27/28-35	7/9-26-36/37-45
Geranylaceton	-	-	-
β -D-Glucose	-	-	-
2-Hexadecanol	-	-	-
Palmitinsäure	-	-	-
<i>n</i> -Hexan	F, Xn	11-36/37-67	(2-)-9-16-29-33-36/37-61-62
2-Hexanol	-	10	-
<i>n</i> -Hexyltriphenylphosphoniumbromid	Xi	36/37/38	26-36
Iod	Xn	20/21	23-25
Isobuttersäurechlorid	C, F	11-34	16-23-26-36-45
Kaliumcarbonat	Xn	22-36/37/38	22-26
Kaliumhydroxid	C	35	26-37/39-45
α -Lactose-Monohydrat	-	-	-
Lithiumaluminiumhydrid	F	15	7/8-24/25-43.6
Magnesiumsulfat	-	-	-
Methanol	F, T	11-23/25	7-16-24-45

Methanol-d ₄	F, T	11-23/25	7-16-24-45
2-Methyl-1-butanol	Xn	10-20	24/25
5-Methylfurfural	-	-	-
Methyl-2-furancarboxylat	-	-	24
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
3-Methyl-1-pentanol	Xi	10-37	24/25
L-Milchsäure	Xi	36/38	-
Natriumchlorid	-	-	-
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	-	-	-
2-Nonanon	-	-	-
Stearinsäure	-	-	-
<i>n</i> -Octyltriphenylphosphoniumbromid	Xi	36/37/38	26-36
Ölsäure	-	-	-
Ölsäuremethylester	-	-	-
2-Oxopropansäure	C	34	26-36/37/39-45
2-Oxopropansäuremethylester	-	-	-
Palladium auf Aktivkohle (Pd/C)	F, Xi	7, 36/37/38	17-26-36
<i>n</i> -Pentan	F	11	(2-)9-16-29-33-61-62
2-Pentadecanol	-	-	-
<i>para</i> -Periodsäure	O, C	8-34	26-36/37/39-45
Petrolether	F, Xn	11-52/53-65	9-16-23.2-24-33-62
Phosphorsäure	C	34	26-36/37/39-45
Phosphortribromid	C	14-34-37	26-45
Piperidin	F, T	11-23/24-34	16-26-27-45
2-Propanol	F	11	7-16
Propionsäure	C	34	23-36-45
Propionsäurechlorid	F, C	11-14-34	9-16-26-45
<i>n</i> -Propylphosphoniumbromid	Xi	36/37/38	26-36
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
Schwefelsäure	C	35	26-30-45

Tetrabutylammoniumfluorid	-	-	-
Tetrachlorkohlenstoff	T, N	23/24/25-40- 48/23-52/53-59	23-36/37-45-59-61
Myristinsäure	-	-	-
Tetrahydrofuran	F, Xi	11-19-36/37	16-29-33
Tetramethylsilan (TMS)	F ⁺	12	9-16-29-43.3
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
Toluolsulfonsäurehydrazid	F, Xn	11-22-36/37/38	16-26-36/37
Triethylamin	F, C	11-20/21/22-35	3-16-26-29- 36/37/39-45
Trifluoressigsäure	C	20-35	9-26-27-28.1-45
Trimethylchlorsilan	F, C	11-14-34-37	16-26-36/37/39-45
Triphenylphosphin	Xn, N	22-43-48/20/22- 50/53	26-36/37/39-61
2-Undecanon	-	-	-
Undecansäure	-	-	-
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.

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

- 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.

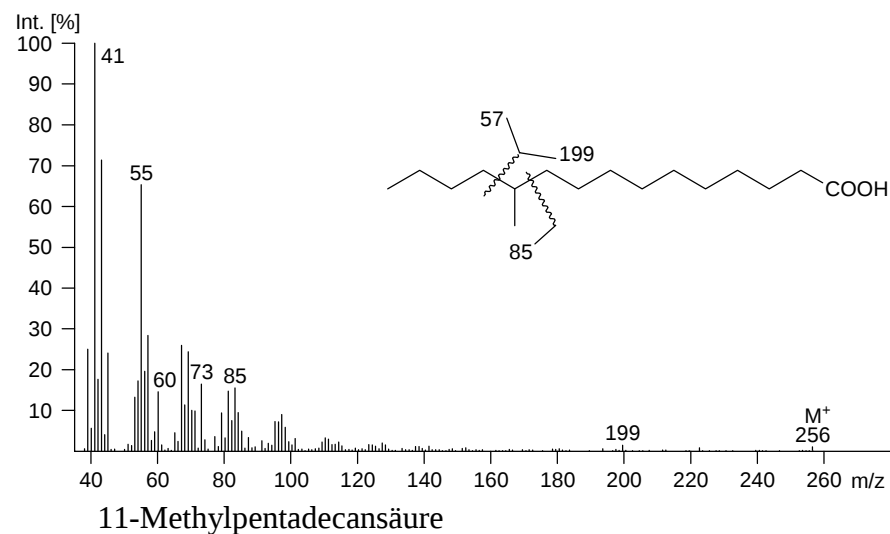
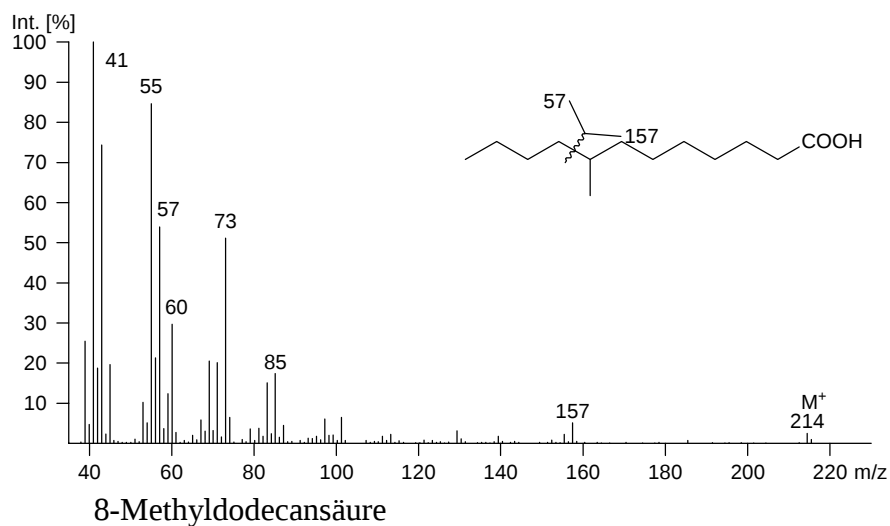
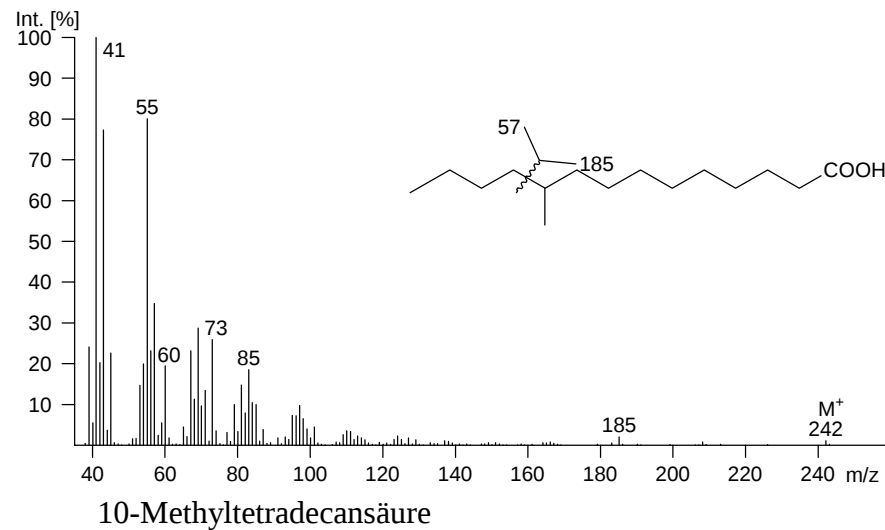
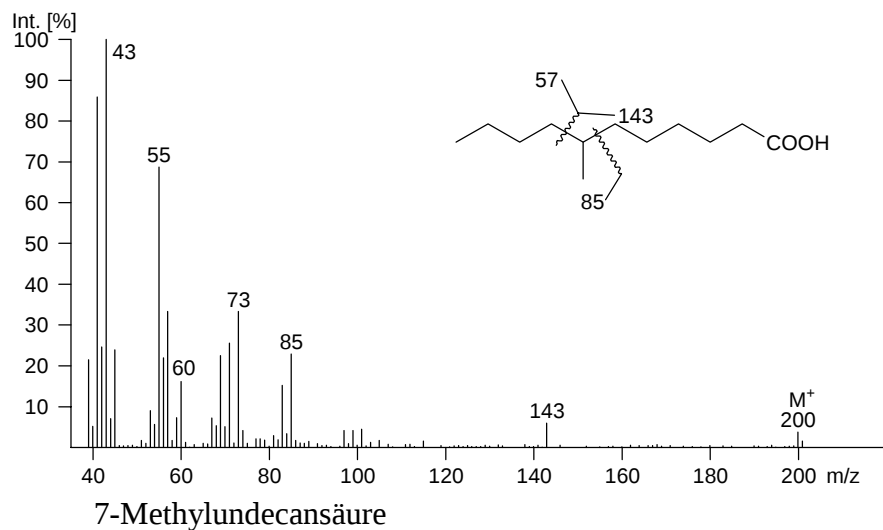
- S 53 Exposition vermeiden - vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.
- S 56 Diesen Stoff und seinen Behälter der Problemabfallentsorgung zuführen.
- S 57 Zur Vermeidung einer Kontamination der Umwelt geeigneten Behälter verwenden.
- S 59 Information zur Wiederverwendung/ Wiederverwertung beim Hersteller/Lieferanten 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.

