

**Isolierung, Identifizierung und Synthese  
von Signalstoffen aus Spinnen**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades  
des Fachbereiches Chemie  
der Universität Hamburg

vorgelegt von

**Mirjam Dorothee Papke**  
aus Köln

Hamburg 2000

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom Juli 1995 bis September 1999, mit einer Unterbrechung von Februar 1996 bis Dezember 1996 aufgrund von Mutterschutz und Erziehungsurlaub, unter Anleitung von Prof. Dr. S. Schulz (Technische Universität Braunschweig) und Prof. Dr. W. Francke am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg durchgeführt.

Meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. S. Schulz, danke ich für die Überlassung des interessanten Themas und seine intensive, geduldige und freundschaftliche Betreuung dieser Arbeit. Herrn Professor Dr. Dr. h.c. W. Francke danke ich für das fortlaufende Interesse am Verlauf dieser Arbeit, seine Unterstützung und vor allem für die unbürokratische Aufnahme in seinen Arbeitskreis.

Für meine Tochter Charlotte Alina.

Ohne sie wäre die Arbeit früher  
zu ihrem Ende gekommen.

Mit ihr ist mein Leben allerdings  
viel ausgefüllter und fröhlicher  
als ohne sie.

Gutachter:

Prof. Dr. S. Schulz

Prof. Dr. Dr. h.c. W. Francke

# Inhalt

<b>1.</b>	<b>Einleitung</b>	1
1.1.	Zur Biologie der Spinnen	2
1.2.	Lipide der Spinnseide	9
1.3.	Themenübersicht	13
<b>2.</b>	<b><i>Cupilure</i>, ein Kontaktpheromon von <i>Cupiennius salei</i> (Ctenidae)</b>	15
2.1.	GC-MS Analysen von aktiven Extrakten der Seide von <i>Cupiennius salei</i>	17
2. 2.	<sup>1</sup> H-NMR-spektroskopische Untersuchungen der aktiven Seide von <i>Cupiennius salei</i>	18
2.3.	Synthesen des asymmetrischen Dimethylester der Citronensäure	19
2.4.	Vergleich der analytischen Daten des Synthese- und des Naturproduktes	25
2.5.	Ergebnisse der Biotests und Diskussion	27
<b>3.</b>	<b>Ein neues flüchtiges Sexualpheromon von <i>Agelenopsis aperta</i> (Agelenidae)</b>	30
3.1.	<i>Head space</i> -Extrakte von <i>Agelenopsis aperta</i>	30
3.2.	Synthese der Ketone aus <i>Agelenopsis aperta</i>	34
3.3.	Diskussion	35
<b>4.</b>	<b>Untersuchungen der Seide der Kreuzspinne <i>Araneus diadematus</i> (Araneidae)</b>	40
4.1.	GC-MS-Analysen von Seidenextrakten von <i>Araneus diadematus</i>	40
4.2.	Biotestergebnisse und Diskussion	46
<b>5.</b>	<b>Untersuchungen der Sexuallockstoffe der schwarzen Witwe <i>Latrodectus revivensis</i> (Theridiidae)</b>	48
5.1.	Untersuchungen des Kontaktpheromons auf der Seide von adulten weiblichen <i>Latrodectus revivensis</i>	50

5.2.	<i>Head space</i> Untersuchungen von <i>Latrodectus revivensis</i>	56
5.3.	Ergebnisse der Labor- und Freilandbiotests	61
5.4.	Diskussion	64
<b>6.</b>	<b>Untersuchungen der Spinnseide von <i>Linyphia litigosa</i></b>	66
6.1.	Synthese der (3 <i>R</i> , 3' <i>R</i> )-3-(3-Hydroxybutyryloxy)-buttersäure (13)	68
6.2.	Diskussion	69
<b>7.</b>	<b>Chemische Signalstoffe auf den Netzen und der Cuticula von <i>Tegenaria atrica</i> (Agelenidae)</b>	71
7.1.	Analysen der Methanolextrakte der Seide von <i>Tegenaria atrica</i>	73
7. 2.	Synthesen einiger auf der Seide von <i>Tegenaria atrica</i> identifizierten Verbindungen	81
7.3.	Analyse der Pentanextrakte der Seide von <i>Tegenaria atrica</i>	87
7.4.	Fraktionierung von Extrakten der Seide rezeptiver <i>Tegenaria atrica</i> Weibchen	89
7. 5.	Diskussion	91
<b>8.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	95
<b>9.</b>	<b>Experimenteller Teil</b>	100
9.1.	Allgemeines	100
9.2.	Gewinnung der <i>head space</i> -Extrakte	101
9.3.	Derivatisierungen	101
9.3.1.	Silylierung	101
9.3.2.	Methylierung	102
9.3.3.	Veresterung von Diolen mit Moshersreagenz (( <i>S</i> ) (+)- $\alpha$ -Methoxy- $\alpha$ -(trifluoromethyl)phenylacetylchlorid) oder mit ( <i>S</i> )-2-Acetoxypropionylchlorid	102
9.3.4.	Derivatisierung von Diolen mit Trifluoressigsäureanhydrid	102
9.3.5.	Derivatisierung mit Dimethyldisulfid	102
9.4.	Synthesen	103
9.4.1.	Synthesen der identifizierten Verbindungen auf der Seide von <i>Cupiennius salei</i>	103

9.4.1.1.	Synthese von 5-Oxo-prolinmethylester ( <b>20</b> )	103
9.4.1.2.	Racemischer 3-Hydroxy-3-methoxycarbonylpentandisäure monomethylester ( <b>21</b> )	103
9.4.1.3.	Synthese der Enantiomere von 3-Hydroxy-3-methoxycarbonylpentandisäuremonomethylester ( <b>21</b> )	106
9.4.2.	Synthese der Ketone aus <i>Agelenopsis aperta</i>	115
9.4.2.1.	Synthese von 8-Methyl-2-nonanon ( <b>34</b> )	115
9.4.2.2.	Synthese von 6-Methyl-3-heptanon ( <b>33</b> )	117
9.4.3.	Synthese von <i>N, N</i> -Dimethylaminoethyloctanoat ( <b>41</b> )	118
9.4.4.	Synthese der 1-Methoxyalkane ( <b>47</b> , <b>48</b> und <b>49</b> )	119
9.4.5.	Synthese der (3 <i>R</i> )-[(3 <i>R</i> )-3-Hydroxybutyryloxy]-buttersäure ( <b>13</b> )	121
9.4.6.	Synthese der auf der Seide von <i>Tegenaria atrica</i> identifizierten Verbindungen	125
9.4.6.1.	Synthese von 2-Heneicosanon ( <b>69</b> )	125
9.4.6.2.	Synthese von racemischem-, (3 <i>S</i> )- und (3 <i>R</i> )-1,3-Docosandiol ( <b>60</b> )	128
9.4.6.3.	Synthese von 1-Docosen-3-on ( <b>67</b> )	133
9.4.6.4.	Synthese von 1-Hydroxy-3-docosanon ( <b>68</b> )	135
9.4.5.6.	Synthese der Monoacylglyceride	137
<b>10.</b>	<b>Literatur</b>	143
<b>11.</b>	<b>Abkürzungen</b>	151
<b>12.</b>	<b>Sicherheitshinweise</b>	153
<b>13.</b>	<b>Summary</b>	161

*„Spinnen sind meine Lieblingstiere geblieben. Von allen Insekten haben sie, neben den Wanzen, am meisten Verstand. Sie ruhen als Mittelpunkt selbstgeschaffener Kreise und verlassen sich auf den Zufall, der sie nährt. Alle Tiere jagen der Beute nach. Von der Spinne aber könnte man sagen, sie sei vernünftig, sie sei in dem Maße weise, dass sie das verzweifelte Jagen aller Lebewesen als nutzlos und nur das Warten als fruchtbar erkannt hat.“*

(Joseph Roth, in „Die weißen Städte“ [1]).

## **1. Einleitung**

Der analytischen Naturstoffchemie, also der Aufklärung von Strukturen und Funktionen chemischer Substanzen in der belebten Natur, kommt eine ständig wachsende Bedeutung zu. Neben dem Interesse an pharmakologischen Eigenschaften von neuartigen Naturstoffen faszinieren besonders Substanzen, die der Kommunikation zwischen Lebewesen dienen. Die Untersuchung solcher chemischen Signalstoffe in einem biologischen Kontext sowie ihre Biogenese bilden das zentrale Thema der chemischen Ökologie, eines jungen Forschungsgebietes, das sich an der Schnittstelle zwischen Biologie und Chemie befindet.

Bei vielen Arthropoden (Gliedertieren) spielt die Kommunikation mit Hilfe von chemischen Substanzen eine große Rolle. So können sich Individuen einer Art beispielsweise mit Pheromonen verständigen. Pheromone (griechisch: pherein = überbringen und hormon = erregend) sind chemische Substanzen, die von einem Individuum abgegeben werden und bei Artgenossen ein bestimmtes Verhalten hervorrufen, wie z.B. Sexualpheromone, die vor oder während der Balz zur Anlockung eines Geschlechtspartners abgesondert werden. Häufig liegen solche Signalstoffe in äußerst geringen Konzentrationen vor, in manchen Fällen können schon wenige Moleküle eine Reaktion hervorrufen. In anderen Fällen bestehen die Signale aus mehreren Substanzen, die ein charakteristisches Duftbouquet ergeben. Bisher sind Kommunikationssysteme von Insekten am intensivsten untersucht worden. Seit der Identifizierung des ersten Pheromons, Bombykol aus dem Seidenspinner *Bombyx mori* durch Walter Butenandt 1959 [2], sind mittlerweile Pheromone von etwa 1500 Insektenarten aufgeklärt worden. Insekten stehen im Mittelpunkt der chemisch ökologischen Untersuchungen, was sich sowohl durch die immense Anzahl von Arten sowie durch das relativ einfache Verhalten dieser Tiere

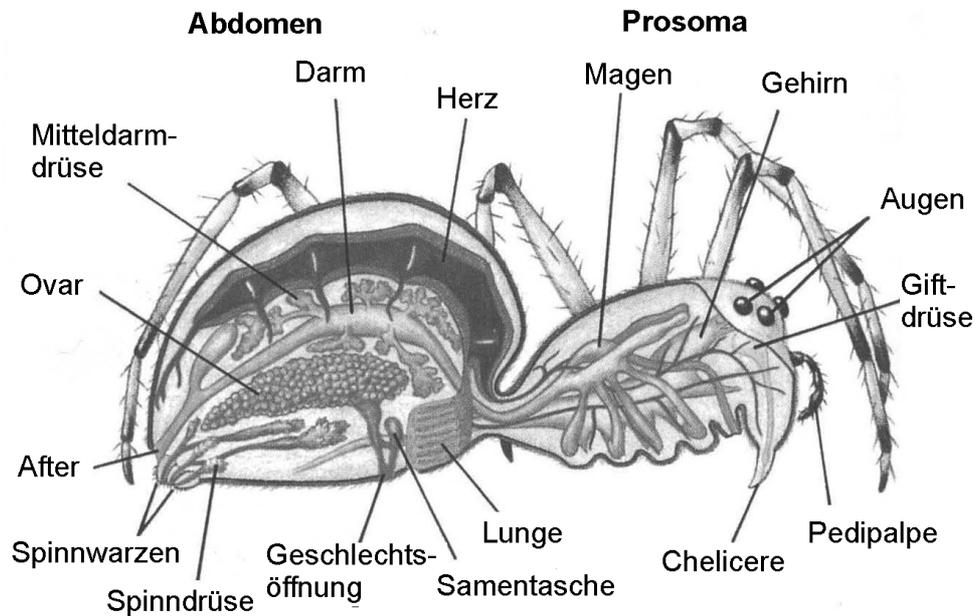
erklärt. Auch das steigende Interesse an neuen Verwendungsmöglichkeiten für Pheromone im Rahmen der selektiven Schädlingsbekämpfung mag ein Grund hierfür sein.

Nach den Insekten und den Pilzen stellen die Spinnentiere (Arachnida), zu denen neben den Spinnen auch Milben, Zecken, Skorpione und Weberknechte gehören, die drittgrößte Organismenklasse auf der Erde dar. Trotzdem sind sie im Vergleich zu den Insekten bisher nur relativ wenig untersucht worden, vielleicht weil sie immer im Schatten der Insekten standen. Selbst große Naturforscher wie Linné oder Lamarck klassifizierten Spinnen einfach als ungeflügelte Insekten (Aptera) [3]. Auch für den Laien sind Spinnen häufig nur „andere Insekten“, wie sich ja auch im Eingangszitat von J. Roth zeigt. Die meisten Menschen empfinden eine bis ins Altertum zurückzufolgende im Grunde unerklärliche starke Abneigung gegen die haarigen, langbeinigen Tiere. Diese Antipathie spiegelt sich auch in diversen literarischen Darstellungen wider. Zwei bekannte Beispiele hierfür sind die 1842 veröffentlichte Novelle von Jeremias Gotthelf „Die schwarze Spinne“, und Waldemar Bonsels' 1912 erschienenes Kinderbuch „Die Biene Maja und ihre Abenteuer“ [4, 5]. Dieselbe Abneigung findet sich auch in der Zoologie, wo Spinnen nur sehr wenig untersucht wurden [3]. Da Spinnen im Gegensatz zu vielen Insektenarten keine Schädlinge sind, besteht im allgemeinen auch kein kommerzielles Interesse an der Erforschung ihrer Lebensweise. Diese und sicherlich noch andere Gründe mögen dazu geführt haben, dass im Vergleich zu Insekten über Spinnen und ihre Lebensweise relativ wenig bekannt ist.

## **1.1. Zur Biologie der Spinnen**

Die Systematik unterscheidet heute etwa 34 000 verschiedene Spinnenarten, die *ca.* 100 Familien zugeordnet werden. Sie sind weltweit und in allen Lebensräumen, mit Ausnahme der Luft und des Meeres, verbreitet. Aufgrund ihres Exoskeletts haben sie eine eher kleine Körpergröße, die von *ca.* 2 bis zu 90 mm reicht, wobei die Männchen fast immer kleiner als die Weibchen sind. Die juvenilen Tiere durchlaufen zwischen 5 und 10 Häutungen, bevor sie ihre endgültige Größe erreichen. Erst nach der Reifehäutung sind die Tiere geschlechtsreif (adultes Stadium). Die meisten Spinnen leben ein bis zwei Jahre. Eine längere Lebensdauer konnte bisher nur bei ursprünglichen Spinnen beobachtet werden; so können z. B. große Vogelspinnen über 20 Jahre alt werden [6]. Ganz allgemein sind nur die weiblichen Spinnen wirklich langlebig, während die Männchen meist kurz nach der Kopulation sterben.

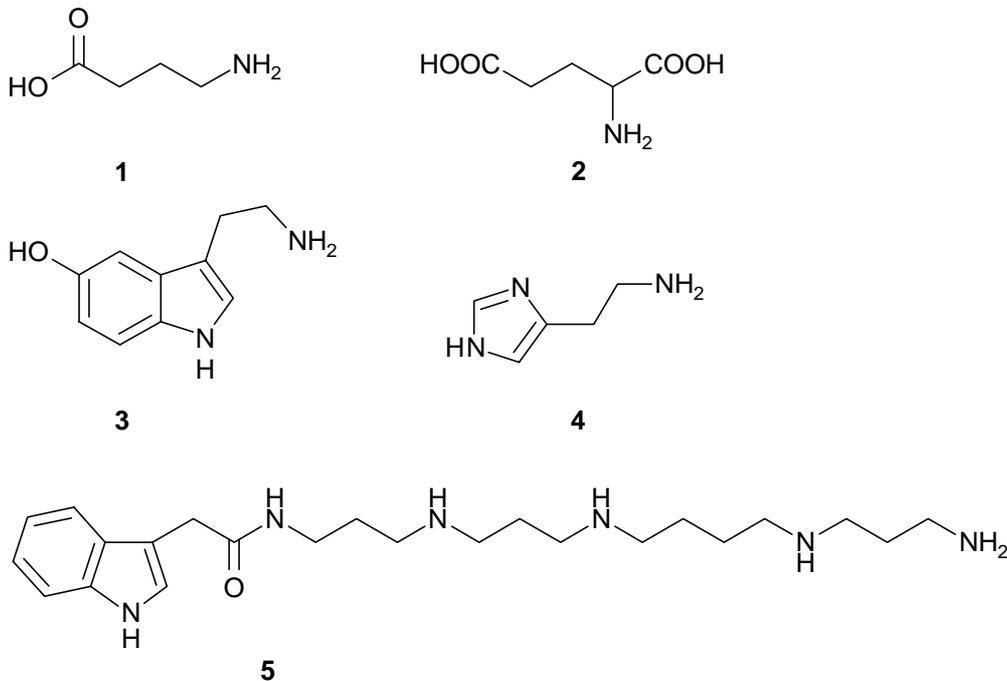
Die wichtigsten Spinnenmerkmale sind der zweigeteilte Körper, wobei der Vorderkörper (Prosoma) durch einen engen Stiel (Petiolus) mit dem Hinterleib (Abdomen) verbunden ist, und die acht Laufbeine, die vom Prosoma abgehen. Abbildung 1.1. zeigt den schematisierten Bau einer Spinne.



**Abb. 1. 1.** Bauplan einer Spinne

Vor den Laufbeinen liegen die beinartigen Kiefertaster (Pedipalpen) und davor die zweigliedrigen Kieferklauen (Cheliceren). Die Pedipalpen entsprechen in ihrer Gliederung den Laufbeinen, werden aber nicht zum Laufen, sondern zum Betasten der Beute oder der Seide eingesetzt. Die zweigliedrigen Cheliceren bestehen aus einem massiven Grundglied und einer beweglichen Giftklaue aus der die Spinne Gift in ihr Opfer injizieren kann. Das Gift wird meistens zur raschen Immobilisierung der Beute verwendet. Besonders Spinnen, die sehr wehrhafte Beute wie Bienen, Hummeln oder andere Spinnen attackieren, verfügen über sehr schnell wirkende, starke Gifte. Netzspinnen, die ihre Beute erst in Spinnseide einwickeln, bevor sie beißen, haben meistens weniger effektive Gifte [7]. Für den Menschen gefährlich sind nur sehr wenige Spinnenarten. Hierzu zählen die Schwarzen Witwen (*Latrodectus spp.*), die Kammspinnen (Ctenidae) Südamerikas, einige tropische Taranteln und die australische Röhrenvogelspinne *Atrax robustus* (Dipluridae) [3]. Spinnenbisse können zwar starke Schmerzen verursachen, führen aber bei richtiger Behandlung selten zum Tode [8]. Chemisch

gesehen handelt es sich bei den Giften um stark neurotoxisch, cytotoxisch oder enzymatisch wirkende Polypeptide oder Proteine [9]. Neben solchen Verbindungen sind auch einige niedermolekulare Substanzen und anorganische Salze identifiziert worden. Beispiele für solche niedermolekularen Verbindungen sind Aminosäuren wie  $\gamma$ -Aminobuttersäure (**1**), Glutaminsäure (**2**) sowie biogene Amine wie 5-Hydroxytryptamin (Serotonin) (**3**) oder Histamin (**4**) [10]. Auch verschiedene Acylpolyamine, beispielsweise Agel 416 (**5**) aus Ageleiden, konnten in mehreren Arten identifiziert werden [11, 12, 13]. Diese Verbindungen besitzen ein  $\alpha,\omega$ -Diaminopolyazaalkan-Gerüst, das aus einer bis neun Aminopropyl-, Aminobutyl- oder Aminopentyleinheiten aufgebaut ist [14, 15]. Von einigen dieser Substanzen weiß man, dass sie als Neurotransmitter wirken oder Ionenkanäle blockieren und so die Giftwirkung erhöhen.



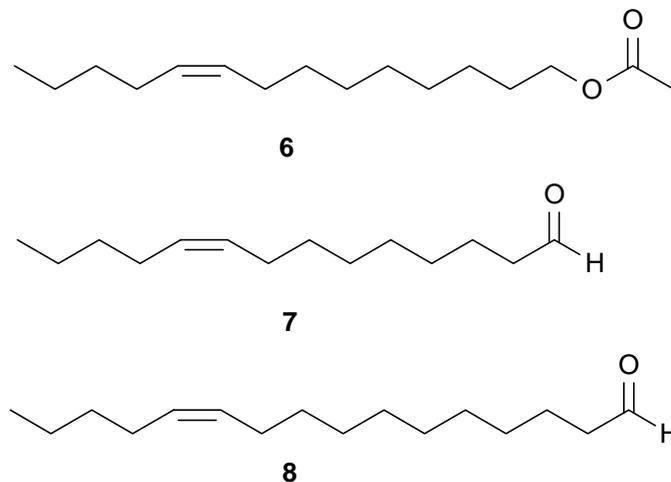
**Abb. 1. 2.** Niedermolekulare Bestandteile verschiedener Spinnengifte.

Das Spinnvermögen ist wohl die auffälligste Eigenschaft der Spinnen. Diese Fähigkeit besitzen zwar auch einige Insekten, bei ihnen ist die Seidenproduktion jedoch ein meist einmaliges Ereignis im Lebenszyklus, wie z.B. das Einspinnen in einen Kokon kurz vor der Verpuppung. Mit dieser Fähigkeit gelingt es zumindest Netzspinnen, eine einzigartige ökologische Nische, nämlich den freien Luftraum zwischen festen Strukturen wie beispielsweise Büsche oder Mauern, zu belegen. Die Seide wird in den Spinnrüden produziert, welche sich am Ende des

Abdomens befinden und in die Spinnwarzen in Form von Spinnspulen münden. Je nach Spinnenart gibt es bis zu acht verschiedenen Spinndrüsen, die unterschiedliche Seide sezernieren. Den Seidentypen kommt jeweils eine unterschiedliche Funktion zu, so gibt es z.B. Kokonseide, Sicherungsfäden, Beutefesselfäden, Schutzgespinste für Eier sowie Seide, die als Baumaterial genutzt wird. Alle Seidentypen bestehen, ebenso wie Haare oder Nägel, aus dem Protein Keratin. Das in den Spinndrüsen produzierte  $\alpha$ -Keratin wird im Spinndrüsenkanal unter Druck in eine flüssigkristalline Phase umgewandelt [16]. Tritt diese durch eine enge Ventilöffnung aus den Spinnspulen aus, ordnen sich Teile des Proteins in  $\beta$ -Faltblattstruktur an. Hierbei bilden sich kristallartige Domänen, die in ungeordnete Regionen eingebettet sind. Diese Anordnung erklärt die viskoelastischen Eigenschaften der Seide. Wird der Faden gestreckt, resultiert ein höherer Ordnungszustand. Bei nachlassender Belastung kehrt das System wieder in den Ausgangszustand mit der höheren Entropie zurück. Spinnseide zeichnet sich neben der Viskoelastizität durch hohe Reißfestigkeit und Bruchsicherheit aus [16].

Alle Spinnen führen eine räuberische Lebensweise. Ökologisch gesehen kann man sie in wandernde Jagdspinnen, die ihre Beute mit unterschiedlichen Strategien direkt überwältigen, und seßhafte Fallensteller unterteilen. Die letzteren haben verschiedene Netze mit entsprechend unterschiedlichen Fangmethoden entwickelt [3]. Den hauptsächlichen Beuteanteil stellen Insekten, insbesondere Fliegen und Urinsekten. Daneben kommen aber auch einige andere Arthropoden in Betracht, wie Asseln, Tausendfüßer und natürlich auch die Spinnen selbst. Seltener finden sich auch kleinere Wirbeltiere, wie Kaulquappen oder kleine Fische, die manchen wasserlebenden Spinnen zum Opfer fallen. Abgesehen von einigen Ausnahmen sind die meisten Spinnen polyphag. Spinnen haben die erstaunliche Fähigkeit, mehrere Monate ohne Nahrung auszukommen, was sich in ihrer relativ geringen Stoffwechselaktivität begründet [17]. Die wichtigsten Freßfeinde von Spinnen sind die Spinnen selbst, beispielsweise greifen sich viele Laufspinnen gegenseitig an. Die Anlockung von Netzspinnen als Opfer geschieht oft durch aggressive Mimikry. Dabei zupfen die Räuber an den Fäden der Netze, um Beutevibrationen zu imitieren. Stürzt die Netzspinne zur vermeintlichen Beute hinaus, wird sie sofort gebissen [18, 19]. Gelegentlich werden Spinnen auch von anderen Arthropoden wie Pseudoskorpionen und Weberknechten und vor allem von Stechwespen und Schlupfwespen attackiert [3].

Kommunikation wird offensichtlich von sozialen Lebewesen benötigt, aber auch solitär lebende Tiere müssen sich zumindest während der Balzphase oder jeglicher agonistischer<sup>1</sup> Interaktion verständigen. Bereits seit den zwanziger Jahren haben Arbeiten von Bristowe und Lockett gezeigt, dass Spinnen chemische Substanzen zur Kommunikation benutzen, aber erst in jüngster Zeit sind Untersuchungen solcher Signalstoffe durchgeführt worden [20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29]. Die ersten chemisch identifizierten Signalstoffe von Spinnen sind verschiedene Allomone<sup>2</sup> aus Bolaspinnen [30]. Bolaspinnen haben eine besondere Fangtechnik [31, 32]. Sie benutzen ein sehr kurzes Fadenstück mit einem Leimtropfen am Ende. Dieser Fangfaden wird nachts mit dem Vorderbein nach vorbeifliegenden Insekten geworfen, die dann eventuell daran hängen bleiben. Obwohl man annehmen könnte, dass diese Fangmethode nur sehr selten zum Ziel führt, fangen die Bolaspinnen sehr erfolgreich die Männchen bestimmter Nachtfalter z.B. *Spodoptera* spp.. Die Bolaspinnen der Art *Mastophora cornigera* nutzen (Z)-Tetradec-9-enylacetat (**6**), (Z)-Tetradec-9-enal (**7**) und (Z)-Hexadec-11-enal (**8**) als Allomone. Diese Verbindungen gehören zum Sexualpheromongemisch der *Spodoptera*-Weibchen. Durch den imitierten Duft der weiblichen *Spodoptera* werden die Männchen angelockt, und während sie die Spinnen umkreisen, kommt es relativ häufig zu einem Treffer des Leimfadens.



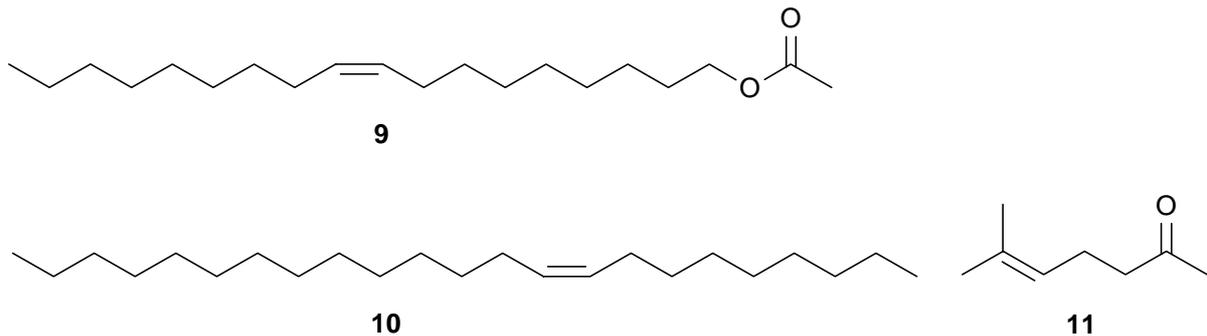
**Abb. 1. 3.** Allomone zur Beuteanlockung von *Mastophora cornigera*.

Auch auf den Netzen einiger Linyphiidenarten konnte (Z)-Octadec-11-enylacetat (**9**) und (Z)-Tricos-9-en (**10**) identifiziert werden, beides Sexualpheromone verschiedener Fliegen [33,

<sup>1</sup> Alle Aktivitäten, die durch Rivalen bedingt sind (Drohung, Kampf, Flucht) werden als agonistisches Verhalten bezeichnet.

<sup>2</sup> Allomone bezeichnen Substanzen, die zur interspezifischen Kommunikation dienen und für den Emittenten vorteilhaft sind.

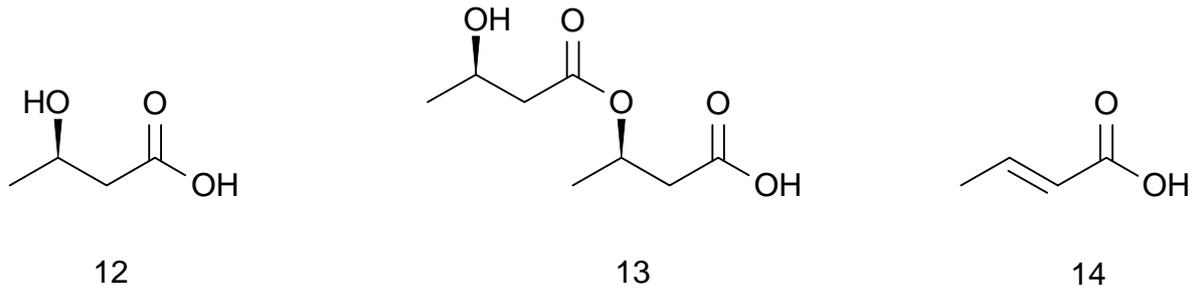
34]. Manche Spinnen haben sich auf einen ganz bestimmten Beutetyp spezialisiert. Hierher gehören z.B. die Ameisenjäger (Zodariidae), die sich nur von Ameisen ernähren. Die Spinne *Habronesttes bradleyi* (Zodariidae) lokalisiert ihre Beute, die sehr aggressive Ameise *Iridomyrmex purpureus*, durch 6-Methylhept-5-en-2-on (Sulcaton) (**11**), dem Alarmpheromon dieser Ameisenart [35]. Das Sulcaton ist in diesem Fall also ein Kairomon, ein Signalstoff, der für die Kommunikation zwischen verschiedenen Arten genutzt wird und vorteilhaft für den Empfänger ist.



**Abb. 1. 4.** Semiochemikalien von Spinnen.

Das erste Sexualpheromon von Spinnen wurde auf den Netzen von unbegatteten weiblichen Baldachinspinnen (*Linyphia triangularis*) identifiziert [36]. *Linyphia triangularis* ist eine in Europa weitverbreitete Spinne, die vor allem Waldzonen besiedelt. Auffällig sind die horizontalen, leicht gewölbten Deckennetze, von denen sich auch der Familienname herleitet. Trifft ein Männchen auf ein Netz eines unbegatteten Weibchens, beginnt es dieses zu zerschneiden und die Fäden aufzurollen [37]. Das Weibchen verhält sich dabei völlig passiv, was vermutlich Paarungswilligkeit andeutet. Unmittelbar nach der Zerstörung des Netzes erfolgt die Kopulation.

Die biologische Sinn dieses Netzreduktionsverhaltens liegt offenbar darin, das weibliche Sexualpheromon vom Netz zu entfernen und damit das Locksignal für mögliche Konkurrenten auszuschalten. Nach der Kopulation baut das Weibchen ein neues Netz, welches das Pheromon nicht mehr enthält. Das Netzreduktionsverhalten wird ausgelöst durch die in Abbildung 1.5. dargestellten (3*R*)-3-Hydroxybuttersäure (**12**) und dem Kondensationsprodukt (3*R*, 3'*R*)-3-(3-Hydroxybutyryloxy)-buttersäure (**13**).



**Abb. 1. 5.** Sexualpheromone von *Linyphia triangularis*.

Das Kondensationsprodukt **13** kommt auf der Seide von neu gebauten Netzen in Mengen bis zu 5 µg pro Netz vor. Unter natürlichen Bedingungen zersetzt sich **13** langsam in das Monomer **12** und Crotonsäure (**14**). Dieses System bietet den Vorteil für die Spinne, dass sie nicht fortwährend aus einer Drüse eine Substanz abgeben muß. Stattdessen werden permanent die flüchtigen Lockstoffe **12** und **14** in geringen Dosen durch die autokatalytische Zersetzung von **13** gebildet, unabhängig von anderen Aktivitäten.

Biogenetisch stammt die 3-Hydroxybuttersäure (**12**) und dementsprechend auch das Kondensationsprodukt **13** vermutlich aus dem Primärstoffwechsel. Beim Aufbau der Fettsäuren ist der erste Kondensationsschritt die Reaktion zwischen Acetyl-CoA und Malonyl-CoA zu Acetoacetyl-CoA, welches dann zu (3*R*)-3-Hydroxybutanoyl-CoA reduziert wird. Abspaltung des CoA-Restes und Protonierung liefern dann Verbindung **12**, aus der durch Dehydratisierung **14** und durch Veresterung **13** entsteht.

Ein wichtiger Gesichtspunkt bei der Kommunikation ist die Sinnesmodalität, die zur Informationsübertragung eingesetzt wird. Tiere übermitteln Informationen mithilfe optischer, akustischer, olfaktorischer, mechanischer und elektrischer Reize. Die Benutzung chemischer Signale stellt wohl die ursprünglichste Methode zur Kommunikation dar, aber neben dieser haben Spinnen auch andere Kommunikationsweisen entwickelt [3, 38]. Sehr wichtig sind die mechanischen Signale, besonders die Vibrationen, die über das jeweilige Substrat, z.B. Netzfäden oder Blätter, übertragen werden [39]. Die Schwingungen können durch rasches Beinzittern erzeugt und über 1 m weit fortgeleitet werden. Ähnlich wie Insekten können auch viele Spinnen akustisch kommunizieren. Entweder trommeln die Spinnen mit bestimmten Körperteilen (Palpen, Beinen, Abdomen) auf den Untergrund oder sie erzeugen Geräusche mit dem eigenen Körper durch sogenannte Stridulation. Die Männchen von *Steatoda bipunctata* (Theridiidae) besitzen ein Stridulationsorgan, bestehend aus gefurchten Cuticularflächen am Prosoma, denen kräftige Stacheln am Abdomen gegenüberstehen. Durch rasches Auf- und Abbewegen des Abdomens bzw. der Stacheln über die querverlaufenden Cuticularrippen

entsteht ein schwach hörbares Geräusch [40]. Für die meisten Spinnen spielt der optische Sinn eine untergeordnete Rolle. Viele Spinnen sind nachtaktiv und daher auf andere Umweltreize angewiesen. Zudem haben sie meist unterfokussierte Augen und können nur entsprechend unscharf sehen [41]. Nur für die - evolutionär gesehen - jüngeren Spinnen wie Lycosidae und Salticidae ist das Sehvermögen von immenser Bedeutung, sei es beim Beutefang oder der Art-erkennung. Beispielsweise vollführen alle Springspinnenmännchen (Salticidae) vor den Weibchen vor der Kopulation spezifische Balzbewegungen [3].

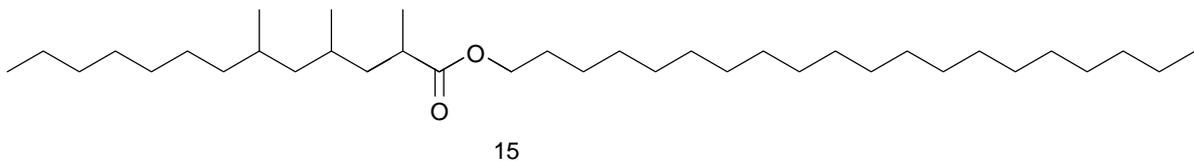
## 1.2. Lipide der Spinnseide

Während der Untersuchungen des Pheromonsystems von *Linyphia triangularis*<sup>3</sup> wurden auch die Netze von fünf weiteren Linyphiiden, die alle zu den drei sich verwandtschaftlich nahestehenden Genera *Linyphia*, *Microlinyphia* und *Neriene* gehören, untersucht [36]. Auf den Netzen von unbegatteten Weibchen konnten sowohl die (3*R*)-3-Hydroxybuttersäure (**12**) sowie das Kondensationsprodukt **13** nachgewiesen werden. Bemerkenswerterweise lebt eine dieser Arten, *L. tenuipalpis*, im gleichen Habitat wie *L. triangularis* und entwickelt sich auch zeitgleich mit dieser. Trotzdem zeigen die Männchen viel seltener das Netzreduktionsverhalten, wenn sie mit Netzen unbegatteter Weibchen der anderen Spezies konfrontiert werden [36]. Zur Vermeidung von Hybridisierung muß es also ein weiteres Signal zur Art-differenzierung geben. Möglicherweise nutzen die Spinnen die artspezifische chemische Zusammensetzung der Lipide. Dieses Phänomen ist bereits von einigen Insekten bekannt, die anhand der Kohlenwasserstoffmuster auf der Cuticula die Art- oder Kastenzugehörigkeit erkennen [42, 43]. Spätestens seit den Untersuchungen von Suter *et al.* sind solche Phänomene auch von Spinnen bekannt. So konnte gezeigt werden, dass sich auf der Cuticula der Linyphiidenart *Frontinella pyramitela* chemische Signalstoffe befinden, die bestimmte Verhaltensweisen auslösen und für die Arterkennung genutzt werden [44, 45, 46]. Ähnliche Untersuchungen, die das Vorhandensein bestimmter Kontaktsignale auf der Cuticula nahelegen, die während der Balz eine Rolle spielen, sind auch bei anderen Arten gemacht worden [47, 48]. Bestimmte niedermolekulare Lipide auf der Seide der Wolfsspinne *Schizocosa ocreata* (Lycosidae) wirken als männliches Inhibitionssignal [49]. Bislang konnten in den beschriebenen Fällen die genauen Strukturen dieser Signalstoffe nicht aufgeklärt werden.

---

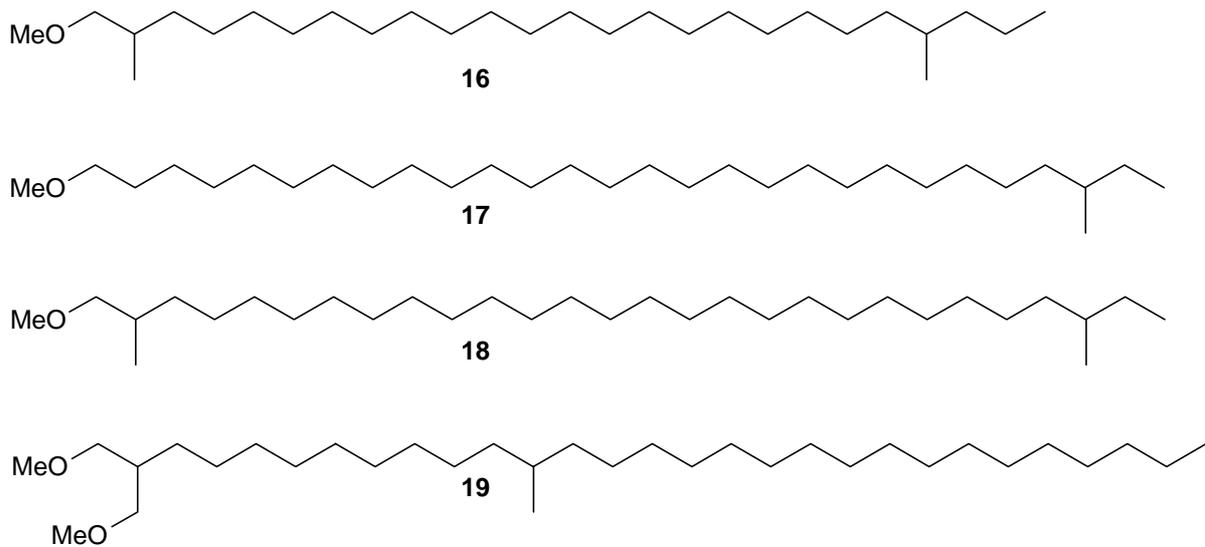
<sup>3</sup> Vgl. 1.1., Abb. 1.5.

Die Lipidschicht der Seide besteht, ähnlich wie die Cuticularlipide bei Arthropoden, aus komplexen Mischungen von Substanzen unterschiedlicher Stoffklassen. Hauptbestandteile sind langkettige, unverzweigte, ungeradzahlige Kohlenwasserstoffe sowie geradzahlige 2-Methylalkane. Zusätzlich werden Fettsäuren, Alkohole, Glyceride und kleinere Mengen an Ketonen, Amiden und Aldehyden gefunden. Häufig sind auch Wachsester Bestandteile der Lipidschicht, z. B. ist die Hauptkomponente auf dem Fangnetz der Zitterspinne *Pholcus phalangoides* (Pholcidae) Eicosyl-2,4,6-trimethyltridecanoat (**15**) [50].



**Abb. 1. 6.** Hauptlipidbestandteil von *Pholcus phalangoides*.

Zu einem neuen Verbindungstyp, der bisher ausschließlich auf Seide verschiedener Spinnenarten gefunden wurde, gehören langkettige methylverzweigte 1-Methoxyalkane mit Kettenlängen zwischen C<sub>23</sub> und C<sub>37</sub>. In einem Seidenextrakt von *L. triangularis* konnten mit Hilfe von GC-MS siebenundzwanzig 1-Methoxyalkane identifiziert werden [51]. Hauptkomponenten sind ungeradzahlige ( $\omega$ -3)- und geradzahlige ( $\omega$ -2)-verzweigte Methylether sowie die entsprechenden 2-methylverzweigten Ether. Drei Beispiele für solche Verbindungen sind 1-Methoxy-2,22-dimethylpentacosan (**16**), 1-Methoxy-26-methyloctacosan (**17**) und 1-Methoxy-2,26-dimethyloctacosan (**18**) (siehe Abbildung **1.7**). Bismethylether konnten auf den Netzen der Linyphiidenart *Labulla thoracica* identifiziert werden. 1-Methoxy-2-(methoxymethyl)-12-methylnonacosan (**19**) und höher methylierte Homologe sind dort Hauptbestandteile der Lipide.



**Abb. 1. 7.** Methylether aus den Lipiden verschiedener Linyphiiden.

Die Identifizierung dieser Verbindungen erfolgte anhand ihrer Massenspektren und der gaschromatographischen Retentionsindices. Oft erweist sich die Identifizierung als schwierig, da die Verbindungen unter gaschromatographisch-massenspektrometrischen Bedingungen leicht Methanol abspalten und die verbleibenden Ionen wenig charakteristisch sind. Hinzu kommt, dass die Substanzen häufig nur in sehr geringen Konzentrationen und außerdem in sehr komplexen Mischungen mit bis zu 150 Komponenten vorliegen. Als hilfreich für die massenspektrometrische Bestimmung der Lage der Methylverzweigungen, insbesondere derer in einer Position nahe der Ethergruppe sowie in der Kettenmitte, haben sich einige Derivatisierungsmethoden erwiesen. Durch Oxidation der Methylether mit Rutheniumtetroxid zu den entsprechenden Methylestern können die Verzweigungen an C-2, C-3 und C-4 zweifelsfrei erkannt werden [52]. Die Verzweigungen in der Kettenmitte lassen sich gut durch Umwandlung der Ether in die entsprechenden Cyanide bestimmen. Hierfür werden die Ether erst mit Trimethylsilyliodid und anschließend mit Tetrabutylammoniumcyanid behandelt [53].

Der Vorteil in der Verwendung solcher spezifischen Substanzen für die Arterkennung liegt in der Unverwechselbarkeit des Signals. Würden stattdessen Kohlenwasserstoffmuster eingesetzt, wie sie beispielsweise von Ameisen und Termiten verwendet werden, könnten diese leicht durch die Cuticula der Beute oder andere Verunreinigungen aus pflanzlichen Stoffen oder volatilen Verbindungen der Umgebung verändert werden. Ein direkter Beweis für die Arterkennung durch die 1-Methoxyalkane bei *Linyphia triangularis* steht aber bisher noch aus.

Eine weitere sehr wichtige Funktion der Lipidschicht ist die Regulierung des Wasserhaushaltes der Seide. Der richtige Wassergehalt der Seide ist von essentieller Bedeutung, da dieser dafür sorgt, dass die Seide die nötige Spannung und die elastischen Eigenschaften besitzt, die für den Beutefang unerlässlich sind. Die Lipidschicht um die Seide verringert die Aufnahme und Abgabe von Wasser. Die vielen methylverzweigten Komponenten verhindern die Ausbildung von Domänen, die sich leicht bei unverzweigten Lipiden bilden [54]. Dadurch ist eine hohe Mobilität innerhalb der Lipidschicht gewährleistet. Dehnt sich der Faden aufgrund eines einfliegenden Insektes oder eines Windstoßes plötzlich aus, kann eine sehr mobile Lipidschicht die Seide immer noch gleichmäßig bedecken. Sicherlich schützen die Lipide die Seidenproteine auch gegen äußere Einflüsse wie Mikroorganismen. So findet man z.B. häufig 14-Methylhexadecansäure auf der Seide, deren antimikrobielle Wirkung bekannt ist [55].

Naturstoffe wie die hier beschriebenen Lipide werden unter dem Begriff Acetogenine oder auch Polyketide zusammengefasst [56]. Acetogenine sind Naturstoffe, die durch die Kondensation von Acetateinheiten aufgebaut werden. Biosynthetisch gesehen handelt es sich um Fettsäuremetaboliten. Die Biosynthese der Fettsäuren geht von Acetyl- und Malonyl-CoA aus und läuft an mehreren Multienzymkomplexen ab. Aus den Fettsäuren leiten sich eine große Anzahl verschiedener Pheromonstrukturen ab. Diese Strukturen können durch die Transformation der Fettsäuren oder durch Einbau anderer Strukturelemente unterschiedlichster Herkunft während der Fettsäurebiosynthese oder in anschließenden Reaktionen entstehen. Durch den Aufbau aus Acetateinheiten sind Fettsäuren meistens geradzahlige Bishomologe, wohingegen ungeradzahlige Fettsäuren durch den Einsatz von Propanoyl-CoA anstelle von Acetyl-CoA als Starter entstehen. Durch Decarboxylierung der Fettsäuren entstehen die entsprechenden Alkane. Verzweigungen innerhalb der Kohlenstoffkette können auf verschiedenen Wegen gebildet werden. So können anstelle von Acetateinheiten Propanoat- bzw. Methylmalonateinheiten während der Kettenverlängerung eingebaut werden, was zu einer Methylverzweigung im Endprodukt führt. Seltener ist der Einbau von Butanoateinheiten, der zu Ethylverzweigungen führt. Aus diesen Reaktionsfolgen ergibt sich, dass die Verzweigungspunkte von mehrfach verzweigten Verbindungen immer durch eine ungerade Anzahl von Methylengruppen getrennt sind. Bei Verwendung von aus Valin gebildetem Isobutyryl-CoA als Starter entstehen zunächst ungeradzahlige Fettsäuren mit einer ( $\omega$ -1)-Methylverzweigung. Diese bilden nach Kettenverlängerung und Decarboxylierung die entsprechenden ungeradzahligen 2-Methylalkane. Geradzahlige 2-Methylalkane entstehen durch Verwendung von 3-Methylbutyryl-CoA, welches aus Leucin gebildet wird. Bleibt ein Sauerstoffatom aus einer Acetat-

einheit erhalten, können in verschiedenen anschließenden Reaktionen diverse oxygenierte Produkte entstehen. Diese Verbindungen werden als Polyketide bezeichnet<sup>4</sup> [57, 58]. Kurzkettige oxygenierte Acetogenine, in erster Linie C<sub>6</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>9</sub> und C<sub>12</sub> Verbindungen, entstehen durch die oxidative Spaltung von ungesättigten Fettsäuren, z. B. Linolensäure. Diese Verbindungen, die nicht zu den Lipiden gerechnet werden, spielen eine wichtige Rolle in Kommunikationssystemen von Arthropden.

### 1.3. Themenstellung

Im Rahmen der vorliegenden Dissertation wird die Isolierung, Identifizierung und Synthese von Signalstoffen beschrieben, die Spinnen zur inter- und intraspezifischen Kommunikation nutzen. Einen Schwerpunkt bildet dabei die Untersuchung von Sexuallockstoffen, die von weiblichen Spinnen zur Anlockung potentieller Kopulationspartner abgegeben werden. Dabei handelt es sich sowohl um Kontaktpheromone, die sich auf der Seide befinden, sowie um flüchtige Signale, die von den Weibchen direkt abgegeben werden. Schon lange haben verhaltensbiologische Beobachtungen gezeigt, dass es taktile chemische Signale auf der Seide von adulten Weibchen gibt, die eine wichtige Rolle bei der Zusammenführung der Geschlechter spielen [59, 60]. Die chemischen Strukturen dieser Signale sind allerdings bis auf die 3-Hydroxybuttersäure (**12**) und das dazugehörige Kondensationsprodukt **13** von *Linyphia triangularis* nicht aufgeklärt [36]. Volatile Signalstoffe, die von den Weibchen emittiert werden um potentielle Kopulationspartner über eine größere Distanz hin anzulocken, sind bislang von Spinnen nicht bekannt. Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Strukturaufklärung solcher weibchenspezifischen Signalstoffe, die während des Balzverhaltens genutzt werden. Weiterhin werden einige der identifizierten Substanzen zur Strukturabsicherung und gegebenenfalls zur Bestimmung der absoluten Konfiguration und für Biotests, d.h. zur Untersuchung der verhaltensmodifizierenden Wirkung dieser Verbindungen, synthetisiert.

Einen anderen Schwerpunkt dieser Arbeit bilden Untersuchungen der Spinnseidenlipide. Die Lipidschicht, die die Seide bedeckt, ist von essentieller Bedeutung für die Seide. Sie erfüllt verschiedene wichtige Funktionen, wie die Wasserregulation, den Schutz der Seide vor

---

<sup>4</sup> Die Definition und Abgrenzung der Begriffe Acetogenin und Polyketid ist in der Literatur nicht einheitlich. Einige Autoren bezeichnen Polyketide als Naturstoffe, die neben Acetateinheiten auch aus Propionat- und oder Butyratbausteinen aufgebaut werden können. Andere Darstellungen bezeichnen Polyketide als oxygenierte Acetogenine. Je nach Definition sind Polyketide eine Untergruppe der Acetogenine oder umgekehrt.

Mikroorganismen und wahrscheinlich dient ihre spezifische Zusammensetzung der intra- und interspezifischen Erkennung. Ein weiteres Ziel im Rahmen der vorliegenden Arbeit ist die Aufklärung spezifischer Lipidmuster auf der Seide und der Cuticula von Spinnen.

Die Strukturaufklärung der Pheromone sowie der Lipide erfolgte mit NMR-spektroskopischen Verfahren und gaschromatographisch-massenspektrometrischen Methoden. Insgesamt wurden sechs Spezies untersucht, die zu verschiedenen Familien, aber alle zur gleichen Infraordnung der *Araneomorpha* gehören. Der argumentative Teil der Arbeit gliedert sich deshalb in sechs Kapitel. In jedem dieser Kapitel wird der biologische Kontext der Untersuchungen beschrieben und die analytischen Daten und gegebenenfalls die Synthese der identifizierten Substanzen dargestellt. Alle Untersuchungen wurden in enger Zusammenarbeit mit biologischen Arbeitsgruppen durchgeführt. Im Zusammenhang mit den Ergebnissen der Arbeit stehende biologische Resultate, beispielsweise von Biotests oder Rezeptoruntersuchungen, werden in den entsprechenden Kapiteln diskutiert.

## 2. *Cupilure*, ein Kontaktpheromon von *Cupiennius salei* (Ctenidae)

*Cupiennius salei* (Ctenidae) ist eine große tropische nachtaktive Jagdspinne aus Mittelamerika, vornehmlich Costa Rica, die zur Unterfamilie<sup>1</sup> der Kammspinnen gehört [61, 62, 63]. Sowohl die Männchen als auch die Weibchen sind handtellergroß und erreichen Beinspannweiten von über 10 cm. Sie leben nicht auf selbstgesponnenen Netzen, sondern auf ausgewählten monokotylen Pflanzen, wie Bromelien und Bananenstauden [64, 65]. Zwischen den dickwandigen Blättern bauen sich die Spinnen Schlupfwinkel, die ihnen Schutz vor Feinden, der direkten Sonneneinstrahlung und dem Austrocknen bieten. In der Dunkelheit der tropischen Nacht ist *Cupiennius salei* umgeben von Tieren, die mit teilweise sehr lauten akustischen Signalen sich ihren Artgenossen als potentielle Geschlechtspartner präsentieren. Im Gegensatz dazu verläuft ihre eigene Balz leise. Obwohl diese Art acht gut entwickelte Augen hat, spielen visuelle Reize in der Nacht eine untergeordnete Rolle. Während das Weibchen, gesichert durch einen Sicherheitsfaden, nur wenig auf der von ihm bewohnten Pflanze umherwandert, zeigt das schlankere und hellere Männchen auf der Suche nach einer Geschlechtspartnerin ein viel höheres Laufpensum. Trifft ein umherwanderndes Männchen auf den Sicherungsfaden eines Weibchens, wird dieser intensiv mit den Pedipalpen betastet. Auf der Seide befindet sich ein chemisches Signal, das dem Männchen die Anwesenheit eines balzwilligen Weibchens mitteilt. Dieser erste Teil der Balz wird die chemische Phase genannt. Unmittelbar nach diesem Kontakt mit der Seide fängt das Männchen mit der eigentlichen sogenannten vibratorischen Balz an [66, 67, 68]. Hierzu schwingt es mit dem Hinterleib und kratzt und trommelt mit den Pedipalpen auf den Pflanzenblättern. Die Vibrationen werden durch die Pflanze zu dem Weibchen hingeleitet, welches an dem vibratorischem Signal erkennt, ob es sich um ein conspezifisches Männchen handelt. Das Weibchen antwortet ebenfalls mit vibratorischen Signalen, die dem Männchen die Orientierung zu der potentiellen Geschlechtspartnerin erleichtern. Dieser Signalaustausch kann über eine Stunde dauern. Die dritte Phase, die sogenannte taktile Phase, ist erreicht, sobald die Beine der Partner sich in Reichweite zueinander befinden. Am Ende der taktilen Phase, in der die Spinnen sich betasten, beginnt die Kopulation. In den meisten Fällen ist die langwierige und komplizierte Balz erfolgreich und endet mit der Kopulation. Nur in einigen Fällen kommt es zu Mißverständnissen, z. B. können manche Männchen das Weibchen trotz der von ihm

---

<sup>1</sup> Die Kammspinnen (Ctenidae) wurden früher als eigenständige Familie betrachtet, heutzutage hat man sie als Unterfamilie *Ctenidae* den *Lycosidae* zugeordnet.

abgegeben Vibrationssignale nicht orton. In anderen Fällen ist das Weibchen irritiert und ergreift kurz vor der Kopulation die Flucht, und im schlimmsten Fall verwechselt das Weibchen ihren Sexualpartner mit einem Beutetier.

Anzumerken ist noch, dass die Männchen nur auf die Seide von adulten Weibchen, im folgenden aktive Seide genannt, mit dem Beginn der vibratorischen Balz reagieren. Seide von subadulten Weibchen (eine Häutung vor der Geschlechtsreife) oder artgleichen Männchen ist nicht attraktiv.

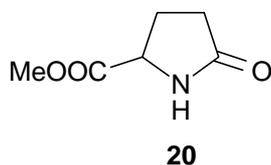
Das chemische Signal, das sich auf dem Sicherungsfaden des Weibchens befindet, wurde in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. Harald Tichy (Universität Wien) untersucht. Für diese Untersuchungen wurde ein Biotest entwickelt, bei dem das Vibrationsverhalten der männlichen Spinnen, das in der vibratorischen Phase der Balz auftritt, als Indikator dient. Der Versuchsaufbau besteht aus einem quadratischen Glasschacht, auf dessen Boden ein mit Seide umwickeltes Stück Plastik liegt. Trifft das Männchen auf die Seide, fängt es an, diese intensiv mit den Pedipalpen zu betasten. Im positiven Fall beginnt es dann Vibrationen zu erzeugen. Mit diesem Test konnte nochmals bestätigt werden, dass nur die Seide von adulten Weibchen attraktiv für die Männchen ist. Außerdem wurden Extrakte der Seide mit verschiedenen Lösungsmitteln (Hexan, Dichlormethan, Methanol und Wasser) hergestellt<sup>2</sup> und anschließend getestet. Hierzu wurde inaktive männliche Seide mit den jeweiligen Extrakten behandelt und dann getestet. Nur mit Wasser oder Methanol hergestellte Extrakte zeigten eine starke Aktivität, während Dichlormethan- oder Hexanextrakte eine deutlich geringere Aktivität zeigten. Die aktiven methanolischen Extrakte wurden mit verschiedenen spektroskopischen Methoden untersucht.

---

<sup>2</sup> Für die Herstellung der Extrakte wurden 5-10 mg Seide in *ca.* 0.4 ml Lösungsmittel aufgenommen und vor den Biotests oder spektroskopischen Analysen mindestens drei Stunden stehengelassen. Die Seide ließ sich durch künstliches Melken der Spinndrüsen mit Hilfe eines Aufwickelmotors gewinnen. Um *ca.* 10 mg Seide zu erhalten mußten die Tiere sukzessive eine Woche gemolken werden. Die Extrakte wurden über mehrere Monate bei -18°C gelagert.