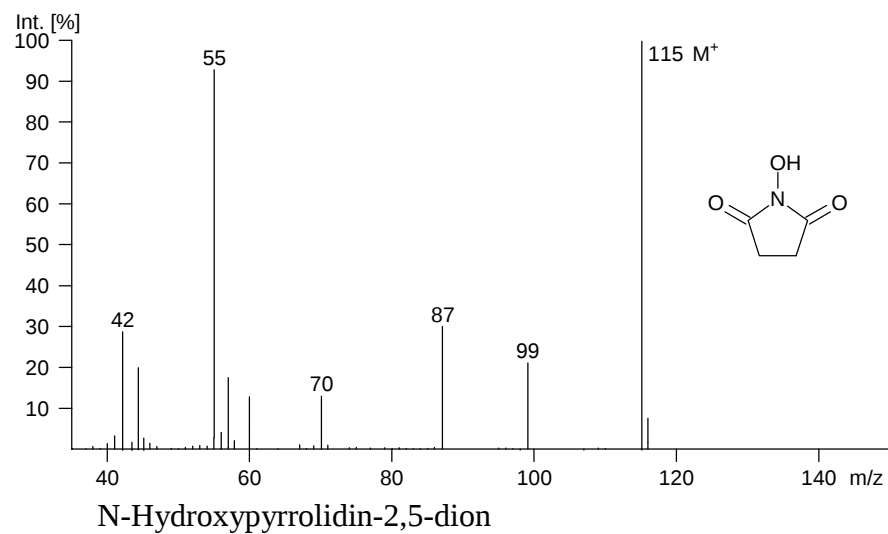
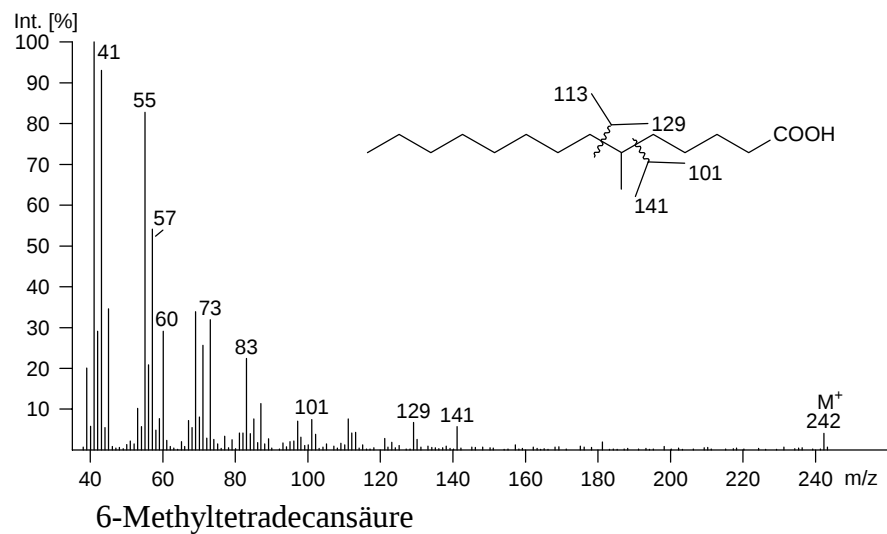
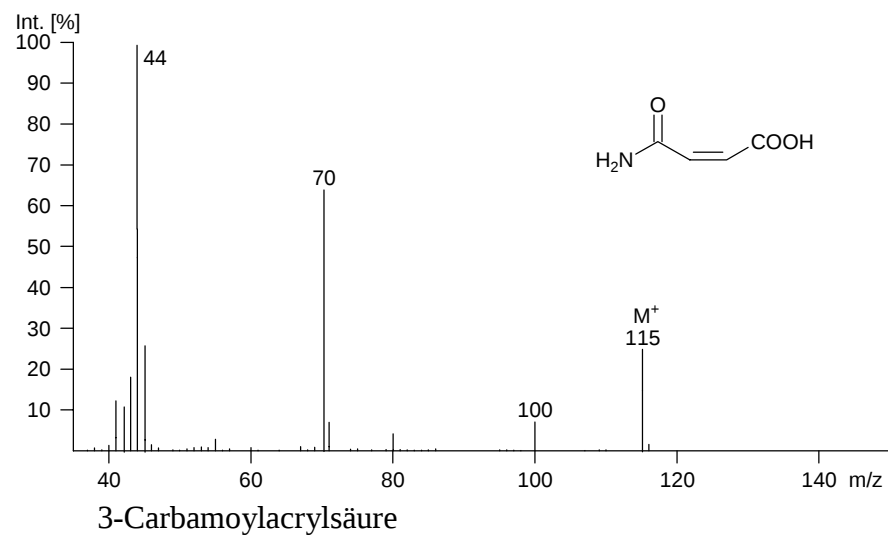
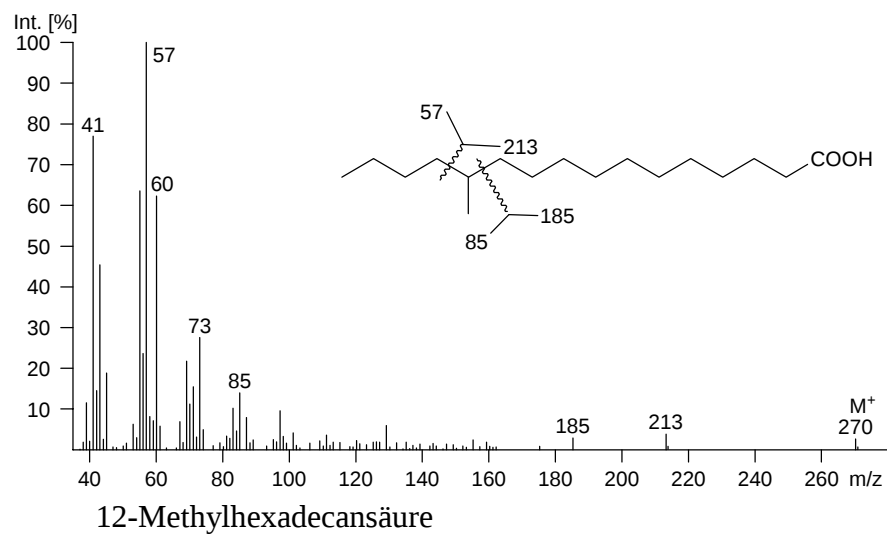
Kombinationen der S-Sätze

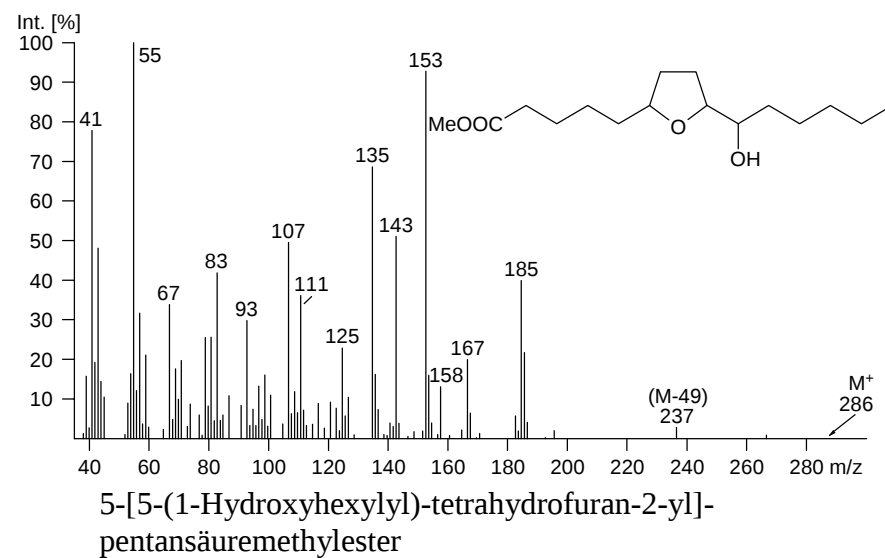
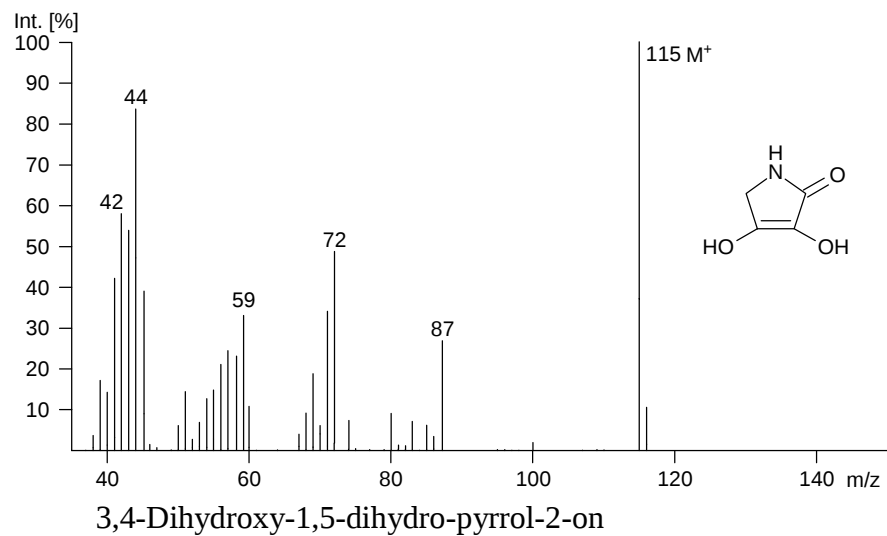
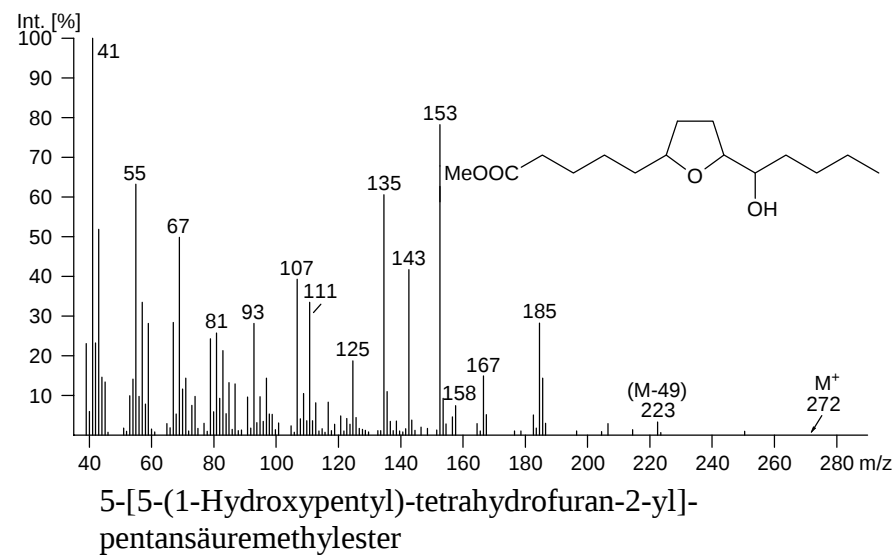
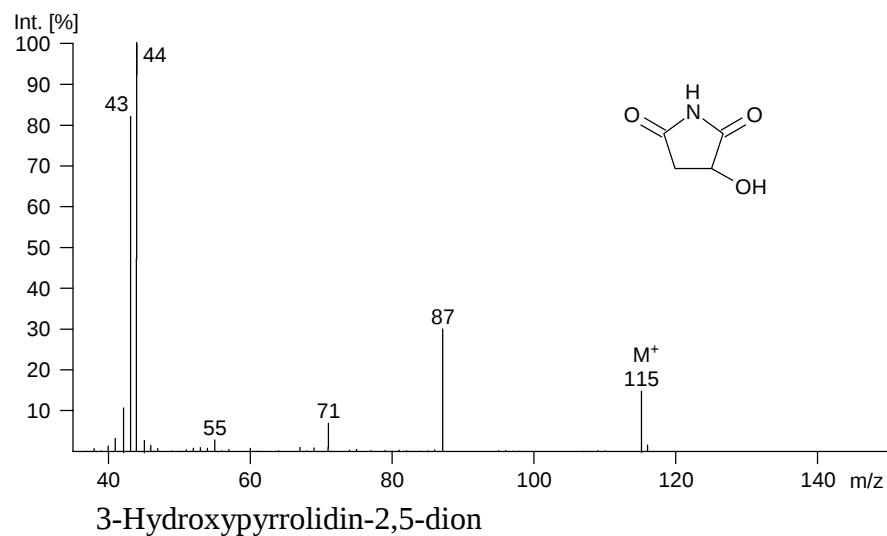
- S 1/2 Unter Verschuß und für Kinder unzugänglich aufbewahren.
- S 3/7 Behälter dicht geschlossen halten und an einem kühlen Ort aufbewahren.
- S 3/9 Behälter an einem kühlen, gut gelüfteten Ort aufbewahren.
- S 3/9/14 An einem kühlen, gut belüfteten Ort entfernt von ... aufbewahren (inkompatible Substanzen 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.

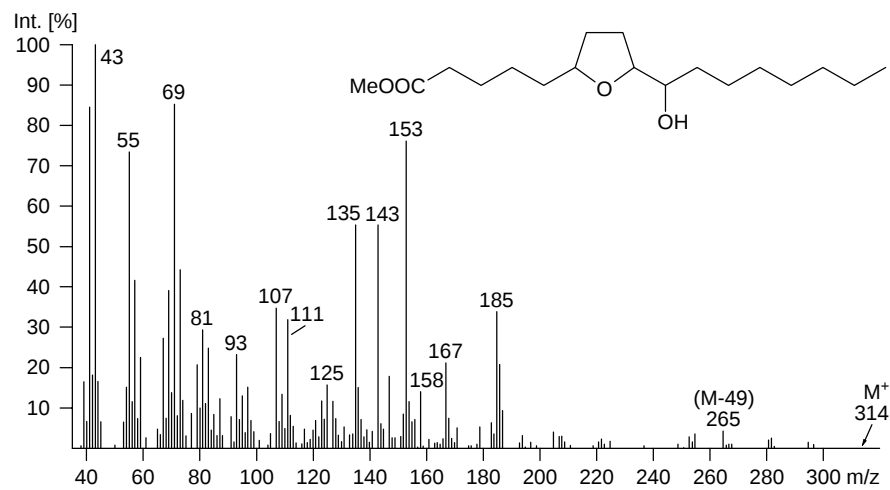
- S 36/37 Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen.
- S 36/37/39 Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
- S 36/39 Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
- S 37/39 Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
- S 47/49 Nur im Originalbehälter bei einer Temperatur nicht über ... °C aufbewahren (vom Hersteller anzugeben).