## 2.1. GC-MS Analysen von aktiven Extrakten der Seide von *Cupiennius salei*

Die ersten Untersuchungen der methanolischen aktiven Seidenextrakte wurden mittels GC-MS an unpolaren Trennphasen durchgeführt. Dominiert werden diese Extrakte von den Methylestern der C<sub>14</sub>-C<sub>20</sub>-Säuren sowie der gängigen ungesättigten Fettsäuremethylester. Zusätzlich konnten einige primäre Alkohole identifiziert werden. Diese und weitere Verbindungen traten sowohl in Seidenextrakten von adulten als auch subadulten Weibchen auf. Lediglich eine Spurenkomponente, 5-Oxoprolinmethylester (**20**), konnte ausschließlich in den aktiven Extrakten nachgewiesen werden.



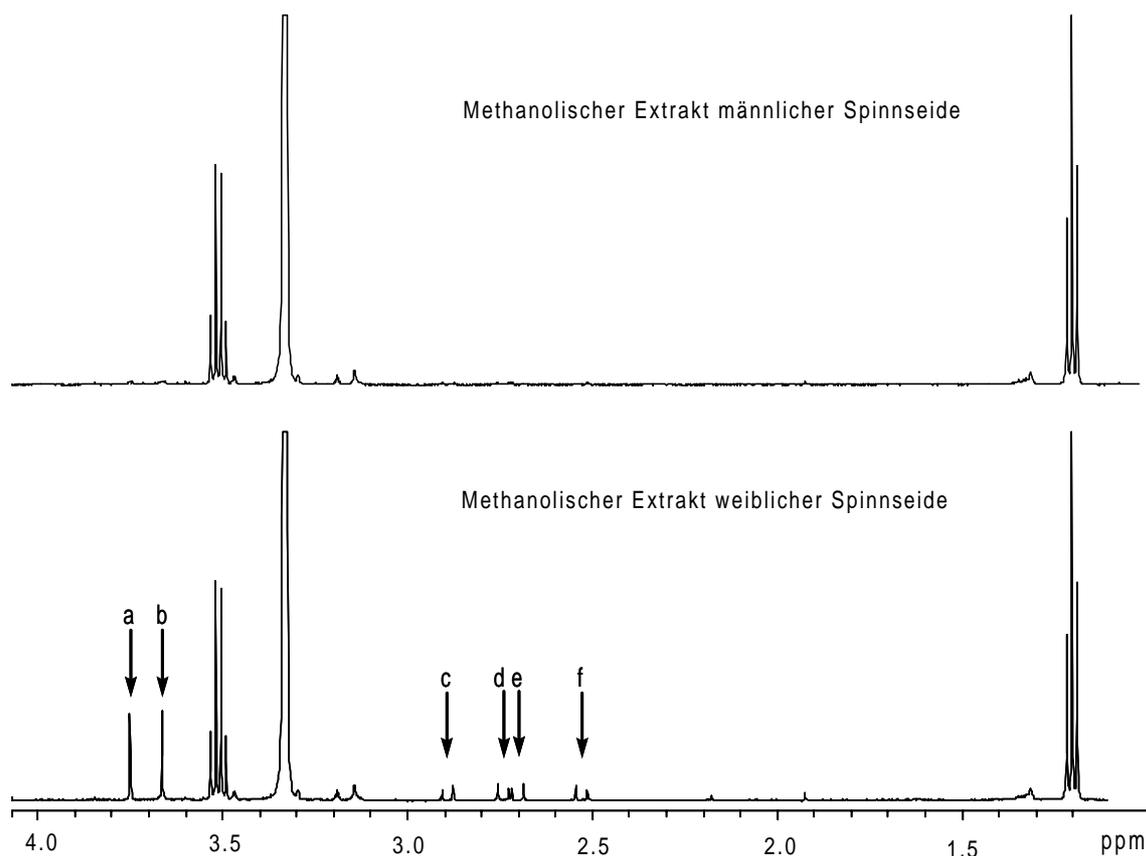
**Abb. 2. 1.** 5-Oxoprolinmethylester (**20**).

Diese Verbindung wurde durch Methylierung von Pyroglutaminsäure racemisch hergestellt, und durch gaschromatographischen und massenspektrometrischen Vergleich konnte der Strukturvorschlag bestätigt werden [69]. In den folgenden Biotests zeigte die Verbindung allerdings keine Aktivität. Deshalb wurde von einer enantioselektiven Synthese abgesehen. Ob die Verbindung eine andere Funktion hat, ist bislang ungeklärt. Prinzipiell ist das Vorkommen einer solchen Verbindung auf der Seide nicht ungewöhnlich, da strukturell verwandte Verbindungen wie z. B. 2-Pyrrolidon<sup>3</sup> (**40**) bereits auf der Seide von anderen Arten gefunden wurde [9]. Zur weiteren Analyse der Seide wurden die Extrakte mit Diazomethan und MSTFA derivatisiert. Weder die methylierten noch die silylierten Proben gaben Aufschluß über die gesuchte Verbindung bzw. Verbindungen. Bei den silylierten Extrakten traten zwar in den aktiven Proben einige neue Peaks als Spurenkomponenten auf, die allerdings aufgrund der manchmal sehr schwierigen Interpretation der häufig wenig charakteristischen Massenspektren von Silylderivaten nicht identifiziert werden.

<sup>3</sup> Vgl. Abb. 4.2.

## 2. 2. $^1\text{H}$ -NMR-spektroskopische Untersuchungen der aktiven Seide von *Cupiennius salei*

Für die  $^1\text{H}$ -NMR-spektroskopischen Analysen wurden *ca.* 10 mg der Seide mit deuteriertem Methanol<sup>4</sup> extrahiert. Die Protonenspektren eines inaktiven Extraktes von Männchenseide und eines aktiven Extraktes adulter Weibchen sind in Abbildung 2.2. dargestellt.

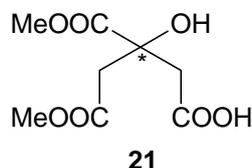


**Abb. 2. 2.**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren der Seidenextrakte (männliche, inaktive Seide oben; weibliche aktive Seide unten) aufgenommen bei 500 MHz in  $\text{CD}_3\text{OD}$ .

Das in beiden Spektren vorhandene Ethanol ist eine Verunreinigung. Auffällig sind die ausschließlich auf der aktiven Seide vorkommenden 6 Signale. Hierbei handelt es sich um zwei Singulets bei 3.75 (a) und 3.66 (b) ppm, sowie vier Dubletts bei 2.89 (c), 2.75 (d), 2.70 (e) und 2.53 (f) ppm. Die Dubletts zeigen Kopplungskonstanten von 15.1 und 15.8 Hz. Aufgrund der chemischen Verschiebung wurden die beiden Singulets als isolierte Methylester interpretiert. Die vier Dubletts wurden zwei diastereotopen Methylengruppen

<sup>4</sup> Hierfür wurde Methanol- $\text{d}_4$ , 99.95 Atom % D, der Firma Aldrich benutzt.

zugeordnet. Die Größenordnung der Kopplungskonstanten unterstützt diesen Vorschlag. Auf der Grundlage dieser Daten wurde der asymmetrische Dimethylester (**21**) der Citronensäure als Struktur für die unbekannt Verbindung vorgeschlagen.

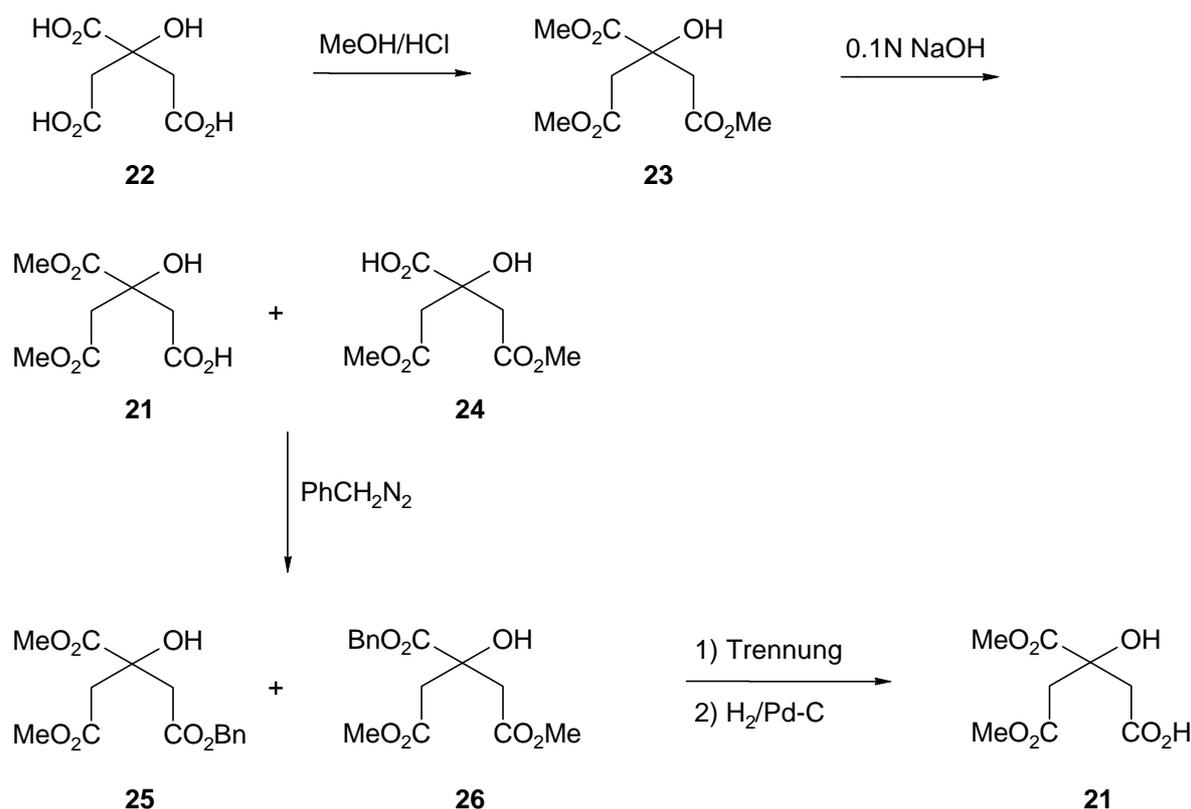


**Abb. 2. 3.** Asymmetrischer Dimethylester der Citronensäure (**21**).

Die zwei Methylgruppen der unterschiedlichen Methylesterfunktionen erklären die beiden Singulets, während die vier Dubletts den vier Protonen an C-2 und C-4 zuzuordnen sind. Da diastereotope Protonen chemisch und magnetisch nicht äquivalent sind, zeigt jedes der vier Protonen ein separates Signal, das durch das geminale Proton zu einem Dublett aufgespalten ist.

### 2.3. Synthesen des asymmetrischen Dimethylester der Citronensäure

Zur Verifizierung des Strukturvorschlags wurde der Dimethylester **21** racemisch und enantio-selektiv synthetisiert. Die racemische Verbindung **21** konnte durch partielle Verseifung von Trimethylcitrat (**23**), welches durch Methylierung von Citronensäure (**22**) dargestellt wird, synthetisiert werden [70]. Nach einer Methode von Hirota *et al.* sollte dann durch Verseifung mit 0.5 Äquivalent NaOH selektiv der asymmetrische Dimethylester (**21**) erhalten werden [71]. Im Gegensatz zu den in der Literatur veröffentlichten Daten gelang es auf diese Weise lediglich ein Gemisch des symmetrischen und asymmetrischen Esters **24** und **21** zu erhalten. Das Verhältnis von **21** zu **24** war dabei 2:1, was der statistischen Erwartung entspricht. Durch Säulenchromatographie an Kieselgel konnte das Gemisch der beiden sehr polaren Verbindungen nicht aufgetrennt werden. Zur Verbesserung der chromatographischen Eigenschaften von **21** und **24** wurden die Verbindungen mit Phenyl Diazomethan in die entsprechenden Benzyl-ester **25** und **26** umgewandelt [72, 73]. Die beiden Regioisomeren konnten dann säulenchromatographisch an Kieselgel getrennt werden. Eine anschließende hydrogenolytische Abspaltung des Benzylrestes lieferte den racemischen asymmetrischen Dimethylester **21**, der allerdings immer noch 4 % des symmetrischen Esters **24** enthielt.

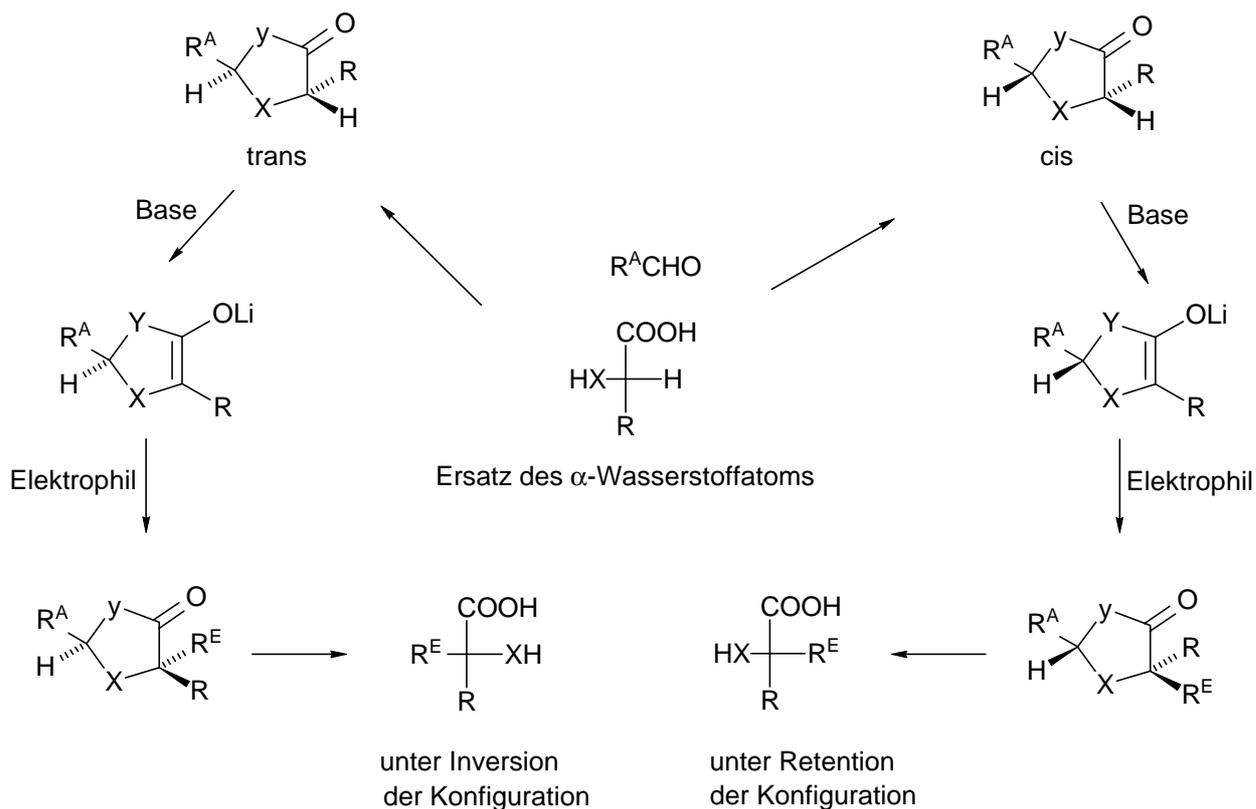


**Abb. 2. 4.** Racemische Synthese des asymmetrischen Dimethylesters **21**.

Synthetisches und natürliches Material wurden mit MSTFA derivatisiert und gaschromatographisch und massenspektrometrisch untersucht. Gaschromatographische Retentionszeiten und die Massenspektren der beiden Proben waren identisch.

Zur Bestimmung der absoluten Konfiguration des Naturproduktes und als Testmaterial für Biotests wurden beiden Enantiomere enantioselektiv synthetisiert. Für die Darstellung der Enantiomeren des asymmetrischen Diesters **21** sind in der Literatur mehrere enzymatische Methoden zur regio- und stereoselektiven Hydrolyse von Trimethylcitrat (**23**) beschrieben worden. Anthonson *et al.* hydrolysieren mit Subtilisin oder Schweineleberesterase (PLE). Dabei erhalten sie Gemische des symmetrischen und asymmetrischen Esters im Verhältnis 3:4 bzw. 1:1 im Fall von PLE [74]. Zur Stereoselektivität der Reaktion sind keine weiteren Angaben gemacht worden. Mit einer *Candida antarctica* Lipase konnte selektiv das (*3R*)-Enantiomer des asymmetrischen Esters **21** mit einem Enantiomerenüberschuß von 90 % hergestellt werden [75]. Beide Methoden schienen für die hier dargestellte Problematik ungeeignet. Im ersten Fall ist die Regioselektivität der Reaktion zu gering, da die Trennung der Regioisomere, wie bereits beschrieben, problematisch ist. Zum anderen stellt die ungeklärte Stereochemie ein zusätzliches Problem da. Gerade für Biotests sind saubere Verbindungen von

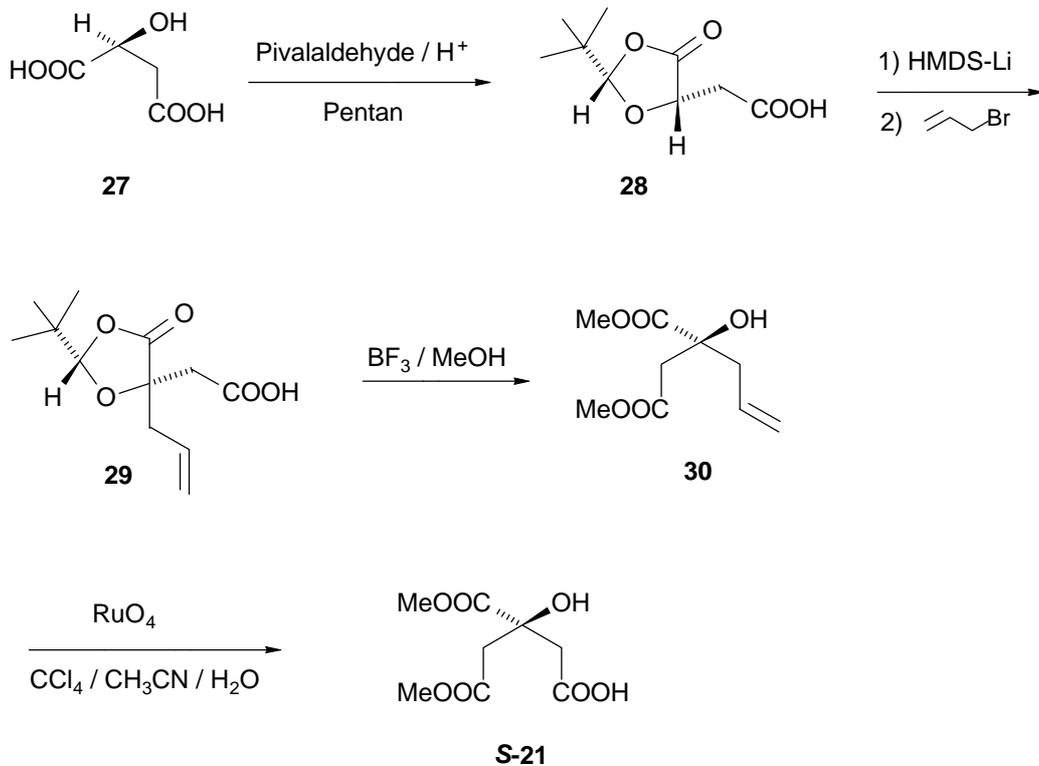
erheblicher Bedeutung, da eine inhibierende Wirkung einer Verunreinigung nicht auszuschließen ist. Die Lipasereaktion ist zwar aufgrund der Regioselektivität besser geeignet, macht jedoch nur das (3*R*)-Enantiomer zugänglich. Im Biotest sollten aber beide Enantiomere einzeln getestet werden. Eine weitere in der Literatur beschriebene Vorgehensweise ist die Überführung des Diesters in diastereomere Brucinsalze, die dann durch Umkristallisation getrennt werden können [76]. Bergeron *et al.* gelang es nach fünfmaligem Umkristallisieren des (-)-Brucin-Salzes (3*R*)-**21** darzustellen. Die Stereochemie wurde durch eine Röntgenstrukturanalyse des Brucinsalzes bewiesen. Eine anschließende Hydrolyse lieferte den gewünschten Dimethylester. Angaben über das Enantiomerenverhältnis sind nicht vorhanden. Aufgrund der bei der racemischen Synthese auftretenden Schwierigkeiten bei der Trennung des asymmetrischen und symmetrischen Diesters **21** und **24** wurde im Fall der vorliegenden Arbeit nach einer Synthesemöglichkeit gesucht, bei der die Verbindung neu aufgebaut wird. Eine Synthesestrategie, die von der Citronensäure oder dem Trimethylester ausgeht, sollte deshalb vermieden werden. Eine solche Möglichkeit bot sich mit einer von Seebach *et al.* entwickelten Methode für die Darstellung von tertiären Kohlenstoffzentren [77, 78]. Das Prinzip dieser Methode beruht auf der Selbstregeneration von Stereozentren. Es wird von chiralen Edukten ausgegangen, die nur ein stereogenes Zentrum, aber zwei funktionelle Gruppen besitzen. Häufig eingesetzte Edukte sind beispielsweise  $\alpha$ -Amino-,  $\alpha$ -Hydroxy- oder  $\alpha$ -Sulfanylcarbonsäuren. Diese Edukte werden mit einem Aldehyd cyclisiert. In der Regel entsteht dabei ein Diastereomer bevorzugt. Das ursprüngliche Chiralitätszentrum wird durch Deprotonierung zerstört unter Bildung eines trigonalen Zentrums. Diese Zwischenstufe ist durch das eingeführte temporäre Hilfszentrum weiterhin chiral. Eine anschließende Reaktion am trigonalen Zentrum ist unter dem Einfluß des Hilfszentrums diastereoselektiv. Die Acetalspaltung führt somit schließlich zu einem Produkt, in dem einer der Substituenten am Chiralitätszentrum des ursprünglich eingesetzten Eduktes durch einen neuen ausgetauscht wurde. Die Reaktionsfolge führt zu einer enantioselektiven Substitution an einem Chiralitätszentrum ohne die Verwendung eines chiralen Auxiliars, woraus der Begriff Selbstregeneration resultiert.



**Abb. 2.5.**  $\alpha$ -Alkylierung einer  $\alpha$ -Amino-,  $\alpha$ -Hydroxy- oder  $\alpha$ -Sulfanylcarbonsäure nach dem Prinzip der Selbstregeneration; X = O, NH oder S;  $\text{R}^{\text{A}}$  entspricht dem eingesetzten Aldehyd, in den meisten Fällen Pivalaldehyd ( $\text{R}^{\text{A}} = (\text{CH}_3)_3\text{C}$ );  $\text{R}^{\text{E}}$  ist das eingesetzte Elektrophil.

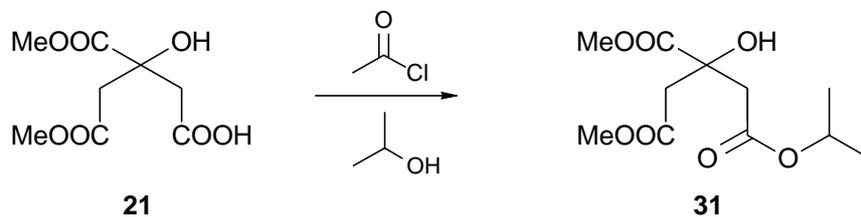
Für die Darstellung von (3*S*)-3-Hydroxy-3-methoxycarbonylpentandisäuremonomethylester (**21**) wird im ersten Schritt (2*S*)-Äpfelsäure (**27**) mit Pivalaldehyd zu dem 1,3-Dioxolanon **28** kondensiert [79]. Dabei entsteht in befriedigenden Ausbeuten (55 %) **cis-28**, jedoch mit einem Diastereomenüberschuß von 95 %. Der Diastereomenüberschuß wurde gaschromatographisch von einer mit Diazomethan methylierten Probe bestimmt. Nach der Deprotonierung von **28** mit Lithiumhexamethyldisilazid führt die Alkylierung mit Allylbromid zu dem allylierten Produkt **29**. Die Hydrolyse des Acetals erfolgt in einem Schritt mit der Methylierung der beiden Carboxylgruppen in Methanol mit einem fünffachen Überschuß an Bortrifluorid-ethyletherat. Die gängige sauer katalysierte Abspaltung der Schutzgruppe mit *p*-TsOH oder HCl in Methanol lieferte das methylierte Produkt **30** nur in Spuren. Deshalb wurden die langen Reaktionszeiten (bis zu 5 Tagen ohne vollständigen Umsatz, Ausbeute *ca.* 50 %) in Kauf genommen. Der Enantiomenüberschuß von **30** konnte durch Gaschromatographie an einer chiralen Cyclodextrin-Phase (Lipodex E) mit 93 % bestimmt werden [80]. Im letzten

Schritt der Synthese erfolgt eine oxidative Spaltung der Doppelbindung mit Rutheniumoxid und Natriumperodat in einem Gemisch aus Acetonitril, Wasser und Tetrachlorkohlenstoff [81, 82].



**Abb. 2. 6.** Enantioselektive Synthese des asymmetrischen Dimethylesters der Citronensäure **21**.

Zur Zuordnung des Enantiomerenüberschusses wurde der Dimethylester **21** mit Isopropanol und Acetylchlorid in den Isopropylester **31** überführt, um so die Elutionseigenschaften zu verbessern [83].



**Abb. 2. 7.** Veresterung von **21** mit Isopropanol und Acetylchlorid.

Mit Hilfe dieser Derivatisierung gelang es, die Enantiomeren der Verbindung **31** gaschromatographisch an einer chiralen Cyclodextrin Phase (50 % Heptakis-(6-*O*-TBDMS-2,3-di-*O*-acetyl)- $\beta$ -cyclodextrin und 50 % OV1701) zu trennen [84]. Der Enantiomerenüberschuß von **31** und dementsprechend auch von der underivatisierten Verbindung (3*S*)-**21** wurde mit 92 %

bestimmt. Bei der Acetalspaltung des 1,3-Dioxolanons **29** mit  $\text{BF}_3$  und der anschließenden oxidativen Spaltung von **30** war keine Racemisierung eingetreten (**30**: ee = 93 %, s.o.).

Analog zu der eben beschriebenen Synthese wurde auch (3*R*)-3-Hydroxy-3-methoxycarbonylpentandisäuremonomethylester (**21**) hergestellt. Anstelle der (2*S*)-Äpfelsäure (**27**) wird hierzu im ersten Schritt (2*R*)-Äpfelsäure eingesetzt. (3*R*)-**21** wurde mit einem Enantiomerenüberschuß von 93 % erhalten.

Eine Absicherung der absoluten Konfiguration ist zumindest für die ersten beiden Schritte der Synthese bereits von Seebach *et al.* beschrieben worden [79]. Acht verschiedene  $\alpha$ -Hydroxysäuren wurden mit Verbindungen bekannter Konfiguration korreliert. Beispielsweise erhält man aus (2*S*)-Äpfelsäure (**27**), nach der Bildung des 1,3-Dioxolanons und der Alkylierung mit Methyljodid, die (2*S*)-2-Hydroxy-2-methylbernsteinsäure (Citramalsäure) (**32**).

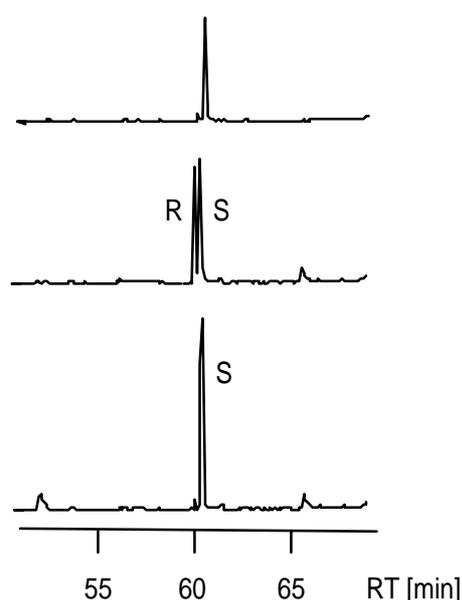


**Abb. 2. 8.** Korrelation der Konfiguration von (2*S*)-Äpfelsäure (**27**) und (2*S*)-2-Hydroxy-2-methylbernsteinsäure (**32**).