8 Anhang Massenspektren

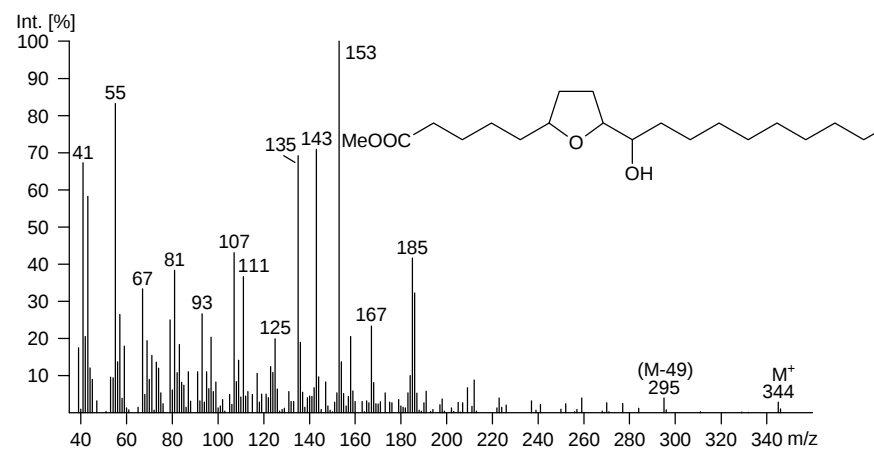




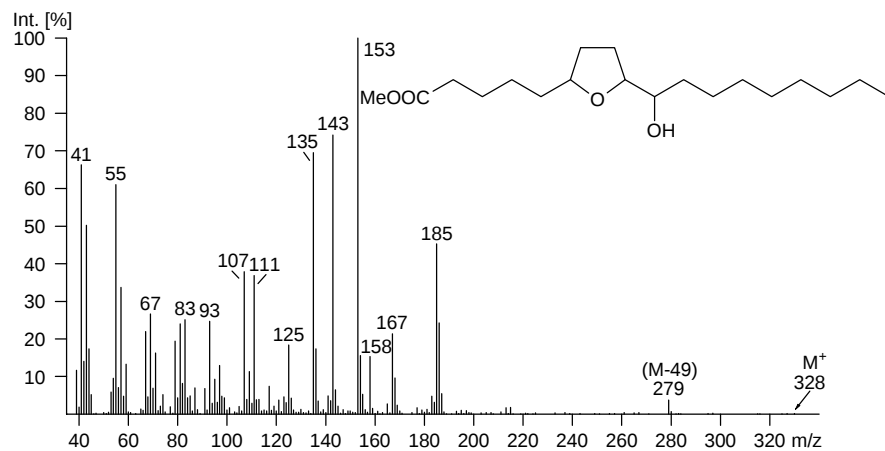




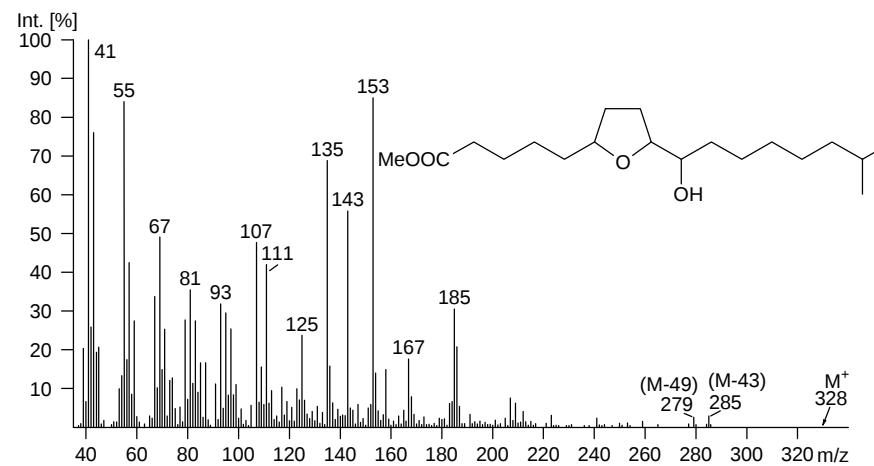
5-[5-(1-Hydroxyoctyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-
pentansäuremethylester



5-[5-(1-Hydroxydecyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-
pentansäuremethylester



5-[5-(1-Hydroxynonyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-
pentansäuremethylester



5-[5-(1-Hydroxy-7-methyloctyl)-tetrahydrofuran-2-yl]-
pentansäuremethylester

9 Literaturhinweise

- ¹ D. A. Nordlund, in: *Semiochemicals: Their Role in Pest Control*. D. A. Nordlund, R. L. Jones, W. J. Lewis, (eds.) Wiley, New York, **1981**, 13-28.
- ² J. B. Harborne, *Introduction to Ecological Biochemistry*, London, Academic Press, **1977**.
- ³ T. Eisener: In: *Chemical Ecology*, E. Sondheimer, J. B. Simeone, (eds.), New York, Academic Press, **1970**, 157-217.
- ⁴ C. G. Butler, *Trans. R. Entomol. Soc. London*, **1954**, 105, 11-29.
- ⁵ W. H. Thorpe, F. G. W. Jones, *Proc. R. Soc. London, Ser. B*, **1937**, 124, 56-81.
- ⁶ D. F. Rhoades, R. G. Cates, in: J. W. Wallace, R. L. Mansell (eds.), *Biochemical Interactions Between Plants and Insects*. Plenum Press, New York, **1976**, 168-213.
- ⁷ S. B. Vinsons, *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **1968**, 61, 8-10.
- ⁸ W. Francke, V. Heemann, B. Gerken, J. A. A. Renwick, J. P. Vite, *Naturwissenschaften*, **1977**, 64, 590-591.
- ⁹ J. A. Byers, G. Birgersson, J. Löfqvist, G. Bergström, *Naturwissenschaften*, **1988**, 75, 153.
- ¹⁰ A. Butenandt, R. Beckmann, D. Stamm, E. Hecker, *Z. Naturforsch.*, **1960**, 15b, 283.
- ¹¹ W. Francke, F. C. Schröder, *Current Org. Chem.*, **1999**, 3, 407-443.
- ¹² M. D. Papke, Dissertation an der Universität Hamburg: Isolierung, Identifizierung und Synthese von Signalstoffen aus Spinnen, **2000**.
- ¹³ L. E. L. Rasmussen, T. D. Lee, W. L. Roelofs, A. Zhang, G. D. Daves jr., *Nature*, **1996**, 379, 684.
- ¹⁴ J. M. Brand, H. M. Page, W. A. Lindner, A. J. Markovetz, *Naturwissenschaften*, **1989**, 76, 277.
- ¹⁵ J. B. Harborne, *Ökologische Biochemie, Tierische Pheromone und Abwehrsubstanzen*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford, **1995**.
- ¹⁶ R. L. Brahmachary, J. Dutta, *Z. Naturforsch.*, **1979**, 34 C, 632-633.
- ¹⁷ R. L. Brahmachary, J. Dutta, *Amer. Natu.*, **1981**, 118, 561-567.
- ¹⁸ E. S. Albone, G. C. Perry, *J. Chem. Ecol.*, **1975**, 2, 101-111.
- ¹⁹ J. Raymer, D. Wiesler, M. Novotny, C. Asa, U. S. Seal, L. D. Mech, *J. Chem. Ecol.*, **1985**, 11, 593-608.
- ²⁰ T. H. Schultz, S. M. Kruse, R. A. Flath, *J. Chem. Ecol.*, **1985**, 11, 169-175.
- ²¹ G. Preti, E. L. Muetterties, J. M. Furman, J. J. Kennelly, B. E. Johns, *J. Chem. Ecol.*, **1976**, 2, 177-186.

- ²² B. S. Goodrich, E. R. Hesterman, K. E. Murray, R. Mykytowycz, G. Stanley, G. Sugowdz, *J. Chem. Ecol.*, **1978**, 4, 581-594.
- ²³ E. R. Hesterman, R. Mykytowycz, *J. Chem. Ecol.*, **1982**, 8, 419-427.
- ²⁴ S. M. Kruse, W. E. Howard, *J. Chem. Ecol.*, **1983**, 9, 1503-1510.
- ²⁵ M. Goodwin, K. M. Gooding, F. Regnier, *Science*, **1979**, 203, 559-561.
- ²⁶ L. F. Alves, Chemical Ecology and the Social Behavior of Animals, W. Herz, H. Griesbach, G. W. Kirby, C. Tamm (eds.), Springer Verlag Wien, New York, **1988**, 19-20.
- ²⁷ E. O. Wilson, *Sci. Amer.*, **1963**, 208, 100-114.
- ²⁸ D. Müller-Schwarze: Scent Glands in Mammals and their Functions. In: J. F. Eisenberg, D. G. Kleiman (eds.) *Advances in the Study of Mammalian Behavior*. Spec. Publ. Amer. Soc. Mammal., **1983**, 7, 150-197.
- ²⁹ A. G. Singer, W. Agosta, R. J. O'Connell, C. Pfaffman, D. V. Boven, F. H. Field, *Science*, **1976**, 191, 948-950.
- ³⁰ R. J. O'Connell, A. G. Singer, C. Pfaffman, W. Agosta, *J. Chem. Ecol.*, **1979**, 5, 575-585.
- ³¹ D. D. Thiessen, F. E. Regnier, M. Rice, M. Goodwin, N. Isaacks, N. Lawson, *Science*, **1974**, 184, 83-85.
- ³² J. G. Vandenbergh, Pheromonal Regulation of Puberty, in: *Pheromones and Reproduction in Mammals*, J. G. Vandenbergh (ed.), Academic Press, **1983**, 95-110.
- ³³ M. Novotny, F. J. Schwende, D. Wiesler, J. W. Jorgenson, M. Carmack, *Experientia*, **1984**, 40, 217-219.
- ³⁴ R. L. S. Patterson, *J. Sci. Fd. Agric.*, **1968**, 19, 434-438.
- ³⁵ R. G. Brownlee, R. M. Silverstein, D. Müller-Schwarze, A. G. Singer, *Nature*, **1969**, 221, 284-285.
- ³⁶ D. Müller-Schwarze, *Anim. Behav.*, **1971**, 19, 141-152.
- ³⁷ D. Müller-Schwarze, U. Ravid, A. Claesson, A. G. Singer, R. M. Silverstein, C. Müller-Schwarze, N. J. Volkman, K. F. Zemanek, R. G. Butler, *J. Chem. Ecol.*, **1978**, 4, 247-256.
- ³⁸ D. Müller-Schwarze, R. M. Silverstein, C. Müller-Schwarze, A. G. Singer, N. J. Volkman, *J. Chem. Ecol.*, **1976**, 2, 389-398.
- ³⁹ D. Müller-Schwarze, C. Müller-Schwarze, *J. Chem. Ecol.*, **1975**, 1, 125-131.
- ⁴⁰ D. Müller-Schwarze, R. Altieri, N. Porter, *J. Chem. Ecol.*, **1984**, 10, 1707-1729.
- ⁴¹ D. Müller-Schwarze, *Science*, **1974**, 183, 860-862.
- ⁴² W. R. Garstka, D. Crews, *Science*, **1981**, 214, 681-683.
- ⁴³ W. Cooper, L. J. Vitt, *Anim. Behav.*, **1986**, 34, 367-376.

- ⁴⁴ T. Eisner, W. E. Conner, K. Hicks, K. R. Dodge, H. I. Rosenberg, T. H. Jones, M. Cohan, J. Meinwald, *Science*, **1977**, 196, 1347-1349.
- ⁴⁵ R. P. Michael, E. B. Keverne, R. W. Bonsall, *Science*, **1971**, 172, 964-966.
- ⁴⁶ R. P. Michael, R. W. Bonsall, M. Kutner, Chemical Signals and Primate Behavior. In: D. Müller-Schwarze, M. M. Mozell (eds.) *Chemical Signals in Vertebrates*, New York: Plenum Press. **1977**, 251-271.
- ⁴⁷ E. Steel, *J. Endocr.*, **1985**, 105, 255-262.
- ⁴⁸ G. J. Fox, *Folia Primol.*, **1982**, 37, 255-266.
- ⁴⁹ J. E. Herrington, *Anim. Behav.*, **1977**, 25, 147-151.
- ⁵⁰ J. E. Herrington, *Anim. Behav.*, **1976**, 24, 207-212.
- ⁵¹ H. H. Shorey, *Animal Communication by Pheromones*, Academic Press, New York, San Francisco, London, **1976**.
- ⁵² R. Axel, Die Entschlüsselung des Riechens, *Spektr. Wiss.*, **1995**, 2, 72-78.
- ⁵³ B. A. Baldwin, E. E. Shillito, *Anim. Behav.*, **1974**, 22, 220-223.
- ⁵⁴ C. Darwin, *Mind*, **1877**, 7, 282.
- ⁵⁵ R. L. Doty, P. J. Snyder, G. R. Huggins, L. D. Lowry, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **1981**, 95, 45-60.
- ⁵⁶ M. J. Russell, G. N. Switz, K. Thompson, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **1980**, 13, 737-738.
- ⁵⁷ M. K. McClintock, *Nature*, **1971**, 229, 244-245.
- ⁵⁸ A. Weller, L. Weller, *Physiology and Behavior*, **1993**, 53, 943-949.
- ⁵⁹ M. J. Russell, *Nature*, **1976**, 260, 520-522.
- ⁶⁰ P. Wallace, *Physiol. Behav.*, **1977**, 19, 577-579.
- ⁶¹ R. H. Porter, J. M. Cernoch, R. D. Balogh, C. Franchi, *Chem. Senses*, **1986**, 11, 389-395.
- ⁶² M. Schleidt, C. Genzel, *Ethol. Sociobiol.*, **1990**, 11, 145-154.
- ⁶³ A.-S. Cismaresco, F. Bonnin, *J. Psychosom. Obstet. Gynaecol.*, **1993**, 14, 65-70.
- ⁶⁴ A. Comfort, *Nature*, **1971**, 230, 432-433.
- ⁶⁵ A. Comfort: The Likelihood of Human Pheromones. In: M. C. Birch ed. *Pheromones*, Amsterdam: North Holland/Elsevier, **1974**, 386-396.
- ⁶⁶ G. Laurent, *Neuron*, **1996**, 16, 473-476.
- ⁶⁷ H. S. Koelega, E. P. Köster, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1974**, 237, 234-246.
- ⁶⁸ A. H. Parker, *Bull. Entomol. Res.*, **1948**, 39, 387-397.
- ⁶⁹ W. Müller, *Z. Vergl. Physiol.*, **1968**, 58, 241-303.