Es zeigte sich, dass der elektrophile Angriff immer von der *Re*-Seite des trigonalen Zentrums unter Retention der Konfiguration erfolgte. Das hier diskutierte allylierte Produkt hat dementsprechend auch die (*S*)-Konfiguration. Da die folgenden Reaktionen der Synthese von **21** nicht am Stereozentrum ablaufen und die Prioritätenfolge sich nicht ändert, liegt im Endprodukt auch die (*S*)-Konfiguration vor. Zusätzlich konnte der Drehwert des (3*R*)-Enantiomers mit dem in der Literatur veröffentlichten Drehwert dieses Enantiomers verglichen und so die Stereochemie bestätigt werden; gemessener Drehwert:  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = 3.84$  (c= 0.41, Methanol), in der Literatur genannter Drehwert:  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = 4.0$  (c= 1, Methanol) [76].

## 2.4. Vergleich der analytischen Daten des Synthese- und des Naturproduktes

Das Naturprodukt wurde ebenfalls mit Isopropanol in der beschriebenen Weise derivatisiert und gaschromatographisch an der genannten chiralen Cyclodextrinphase untersucht. Die Messung ergab ein Enantiomerenverhältnis 10:1<sup>5</sup>. Eine Koinjektion der Naturprobe und der Syntheseprodukte zeigte, dass der zweite eluierende Peak der Naturstoff ist. Damit ist gezeigt, dass die natürliche Verbindung **21** die (3*S*)-Konfiguration hat.



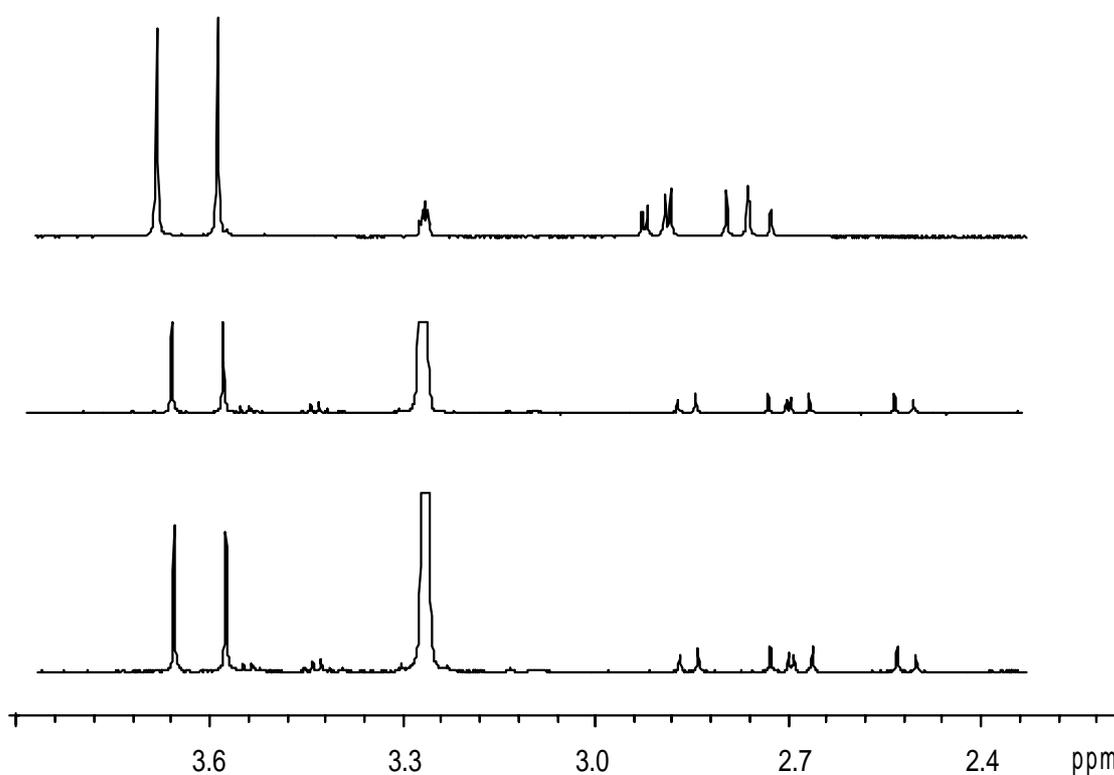
**Abb. 2. 9.** FID-Gaschromatogramm des Naturproduktes (oben), des Racemates (Mitte) und des Syntheseproduktes (unten), (Säule: 25 m fused silica Kapillare belegt mit 50% Heptakis-(6-*O*-TBDMS-2,3-di-*O*-acetyl)- $\beta$ -cyclodextrin und 50 % OV 1701); 110°C isotherm.

Um sicherzugehen, dass die Spuren des (3*R*)-Enantiomers im Naturstoff nicht durch die Derivatisierungsreaktion entstehen, wurde eine Testreaktion durchgeführt, bei der eine Probe 12 Stunden bei 100 °C, anstatt 15 Minuten bei 60 °C, mit den gleichen Mengen an Isopropanol und Acetylchlorid derivatisiert wurde. Der unter diesen Bedingungen hergestellte Isopropyl-

<sup>5</sup> Die angegebenen Enantiomerenüberschüsse sind mit einem Fehler von ca. 5 % behaftet, da das in geringeren Mengen vorhandene (3*R*)-Enantiomer in manchen Proben als „Schulter“ des (3*S*)-Enantiomerpeaks auftritt, was eine genaue Integration unmöglich macht.

ester **31** zeigte keinen höheren Anteil des (3*R*)-Enantiomers, was, läge es an der Reaktion, zu erwarten gewesen wäre.

Bemerkenswerterweise sind die  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren von natürlichem und synthetischem Material zwar sehr ähnlich, aber nicht identisch. Die beiden Singulettssignale der Methylgruppen sind im natürlichen Produkt um *ca.* 0.02 ppm zu einem höheren Feld verschoben. Noch deutlicher sind die Unterschiede bei den Methylenprotonen. Anstelle der vier im Naturprodukt gut voneinander separierten Dubletts zwischen 2.5 und 2.9 ppm findet man im Spektrum des synthetischen Materials zwei getrennte Dubletts zwischen 2.85 und 2.94 ppm und zwei überlagerte Dubletts zwischen 2.72 und 2.81 ppm.



**Abb. 2. 10.**  $^1\text{H}$ -NMR-spektroskopischer Vergleich von synthetischem **21** (oben), dem natürlichen Produkt (Mitte) und einer 1:1 Mischung der beiden Produkte (unten).

Als Ursache für die Abweichungen sind die unterschiedlichen Konzentrationen und pH-Werte der Proben zu sehen. Um den Einfluß der Konzentration zu ermitteln, wurden Proben des synthetischen Materials in unterschiedlichen Verdünnungen vermessen. Für keine der Proben ergab sich eine exakte Übereinstimmung zum Spektrum der Naturprobe. Deshalb sollten die Substanzen in einem Zumischversuch untersucht werden. Um das dafür nötige optimale

Mischungsverhältnis von 1:1 einstellen zu können, wurde zu beiden Proben Benzol als interner Standard gegeben. Anhand des Verhältnisses der Integrale des Standards und des Produktes wurden die benötigten Anteile für eine 1:1 Messung bestimmt. Das Spektrum dieser Mischung zeigte einen Satz von identischen Signalen, die denen der Naturprobe entsprachen.

## 2.5. Ergebnisse der Biotests und Diskussion

Im Labor von Prof. Dr. H. Tichy wurde das synthetische Material auf eine mögliche biologische Aktivität mit dem bereits beschriebenen Biotest untersucht. Für den Test wurden nur Männchen ausgewählt, die in einem vorher durchgeführten Test schnell und eindeutig auf aktive Seide reagierten, d.h. das Vibrationsverhalten zeigten. Die eingesetzten Männchen wurden dann mit unbehandelter männlicher Seide und erst anschließend mit der Seide, auf die das synthetische Material aufgebracht worden war, getestet. Dieses doppelte Testen war nötig, da einige Männchen spontan auch auf die unbehandelte Seide reagierten. In Abbildung 2. 11. sind die Ergebnisse des Biotests zusammengefasst. Insgesamt wurden 47 Männchen zuerst auf unbeladene, inaktive Seide und anschließend auf pheromonhaltiger Seide getestet. Auf die unbeladene Seide reagierten bereits 20 Männchen positiv (obere Zeile), während 27 Männchen keine Reaktion zeigen (untere Zeile). Im Test mit der aktiven also beladenen Seide zeigten 46 Männchen positive Reaktionen (linke Spalte) und nur ein Männchen reagierte nicht (rechte Spalte).

		<b>Männchenseide beladen mit 50 µg/mg Seide (3S)-21</b>	
		<b>+</b>	<b>-</b>
<b>unbeladene</b>	<b>+</b>	<b>20</b>	<b>0</b>
<b>Männchenseide</b>	<b>-</b>	<b>26</b>	<b>1</b>

**Abb. 2. 11.** Ergebnisse des Biotests, + = positive Reaktion, - = keine Reaktion.

Zur Auswertung des Versuches wurde ein nichtparametrischer McNemar-Test verwendet, da relativ viele Männchen (oben links in der Matrix) bereits auf die unbeladene Seide reagieren. Die Nullhypothese besagt, dass es keinen Unterschied in der Reaktion auf beladene oder unbeladene Seide gibt. Dies würde bedeuten, dass die Anzahl der Männchen links unten und rechts oben sowie links oben und rechts unten gleich sein sollte. Diese These konnte mit  $p < 0.001$  zurückgewiesen werden. Das (3*S*)-Enantiomer des Dimethylesters **21**, im folgenden *Cupilure* genannt, löst also eine statistisch signifikante Reaktion bei den Männchen aus [85]. Die Mindestkonzentration, die zum Auslösen der Reaktion benötigt wird, sind 50 µg pro mg Seide. Das (3*R*)-Enantiomer zeigt keine Aktivität im Biotest, während das Racemat nur eine abgeschwächte Reaktion hervorruft.

Neben *Cupiennius salei* wurden im Rahmen dieser Experimente auch zwei andere Arten des Genus *Cupiennius* (Ctenidae) untersucht. *Cupiennius getazi* und *Cupiennius coccineus* sind zwei sympatrische Spezies<sup>6</sup>. Bei <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopischen Analysen der Seide der adulten Weibchen von *C. getazi* und *C. coccineus* konnte auch *Cupilure* **21** identifiziert werden. Mittels der Derivatisierung als Isopropylester und anschließender gaschromatographischer Untersuchung konnte auch die Stereochemie der Verbindung bestätigt werden. Offensichtlich benutzen alle drei Spezies das gleiche Pheromon, trotzdem kommt es zwischen *C. getazi* und *C. coccineus* nur sehr selten zu heterospezifischen Kopulationen [86, 87]. Die eigentliche Differenzierung erfolgt in der zweiten - der vibratorischen - Phase, wobei das Weibchen erwartungsgemäß wählerischer ist als das Männchen<sup>7</sup> [88]. Eine heterospezifische Paarung ist ein kostspieliger Irrtum für die Weibchen, da sie nicht zu einer erfolgreichen Befruchtung führt [67]. Beginnt ein artfremdes Männchen mit den Vibrationssignalen, verharren die meisten Weibchen bewegungslos, so dass die Männchen sie nicht ausfindig machen können. Spätestens in der Kontaktphase wird die Balz unterbrochen. Die reproduktive Isolation dieser beiden Arten wird zusätzlich durch die unterschiedlichen lokomotorischen Aktivitäten unterstützt [68, 89]. *Cupiennius coccineus* zeigt eine minimale Tagesaktivität in der Periode der höchsten Aktivität von *Cupiennius getazi*. Erwartungsgemäß sind die Weibchen der allopatrischen Spezies *Cupiennius salei* weniger wählerisch als die Weibchen der beiden sympatrischen Arten [67].

---

<sup>6</sup> Sympatrisch sind nahe verwandte Arten resp. Unterarten, die im gleichen Verbreitungsgebiet leben, aber sexuell isoliert sind.

<sup>7</sup> Bei der Partnerwahl sind Weibchen fast immer wählerischer als Männchen, weil ihr Elternaufwand pro Nachkommen bei den meisten Arten höher ist. Der Elternaufwand ist definiert als die Zeit und die Ressourcen, die ein Individuum aufbringen muß, um Nachkommen zu produzieren.

Synthetisches *Cupilure* **21** wurde im Labor von Dr. H. Tichy zur Identifikation der Pheromonrezeptoren herangezogen. Da die Männchen mit ihren Pedipalpen die Seide betasten, wurden die dort befindlichen Haarsensillen mit elektrophysiologischen Methoden auf pheromonrezeptive Sinneszellen untersucht. Diese beweglichen Sensillen sind von 19 Sinneszellen innerviert. An der Spitze der Sensillen befindet sich eine  $0.5 \mu\text{m}^2$  kleine Öffnung in der kutikulären Haarwand, die auf elektronenmikroskopischen Schnittserien keine besonderen strukturellen Merkmale zeigt. In dieser Öffnung enden die Dendriten<sup>8</sup> der Sinneszellen. Wie die elektrophysiologischen Ableitungen zeigten, reagieren die Sinneszellen bei Kontakt der Sensillenspitze mit dem synthetischen Pheromon. Das Pheromon wurde dabei mittels Filterpapier in fester Form appliziert. Gleiche Reaktionen treten auf, wenn die Sensillenspitze mit einem Knäuel weiblicher aktiver Seide berührt wird.

Um die Empfindlichkeit des Rezeptors abschätzen zu können, wurde die ungefähre Pheromonkonzentration auf der Seide bestimmt. Hierzu wurde die Menge an *Cupilure* **21**, das sich auf einem 62 m langen Seidenfaden befand, bestimmt. Dies geschah durch eine Quantifizierung anhand der NMR-Integrale mit einem internen Benzolstandard. Auf 62 m Seide wurden  $3.04 \mu\text{g}$  *Cupilure* gefunden, was bedeutet, dass  $1.35 \cdot 10^{13}$  Moleküle auf einem Zentimeter Seidenfaden sind. Bedenkt man, dass die Seide einen Durchmesser von 5-10  $\mu\text{m}$  hat, enthält eine  $0.0314 \mu\text{m}^2$  kleine Öffnung ungefähr 150.000 Moleküle, also *ca.* 0.5 attogramm *Cupilure*. Diese Menge wird also ungefähr benötigt, um die Sensillumpore zu stimulieren<sup>9</sup>.

Das hier beschriebene Pheromon ist bislang als Naturstoff unbekannt. Biosynthetisch gesehen stammt es vermutlich aus dem Primärstoffwechsel, wo es durch regio- und stereoselektive enzymatische Veresterung der Citronensäure hergestellt werden könnte. Als Zwischenprodukt des Citronensäure-Zyklus kommt die Citronensäure in allen Organismen vor. Citronensäure ist auch aus den Giftdrüsen mancher Spinnen bekannt [90]. Dort wirkt sie als Inhibitor von Phospholipasen, indem sie die Calciumionen, die für die Enzymwirkung benötigt werden, bindet. Dadurch kann die Selbstvergiftung der Spinne verhindert werden [91].

---

<sup>8</sup> Als Dendriten werden die Neuronenfortsätze bezeichnet, die Signale in Richtung des Zellkörpers leiten.

<sup>9</sup> Die hier genannten Zahlenwerte sind nur als Größenordnung zu verstehen. Es wird davon ausgegangen, daß alles auf der Seide vorhandene *Cupilure* auch extrahierbar ist, was möglicherweise nicht stimmt.

### 3. Ein neues flüchtiges Sexualpheromon von *Agelenopsis aperta* (Agelenidae)

*Agelenopsis aperta* gehört zur Familie der Trichterspinnen, die ihren Namen ihrem Netz verdanken, das an einem Ende trichterartig in eine beidseitig offene Wohnröhre zusammenläuft. Sie sind weit verbreitet in den südwestlichen USA und in Mexico, wo sie hauptsächlich trockene Habitate besiedeln. Dort werden sie schon länger von Prof. Dr. Susan Riechert (University of Tennessee, Knoxville) und ihrer Arbeitsgruppe untersucht, mit der auch das hier beschriebene Projekt durchgeführt wurde.

Verhaltensbiologische Untersuchungen haben gezeigt, dass männliche *Agelenopsis aperta* auf ein flüchtiges von den Weibchen emittiertes chemisches Signal reagieren [92]. Dieses Signal lockt die Männchen über eine Distanz hinweg an und löst ein spezifisches Balzverhalten aus. In Biotests konnte gezeigt werden, dass die Abgabe des Pheromons von dem Reproduktionsstatus des Weibchens abhängt. Während Männchen auf subadulte Weibchen und auf Weibchen direkt nach der Reifehäutung nicht reagieren, löst der Duft von Weibchen, deren Reifehäutung mehr als zwei Wochen zurückliegt, das Balzverhalten aus. Diese Weibchen werden im folgenden als aktive, adulte Weibchen bezeichnet. Bereits begattete Weibchen wirken nicht mehr attraktiv auf die Männchen. Dies konnte in einem Labortest mit einem „Drei-Kammer-Wahl-System“ nachgewiesen werden<sup>1</sup>. Hierzu wurden drei Weibchen verschiedener Reifestadien jeweils in eine der drei äußeren Kammern und ein Männchen in die mittlere Kammer gesetzt. In statistisch signifikanter Anzahl wandern die Männchen besonders häufig in die Kammern mit aktiven, adulten Weibchen und beginnen dort mit dem Balzverhalten. Da die visuellen Möglichkeiten von *Agelenopsis aperta* auf einige Zentimeter beschränkt sind, scheint es unwahrscheinlich, dass visuelle Reize für das Aufsuchen der Weibchen genutzt werden. Alle diese Beobachtungen deuten stark auf das Vorhandensein eines chemischen Signals zur Anlockung von potentiellen Kopulationspartnern hin.

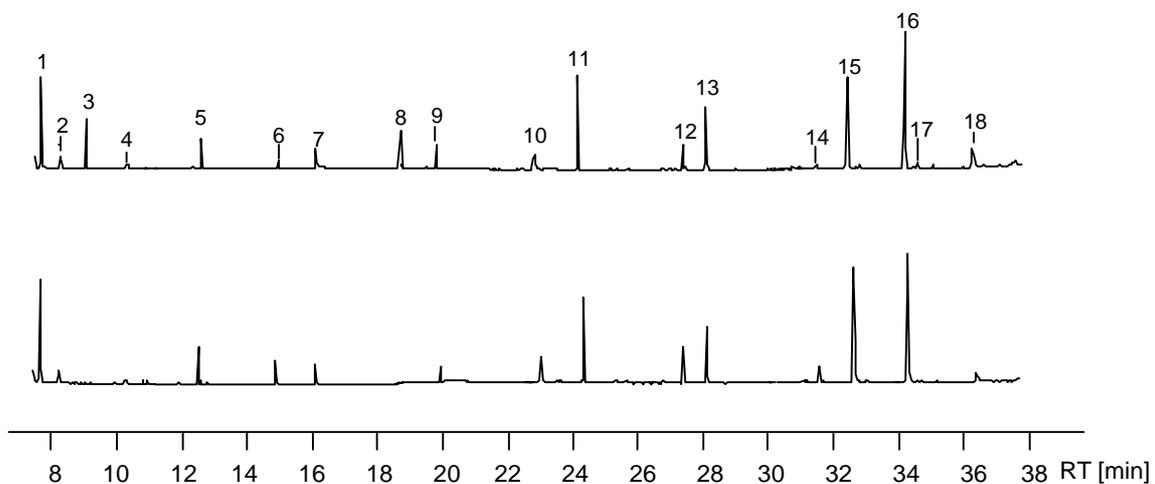
#### 3.1. *Head space*-Extrakte von *Agelenopsis aperta*

Zur Untersuchung dieses Signals wurden mit dem closed loop-Verfahren Extrakte der flüchtigen Verbindungen (im folgenden *head space*-Extrakte genannt) der Weibchen in verschiede-

---

<sup>1</sup> Der Versuchsaufbau besteht aus drei runden Plastikkammern mit einem Durchmesser von 15 cm, die jeweils mit 3 cm langen Plastikröhren mit einer mittleren Kammer der gleichen Größe verbunden sind.

nen Reifestadien gesammelt. Diese Methode ist besonders für die Untersuchung von leichtflüchtigen Substanzen geeignet [93]. Hierzu wird das zu untersuchende Objekt, also in diesem Fall die Spinne, zunächst durch ein Glasgefäß von der Umgebung isoliert. Dann wird durch eine Pumpe Luft erst über das Objekt und anschließend durch einen Aktivkohlefilter gezogen. Die flüchtigen Inhaltsstoffe des Materials werden an der Aktivkohle adsorbiert und können durch eine anschließende Elution des Filters mit einem organischen Lösungsmittel, meistens Schwefelkohlenstoff, gesammelt werden. Diese *head space*-Extrakte wurden mittels GC-MS untersucht. Zur Auftrennung des Gemisches der leichtflüchtigen Komponenten erwiesen sich unpolare Trennphasen als besonders geeignet.



**Abb. 3. 1.** *Head space* Extrakte ( $\text{CS}_2$ ) von adulten, aktiven (oben) und subadulten *Agelenopsis aperta* Weibchen (unten). GC-MS-Totalionenstromchromatogramm (Säule: 60 m DB5 fused silica-Kapillare; Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min isotherm, anschließend mit 5 °C / min auf 300 °C, *on column*-Injektor).

Die Abbildung **3. 1** zeigt Ausschnitte aus Gaschromatogrammen zweier *head space*-Extrakte; eines aktiven, adulten *Agelenopsis aperta* Weibchens (oben) und eines juvenilen *Agelenopsis aperta* Weibchens (unten). Insgesamt konnten 18 flüchtige Komponenten identifiziert werden, die allesamt in sehr geringen Konzentrationen vorlagen. Die Hauptkomponenten sind Kohlenwasserstoffe mit einer Kettenlänge zwischen  $\text{C}_{10}$  und  $\text{C}_{19}$ . Daneben finden sich auch Spuren einiger ungesättigter Verbindungen sowie oxygenierte Produkte, z. B. verschiedene Aldehyde.

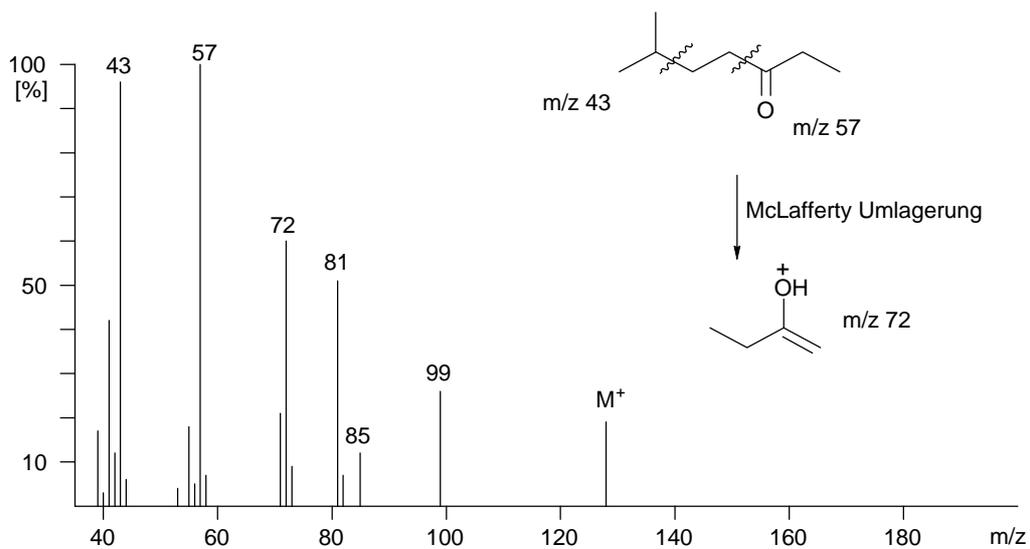
**Tabelle 3.1.** In *head space*-Extrakten von aktiven, adulten *Agelenopsis aperta* Weibchen identifizierte Substanzen. Die Verbindungen sind unterteilt in Hauptkomponenten (H: > 5 %), Nebenkompnenten (N: > 0.5 %), und Spurenkomponenten (S: < 0.5 % der Gesamtfläche im Totalionenstromchromatogramm). Zur besseren Unterscheidung von den übrigen im Text erwähnten numerierten Verbindungen ist den *head space*-Extraktkomponenten ein „**HS**“ vorangestellt.

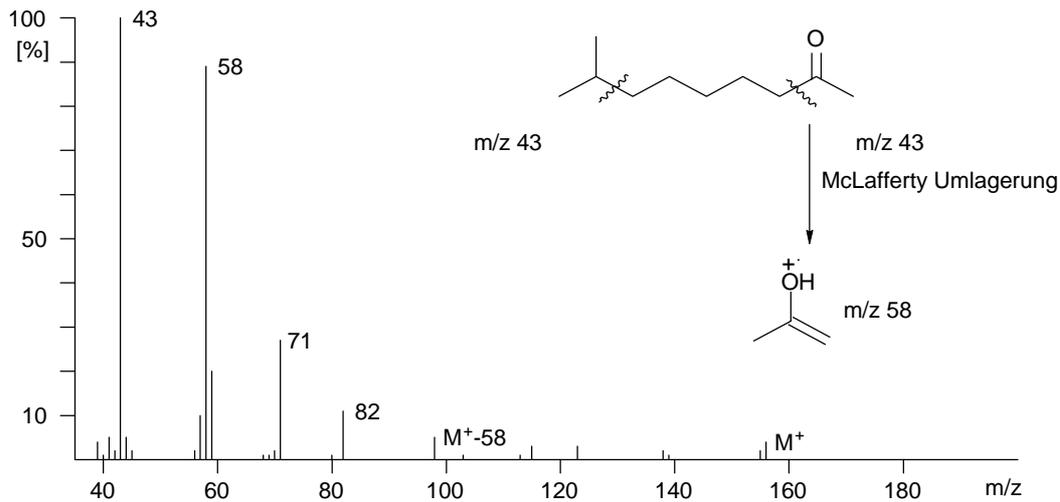
<b>HS1</b>	p-Xylol	H
<b>HS2</b>	Methylcyclohexan	S
<b>HS3</b>	6-Methyl-3-heptanon ( <b>33</b> )	N
<b>HS4</b>	Heptanal	S
<b>HS5</b>	Butoxyethoxyethanol (Artefakt)	N
<b>HS6</b>	Decan	N
<b>HS7</b>	Octanal	N
<b>HS8</b>	8-Methyl-2-nonanon ( <b>34</b> )	N
<b>HS9</b>	Undecan	N
<b>HS10</b>	Nonanal	N
<b>HS11</b>	Tridecan	H
<b>HS12</b>	Undecanal	N
<b>HS13</b>	Pentadecan	H
<b>HS14</b>	3-Hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl-2-methylpropanoat	N
<b>HS15</b>	Heptadecan	H
<b>HS16</b>	Dimethylphthalat (Artefakt)	H
<b>HS17</b>	Octadecan	S
<b>HS18</b>	Nonadecan	N

Zwei Verbindungen (**HS3** und **HS8**) traten nur in Proben der aktiven, adulten Weibchen auf. Die Massenspektren der beiden zunächst unbekanntes Verbindungen sind in Abb. 3. 2. dargestellt. Neben dem Molekülpeak bei  $m/z = 128$  treten im EI-Massenspektrum von Verbindung **HS3** intensive Fragmentationen  $m/z = 43$ ,  $m/z = 57$  und  $m/z = 72$  auf. Die unbekanntes Verbindung reagierte weder mit Diazomethan noch mit MSTFA. Eine Alkohol- oder Säurefunktion konnte also ausgeschlossen werden. Das gemeinsame intensive Auftreten der Fragmentationen  $m/z = 57$  und  $m/z = 72$  kann ein Hinweis auf ein Ethylketon sein. Die Umlagerung eines  $\gamma$ -

Wasserstoffatoms mit anschließender  $\beta$ -Spaltung (McLafferty-Umlagerung) führt zu einem Enol-Ion ( $m/z = 72$ ) und dem komplementären Alken-Ion ( $m/z = 56$ ), welches im Spektrum mit geringerer Intensität auftritt [94, 95]. Durch  $\alpha$ -Spaltung kann das Acylium-Ionen-Paar  $m/z = 57$  und  $m/z = 71$  entstehen, wobei beide Fragmentionen natürlich auch den  $C_nH_{2n+1}^+$  Ionen ( $n = 4$  oder  $5$ ) entsprechen können. Auch das Alkyl-Ion der alternativen  $\alpha$ -Abspaltung  $M^+-29$  ( $m/z = 99$ ) ist als intensiver Peak in dem unbekanntem Spektrum zu sehen. Ein gaschromatographischer Vergleich der Retentionszeiten der unbekanntem Verbindung mit 3-Octanon zeigte, dass Verbindung **HS3** früher eluiert. Anhand dieser Daten wurde für die Verbindung eine Verzweigung angenommen und ausgehend von der Intensität des Fragmentions  $m/z = 43$  ( $\alpha$ -Spaltung) 6-Methyl-3-heptanon als Struktur vorgeschlagen.