- ⁷⁰ M. Geier, Dissertation an der Universität Regensburg: Verhaltensversuche mit Gelbfiebermücken *Aedes aegypti* zur Aufklärung des attraktiven Reizmusters bei der olfaktorischen Wirtsfindung. **1995**.
- ⁷¹ M. J. Klowden, E. E. Davis, M. F. Bowen, *J. Insect. Physiol.*, **1987**, 33(9), 643-646.
- ⁷² M. J. Klowden, *Experimentia*, **1990**, 46, 660-670.
- ⁷³ A. N. Clements, Mosquitoes volume I., London: Chapman & Hall, **1992**.
- ⁷⁴ T. A. Freyvogel, *Acta Trop.*, **1961**, 18(2), 201-251.
- ⁷⁵ H. K. Gouck, *Bull. World Health Org.*, **1972**, 47, 680-683.
- ⁷⁶ U. Rahm, *L. Z. Tropenmed. Parasit.*, **1958**, 9, 146-156.
- ⁷⁷ M. J. Klowden, H. Briegel, *J. Med. Entomol.*, **1994**, 31(4), 618-622.
- ⁷⁸ P. H. Vartak, V. B. Tungikar, R. N. Sharma, *J. Comm. Diseases*, **1994**, 26(3), 156-160.
- ⁷⁹ A. K. Mishara, Singh Neeru, V. P. Sharma, N. Singh, *Ind. J. Malaiol.*, **1995**, 32(3), 99-103.
- ⁸⁰ Patent: Sumitomo Chem CO Ltd.; Arthropod repellent compsn. Contg. Monoterpene-diol and pyrethroid-exhibits outstanding effectiveness over long time period, Pat. No. AU 9530550.
- ⁸¹ E. E. Davis, *J. Med. Entomol.*, **1985**, 22(3), 237-243.
- ⁸² S. A. Richie, D. L. Kline, *J. Aust. Entomol. Soc.*, **1995**, 34(3), 215-218.
- ⁸³ D. Buckley, R. Timperi, M. Robin, B. Werner, *J. Florida Mosq. Control Assoc.*, **1994**, 65, 8-11.
- ⁸⁴ Y. Rubio-Palis, *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, **1996**, 12(1), 91-96.
- ⁸⁵ R. Galun, Responses of blood-sucking arthropods to vertebrate hosts. In H. H. Shorey, J. McKelvey jr.; Chemical control of insect behavior., New York, London, Sydney, Toronto: Johan Wiley and Sons, **1977**, 103-115.
- ⁸⁶ M. T. Gillies, T. J. Wilke, *Bull. Entomol. Res.*, **1972**, 61, 389-404.
- ⁸⁷ U. Rahm, *Acta Trop.*, **1956**, 13, 319-344.
- ⁸⁸ B. Hocking, *Annu. Rev. Entomol.*, **1971**, 16, 1-26.
- ⁸⁹ V. G. Dethier, *Exp. Parasit.*, **1957**, 6, 68-122.
- ⁹⁰ J. S. Kennedy, *Proc. Zool. Soc.*, **1939**, Ser. A., 221-242.
- ⁹¹ G. A. Vale, *Bull. Entomol. Res.*, **1974**, 64, 545-588.
- ⁹² S. A. Allan, J. F. Day, J. D. Edman, *A. Rev. Entomol.*, **1987**, 32, 297-316.
- ⁹³ W. L. Bidlingmayer, *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, **1994**, 10(2), 272-279.
- ⁹⁴ W. L. Sippel, A. W. A. Brown, *Bull. Entomol. Res.*, **1953**, 43(4), 567-574.
- ⁹⁵ U. Rahm, *Rev. Suisse Zool.*, **1957**, 64, 236-246.

- ⁹⁶ L. Burgess, *Nature*, **1959**, 184, 1968-1969.
- ⁹⁷ W. Takken, *Insect. Sci. Applic.*, **1991**, 12, 287-295.
- ⁹⁸ E. E. Davis, M. F. Bowen, *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, **1994**, 10(2), 316-325.
- ⁹⁹ J. F. Sutcliffe, *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, **1994**, 10, 309-315.
- ¹⁰⁰ B. Schaerffenberg, E. Kupka, *Oesterreich. Zool. Zeitsch.*, **1951**, 111, 410-424.
- ¹⁰¹ J. Reuter, *Acad. Proefschr.*, Leiden, **1933**, 118.
- ¹⁰² H. P. Roessler, *Z. Vergl. Physiol.*, **1961**, 44, 184-231.
- ¹⁰³ J. J. Laarman, *Trop. Geogr. Med.*, **1958**, 10, 293-305.
- ¹⁰⁴ B. G. J. Knols, Dissertation an der Universität Wageningen, NL: Odour-mediated host-seeking behaviour of the Afro-tropical malaria vector *Anopheles gambiae* Giles, **1996**.
- ¹⁰⁵ W. Takken, D. L. Kline, *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, **1989**, 5(3), 311-316.
- ¹⁰⁶ M. T. Gillies, *Bull. Entomol. Res.*, **1980**, 70, 525-532.
- ¹⁰⁷ A. N. Clements, *The Physiology of Mosquitoes*. Pergamon Press, London, **1963**.
- ¹⁰⁸ G. Nicolas, D. Sillans, *A. Rev. Entomol.*, **1989**, 34, 97-116.
- ¹⁰⁹ R. Brouwer, *Trop. Geogr. Med.*, **1960**, 12, 62-66.
- ¹¹⁰ D. A. Carlson, N. Smith, H. K. Gouck, D. R. Godwin, *J. Econ. Entomol.*, **1973**, 66, 329-331.
- ¹¹¹ M. T. Gillies, *Ann. Rev. Entomol.*, **1974**, 19, 345-362.
- ¹¹² W. Rudolfs, *Bull. New Jers. Agr. Exp. Stn.*, **1922**, 347, 4-23.
- ¹¹³ F. Acree jr., R. B. Turner, H. K. Gouck, M. Beroza, N. Smith, *Science*, **1968**, 161, 1346-1347.
- ¹¹⁴ C. N. Smith, N. Smith, H. K. Gouck, D. E. Weidhaas, I. H. Gilbert, M. S. Mayer, B. J. Smittle, A. Hofbauer, *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **1970**, 63, 760-770.
- ¹¹⁵ A. E. Eiras, P. C. Jepson, *Bull. Entomol. Res.*, **1991**, 81, 151-160.
- ¹¹⁶ D. L. Kline, W. Takken, J. R. Wood, D. A. Carlson, *Med. Vet. Entomol.*, **1990**, 4, 383-391.
- ¹¹⁷ E. E. Davis, P. G. Sokolove, *J. Comp. Physiol.*, **1976**, 105, 43-54.
- ¹¹⁸ F. E. Kellog, *J. Insect. Physiol.*, **1970**, 16, 99-108.
- ¹¹⁹ E. E. Davis, *J. Insect. Physiol.*, **1984**, 30(3), 211-215.
- ¹²⁰ S. M. Omer, M. T. Gillies, *Entomologia Exp. Appl.*, **1971**, 14, 251-252.
- ¹²¹ B. Pappenberger, M. Geier, J. Boeckh, in *Mosquito-Host Interactions-Ciba Foundation Symposium 200*; G. R. Bock, G. Cardew, John Wiley & Sons, Chichester, England, **1996**, 254-266.
- ¹²² A. W. Brown, A. G. Carmichael, *J. Econ. Entomol.*, **1961**, 54, 317-324.

- ¹²³ A. W. A. Brown, D. S. Sarkaria, P. R. Thomson, *Bull. Entomol. Res.*, **1951**, 42, 105-114.
- ¹²⁴ H. I. Maibach, W. A. Skinner, W. G. Strauss, A. A. Khan, *J. Am. Med. Assoc.*, **1966**, 196, 173-176.
- ¹²⁵ A. Cork, K. C. Park, *Med. Vet. Entomol.*, **1996**, 10, 269-276.
- ¹²⁶ J. Meijerink, M. A. H. Braks, A. A. Brack, W. Adam, T. Dekker, M. A. Posthumus, T. A. Van Beek, J. J. A. Van Loon, *J. Chem. Ecol.*, **2000**, 26(6), 1367-1382.
- ¹²⁷ M. Rietdorf, Diplomarbeit an der Universität Hamburg: Untersuchungen von Primärattraktantien für die Gelfiebermücke *Aedes aegypti.*, **1996**.
- ¹²⁸ M. Geier, H. Sass, J. Boeckh, in Mosquito-Host Interactions-Ciba Foundation Symposium 200; G. R. Bock, G. Cardew, John Wiley & Sons, Chichester, England, **1996**, 132-148.
- ¹²⁹ M. Geier, O. J. Bosch, J. Boegkh, *Chem. Senses*, **1999**, 24, 647-653.
- ¹³⁰ O. J. Bosch, M. Geier, J. Boegkh, *Chem. Senses*, **2000**, in Vorbereitung.
- ¹³¹ C. E. Schreck, N. Smith, D. A. Carlson, G. D. Price, D. Haile, D. R. Godwin, *J. Chem. Ecol.*, **1981**, 8(2), 429-438.
- ¹³² C. E. Schreck, D. L. Kline, D. A. Carlson, *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, **1990**, 6, 406-410.
- ¹³³ U. R. Bernier, Dissertation at the University of Florida: Mass Spectrometric Investigations of Mosquito Attraction to Human Skin Emanations., **1995**.
- ¹³⁴ U. R. Bernier, M. M. Booth, R. A. Yost, *Anal. Chem.*, **1999**, 71, 1-7.
- ¹³⁵ U. R. Bernier, D. L. Kline, D. R. Barnard, C. E. Schreck, R. A. Yost, *Anal. Chem.*, **1999**, 71, 8-18.
- ¹³⁶ H. Sugisawa, T. Hirose, Microanalysis of volatile compounds in biological materials in small quantities. In: P. Schreier (ed.), Flavour 81. Berlin, New York, de Gruyter, **1981**, 287-299.
- ¹³⁷ The Wiley/NBS, Registry of Mass Spectral Data, John Wiley & Sons, N.Y., Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore.
- ¹³⁸ N. Nicolaides, J. M. B. Apon, *Biomed. Mass Spec.*, **1977**, 4, 337-347.
- ¹³⁹ M. Ceruti, G. Balliani, F. Viola, G. Grossa, F. Rocco, L. Cattel, *J. Med. Chem.*, **1992**, 35, 3050-3058.
- ¹⁴⁰ W. E. Gore, G. T. Pearce, R. M. Silverstein, *J. Org. Chem.*, **1975**, 41, 607-610.
- ¹⁴¹ D. Vanderwel, A. C. Oehlschlager, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 5081-5086.
- ¹⁴² Y. Gaoni, *J. Chem. Soc.*, **1968**, 2925-2934.
- ¹⁴³ N. J. Oldham, E. D. Morgan, B. Gobin, E. Schoeters, J. Billen, *J. Chem. Ecol.*, **1994**, 20, 3297-3305.