Die später eluierende Verbindung (**HS8**) zeigt zwei wichtige Fragmentionen bei  $m/z = 43$  und  $m/z = 58$  und einen Molekülpeak bei  $m/z = 156$ . Das Fragmention  $m/z = 58$  ist sehr charakteristisch für Methylketone, hierbei handelt es sich um das Enol-Ion der McLafferty-Umlagerung ( $C_3H_6O^+$ ). Das Massenspektrum ist ähnlich dem von 2-Decanon, beide Verbindungen haben die Masse 156, allerdings hat Verbindung **HS8** eine kürzere Retentionszeit als das geradkettige Methylketon. Auch diese Verbindung ließ sich nicht mit Methylierungs- oder Silylierungsreagenzien derivatisieren. Dementsprechend wurde für die unbekanntem Komponente angenommen, dass es sich um 8-Methyl-2-nonanon handelt. Der Verzweigungspunkt wurde wiederum aufgrund des intensiven Fragmentions  $m/z = 43$  vorgeschlagen. Zur Verifizierung der Strukturvorschläge wurden beide Verbindungen synthetisiert.

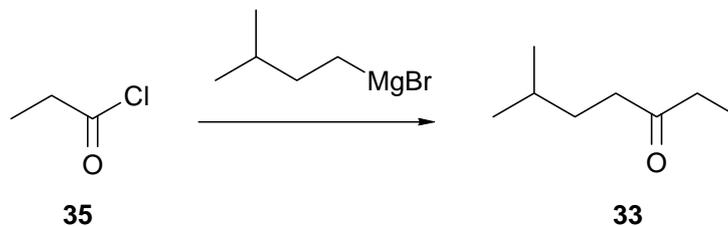




**Abb. 3. 2.** EI-Massenspektren der *head space*-Extraktkomponenten **HS3** und **HS8**<sup>2</sup>.

### 3.2. Synthese der Ketone aus *Agelenopsis aperta*

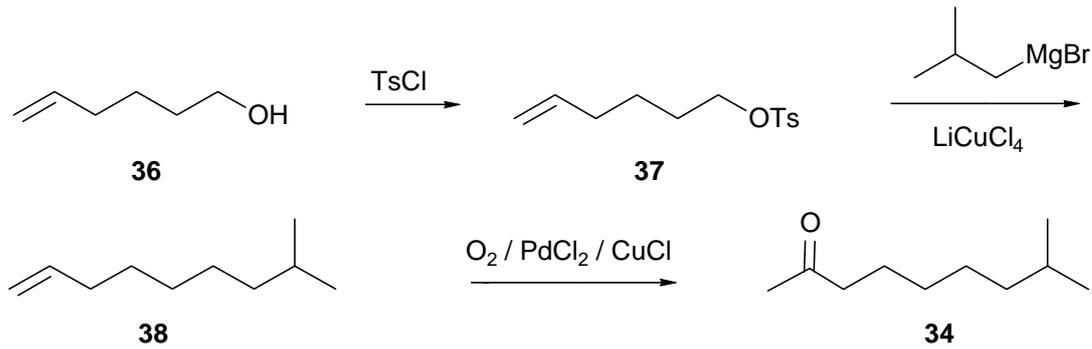
Das Ethylketon **33** lässt sich leicht in einer Grignard Reaktion mit dem aus 1-Brom-3-methylbutan hergestellten Grignardreagenz und Propionylchlorid (**35**) darstellen [96]. Essentiell für die Acylierung von Grignard-Verbindungen mit Säurechloriden ist die Verwendung von THF als Lösungsmittel und Reaktionsführung bei tiefen Temperaturen.



**Abb. 3. 3.** Darstellung von 6-Methyl-3-heptanon (**33**).

Zur Darstellung von 8-Methyl-2-nonanon (**34**) wird 5-Hexen-1-ol (**36**) tosyliert und das entstandene 5-Hexenyl-p-toluolsulfonat (**37**) mit einem Grignardreagenz aus 1-Brom-2-methylpropan und Magnesium unter Kupferkatalyse zu der Verbindung **38** umgesetzt [97]. Die Doppelbindung wird anschließend in einer Wacker-Oxidation mit Palladium(II)chlorid, Kupfer(I)chlorid und Sauerstoff in DMF oxidiert [98, 99, 100].

<sup>2</sup> Die hier und auch im folgenden angegebenen Zerfallsschemata sind nicht bewiesen, sondern lediglich als Verdeutlichung möglicher Zerfallswege zu sehen.

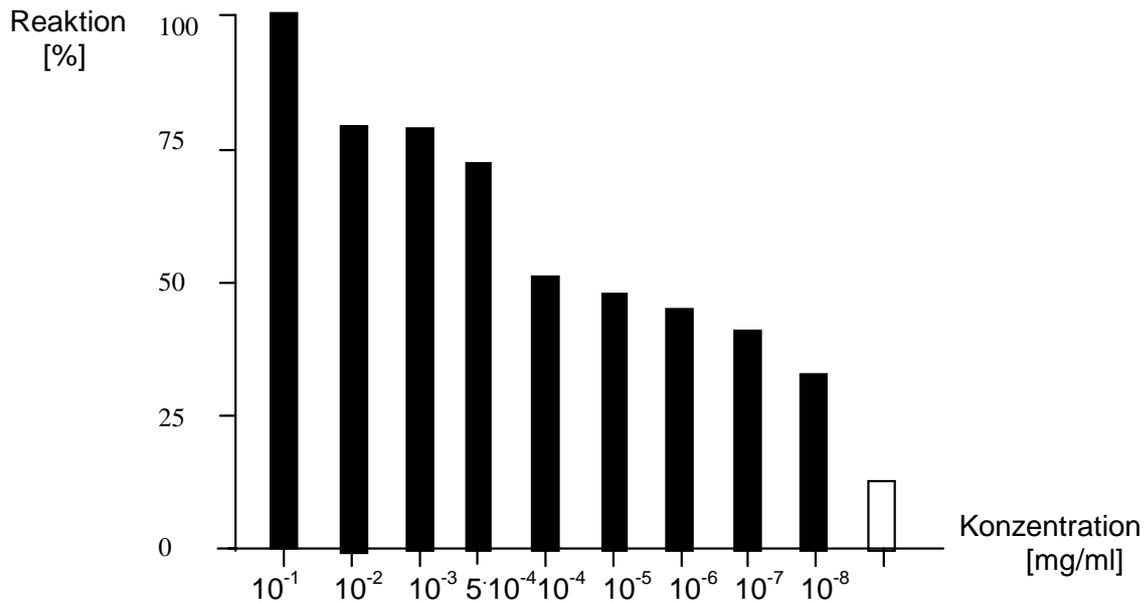


**Abb. 3. 4.** Darstellung von 8-Methyl-2-nonanon (**34**).

Beide Strukturvorschläge für die süßlich riechenden Verbindungen **HS3** und **HS8** konnten durch den Vergleich der Massenspektren und der gaschromatographischen Retentionszeiten von natürlichem und synthetischem Material an unterschiedlichen unpolaren Trennphasen bestätigt werden.

### 3.3. Diskussion

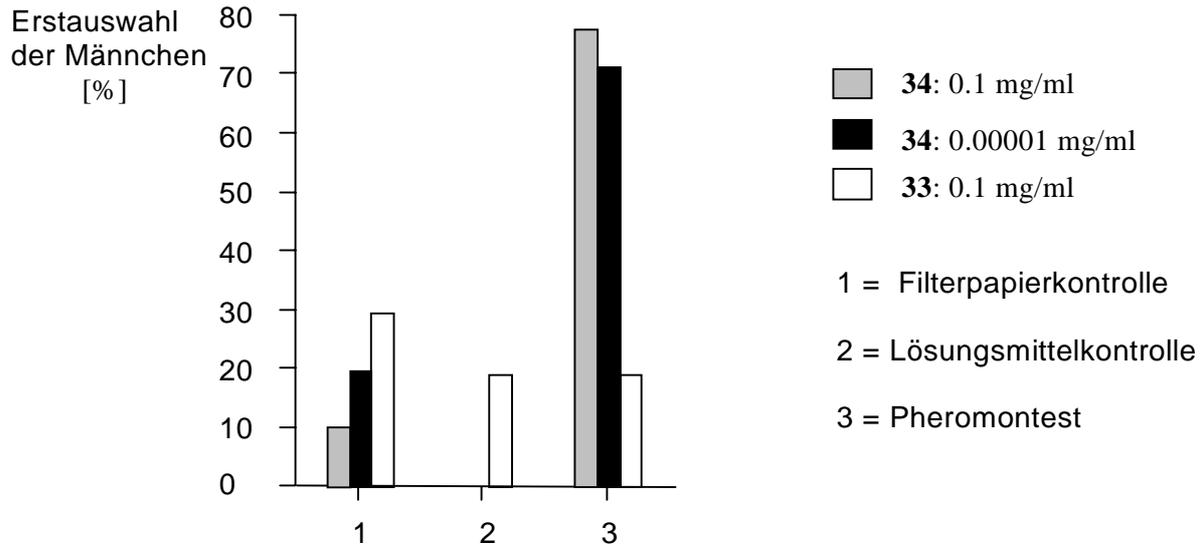
Die beiden synthetisierten Verbindungen wurden im Labor von Prof. Dr. Riechert auf eine mögliche biologische Aktivität getestet [101]. Hierzu wurden Männchen von *Agelenopsis aperta* auf kurz vorher produzierte Netze von juvenilen Weibchen gesetzt. In die Mitte der Netze befanden sich Filterpapiere, die entweder mit einer bestimmten Konzentration des synthetischen Materials behandelt worden waren oder als Kontrolle mit dem reinen Lösungsmittel Pentan. Es wurden zwischen 6 und 10 Männchen für die verschiedenen Testreihen benutzt, wobei jedes Männchen über einen Zeitraum von zwei Stunden beobachtet und spezifische Balzreaktionen wie Pedipalpentrommeln oder Abdomenwippen aufgezeichnet wurden. Die Versuche zeigten, dass die Männchen auf 6-Methyl-3-heptanon (**33**) nicht mit einem spezifischen Verhalten reagieren. Ob diese Verbindung eine andere Funktion hat, ist bisher noch ungeklärt. Im Gegensatz dazu zeigt die andere Komponente **34** eine deutliche biologische Aktivität. Die Biotests demonstrieren, dass 8-Methyl-2-nonanon (**34**) auch in Abwesenheit der Weibchen in der Lage ist, das Balzverhalten bei den Männchen auszulösen. Der Test wurde mit vier unterschiedlich konzentrierten Testlösungen durchgeführt. Keines der Männchen zeigte eine spezifische Reaktion im Kontrolltest. Auf 8-Methyl-2-nonanon (**34**) hingegen reagierten alle Männchen mit dem Balzverhalten, wobei die Reaktion mit geringerer Konzentration abnahm.



**Abb. 3. 5.** Ergebnisse der Biotests zur Untersuchung des Zusammenhangs zwischen der Konzentration und der Reaktion von Männchen auf 8-Methyl-2-nonanon (**34**). Der weiße Balken beschreibt den Kontrolltest mit reinem Lösungsmittel (Dichlormethan).

Der Unterschied in der Reaktion auf die Kontrollprobe (Pentan) und 8-Methyl-2-nonanon (**34**) ist statistisch signifikant ( $X^2 = 12$ ,  $P < 0.001$ ). Das Balzverhalten der Männchen wird bereits vor dem Kontakt mit dem Filterpapier ausgelöst. Offensichtlich wirkt die Verbindung **34** olfaktorisch.

Ein weiterer Biotest zur Untersuchung der Attraktivität der Verbindung **34** auch ohne direkten Kontakt der Männchen mit der Substanz wurde in dem bereits beschriebenen „Drei-Kammer-Wahl-System“ gemacht. In diesem Versuchsaufbau ist eine der Kammern leer, während sich in den anderen beiden ein Filterpapierstück befindet, das entweder mit 2 Tropfen reinem Pentan als Kontrolle oder mit einer Pheromonlösung behandelt ist. Zusätzlich wurde die aktive Verbindung **34** in zwei unterschiedlichen Konzentrationen getestet (0.1 mg / ml oder 0.0001 mg / ml), während 6-Methyl-3-heptanon (**33**) nur in einer Konzentration (0.1 mg / ml) untersucht wurde. Die Männchen wurden in die mittlere Kammer gesetzt und zwei Stunden beobachtet. In jeder Testserie wurden mindestens 10 Männchen getestet.



**Abb. 3. 6.** Ergebnisse des Biotests mit **33** und **34** im Drei-Kammer-Wahl-System.

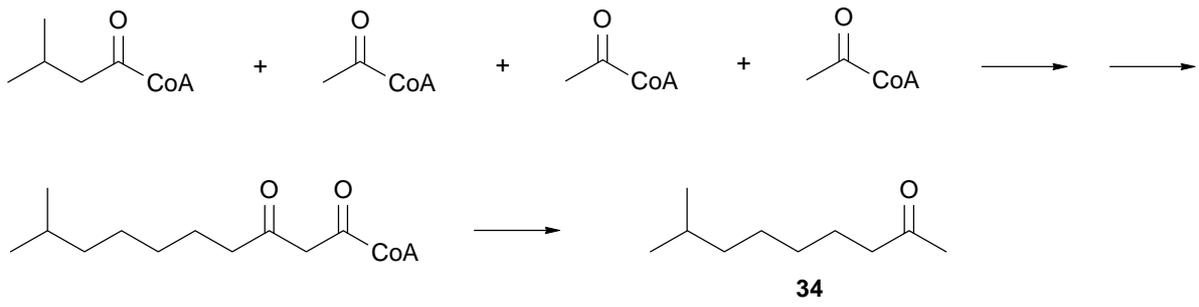
Auch bei diesem Versuchsaufbau zeigt sich eine statistisch signifikante Reaktion auf das synthetische Material **34** ( $X^2 = 13.5$ ,  $P < 0.001$ ). Offensichtlich handelt es sich bei 8-Methyl-2-nonanon (**34**) um ein Sexualpheromon der Weibchen von *Agelenopsis aperta*, welches bereits in einer geringen Dosis Männchen dieser Art anlockt und die spezifischen Balzsignale auslöst. Im Gegensatz zu den vielen bekannten leichtflüchtigen Signalstoffen von Insekten ist dies das erste volatile Pheromon von Spinnen, das sich nicht wie z. B. die (3*R*)-3-Hydroxybuttersäure (**12**) und das Kondensationsprodukt (3*R*, 3'*R*)-3-(3-Hydroxybutyryloxy)buttersäure (**13**) auf der Seide befindet, sondern direkt von den Weibchen emittiert wird. Da dieser chemische Signalstoff nur von unbegatteten Weibchen zwei Wochen nach der Reifehäutung abgegeben wird<sup>3</sup>, nicht aber von juvenilen oder bereits begatteten oder von Weibchen direkt nach der letzten Häutung, ermöglicht **34** den Männchen den Reproduktionsstatus der Weibchen zu erkennen. Dieses System hat für die Männchen den Vorteil, dass sie die Netze der Weibchen nicht in Zeiten aufsuchen, in denen diese potentielle Nahrungskonkurrenten oder Freßfeinde sind. Auch für das Weibchen bietet diese Strategie Vorteile [102]. In der wüstenähnlichen Umgebung mit einem geringen Nahrungsangebot verlieren die Weibchen während der Häutungsperioden stark an Gewicht. Frisch gehäutete Weibchen haben nicht genügend Biomasse, um einen Eikokon zu produzieren, und das Überleben der Nachkommen ist somit stark gefährdet [103]. Die Nachkommenschaft älterer adulter Weibchen hat eine viel

<sup>3</sup> Vgl. 3.

größere Überlebenschance. Für Männchen und Weibchen dieser Art bedeutet also die Fortpflanzung zu diesem Zeitpunkt eine Optimierung der reproduktiven Fitness. Die abnehmende Attraktivität der bereits begatteten Weibchen läßt sich auch mit einer Fitnessabnahme für die Männchen erklären, ein Phänomen, das auch bei den meisten anderen Spinnenarten beobachtet werden kann. Die ersten Spermazellen, die auf die weibliche Receptacula übertragen werden, sind auch die ersten, die während der Eiablage die Eizellen befruchten (*First-male sperm priority*). Da aber ein Spinnenmännchen mehr als genug Spermien abgibt, um alle Eizellen zu befruchten, führt eine zweite Übertragung von Spermien nicht zu einer weiteren Befruchtung und damit nicht zur Erhöhung der Fitness [104].

Zusätzlich zu den *head space*-Extrakten wurden von *Agelenopsis aperta* Abdominal- und Seidenextrakte untersucht. Für die Abdominalextrakte wurden die Abdomen der Weibchen mit einem kleinen Filterpapier abgetupft, welches dann mit Pentan oder Dichlormethan extrahiert wurde. Beide Extrakte wurden mittels GC-MS untersucht. Das Methylketon (**34**) konnte auch in den Abdomenabwaschungen in geringen Mengen wiedergefunden werden, während das Ethylketon (**33**) nicht nachgewiesen werden konnte. Möglicherweise deutet dies darauf hin, dass **33** eine Kontamination ist, z. B. aus den Pumpen, die zur Herstellung der *head space*-Extrakte benötigt wurden. Andererseits könnte das Fehlen dieser Verbindung auch in der Schwierigkeit liegen bei Abdominalabwaschungen flüchtige Spurenkomponenten zu erfassen. In den Seidenproben konnte keine der Verbindungen bestimmt werden. Dies ist ein Hinweis darauf, dass das Pheromon nicht mit der Seide, sondern stattdessen direkt von dem Weibchen abgegeben wird. Wo eine solche pheromonproduzierende Drüse lokalisiert sein könnte, ist allerdings bislang noch unbekannt.

8-Methyl-2-nonanon (**34**) ist bereits in dem etherischem Öl von *Ruta angustifolia* und in Hopfen identifiziert worden [105, 106]. Interessanterweise hat es von 124 getesteten synthetischen Verbindungen die stärkste anlockende Wirkung auf die Mücke *Culex pipiens* [107]. Ob auch die Spinnen diese Verbindung zur Anlockung von Beute nutzen, ist bisher unbekannt. Da Spinnen carnivor leben ist es unwahrscheinlich, dass sie diesen typischen Pflanzeninhaltsstoff durch die Beute aufnehmen. Wahrscheinlicher erscheint eine *de novo* Biosynthese ausgehend von 3-Methylbutyrat, welches aus Leucin durch Transaminierung und Decarboxylierung entsteht. Durch Kettenverlängerung mit Acetateinheiten entsteht 9-Methyl-3-oxodecanoat aus dem sich durch Verlust der terminalen Carboxylgruppe 8-Methyl-2-nonanon (**34**) bildet.



**Abb. 3. 7.** Möglicher Biosyntheseweg von 8-Methyl-2-nonanon (**34**).

## **4. Untersuchungen der Seide der Kreuzspinne *Araneus diadematus* (Araneidae)**

Die Araneiden sind eine der erfolgreichsten Spinnenfamilien; so kennt man bisher 2600 verschiedene Arten. Die Gartenkreuzspinne *Araneus diadematus* ist die bekannteste einheimische Spinne, deren auffälliges Merkmal das weiße Kreuzmuster auf dem Abdomen ist. Diese Maserung beruht auf Guaninzellen (Guanocyten), die durch die transparente Cuticula schimmern [108]. Die Netze von *Araneus diadematus* und anderen Radnetzspinnen sind sicherlich die eindrucksvollste Form von Spinnennetzen überhaupt. Im wesentlichen bestehen die Netze aus den Rahmen und Speichenfäden, die in der Nabe zusammenlaufen, und der klebrigen, sehr elastischen Fangspirale. Die Spinne sitzt entweder im Netzzentrum oder in einem Schlupfwinkel außerhalb des Netzes. Gerät ein Beutetier ins Netz, bleibt es an den klebrigen Fäden der Fangspirale hängen. Hat die Spinne das Tier im Netz lokalisiert, eilt sie hin und immobilisiert es. Zur Immobilisierung werden unterschiedliche Strategien angewendet. Je nach Größe und Wehrhaftigkeit der Beute wird diese entweder erst gebissen oder erst eingesponnen, bevor sie zur Nabe abtransportiert wird.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die chemischen Stoffe, die sich auf der Seide befinden, in Zusammenarbeit mit Dr. S. Toft von der Universität Århus (Dänemark), untersucht. Bei den Analysen bestand ein besonderes Interesse an chemischen Stoffen, die möglicherweise eine Rolle für die Regulierung des Wasserhaushaltes der Seide und damit für die Elastizität der Netze spielen. Zusätzlich ist auch bei dieser Spezies bekannt, dass die Männchen adulte Weibchen an der Seide erkennen. Diese Erkenntnis konnte aus Feldbeobachtungen gewonnen werden. Bisher ist allerdings kein Laborbiotest dazu entwickelt worden. Ein weiterer Aspekt dieser Untersuchung war also auch die Identifikation eines potentiellen Sexuallockstoffes der Weibchen von *Araneus diadematus*.

### **4.1. GC-MS-Analysen von Seidenextrakten von *Araneus diadematus***

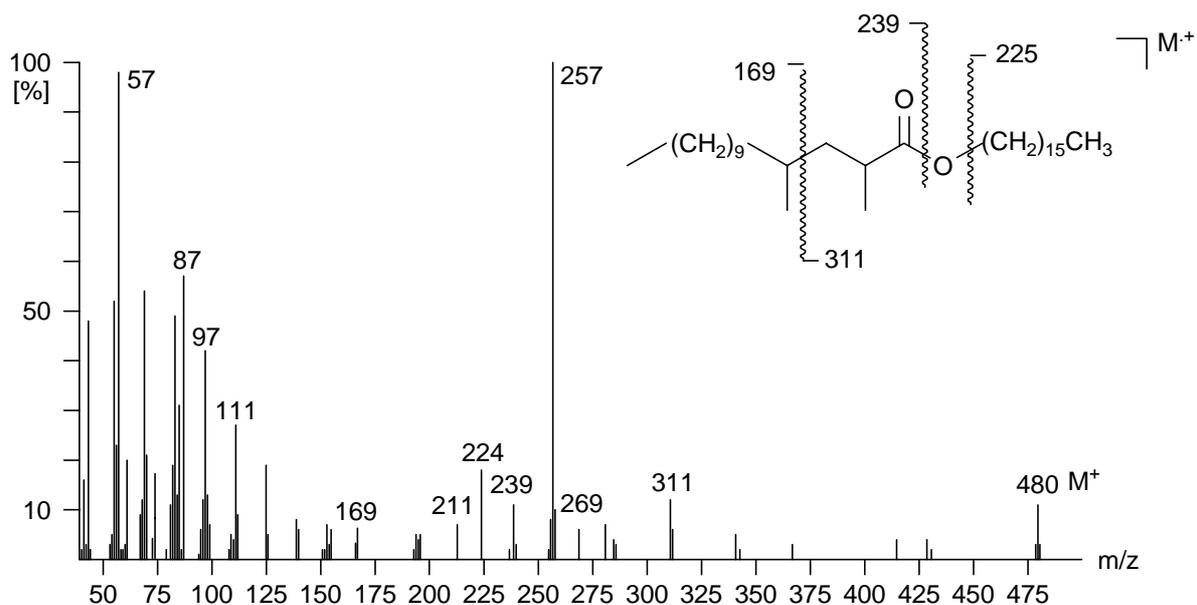
Für die GC-MS-Analysen wurden Dichlormethanextrakte der Seide von adulten und subadulten Weibchen hergestellt und auf unpolaren Trennphasen untersucht. Zusätzlich wurden die Extrakte mit Diazomethan derivatisiert, um Carbonsäuren in für die Gaschromatographie besser geeignete Methylester zu überführen.

**Tabelle 4.1.** In mit Diazomethan derivatisierten Seidenextrakten von adulten Weibchen identifizierte Verbindungen<sup>1</sup>. Die Verbindungen sind unterteilt in Hauptkomponenten (H: > 5 %), Nebenkomponenten (N: > 0.5 %), und Spurenkomponenten (S: < 0.5 % der Gesamtfläche im Totalionenstromchromatogramm).

<b>S1</b>	2-Pyrrolidon ( <b>40</b> )	H
<b>S2</b>	Octansäure	N
<b>S3</b>	Decanal	S
<b>S4</b>	<i>N, N</i> -Dimethylaminoethylhexanoat	N
<b>S5</b>	Nonansäure	S
<b>S6</b>	<i>N, N</i> -Dimethylaminoethylheptanoat	N
<b>S7</b>	<i>N, N</i> -Dimethylaminoethyloctenoat	S
<b>S8</b>	<i>N, N</i> -Dimethylaminoethyloctanoat ( <b>41</b> )	H
<b>S9</b>	Undecansäure	N
<b>S10</b>	<i>N, N</i> -Dimethylaminoethylnonanoat	S
<b>S11</b>	Dodecansäure	N
<b>S12</b>	Tridecansäure	N
<b>S13</b>	Tetradecansäure	N
<b>S14</b>	Nonadecan	S
<b>S15</b>	Eicosan	S
<b>S16</b>	Heneicosan	N
<b>S17</b>	Docosan	N
<b>S18</b>	Tricosan	H
<b>S19</b>	Tetracosan	N
<b>S20</b>	2-Methyltetracosan	N
<b>S21</b>	Pentacosan	H
<b>S22</b>	Hexacosan	N
<b>S23</b>	2-Methylhexacosan	N
<b>S24</b>	Heptacosan	N
<b>S25</b>	Hexadecyl-2,4-dimethyltetradecanoat ( <b>39</b> )	S

<sup>1</sup> In der Tabelle sind die nicht derivatisierten Verbindungen angegeben.