- ¹⁴⁴ K. B. Sharpless, W. Amberg, Y. L. Bennani, G. A. Crispino, J. Hartung, K.-S. Jeong, H.-L. Kwong, K. Morikawa, Z.-M. Wang, D. Xu, X.-I. Zhang, *J. Org. Chem.*, **1992**, 57, 2768.
- ¹⁴⁵ R. Johnson, K. B. Sharpless, *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 4263.
- ¹⁴⁶ E. J. Corey, P. D. Jardine, S. Virgil, P.-W. Yuen, R. D. Connell, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 11, 9243.
- ¹⁴⁷ M. Minato, K. Yamamoto, J. Tsuji, *J. Org. Chem.*, **1990**, 55, 766.
- ¹⁴⁸ Y. Ogino, H. Chen, H.-L. Kwong, K. B. Sharpless, *Tetrahedron Lett.*, **1991**, 32, 3965.
- ¹⁴⁹ S. G. Hentges, K. B. Sharpless, *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 4263.
- ¹⁵⁰ M. A. Brimble, D. D. Rowan, J. A. Spicer, *Synthesis*, **1995**, 1263.
- ¹⁵¹ Cadogan, *Organophosphorus Reagents in Organic Synthesis*, Academic Press: New York, **1979**.
- ¹⁵² Maryanoff, Reitz, *Chem. Rev.*, **1989**, 89, 863-927.
- ¹⁵³ S. Trippett, *Advances Org. Chem.*, **1960**, 1, 83-102.
- ¹⁵⁴ L. D. Bergelson, M. M. Schemjakin, *Angew. Chemie*, **1964**, 76, 113-123.
- ¹⁵⁵ W. S. Wadsworth jr., *Org. Reaktionen*, **1977**, 25, 73-253.
- ¹⁵⁶ Organikum, *Organisch-chemisches Grundpraktikum*, 18. Aufl., Dt. Verlag der Wissenschaften, **1990**, 203.
- ¹⁵⁷ Organikum, *Organisch-chemisches Grundpraktikum*, 18. Aufl., Dt. Verlag der Wissenschaften, **1990**, 189.
- ¹⁵⁸ O. Bayer, in Houben-Weyl, **1954**, 7(1), 333-345.
- ¹⁵⁹ P. S. Bailey, *Chem. Rev.*, **1958**, 58, 925-1010.
- ¹⁶⁰ P. S. Bailey, *Tetrahedron Lett.*, **1960**, 13, 14.
- ¹⁶¹ J. Farmer, F. C. Schröder, J. Meinwald, *Helv. Chim. Acta*, **2000**, 83, 2594-2606.
- ¹⁶² S. D. Razumovskii, G. E. Zaikov, *Ozone And Its Reactions With Organic Compounds*, Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo, **1984**, 174-178.
- ¹⁶³ P. S. Bailey, *Ozonation in Organic Chemistry*, Academic Press, New York, London, Vol. 1, **1978**, 114-118.
- ¹⁶⁴ Y.-S. Hon, K.-P. Chu, P.-C. Hong, L. Lu, *Synth. Comm.*, **1992**, 22(3), 429-443.
- ¹⁶⁵ Y.-S. Hon, L. Lu, S.-Y. Li, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, **1990**, 1627-1628.
- ¹⁶⁶ D. Dolphin, A. Wick, *Tabulation of Infrared Spectral Data*, J. Wiley & Sons, N. Y., London, Sydney, Toronto, **1977**, 4.9, 324-331.
- ¹⁶⁷ M. Avram, G. H. Mateescu, *Infrared Spectroscopy*, Wiley & Sons, N. Y., London, Sydney, **1972**, 434-437.

- ¹⁶⁸ M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, N. Y., **1987**, 27-51.
- ¹⁶⁹ H. R. Kriecheldorf, *Chem. Ber.*, **1972**, 105, 3958-3965.
- ¹⁷⁰ H. R. Kriecheldorf, *Makro. Chem.*, **1973**, 173, 13-41.
- ¹⁷¹ J. Klose, C. B. Reese, Q. Song, *Tetrahedron*, **1997**, 53(42), 14411-14416.
- ¹⁷² A. R. Chamberlin, J. Y. L. Chang, *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, 105, 3653-3656.
- ¹⁷³ M. Akssira, M. Boumzebra, H. Kasmi, A. Dahdouh, *Tetrahedron*, **1994**, 50(30), 9051-9060.
- ¹⁷⁴ D. W. Henry, *J. Heterocycl. Chem.*, **1966**, 503-511.
- ¹⁷⁵ B. Cathala, L. Cazaux, C. Picard, P. Tisnes, *Tetrahedron Letters*, **1994**, 35(12), 1863-1866.
- ¹⁷⁶ H. J. Hohorst, L-(-)-Laktat. Bestimmung mit Laktat-Dehydrogenase und NAD. In: H. Bergmeyer (ed.), *Methoden der enzymatischen Analyse*, Verlag Chemie, Weinheim, **1970**, 1, 1425-1437.
- ¹⁷⁷ J. A. Pickett, C. M. Woodcock, *Olfaction in mosquito-host interactions*. Wiley, Chichester (Ciba Foundation Symposium 200, **1996**, 109-123.
- ¹⁷⁸ D. A. Carlson, P. A. Langley, P. Huyton, *Science*, **1978**, 201, 750-753.
- ¹⁷⁹ D. A. Carlson, D. R. Nelson, P. A. Langley, T. W. Coates, T. L. Davis, M. E. Leegwater-Van Der Linden, *J. Chem. Ecol.*, **1984**, 10(3), 429-450.
- ¹⁸⁰ D. T. Downing, J. S. Strauss, *J. Invest. Dermatol.*, **1974**, 62, 228-244.
- ¹⁸¹ D. V. Canyon, J. L. Hii, R. Muller, *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, **1998**, 92, 311-316.
- ¹⁸² B. Steib, *Dissertation an der Universität Regensburg, Was macht Mensch attraktiv für Gelbfiebermücken? Sensorische Grundlagen des Präferenzverhaltens bei der olfaktorischen Wirtsfindung von Aedes aegypti*, **2000**.
- ¹⁸³ R. Mykutowycz, *Sci. Am.*, **1968**, 218, 116-126.
- ¹⁸⁴ R. H. Porter, C. Fullerton, J. C. Berryman, *Z. Tierpsychol.*, **1973**, 32, 489-495.
- ¹⁸⁵ P. Wallace, K. Owen, D. D. Thiessen, *Physiol. Behav.*, **1973**, 10, 463-466.
- ¹⁸⁶ H. M. Doane, R. H. Porter, *Dev. Psychobiol.*, **1978**, 11, 271-277.
- ¹⁸⁷ P. H. Klopfer, J. Gamble, *Z. Tierpsychol.*, **1966**, 23, 588-592.
- ¹⁸⁸ G. B. Meese, D. J. Conner, B. A. Baldwin, *Physiol. Behav.*, **1975**, 15, 121-125.
- ¹⁸⁹ D. J. Gubernick, *Anim. Behav.*, **1980**, 28, 124-129.
- ¹⁹⁰ Z. T. Halpin, *Adv. Behav.*, **1986**, 16, 39-70.
- ¹⁹¹ N. C. G. Freeman, J. S. Rosenblatt, *Dev. Psychobiol.*, **1978**, 11, 459-468.
- ¹⁹² J. N. Kaplan, D. Cubicciotti, W. K. Redican, *Dev. Psychobiol.*, **1977**, 10, 447-453.

- ¹⁹³ B. Schaal, P. Orgeur, L. Marlier, *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **1995**, 120, 277-287.
- ¹⁹⁴ A. MacFarlane, Olfaction in the Development of Social Preferences in the Human Neonate. Ciba Found. Symp., **1975**, 33, 103-117.
- ¹⁹⁵ B. Schaal, H. Montagner, E. Hertling, D. Bolzoni, A. Moyse, R. Quichon, *Reprod. Nutr. Develop.*, **1980**, 20, 843-858.
- ¹⁹⁶ H. Varendi, R. H. Porter, J. Winberg, *Lancet*, **1994**, 344, 989-990.
- ¹⁹⁷ B. Schaal, L. Marlier, R. Soussignan, *Biol. Neonate*, **1995**, 67, 397-406.
- ¹⁹⁸ H. Varendi, R. H. Porter, J. Winberg, *Acta Paediatr.*, **1996**, 85, 1223-1227.
- ¹⁹⁹ H. Varendi, R. H. Porter, J. Winberg, *Acta Paediatr.*, **1997**, 86, 985-990.
- ²⁰⁰ M. Kaitz, A. Good, A. M. Rokem, A. I. Eidelman, *Develop. Psychobiol.*, **1987**, 20, 587-591.
- ²⁰¹ A. S. Fleming, M. Steiner, C. Corter, *Horm. Behav.*, **1997**, 32, 85-98.
- ²⁰² R. H. Porter, J. M. Cernoch, R. D. Balogh, C. Franchi, *Chem. Senses*, **1986**, 11, 139-144.
- ²⁰³ M. J. Russell, R. Mendelson, H. V. S. Peeke, *Ethol. Sociobiol.*, **1983**, 4, 29-31.
- ²⁰⁴ B. Schaal, L. Marlier, *Biol. Neonate*, **1998**, 74, 266-273.
- ²⁰⁵ K. Bengtsson, Examensarbeit an der Universität Lund: Recognition of Human Infants by Olfactory Cues, **2001**.
- ²⁰⁶ A. Töpel, Chemie und Physik der Milch, 2. Auflage, VEB Fachbuchverlag Leipzig, **1981**.
- ²⁰⁷ O. Rau, Dissertation an der Universität Bayreuth: 2,5-Disubstituierte Tetrahydrourandicarbonsäuren, eine bisher unbekannte Substanzklasse aus Humanurin, **1982**.
- ²⁰⁸ T. Stijve, E. Cardinale, *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.*, **1974**, 65, 131.
- ²⁰⁹ A. Tokumura, K. Fukuzawa, Y. Akamatsu, S. Yamada, T. Suzuki, H. Tsukatani, *Lipids*, **1978**, 13, 468-472.
- ²¹⁰ J. Bartulin, J. Belmar, H. Gallardo, G. Leon, *J. Hetero. Chem.*, **1992**, 29, 1017.
- ²¹¹ T. Keim, Diplomarbeit an der Universität Hamburg, Untersuchungen zur Maillard-Reaktion, **1995**.
- ²¹² M. Rothe, *Nahrung*, **1976**, 20(3), 259-266.
- ²¹³ M. Stafford, M. G. Horning, A. Zlatiks, *J. Chromato.*, **1976**, 126, 495-502.
- ²¹⁴ J. N. G. Kwokei, B. D. Andresen, J. R. Bianchine, *J. Chromato.*, **1982**, 228, 43-50.
- ²¹⁵ J. A. Mennella, *J. Human Lactation*, **1995**, 11(1), 39-45.
- ²¹⁶ V. Yaylayan, P. Sporns, *Food Chem.*, **1987**, 26, 283-305.
- ²¹⁷ M. Larkin, *Lancet*, **1998**, 351, 1037.

- ²¹⁸ S. Meinrenken, *Geb. Fra.*, **1998**, 58(10), 10.
- ²¹⁹ N. E. Collias, *Ecol.*, **1956**, 37, 228.
- ²²⁰ B. Tschanz, *Experientia*, **1962**, 18, 187-190.
- ²²¹ P. Poindron, P. Le Neindre, *Adv. Behav.*, **1980**, 16, 75-119.
- ²²² C. Pace-Asciak, *Biochem.*, **1971**, 10, 3664-3669.
- ²²³ M. Hamberg, B. Samuelsson, *J. Biol. Chem.*, **1967**, 242, 5336.
- ²²⁴ Y. Chiang, M. J. Cho, B. A. Euser, A. J. Kresge, *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, 108, 4192-4196.
- ²²⁵ K. Motiuk, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **1979**, 56, 91-97.
- ²²⁶ K. Motiuk, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **1979**, 56, 651-658.
- ²²⁷ K. Motiuk, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **1980**, 57, 145-146.
- ²²⁸ F. Fawaz, C. Miet, F. Puisieux, *Ann. Pharm. Fr.*, **1973**, 31(1), 63-72.
- ²²⁹ F. Fawaz, M. Chaigneau, F. Puisieux, *Ann. Pharm. Fr.*, **1973**, 31(3), 217-226.
- ²³⁰ F. Fawaz, C. Miet, F. Puisieux, *Ann. Pharm. Fr.*, **1974**, 32(1), 59-68.
- ²³¹ F. Fawaz, M. Chaigneau, *Ann. Pharm. Fr.*, **1974**, 32(3-4), 215-225.
- ²³² C. Chemtob, F. Fawaz, F. Puisieux, *Ann. Pharm. Fr.*, **1975**, 33(5), 243-251.
- ²³³ L. Ruzicka, E. Rey, A. C. Muhr, *Helv. Chim. Acta*, **1944**, 27, 472.
- ²³⁴ F. Fawaz, M. Chaigneau, F. Puisieux, *Ann. Pharm. Fr.*, **1974**, 32(5), 301-308.
- ²³⁵ S. Ito, K. Endo, S. Inoue, *Tetrahedron Lett.*, **1971**, 43, 4011-4014.
- ²³⁶ Kalinowski, Berger, Braun, ¹³C-NMR-Spektroskopie, **1984**, Thieme Verlag.
- ²³⁷ C. Rabiller, F. Maze, *Mag. Res. Chem.*, **1989**, 27, 582-584.
- ²³⁸ W. D. Bossaert, D. E. De Vos, W. M. Van Rhijn, J. Bullen, P. J. Grobet, P. A. Jacobs, *J. Catalysis*, **1999**, 182, 156-164.
- ²³⁹ Y. Fujimoto, C. Murasaki, H. Shimada, S. Nishioka, K. Kakinuma, S. Singh, M. Singh, Y. K. Gupta, M. Sahai, *Chem. Pharm. Bull.*, **1994**, 42(6), 1175-1184.
- ²⁴⁰ Autorenkollektiv, Organikum, 16. Aufl., VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, **1986**.
- ²⁴¹ K. Blau, A. Darbre, Handbook of Derivatives for Chromatography, (Hrsg. K. Blau, J. M. Halket), John Wiley & Sons, New York, **1993**, 11-28.
- ²⁴² Autorenkollektiv, Organikum, 16. Aufl., VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, **1986**, 499.