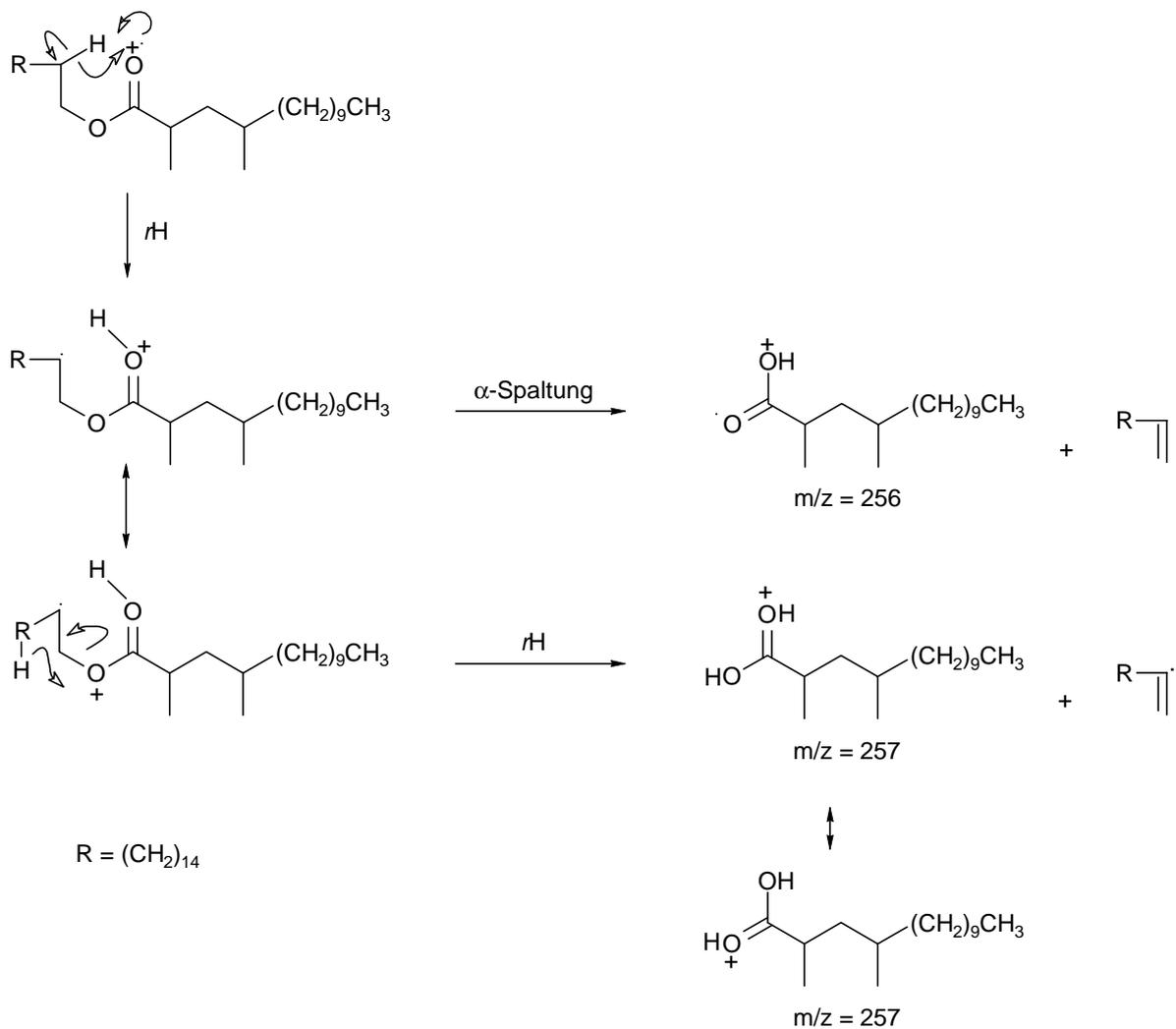
In beiden Probenarten finden sich im schwerflüchtigen Bereich die typischen Seidenlipide; so stellen unverzweigte und monomethylverzweigte Alkane die Hauptkomponenten dar. Weitere Hauptkomponenten sind Carbonsäuren mit Kettenlängen von C<sub>8</sub>-C<sub>14</sub>. Eine weitere spät-eluierende Komponente ist **S25**. Für diese Verbindung wurde anhand des Massenspektrums Hexadecyl-2,4-dimethyltetradecanoat (**39**) als Struktur vorgeschlagen. Ein ähnlicher Wachs-ester ist bereits aus der Lipidschicht des Fangnetzes der Zitterspinne *Pholcus phalangoides* bekannt<sup>2</sup>.



**Abb. 4. 1.** EI-Massenspektrum der Seidenextraktkomponente **S25 (39)** sowie der Strukturvorschlag und die angenommene Fragmentierung.

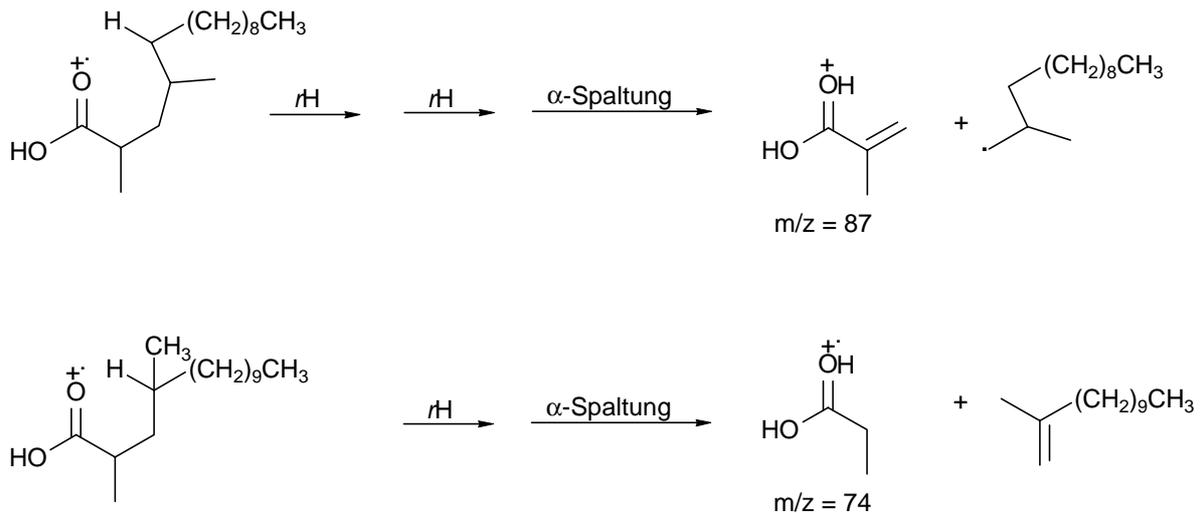
*Base peak* des Massenspektrums ist  $m/z = 257$ . Dieses Fragmentation läßt sich durch *McLafferty +1*-Umlagerung erklären, die sehr charakteristisch für Ester ist. Die Wanderung eines Wasserstoffatoms und die daraus resultierende Verschiebung einer Radikalposition führt, wie in Abbildung 4.2. dargestellt, zur Bildung eines isomeren, distonischen Radikalkations. Durch eine anschließende  $\alpha$ -Spaltung entsteht also das Fragmentation  $m/z = 256$ . In dem gebildeten Radikalkation kann eine zweite Wasserstoffübertragung stattfinden. Eine anschließende  $\alpha$ -Spaltung führt zur Bildung eines resonanzstabilisierten Fragmentions  $m/z = 257$ .

<sup>2</sup> Eicosyl-2,4,6-trimethyldecanoat (**15**), vgl. Kap.1.2.



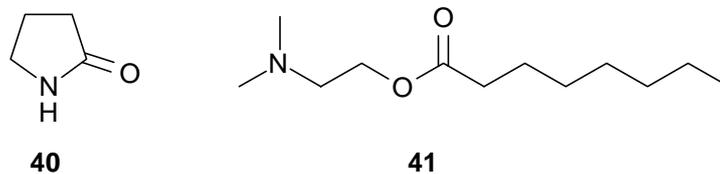
**Abb. 4. 2.** *McLafferty +1*-Umlagerung der postulierten Verbindung **39**.

Einen deutlichen Hinweis auf die Methylverzweigungspunkte geben die Fragmentionenpaare  $m/z = 311$  ( $M^+ - 169$ ) und  $m/z = 169$  sowie  $m/z = 269$  ( $M^+ - 211$ ) und  $m/z = 211$ , die sich durch  $\alpha$ -Spaltung neben den Verzweigungspunkten ergeben. Auch die Fragmentionen  $m/z = 74$  und  $m/z = 87$  deuten auf diese Verzweigungsstellen hin. Diese Fragmentionen entstehen aus dem durch  $\gamma$ -H-Wanderung (*McLafferty*-Umlagerung) und anschließender  $\alpha$ -Spaltung entstandenem Radikalkation (siehe Abbildung **4. 3**). Eine weitere  $\gamma$ -H-Wanderung und anschließende  $\alpha$ -Spaltung liefert das Fragmention  $m/z = 74$ , während das Fragmention  $m/z = 87$  durch die oben beschriebene *McLafferty +1*-Umlagerung zu erklären ist. Das Fragmention  $m/z = 87$  wäre auch bei einem 3-methylverzweigten Ester zu erwarten, aber das Fragmention  $m/z = 74$  läßt sich nur durch eine 2-methylverzweigte Verbindung erklären. Die entsprechenden Ionen der unverzweigten Ester wären dementsprechend  $m/z = 60$  und  $m/z = 73$  [95].



**Abb. 4. 3.** Angenommene Fragmentierung zur Erklärung der Fragmentionen  $m/z = 87$  und  $m/z = 74$  des Strukturvorschlag **39**.

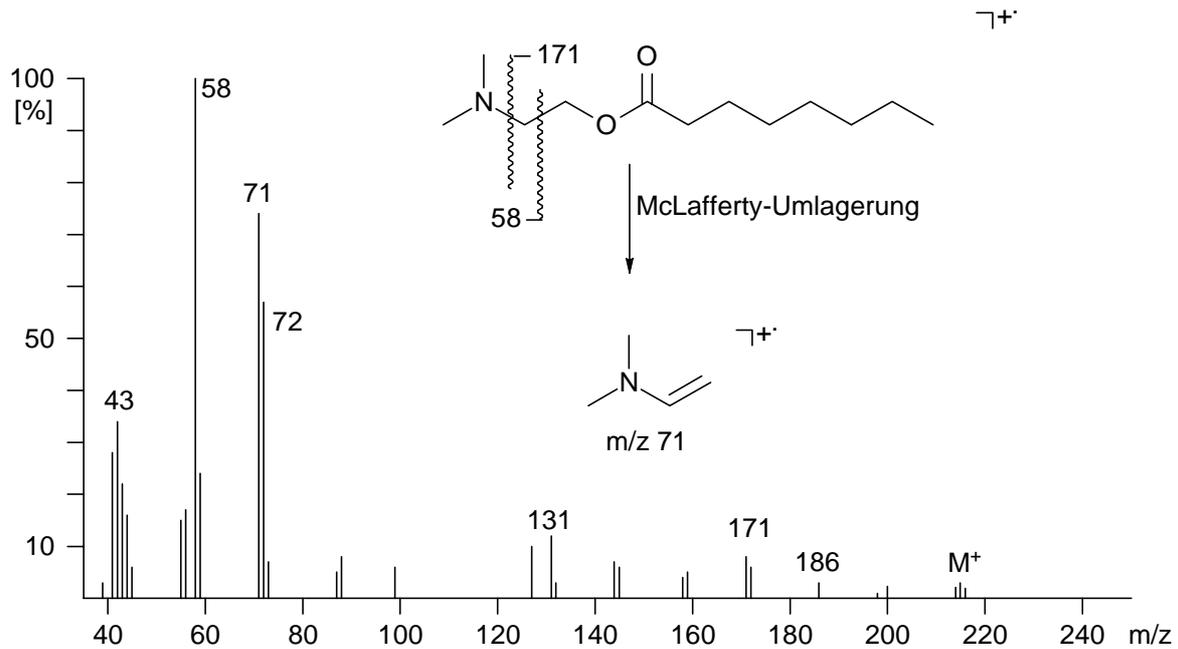
Im leichterflüchtigen Bereich findet sich als eine Hauptkomponente 2-Pyrrolidon (**40**), was in der Literatur bereits beschrieben ist [109, 110]. Eine weitere in sehr hoher Konzentration vorliegende Substanz ist *N, N*-Dimethylaminoethyloctanoat (**41**). Diese Verbindung ist bislang auf Spinnseide nicht identifiziert worden.



**Abb. 4. 4.** 2-Pyrrolidon (**40**) und *N, N*-Dimethylaminoethyloctanoat (**41**).

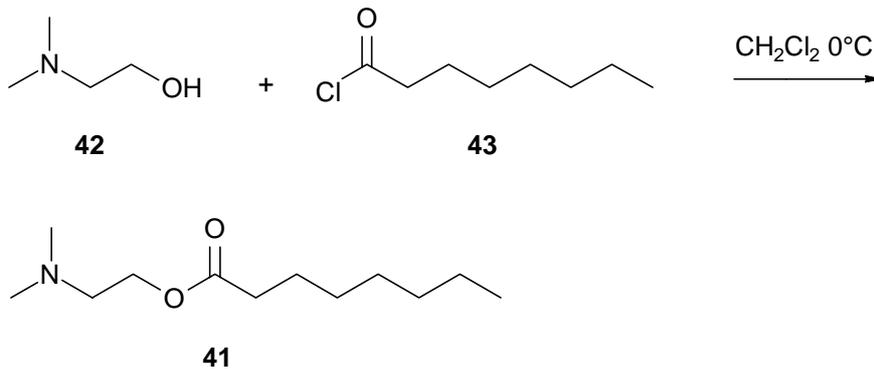
Als Neben- oder Spurenkomponenten konnten auch die entsprechenden *N, N*-Dimethylamino-ethylester der Hexan-, Heptan-, Nonansäure und einer ungesättigten Octansäure<sup>3</sup> identifiziert werden. Die Massenspektren dieser Verbindung zeigen alle einen *base peak* bei  $m/z = 58$  durch die  $\alpha$ -Spaltung im stickstoffhaltigen Teil des Moleküls, wobei wie generell bei Aminen die größte Alkylgruppe bevorzugt abgespalten wird [94]. Auch das Fragmentation  $m/z = 71$ , welches durch die McLafferty-Umlagerung entsteht, dominiert die Massenspektren dieser Verbindungen. Der Molekülionenpeak ist gewöhnlich sehr klein, in manchen Fällen ist auch nur der, durch Abspaltung von  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$  verursachte,  $\text{M}^+ - 44$  Peak zu erkennen.

<sup>3</sup> Die Lage der Doppelbindung ist nicht zu erkennen, da das Massenspektrum nur eine sehr geringe Intensität hat.



**Abb. 4. 5.** EI-Massenspektrum des *N,N*-Dimethylaminoethyloctanoat (**41**) und angenommene Fragmentierung.

Zur Strukturabsicherung wurde der *N,N*-Dimethylaminoethylester (**41**) durch Kondensation von *N,N*-Dimethylaminoethanol (**42**) und Octansäurechlorid (**43**) hergestellt [111]. Synthetisches und natürliches Material zeigten identische gaschromatographische Retentionszeiten und Massenspektren.



**Abb. 4. 6.** Synthese von *N,N*-Dimethylaminoethyloctanonat (**41**).

Ein Vergleich der Seidenextrakte von subadulten und adulten Weibchen zeigt, dass als einzige Verbindung Octansäure exklusiv auf der Seide von adulten Weibchen als Nebenkomponente vorkommt, was nahelegt, dass die Verbindung eine besondere Funktion beim Zusammenfinden der Geschlechtspartner haben könnte.

## 4.2. Biotestergebnisse und Diskussion

Zur Untersuchung der möglichen biologischen Funktionen der identifizierten Substanzen wurden Freilandversuche von Dr. S. Toft in der Nähe von Århus in einem Waldgebiet durchgeführt. Dort wurden zwei verschiedene Arten von Fallen in bestimmten Sträuchern aufgehängt, die von *Araneus diadematus* häufig besiedelt sind. Die Fallen waren entweder mit Octansäure oder *N, N*-Dimethylaminoethyloctanoat (**41**) behandelt. *N, N*-Dimethylaminoethyloctanoat (**41**) konnte sowohl in den Extrakten der subadulten als auch in denen der adulten Weibchen identifiziert werden. Da es sich aber um eine in diesem Zusammenhang neuartige Struktur handelt, sollte die Verbindung **41** genauer auf verhaltensmodifizierende Eigenschaften untersucht werden. Zusätzlich wurden leere Fallen zur Kontrolle aufgestellt. In den Octansäurefallen konnten wenige Männchen gefangen werden, allerdings war die Anzahl zu gering, als dass man von einem statistisch signifikanten positiven Ergebnis hätte sprechen können. Mit den anderen Fallen konnten keine Männchen gefangen werden. Offensichtlich hat **41** für die Anlockung keine Bedeutung. Ob Octansäure als Lockstoff eingesetzt wird, kann noch nicht eindeutig beantwortet werden. Das negative Ergebnis könnte auch an den Fallen liegen, die vielleicht die falsche Form hatten. Es erscheint deshalb sinnvoll, weitere Laborbiotests zum Testen der Substanzen im Anschluß an die vorliegende Arbeit durchzuführen.

*N, N*-Dimethylaminoethyloctanoat (**41**) ist bislang nur auf seine pharmakologische Wirkung untersucht worden, wobei ein hypotensiver Effekt<sup>4</sup> festgestellt wurde [111]<sup>5</sup>. Möglich wäre, dass die Spinnen **41** zur Immobilisierung der Beute nutzen. Denkbar ist aber auch, dass **41** auf der Seide eine regulierende Funktion für den Wasserhaushalt hat. Aus wäßrigen Extrakten der Seide von *Araneus diadematus* wurden in neueren Untersuchungen durch <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie verschiedene, teilweise hygroskopische Substanzen wie Cholin (**44**), Betain (**45**) und *N*-Acetyltaurin (**46**) identifiziert [112]. Die Konzentrationen dieser Verbindungen reichen bis zu 2 mol/l. Diese Verbindungen spielen eine entscheidende Rolle für die Feuchtigkeitsregulation der Seide<sup>6</sup>. Möglicherweise hat auch *N, N*-Dimethylaminoethyloctanoat (**41**) eine ähnliche Funktion. Obwohl es sich nicht um ein Salz handelt, weist die Verbindung oder

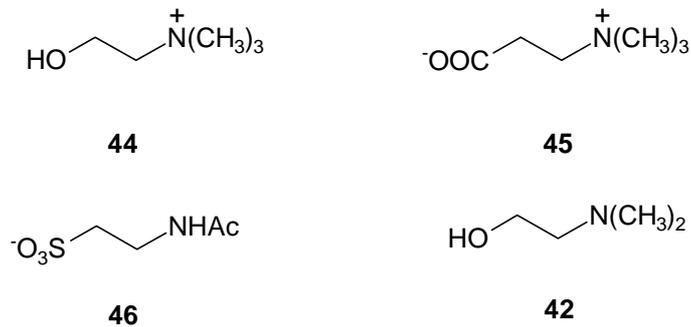
---

<sup>4</sup> Blutdrucksenkender Effekt.

<sup>5</sup> Die Untersuchungen wurden im Zusammenhang mit Forschungsarbeiten zur Behandlung von Alzheimer und Altersdemenz gemacht.

<sup>6</sup> Durch diese nicht zur Kristallisation neigenden Salzlösungen wird die Geschwindigkeit, mit der das Wasser aus einzelnen Tröpfchen der Fangspirale verdunstet, erniedrigt.

zumindest N, N,-Dimethylaminoethanol (**42**), aus dem **41** vermutlich entsteht, doch strukturelle Ähnlichkeiten mit den oben genannten Salzen auf.



**Abb.4. 7.** Niedermolekulare Verbindungen aus Seidenextrakten von *Araneus diadematus*.

In der vorliegenden Arbeit wurden zum Vergleich mit den Seidenextrakten von *A. diadematus* auch Seidenextrakte der tropischen Radnetzspinne *Cyrtophora citricola* untersucht. Die Netze dieser tropischen Art unterscheiden sich insofern von den Netzen der einheimischen Art, dass sie abgesehen von einem andersartigen Aufbau keine klebrige Fangspirale haben. In diesen Extrakten konnten weder Dimethylaminoethylester noch 2-Pyrrolidon (**40**) identifiziert werden. Die Seidenextrakte dieser Art weisen in erster Linie die für die Spinnseide typischen Lipidkohlenwasserstoffe (unverzweigte und monomethylverzweigte langkettige Verbindungen) auf. Andere Verbindungen konnten in den Extrakten nicht identifiziert werden. Möglicherweise sind die Dimethylaminoethylester (z. B. **41**) und 2-Pyrrolidon (**40**) Substanzen, die mit für die Klebrigkeit der Fangspirale verantwortlich sind. Die als vorläufig anzusehenden hier beschriebenen Untersuchungen werden in nächster Zeit durch vergleichende Analysen von Fangspiralextrakten von *Araneus diadematus* mit Extrakten der übrigen, nicht klebrigen Teile des Netzes fortgeführt. Zur Untersuchung der anlockenden Wirkung von Octansäure oder einer anderen Komponente soll ein Laborbiotest entwickelt werden, um zu klären, ob die anlockende Wirkung wirklich von der Seide der adulten Weibchen und nicht von den Weibchen direkt ausgeht.

## 5. Untersuchungen der Sexuallockstoffe der schwarzen Witwe *Latrodectus revivensis* (Theridiidae)

Die schwarze Witwe *Latrodectus revivensis* (Theridiidae) gehört zur sehr artenreichen Familie der Kugelspinnen. Wie die meisten *Latrodectus*-Arten ist auch *Latrodectus revivensis* sehr giftig. Die Weibchen können gefährliche Bisse verursachen, während die Männchen harmlos sind [113]. *Latrodectus revivensis* lebt in trockenen, wüstenähnlichen Habitaten. Weit verbreitet ist sie beispielsweise in der zentralen Negev Wüste im Süden von Israel [114]. Die Weibchen bauen dichte Nester und Fangnetze im niederen Pflanzenwuchs. Als Baumaterial dient nicht nur die Seide, sondern auch Pflanzen und Erdteile aus der Umgebung. Die Fangnetze befinden sich am Rand der Büsche und sind mit den Nestern sowie mit dem Boden oder dem nächsten Busch durch lange Brückenfäden verbunden. Fangnetze und Brückenfäden sind sehr klebrig. Bevor die Spinne ihre Opfer beißt, werden diese erst mit zusätzlichen Klebefäden beworfen und so gefesselt. Tagsüber verstecken sich die Tiere meistens in den Nestern, um sich vor der intensiven Sonneneinstrahlung zu schützen. Das Fangen der Beute geschieht nachts.

Juvenile Männchen bauen ähnliche Nester wie die Weibchen. Nach der Reifehäutung verlassen sie diese und bauen sich kleine Nester in der Nähe der Weibchen [115]. Dadurch erhöhen sie ihre Chancen, als erstes Männchen mit den Weibchen direkt nach der Reifehäutung zu kopulieren<sup>1</sup>. Untersuchungen von Prof. Dr. Yael Lubin (Jacob Blaustein Institut for Desert Research, Sede Boqer Campus, Israel) und ihrer Arbeitsgruppe, mit der das hier beschriebene Projekt durchgeführt wurde, zeigten, dass die Männchen adulte virgine Weibchen an der Seide erkennen [113]. Nach dem Kontakt mit der Seide von adulten Weibchen beginnen sie mit dem Balzverhalten, während die Seide von subadulten Weibchen keine Reaktion auslöst. Bei den Weibchen löst die Seide von anderen Weibchen ein aggressives Verhalten aus, auf die Seide von Männchen reagieren sie dagegen nicht. Die erste Reaktion der Männchen auf die weibliche Seide sind hüpfende Bewegungen, die durch das abwechselnde Zusammenziehen und Ausstrecken der Beine und durch das Auf- und Niederschwingens des Abdomens ausgelöst werden. Wenn sich die Männchen ins Netz der Weibchen begeben, laufen sie besonders Gefahr, als Beute betrachtet zu werden. Diese spezifischen Bewegungsabläufe dienen in erster Linie dazu, sich als „Nicht-Beute“ auszuweisen. Eine weitere häufig gemachte Beobachtung ist das Zerschneiden von Teilen des

---

<sup>1</sup> *First-male sperm priority*, vgl. 3.3.

weiblichen Netzes und anschließender Erneuerung dieser Teile durch eigene Fäden. Ein solches Netzreduktionsverhalten ist bereits von den Linyphiiden bekannt<sup>2</sup>. Der biologische Sinn der Netzreduktion liegt, wie bereits im Abschnitt 1.1. geschildert, wahrscheinlich darin, weibliche Sexualpheromone vom Netz zu entfernen und damit das Locksignal für andere männliche Konkurrenten auszuschalten. Erst im anschließenden Teil der Balz kommt es zu einem direkten Kontakt zwischen Männchen und Weibchen. In etwa einem Drittel der beobachteten Fälle umwickelt das Männchen das Abdomen und das hintere Beinpaar des Weibchens mit Seide, bevor es zur eigentlichen Kopulation kommt. Die Balzdauer ist sehr unterschiedlich, und von der ersten Aktivität nach dem Kontakt mit dem Netz bis zur Kopulation können 2 bis 80 Minuten vergehen. Während dieser Zeit nähert sich das Männchen langsam dem Nest des Weibchens. Die Männchen zeigen diese spezifischen Verhaltensweisen nach dem Kontakt mit Seide auch in Abwesenheit eines Weibchens, was die Vermutung nahelegt, dass sich auf der Seide ein chemisches Erkennungssignal befindet. Neben diesem vermutlich schwerflüchtigen, taktilen Signal scheint das Weibchen aber auch ein flüchtiges Pheromon wenige Tage nach ihrer Reifehäutung zu produzieren. Im Frühjahr 1998 wurde in einem spärlich bewachsenen, steinigem Wadi<sup>3</sup> westlich von Sede Boqer im zentralen Negev eine Feldstudie durchgeführt [116]. Hierzu wurden subadulte Weibchen und adulte virgine Weibchen mit ihren Netzen in nach oben hin offenen Käfigen in Abständen von *ca.* 20 m ins Feld gestellt<sup>4</sup>. Die Reifehäutung der adulten Tiere erfolgte etwa gleichzeitig in einem Zeitraum von zwei Tagen. Nach einer relativ kurzen Zeitperiode von *ca.* 8 Stunden wurden in einigen Käfigen auch Männchen gefunden. Die Männchen waren allerdings nur in den Käfigen von adulten virginen Weibchen, während sie in denen von subadulten Tieren nicht gefunden wurden. Offensichtlich können die Männchen die weiblichen Pheromone nicht nur chemotaktisch am Netz wahrnehmen, sondern auch über größere Entfernungen olfaktorisch. Da die Männchen einen deutlich kleineren Körperbau als die Weibchen haben und die Weibchen ihre Netze sehr weitflächig verteilen, erscheint eine zufällige Suche der Männchen nach einem paarungsbereiten Weibchen im Habitat unwahrscheinlich. Ein flüchtiges, also über größere Entfernungen wirkendes Pheromon würde die Lokalisierung der weiblichen Nester stark vereinfachen.

---

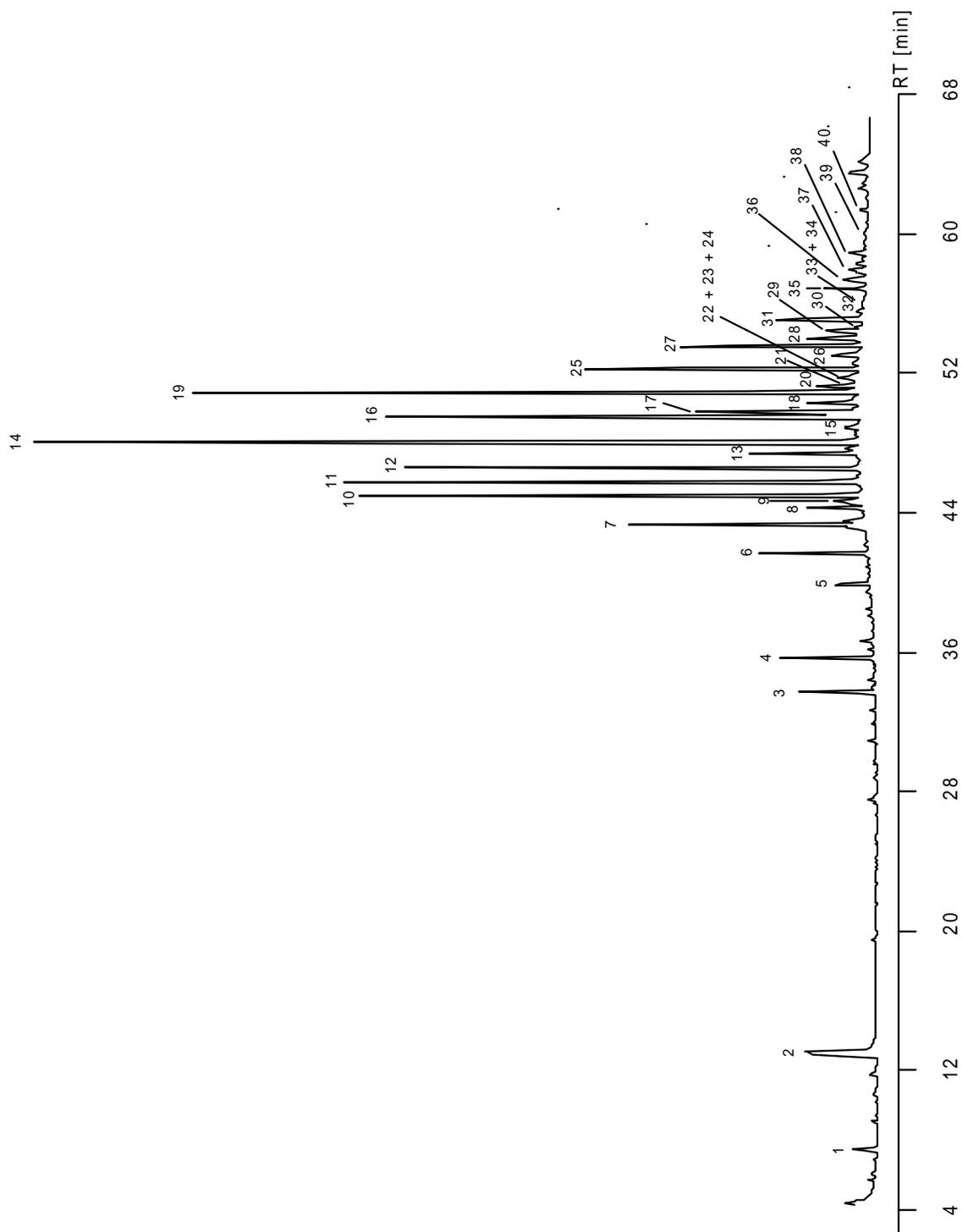
<sup>2</sup> vgl. 1.1.

<sup>3</sup> trockener Flußlauf

<sup>4</sup> Die Käfige waren 33 x 33 x 33 cm lang und der Boden und die Seiten mit feiner Gaze bespannt.

## **5.1. Untersuchungen des Kontaktpheromons auf der Seide von adulten weiblichen *Latrodectus revivensis***

Zur Untersuchung des Kontaktpheromons wurde von Prof. Dr. Y. Lubin ein Biotest entwickelt. Für diesen Test werden Holzstäbchen an der Spitze mit der zu testenden Seide oder mit Watte, auf die Testlösungen aufgebracht sind, umwickelt. Anschließend werden die Männchen auf die Watte gesetzt und ihre Reaktionen beobachtet. Bei dieser Testmethode reagieren die Männchen mit spezifischen Balzreaktionen auf die Seide von adulten Weibchen. Eindeutig positive Signale sind das schnelle abwechselnde Zusammenziehen und Ausstrecken der Beine, das Auf- und Niederschwingen des Abdomens und das Einspinnen des Holzstäbchens oder der Watte oder Seide. Auf diese Weise getestete aktive Seide wurde mit drei verschiedenen Lösungsmitteln unterschiedlicher Polarität, Methanol, Dichlormethan und Pentan, extrahiert. Anschließend wurden die Extrakte auf nicht aktive Seide von juvenilen Weibchen aufgetragen und die so behandelte Seide ein zweites Mal getestet. Hierbei zeigte sich, dass die Dichlormethanextrakte die aktive Komponente bzw. Komponenten enthielten. Die Männchen reagieren auf die mit Dichlormethanextrakten behandelte vormals inaktive Seide mit dem Beginn des Balzverhaltens. Solche Dichlormethanextrakte wurden durch GC-MS Analysen an unpolaren und polaren Trennphasen untersucht und mit Extrakten von inaktiver Seide, also von subadulten Weibchen, verglichen. Die Gaschromatogramme der Seidenextrakte zeigen komplexe Gemische verschiedener, zumeist schwerflüchtiger Verbindungen. Hauptbestandteile sind langkettige Kohlenwasserstoffe und deren monomethylverzweigte Isomere. Daneben konnten mehrere kurzkettige Aldehyde sowie einige ungesättigte Verbindungen identifiziert werden.



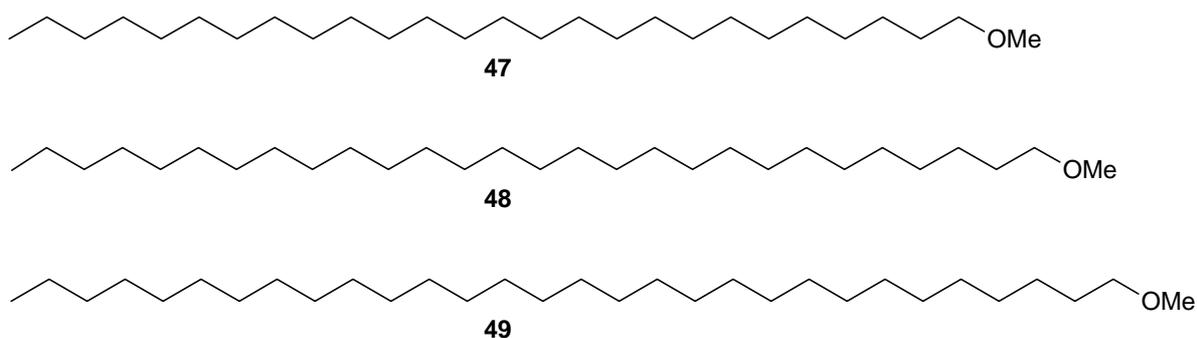
**Abb. 5.1** GC-MS Totalionenstromchromatogramm eines aktiven Dichlormethan-seidenextraktes von *Latrodectus revivensis*. (30 m BPX-5 fused silica-Kapillare; Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min isotherm und anschließend mit 5 °C / min auf 300 °C, on column-Injektion).

**Tabelle 5. 1.** In aktiven Seidenextrakten von adulten *Latrodectus revivensis* Weibchen identifizierte Verbindungen. Die Verbindungen sind unterteilt in Hauptkomponenten (H: > 5 %), Nebenkomponten (N: > 0.5 %), und Spurenkomponenten (S: < 0.5 % der Gesamtfläche im Totalionenstromchromatogramm). Zur besseren Unterscheidung von den übrigen im Text erwähnten numerierten Verbindungen ist den Seidenextraktkomponenten ein „S“ vorangestellt.

<b>S1</b>	$\alpha$ -Pinen	N
<b>S2</b>	2-Pyrrolidon ( <b>41</b> )	N
<b>S3</b>	Octadecan	N
<b>S4</b>	Tetradecansäureisopropylester	N
<b>S5</b>	Heneicosan	N
<b>S6</b>	Docosan	N
<b>S7</b>	Tricosan	H
<b>S8</b>	2-Heneicosanon	N
<b>S9</b>	3-Methyltricosan	N
<b>S10</b>	Tetracosan	H
<b>S11</b>	Pentacosan	H
<b>S12</b>	Hexacosan	H
<b>S13</b>	2-Methylhexacosan	N
<b>S14</b>	Heptacosan	H
<b>S15</b>	11- + 13- + 15-Methylheptacosan	S
<b>S16</b>	3-Methylheptacosan	H
<b>S17</b>	Octacosan	H
<b>S18</b>	1-Methoxyhexacosan ( <b>47</b> )	N
<b>S19</b>	Nonacosan	H
<b>S20</b>	11- + 13- + 15-Methylnonacosan	N
<b>S21</b>	7- + 9-Methylnonacosan	S
<b>S22</b>	11, 15 + 13, 27-Dimethylnonacosan	S
<b>S23</b>	2-Methylnonacosan	S
<b>S24</b>	3-Methylnonacosan	S
<b>S25</b>	Triacontan	H
<b>S26</b>	1-Methoxyoctacosan ( <b>48</b> )	S

<b>S27</b>	Hentriacontan	H
<b>S28</b>	11- + 13- + 15-Methylhentriacontan	N
<b>S29</b>	11,15-Dimethylhentriacontan	N
<b>S30</b>	3-Methylhentriacontan	S
<b>S31</b>	Dotriacontan	N
<b>S32</b>	1-Methoxytriacontan ( <b>49</b> )	S
<b>S33</b>	Tritriacontadien	N
<b>S34</b>	Tritriacontadien	S
<b>S35</b>	Tritriacontan	S
<b>S36</b>	11- + 13-Methyltritriacontan	S
<b>S37</b>	Tetatriacontan	S
<b>S39</b>	Pentatriacontan	S
<b>S40</b>	11, 13-Dimethylpentatriacontan	S

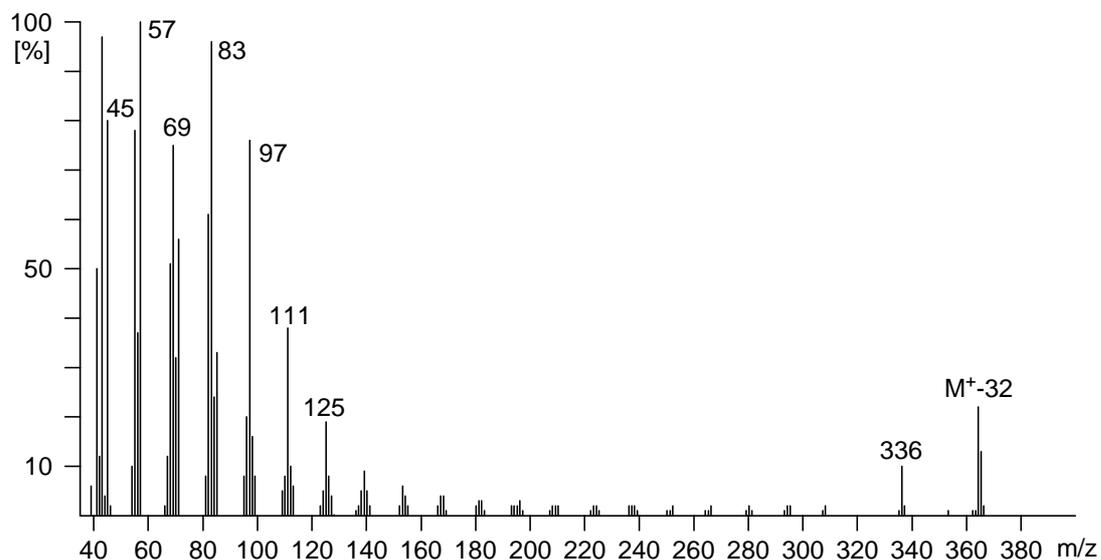
Auffällige Verbindungen sind drei unverzweigte 1-Methoxyalkane mit Kettenlängen von C<sub>26</sub>, C<sub>28</sub> und C<sub>30</sub>, die als Neben- bzw. als Spurenkomponenten in dem Gemisch vorliegen. 1-Methoxyhexacosan (**47**) kommt ausschließlich auf der Seide von adulten Weibchen vor, während die anderen Methylether **48** und **49** auch auf der Seide von subadulten Weibchen identifiziert werden konnten.



**Abb.5. 2** 1-Methoxyalkane (**47**, **48** und **48**) identifiziert aus Seidenextrakten von *Latrodectus revivensis*.

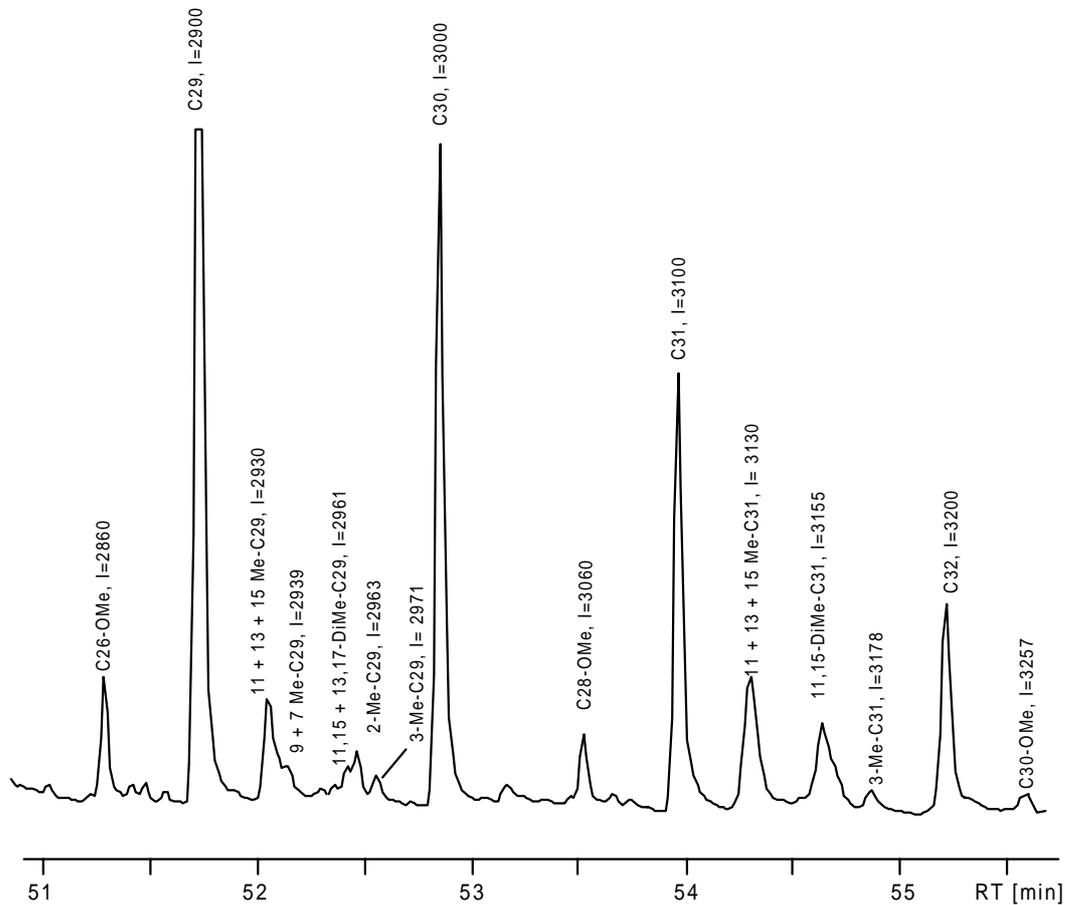
Die Identifizierung erfolgte anhand der Massenspektren und der Retentionsindizes. Ein charakteristisches Fragment im Massenspektrum dieser Verbindungen ist  $m/z = 45$ , welches durch die  $\alpha$ -Spaltung neben der Methoxygruppe entsteht. Das Fragmention  $m/z = 45$  könnte auch auf einen sekundären Alkohol deuten. Da die Verbindungen aber nicht mit MSTFA derivatisierbar waren, konnte diese Möglichkeit ausgeschlossen werden. Die Molekülmassen der

Verbindungen fehlen im Spektrum. Das Ion mit der höchsten Masse entsteht durch die Abspaltung von Methanol, also  $M^+-32$ , wodurch ein Alken gebildet wird, dessen Zerfallsprodukte das Spektrum dominieren.



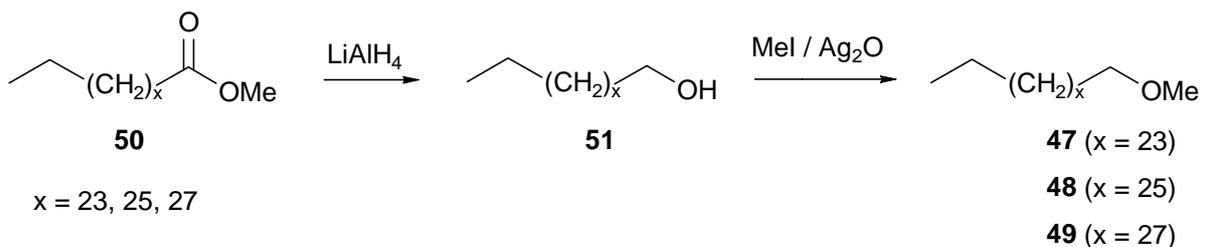
**Abb. 5. 3.** Massenspektrum von 1-Methoxyhexacosan (47).

Eine einfache Spektreninterpretation war aufgrund der geringen Konzentration und der teilweise überlagerten Peaks nicht möglich. Deshalb wurden gaschromatographische Retentionsindizes bestimmt, um die Zuordnung zu erleichtern [36].



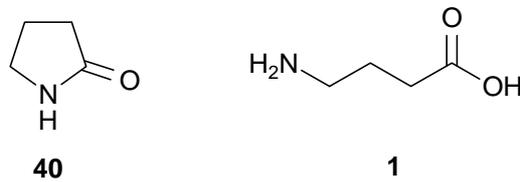
**Abb. 5. 4.** Relevanter Ausschnitt des Gaschromatogramms und Retentionsindizes.

Die Strukturvorschläge der drei Verbindungen wurden durch Synthesen bestätigt. Hierzu wurden die C<sub>26</sub>-, C<sub>28</sub>- bzw. C<sub>30</sub>-Carbonsäuremethylester zu den entsprechenden Alkoholen reduziert und anschließend in einer mit Silberoxid katalysierten Reaktion mit Methyljodid zu den entsprechenden Methylethern umgesetzt [117].



**Abb. 5. 5.** Synthese der 1-Methoxyalkane (**47**, **48** und **49**).

Die einzige Verbindung im leichterflüchtigen Bereich ist das 2-Pyrrolidon (**40**). Möglicherweise ist **40** ein Abbauprodukt der  $\gamma$ -Aminobuttersäure (**1**), das sich unter den gaschromatographischen Bedingungen im Injektor bildet.



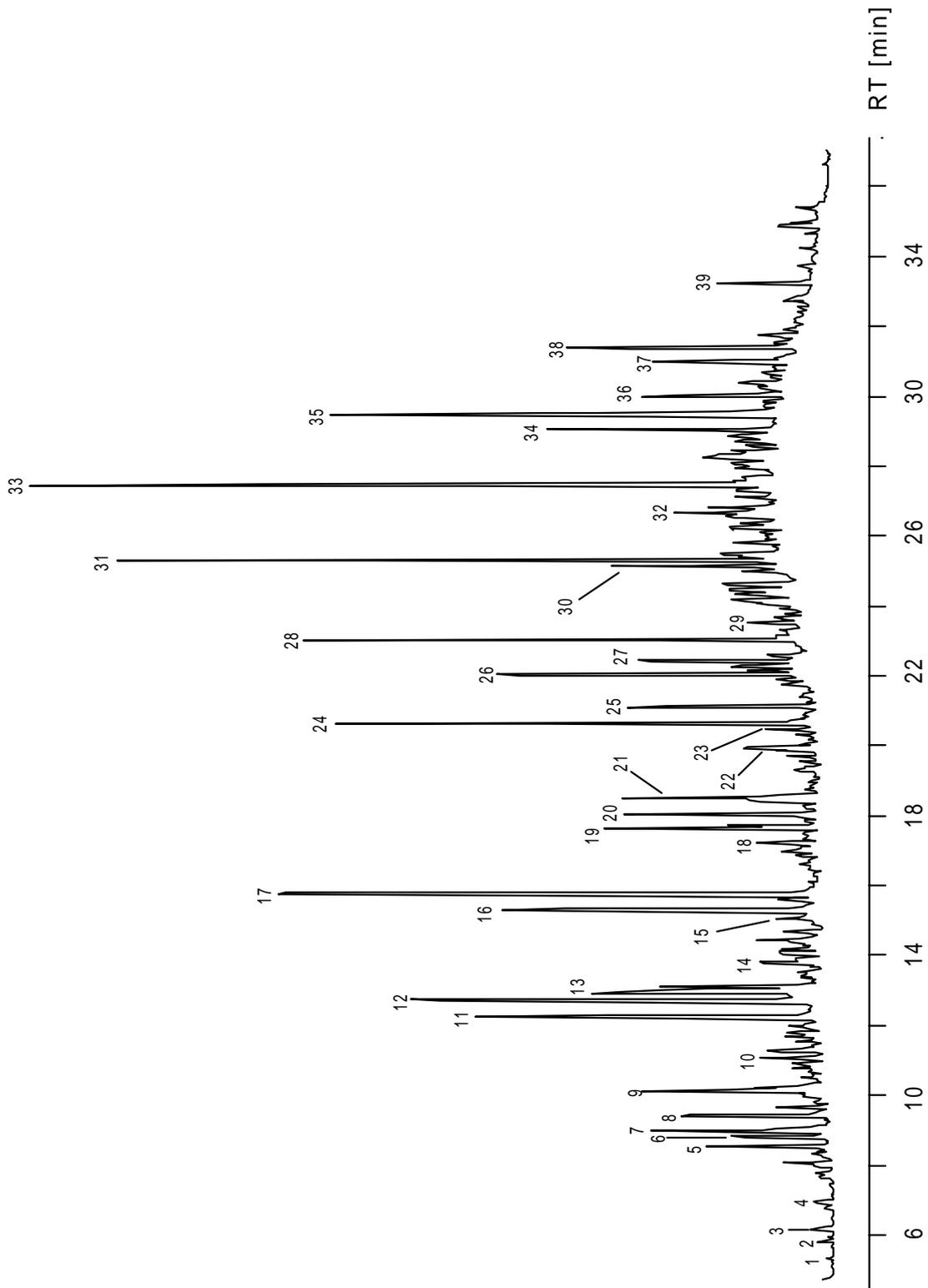
**Abb. 5. 6.** 2 Pyrrolidon (**40**) und  $\gamma$ -Aminobuttersäure (**1**).

Die mit MSTFA derivatisierten Proben zeigten sowohl das 2-Pyrrolidon (**40**) sowie das N, O-Bis (trimethylsilyl)-produkt der  $\gamma$ -Aminobuttersäure (**1**). Möglicherweise treten auch in der Natur beide Verbindungen nebeneinander auf. Auffälligerweise liegt das 2-Pyrrolidon (**40**) in sehr unterschiedlichen Konzentrationen auf der Seide vor. Seidenextrakte von adulten Weibchen, die im Frühjahr 1998 in Israel genommen wurden, enthalten **40** in sehr hohen Konzentrationen, während es in den Seidenextrakten der subadulten Weibchen gar nicht oder nur in kleinsten Spuren auftrat. In den Proben vom Frühjahr 1999 kommt es in beiden Probenarten allenfalls als Nebenkomponeute vor.

## 5.2. *Head space* Untersuchungen von *Latrodectus revivensis*

Die hier beschriebenen *head space*-Extrakte wurden nach dem *open loop*-Prinzip gewonnen. Im Gegensatz zum bereits beschriebenen *closed loop*-Verfahren bilden hier Pumpe und Glasgefäß kein geschlossenes Kreislaufsystem, sondern bleiben offen. Es wird also immer wieder „neue“ Luft durch die Glaskammer mit dem zu untersuchenden Objekt gepumpt. So konnten unterschiedliche Extrakte gewonnen werden. Einige Proben wurden von 5 - 6 Weibchen des gleichen Reifestadiums gleichzeitig angefertigt. Die Spinnen saßen dabei in kleinen Glasgefäßen, die durch Teflonschläuche verbunden waren; die Probennahme dauerte *ca.* 6 bis 8 Stunden. Der Vorteil dieser Versuchsanordnung ist die erhöhte Konzentration der abgegebenen Stoffe. Problematisch könnte eine mögliche Irritation der Weibchen, ausgelöst durch den Geruch der anderen Weibchen sein. Deshalb wurden auch *head space*-Proben von einzelnen Weibchen gemacht. Um auch die flüchtigen Stoffe zu erfassen, die eventuell von der Seide abgegeben werden, wurden einige Weibchen für längere Zeit in größeren

Glasgefäßen gehalten. Die Größe der Gefäße und die längere Aufenthaltszeit ermöglichte den Tieren Seide zu produzieren. Größere und dichtere Nester produzieren die Weibchen nur, wenn die Möglichkeit vorhanden ist, kleine Zweige, Blätter und ähnliches in die Nester einzubauen. Da solche Kontaminationen die Untersuchung der Proben erschwert hätte, wurde den Spinnen diese Möglichkeit genommen. Die Proben wurden mit GC-MS an verschiedenen Trennphasen untersucht.



**Abb. 5. 7.** GC-MS Totalionenstromchromatogramm eines *head space*-Extraktes eines adulten Weibchens von *Latrodectus revivensis*. (30 m BPX-5 fused silica-Kapillare; Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min isotherm und anschließend mit 5 °C / min auf 300 °C, on column-Injektion).

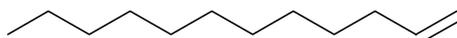
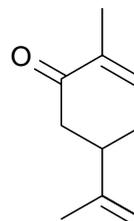
**Tabelle 5.2.** In *head space*-Extrakten von adulten *Latrodectus revivensis* Weibchen identifizierte Verbindungen. Die Verbindungen sind unterteilt in Hauptkomponenten (H: > 5 %), Nebenkomponten (N: > 0.5 %), und Spurenkomponenten (S: < 0.5 % der Gesamtfläche im Totalionenstromchromatogramm). Zur besseren Unterscheidung von den übrigen im Text erwähnten nummerierten Verbindungen ist den *head space*-Extraktkomponenten ein „**HS**“ vorangestellt.

<b>HS1</b>	Nonan	S
<b>HS2</b>	Heptanal	S
<b>HS3</b>	$\alpha$ -Pinen	S
<b>HS4</b>	$\beta$ -Pinen	S
<b>HS5</b>	2,2,4,6,6,-Pentamethylheptan (Artefakt)	N
<b>HS6</b>	6-Methyl-5-hepten-2-on	N
<b>HS7</b>	Decan	H
<b>HS8</b>	Octanal	H
<b>HS9</b>	Limonen	H
<b>HS10</b>	2-Methyldecan	N
<b>HS11</b>	Undecan	H
<b>HS12</b>	Nonanal	H
<b>HS13</b>	Silicon (Artefakt)	H
<b>HS14</b>	Glutarsäuremethylester (Artefakt)	H
<b>HS15</b>	1-Dodecen ( <b>52</b> )	N
<b>HS16</b>	Dodecan	H
<b>HS17</b>	Decanol	H
<b>HS18</b>	Carvon ( <b>53</b> )	N
<b>HS19</b>	Silicon (Artefakt)	H
<b>HS20</b>	Tridecan	H
<b>HS21</b>	Undecanal	H
<b>HS22</b>	3-Methyltridecan	N
<b>HS23</b>	Tetradecen	S
<b>HS24</b>	Tetradecan	H
<b>HS25</b>	Dodecanal	H
<b>HS26</b>	Geranylaceton	H

<b>HS27</b>	3-Methyltetradecan	N
<b>HS28</b>	Pentadecan	H
<b>HS29</b>	Tridecanal	S
<b>HS30</b>	3-Hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl- 2-methylpropanoat (Artefakt)	N
<b>HS31</b>	Hexadecan	H
<b>HS32</b>	2-Methylhexadecan	S
<b>HS33</b>	Heptadecan	H
<b>HS34</b>	Ionol (Artefakt)	N
<b>HS35</b>	Octadecan	H
<b>HS36</b>	Tetradecansäureisopropylester	N
<b>HS37</b>	Phtathalat (Artefakt)	N
<b>HS38</b>	Nonadecan	H
<b>HS39</b>	Eicosan	N

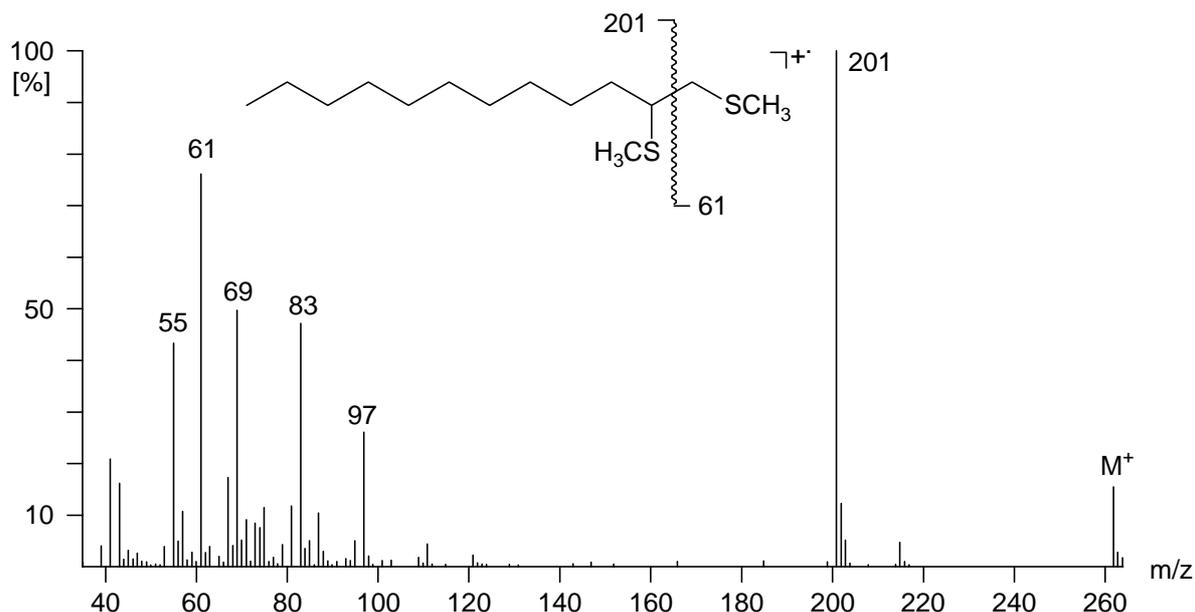
---

Ähnlich wie bei den Seidenextrakten dominieren in den *head space*-Extrakten auch unverzweigte und monomethylverzweigte Kohlenwasserstoffe, wobei es sich allerdings um kürzerkettige Alkane (C<sub>9</sub>-C<sub>20</sub>) handelt. Weitere Hauptkomponenten sind die gesättigten unverzweigten Aldehyde von C<sub>6</sub>-C<sub>13</sub>. Neben diesen Verbindungen konnten auch einige Terpene wie  $\alpha$ - und  $\beta$ -Pinen, Limonen bzw. Terpenderivate wie Geranylaceton identifiziert werden. Ausschließlich in *head space*-Extrakten von adulten Weibchen treten 1-Dodecen (**52**) und Carvon (**53**) auf, was anhand der Massenspektren und Koinjektionen überprüft werden konnte.

**52****53**

**Abb. 5. 8.** Substanzen aus *head space*-Extrakten adulter weiblicher *Latrodectus revivensis*.

Die Position der Doppelbindung im Dodecen konnte durch Derivatisierung mit DMDS bestimmt werden (siehe **Abb.5.9.**).



**Abb. 5. 9.** EI-Massenspektrum und angenommene Fragmentierung des DMDS-Adduktes von **52**.

### 5.3. Ergebnisse der Labor- und Freilandbiotests

Zur Untersuchung der Sexuallockstoffe von *Latrodectus revivensis* wurden bei einem Forschungsaufenthalt am „Jacob-Blaustein Institute for Desert Research“ in Israel im April 1999 in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. Yael Lubin mehrere Labor- und Freiland-Biotests durchgeführt. Die Freilanduntersuchungen wurden in zwei Wadis in der zentralen Negev Wüste westlich von Sede Boqer gemacht. Mit Hilfe der Biotests im Labor sollten die Reaktionen der Männchen von *Latrodectus revivensis* auf die drei 1-Methoxyalkane **48** und **49** und insbesondere **47**<sup>5</sup> untersucht werden. Weiterhin sollte auch die Reaktion auf 2-Pyrrolidon (**40**) und  $\gamma$ -Aminobuttersäure (**1**) getestet werden<sup>6</sup>. Der Versuchsaufbau des Laborbiotests ist bereits in Abschnitt 5.1. beschrieben. Für die Untersuchungen stand nur eine sehr geringe Anzahl von Männchen zur Verfügung, da wegen der extremen Trockenheit in dieser Saison kaum Tiere im Feld gesammelt werden konnten.

<sup>5</sup> **47** wurde ausschließlich auf der Seide von adulten Weibchen identifiziert.

<sup>6</sup> Carvon (**53**) und 1-Dodecen (**52**) wurden nicht getestet, da die *head space*-Extrakte, in denen diese Verbindungen identifiziert wurden, erst im April 1999 gewonnen wurden.

Getestet wurden 10 Männchen aus dem Feld, wobei die Tiere jeweils 45 min beobachtet wurden. Zwischen den einzelnen Versuchen hatten die Männchen für mindestens drei Stunden eine Ruhezeit, damit einsetzende Reaktionen abklingen konnten. Die verschiedenen Tests wurden alle mehrfach durchgeführt. Angesichts der kleinen Probengröße (10 Männchen) wird hier auf eine statistische Auswertung verzichtet und die Ergebnisse ausschließlich qualitativ zusammengefaßt.

Zunächst wurden einige Kontrollversuche gemacht, wobei die Männchen mit trockener oder mit Lösungsmittel benetzter Watte getestet wurden<sup>7</sup>. Hierbei konnte keine spezifische Reaktion beobachtet werden. Die ersten Versuche wurden mit Extrakten der Seide von adulten Spinnen durchgeführt. Hierbei sind deutliche Unterschiede auf die zwei getesteten verschiedenen Seidenarten zu beobachten. Nur auf die Nestextrakte reagieren die Männchen mit dem Balzverhalten, während Extrakte der Brücken- oder Fangfäden keine spezifischen Reaktionen auslöst. Vermutlich findet sich das Pheromon auf der Nestseide in einer höheren Konzentration als auf den Stolperfäden, da das Nest sehr häufig mit frischer Seide ausgebessert wird.

Anzumerken ist, dass nur ein Drittel der getesteten Männchen auf solche Nestextrakte erwartungsgemäß mit einer bzw. mehreren der spezifischen Balzreaktionen reagiert. Ein weiteres Drittel verhält sich auffällig aktiv, zeigt aber keine der erwarteten Balzreaktionen. Diese Männchen tasten die Seide mit aufgerichteten Pedipalpen immer wieder ab und führen das erste Laufbeinpaar zur Mundöffnung, um zu schmecken. Diese Reaktion wird im weiteren Text Suchverhalten genannt. Ein weiteres Drittel reagiert gar nicht bzw. unspezifisch.

Die synthetischen Substanzen **1**, **40**, **47**, **48** und **49** wurden in verschiedenen Kombinationen untersucht. Zuerst wurden alle Substanzen einzeln getestet, anschließend eine Mischung aller zusammen und zusätzlich Mischungen der drei Methylether **47**, **48** und **49**, der drei Methylether **47**, **48** und **49** mit 2-Pyrrolidon (**40**) und der drei Methylether **47**, **48** und **49** mit  $\gamma$ -Aminobuttersäure (**1**). Die Tests wurden jeweils mit 10, 70, 140 sowie 250  $\mu\text{g}$  des synthetischen Materials durchgeführt.

In diesen ersten Biotests rief keine der Einzelsubstanzen oder der Mischungen eine der spezifischen Balzreaktionen hervor. Allerdings reagieren die Männchen auf die  $\gamma$ -Aminobuttersäure (**1**), 1-Methoxyhexacosan (**47**) und die Mischung der drei Methylether **47**, **48** und **49**, bzw. die Mischung dieser vier Komponenten mit dem bereits oben beschriebenen Suchverhalten. Diese Reaktionen konnten mit einer Menge von 70  $\mu\text{g}$  ausgelöst werden. Bei einer geringeren

Menge (10 µg) war keine Reaktion zu beobachten, während bei einer größeren Menge keine Reaktionssteigerung oder -änderung beobachtet wurde.

Das leicht stechend riechende 2-Pyrrolidon (**40**) löst das Suchverhalten überhaupt nicht aus. Sind die Tiere dieser Substanz in größeren Mengen (250 µg) ausgesetzt, meiden sie die Duftquelle und bewegen sich von der Spitze des Holzstäbchens<sup>8</sup> weg. 2-Pyrrolidon (**40**), als einzige Komponente der fünf Verbindungen leichtflüchtig, sollte auch in einem Feldtest untersucht werden. Wie nach dem Laborexperiment zu erwarten, zeigt es auch im Freiland keine anziehende Wirkung auf die Männchen. Für den Test wurden kleine weitmaschige Käfige mit einem Filterpapier in der Mitte für acht Stunden in solche Büsche gehängt, in denen *Latrodectus revivensis* gewöhnlicherweise Nester baut. Die Filterpapiere waren mit 2-Pyrrolidon (**40**) behandelt<sup>9</sup>.

Ein weiterer Feldversuch sollte klären, ob die über größere Distanzen wirkende anlockende Wirkung von der Spinne oder von ihrem Netz ausgeht. Hierzu wurden im Feld Käfige mit Weibchen ohne Netz und mit Netzen von adulten unbegatteten Weibchen, aber ohne Weibchen aufgestellt, um dann zu beobachten, welche Anordnung eine anlockende Wirkung auf die Männchen hat. Dieser Versuch war bereits im Frühjahr 1998 in ähnlicher Anordnung durchgeführt worden<sup>10</sup>. Im Frühjahr 1999 konnte das Ergebnis nicht reproduziert werden. Käfige mit subadulten und adulten Weibchen bzw. deren Netzen hatten keine anlockende Wirkung auf die Männchen, obwohl sie an verschiedenen Stellen und an mehreren Tagen aufgestellt wurden. Wahrscheinlich ist dies mit der durch die Dürre bedingte geringen Populationsdichte in dieser Saison zu erklären. Bekanntermaßen reagieren Spinnen sehr empfindlich auf klimatische Faktoren wie Luftdruck, Temperatur, Wind, Sonneneinstrahlung und ähnliches. Eine Nichtreaktion kann also auch darauf zurückzuführen sein, dass die äußeren Bedingungen für die Reproduktion ganz allgemein ungünstig waren.

---

<sup>7</sup> Nach dem Aufbringen des Lösungsmittels bzw. der Lösungen wurde die Watte 20 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen, so daß das Lösungsmittel abdampfen konnte.

<sup>8</sup> Vgl. Versuchsaufbau Abschnitt 5.1.

<sup>9</sup> Die Maße der Käfige waren ca. 7 · 7 · 7 cm. Die Experimente wurden gegen 17:30 Uhr durchgeführt, da um diese Zeit die Aktivitätsphase der Spinnen beginnt.

<sup>10</sup> vgl. 5.

## 5.4. Diskussion

Die durchgeführten Experimente zeigen, dass die Männchen von *Latrodectus revivensis* die drei 1-Methoxyalkane **47**, **48** und **49** und die  $\gamma$ -Aminobuttersäure (**1**) wahrnehmen und darauf reagieren. Die Reaktionen zeichnen sich durch eine starke und plötzlich einsetzende Aktivität und das Abtasten und Schmecken der Matrix aus, auf der sich die zu testenden Substanzen befinden. 2-Pyrrolidon (**40**) oder Kontrollversuche mit reiner Watte lösen dieses Verhalten nicht aus. Nichtsdestotrotz hat keine der Substanzen die spezifischen Balzreaktionen ausgelöst. Hierfür kann es mehrere Ursachen geben. Möglicherweise ist das gesuchte Pheromon der Weibchen nicht eine einzelne Substanz, sondern eine Mischung verschiedener Komponenten, und bei den getesteten Substanzmischungen fehlen ein bzw. mehrere Signalstoffe. Auch das Verhältnis der Einzelsubstanzen zueinander könnte für ein positives Ergebnis ausschlaggebend sein. Erfahrungsgemäß sind die Reaktionen auf synthetische Substanzen schwächer als auf die natürlichen Signalstoffe, was z. B. auf Verunreinigungen oder Konzentrationsunterschiede zurückzuführen ist. Anzumerken ist auch, dass die im Feld gesammelten und für die Labor-Biotests eingesetzten Männchen in einer sehr schwachen Kondition waren. Bei Reaktionstests dieser Männchen auf die Seide von adulten Weibchen zeigt durchschnittlich nur ein Drittel die erwarteten Balzreaktionen. Ein weiteres Drittel reagiert mit dem beschriebenen Suchverhalten, während die restlichen Männchen sich unspezifisch verhalten. Aufgrund der Laborexperimente kann aber mit Sicherheit davon ausgegangen werden, dass 2-Pyrrolidon (**40**) auch in Gebieten mit einer höheren Populationsdichte keine anlockende Wirkung hat. Die genaue Funktion dieser Substanz, die ja auch auf der Seide von *Araneus diadematus* gefunden wurde, ist bislang unbekannt<sup>11</sup>. Möglicherweise sind die Unterschiede in der 2-Pyrrolidon (**40**) Konzentration auf der Seide auf die klimatischen Verhältnisse zum Zeitpunkt des Sammelns der Seide zurückzuführen. Niedermolekulare Stoffe auf der Spinnseide haben oft hygroskopische Eigenschaften und können somit den Wasserhaushalt der Seide regulieren. Eventuell könnte also die extreme Trockenheit im Frühjahr 1999 einen Einfluß auf die Konzentration von **40** auf der Seide gehabt haben.

Aufgrund der geringen Anzahl an Männchen, die für die Biotests im Labor und auch im Feld zur Verfügung standen, sind die bisher erzielten Ergebnisse nur als vorläufig zu betrachten. Im kommenden Jahr (2000) sollen die Versuche wiederholt und statistisch ausgewertet werden. Die Ergebnisse machen aber deutlich, dass weitere Untersuchungen dieser Substanzen im

---

<sup>11</sup> vgl. 4.4.

Zusammenhang mit *Latrodectus revivensis* lohnenswert sind. Im Rahmen der geplanten Untersuchungen sollen auch Versuche zur anlockenden Wirkung der aus den *head space*-Proben identifizierten Verbindungen 1-Dodecen (**52**) und Carvon (**53**) durchgeführt werden.

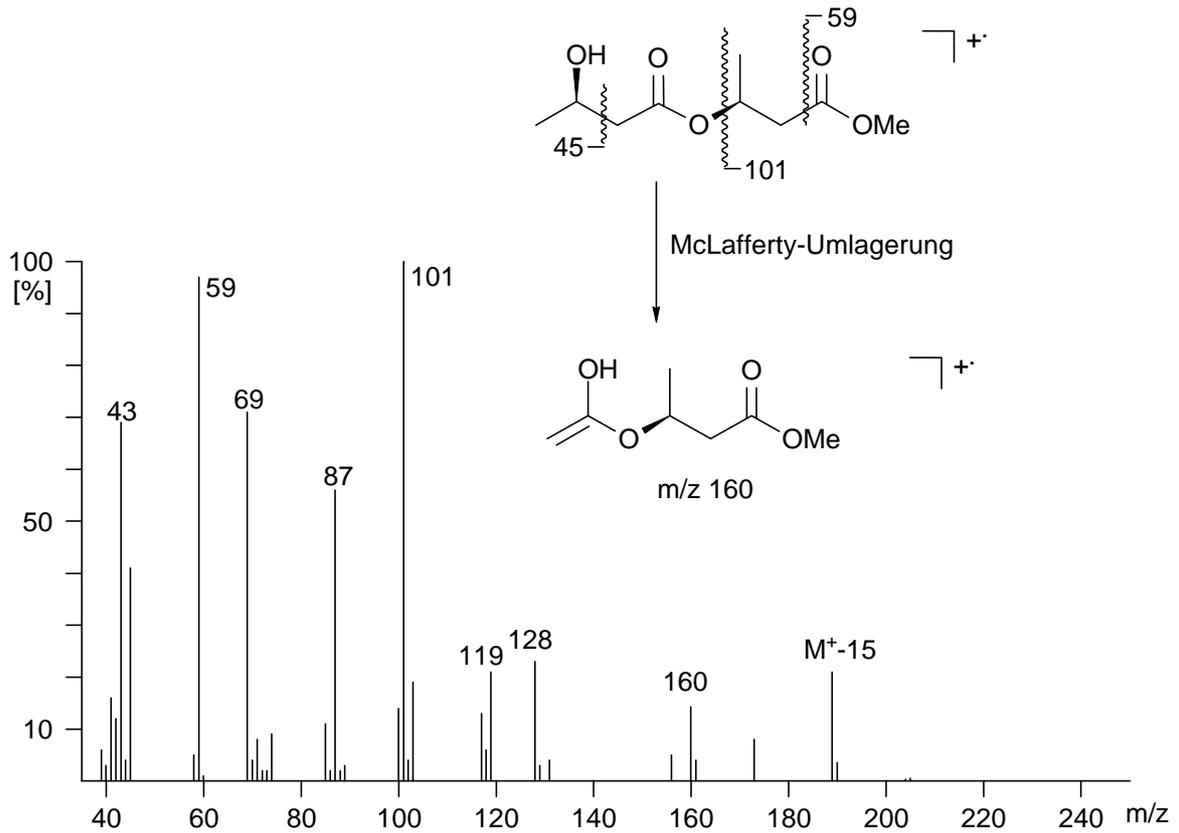
## 6. Untersuchungen der Spinnseide von *Linyphia litigosa*

Das erste identifizierte Sexualpheromon von Spinnen, die (3*R*)-3-Hydroxybuttersäure (**12**) und das Kondensationsprodukt (3*R*, 3'*R*)-3-(3-Hydroxybutyryloxy)-buttersäure (**13**), konnte aus der europäischen Baldachinspinne *Linyphia triangularis* isoliert werden [36]. Trifft ein Männchen dieser Art auf das Netz eines unbegatteten adulten Weibchens, beginnt es mit dem Netzreduktionsverhalten<sup>1</sup>. Diese Beobachtung wurde auch bei der amerikanischen Baldachinspinne *Linyphia litigosa* gemacht [37, 118]. *Linyphia litigosa* besiedelt bergige Habitate im Nordwesten der USA. Die Weibchen bauen baldachinartige Netze, während die Männchen nomadisch leben. Trifft ein Männchen auf das Netz eines adulten Weibchens, beginnt es mit dem Netzreduktionsverhalten. Innerhalb von 15-30 Minuten wird das ganze Netz zerstört, und direkt im Anschluß daran erfolgt die Kopulation. Dieses Verhalten konnte nicht nach dem Kontakt mit Netzen subadulter Weibchen beobachtet werden. Zur Untersuchung dieses Signals wurden Dichlormethanextrakte der Seide subadulter und adulter Weibchen mittels GC-MS analysiert. Ein Vergleich dieser Proben zeigte keine nennenswerten Unterschiede. Erst nach der Methylierung mit Diazomethan<sup>2</sup> taucht in den Extrakten der adulten Weibchen ein sehr großer Peak auf, der in den anderen Proben fehlt. Das Massenspektrum zeigte charakteristische Fragmentationen bei  $m/z = 59, 101, 128, 160$  und  $189$ , und die Verbindung konnte als die bereits bekannte (3*R*, 3'*R*)-3-(3-Hydroxybutyryloxy)-buttersäure (**13**) identifiziert werden.

---

<sup>1</sup> vgl. Kapitel 1.1 und 5.

<sup>2</sup> Angaben zur Derivatisierung sind im Experimentellen Teil gemacht.

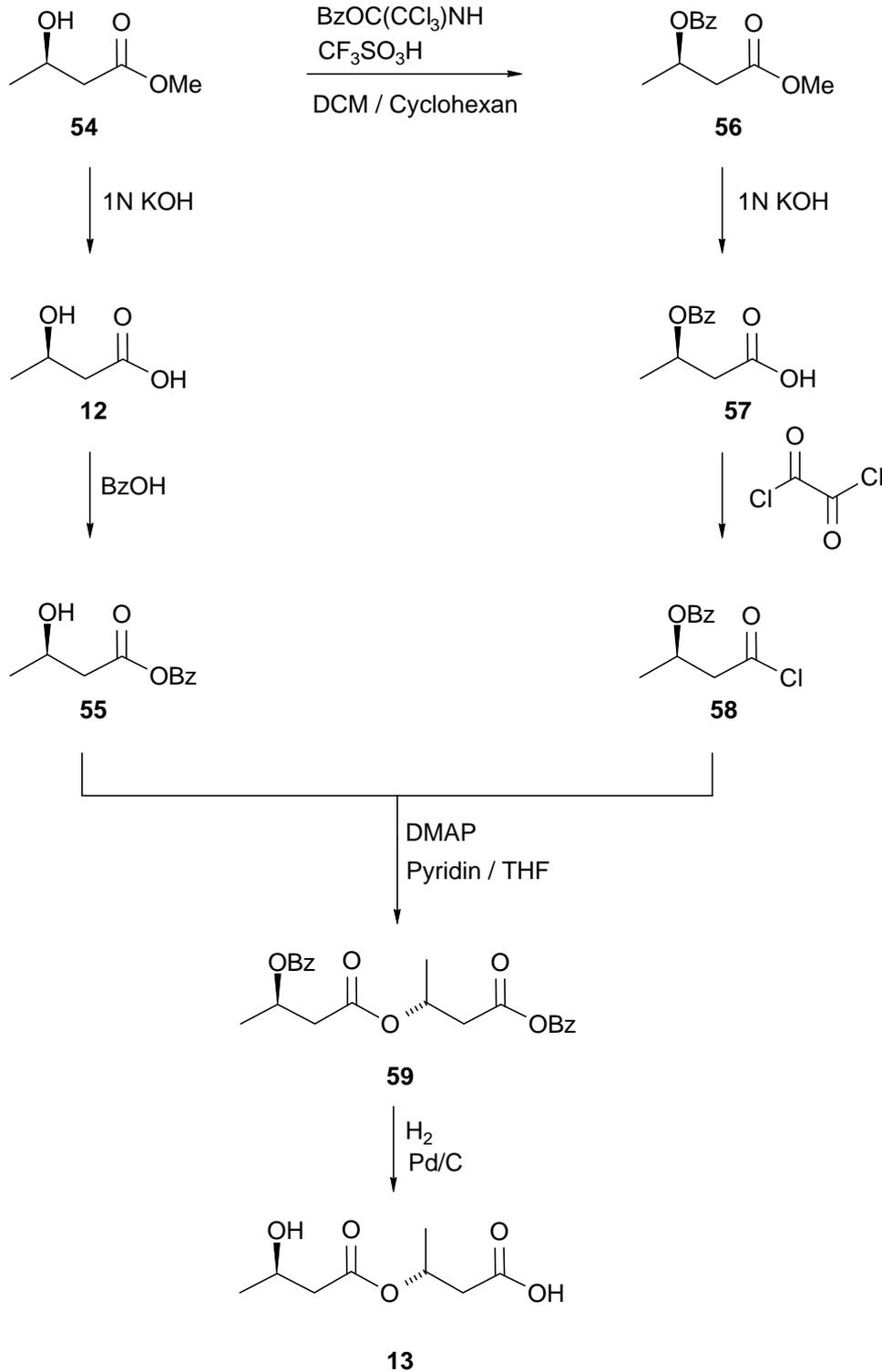


**Abb. 6. 1.** EI-Massenspektrum der methylierten (3R, 3'R)-3-(3-Hydroxybutyryloxy)-buttersäure (**13**) und angenommene Fragmentierung.

Eine  $\alpha$ -Spaltung an der Carbonylgruppe des Methylesters ergibt das Fragmention  $m/z = 59$ . Spaltung der C(3)-O-Bindung führt zu dem dominierenden Fragmention  $m/z = 101$ . Die McLafferty-Umlagerung liefert das Fragmention  $m/z = 160$ , woraus durch Abspaltung von Methanol das Ion  $m/z = 128$  entstehen kann.

### 6.1. Synthese der (3*R*, 3'*R*)-3-(3-Hydroxybutyryloxy)-buttersäure (**13**)

Für die Durchführung von Biotests wurde **13** nach einer Methode von Seebach *et al.* synthetisiert [119].



**Abb. 6. 2.** Synthese der (3*R*, 3'*R*)-3-(3-Hydroxybutyryloxy)-buttersäure (**13**).

(3*R*)-3-Hydroxybuttersäuremethylester (**54**) wird an der Säurefunktion bzw. der Alkoholfunktion geschützt und die beiden Einheiten dann kondensiert [120]. Zur Blockierung der Säuregruppe des Moleküls wird der Methylester **54** erst zu **12** verseift und anschließend mit Benzylalkohol unter saurer Katalyse zu dem 3-Hydroxybenzylester **55** verestert [121]. Die andere Kondensationseinheit entsteht durch Reaktion des Methylesters **54** mit O-Benzyltrichloracetimidat, so daß die Benzyloxyverbindung **56** erhalten wird [122]. Diese wird in den folgenden Schritten zu **57** verseift und in das Säurechlorid **58** umgewandelt [96]. Die Kondensation von **55** und **58** liefert die Dibenzylverbindung **59**, die nach einer Hydrierung mit Pd/C als Katalysator in die (3*R*, 3'*R*)-3-(3-Hydroxybutyryloxy)-buttersäure (**13**) umgewandelt wird.

## 6.2. Diskussion

Da bereits bekannt war, daß *Linyphia triangularis* das (*R*)-Enantiomer der Verbindung **13** als Pheromon benutzt, wurde davon ausgegangen, daß auch *Linyphia litigosa* das (*R*)-Enantiomer einsetzt. Gaschromatographischer Vergleich von methylierten Proben des natürlichen und synthetischen Materials an einer chiralen Lipodex E Phase bestätigte dies [80]. Das synthetische Material wurde in einem Feldversuch in Flathead Lake, Montana, USA von Dr. P. J. Watson untersucht. Hierzu wurden auf 6 Netze von *Linyphia litigosa* im Feld, die das Netzreduktionsverhalten nicht auslösen, die zu testende Substanz aufgebracht und dann das Verhalten von 6 Männchen nach Kontakt mit diesen Netzen beobachtet. Da die Tests zu einem sehr späten Zeitpunkt in der Saison durchgeführt wurden, standen nicht mehr Männchen zur Verfügung. Keines der Männchen zeigte das erwartete Netzreduktionsverhalten. Die Gründe hierfür sind bislang ungeklärt. Möglicherweise lag es an den relativ alten Männchen. Vielleicht spielt aber im Gegensatz zu *Linyphia triangularis* bei *Linyphia litigosa* noch eine weitere Komponente zur Auslösung des Netzreduktionsverhaltens eine Rolle. Zur weiteren Untersuchung dieses Phänomens wäre es sinnvoll einen Laborbiotest zu entwickeln, da so von saisonalen Schwankungen unabhängige Versuche möglich wären. Denkbar ist, daß **13** nur in Kombination mit anderen artspezifischen Verbindungen eine Reaktion auslöst. In den Seidenextrakten von *Linyphia litigosa* konnten neben der (3*R*, 3'*R*)-3-(3-Hydroxybutyryloxy)-buttersäure (**13**) verschiedene andere Komponenten identifiziert werden. So finden sich die typischen Seidenlipide wie geradzahlige C<sub>14</sub>-C<sub>20</sub>-Säuren sowie eine Reihe von Alkanen und Alkenen. Daneben konnte auch eine Reihe von ( $\omega$ -3)-

Methylethern mit ungerader Kohlenstoffzahl sowie ( $\omega$ -2)-Methylether mit gerader Kohlenstoffzahl identifiziert werden.

---

**Tabelle 6.1. 1-Methoxyalkane aus Seidenextrakten von *Linyphia litigosa***

---

1-Methoxy-24-methylheptacosan

1-Methoxy-26-methyloctacosan

1-Methoxynonacosan

1-Methoxytriacontan

1-Methoxy-29-methylhentriacontan

1-Methoxyhentriacontan

1-Methoxy-30-methyldotriacontan

1-Methoxydotriacontan

---

Ob diese oder andere Lipide für das Netzreduktionsverhalten wichtig sind, soll in weiteren Biotests untersucht werden.

## 7. Chemische Signalstoffe auf den Netzen und der Cuticula von *Tegenaria atrica* (Agelenidae)

Die europäische Winkelspinne *Tegenaria atrica*, die wie *Agelenopsis aperta* auch zu den Trichterspinnen (Agelenidae) gehört, wird häufig in Häusern, an Dachgiebeln oder Fenstern gefunden. Sie fällt durch ihre Körpergröße (10 mm), ihre langen haarigen Beine (12-18 mm) sowie durch zwei überstehende Spinnwarzen am Abdomenende auf. *Tegenaria atrica* gehört zu den subsozialen Spinnen, d.h. es besteht eine temporäre soziale Bindung, die in einem engen Kontext mit dem Brutpflegeverhalten steht. Der Begriff der Sozialität im Zusammenhang mit Spinnen ist nur mit gewissen Einschränkungen zu gebrauchen, da man nach der Sozialitätsdefinition von E. O. Wilson nur von quasisozialen Spinnen sprechen kann [123]. Spinnen stehen nicht auf der eusozialen Stufe gewisser Insekten wie z.B. Ameisen, Bienen, und Termiten, da sie nie ein Kastensystem entwickelt haben.

Direkt nach dem Verlassen des Kokons bilden die Jungspinnen von *Tegenaria atrica* ein dichtes Knäuel in der Nähe des Kokons und zeigen eine Woche lang kaum lokomotorische Aktivitäten [124]. Nach dieser Zeit kommt es zu einer simultanen Häutung der Jungspinnen, und sie fangen an, sich im mütterlichen Netz zu verteilen. Die Mutter übernimmt eine aktive Nahrungsfürsorge, indem sie Beute erjagt und für die Jungspinnen tötet. Am Ende der dritten Woche beginnen die Jungspinnen kleine Beutetiere zu fangen, und während der vierten Entwicklungswoche verlassen die Jungen das mütterliche Netz, um sich einzeln auszubreiten. Während dieser sozialen Phase zeigen die Jungspinnen mit zunehmendem Alter untereinander agonistische Verhaltensweisen, während der Kontakt mit der Mutter keine agonistischen Reaktionen hervorruft. Dieser zumindest zeitweiligen Toleranz muß ein gegenseitiges Erkennen zugrunde liegen, denn gegenüber Beutetieren sind soziale Spinnen genauso aggressiv wie ihre solitären Verwandten. Verschiedene Erkennungsmechanismen sind für solche Sozialitäten möglich [125]. So nutzen manche Arten spezifische Netzschwingungen, um sich als conspezifisch ausweisen. Ausschlaggebend sind wahrscheinlich die chemischen taktilen Signalstoffe auf der Cuticula und den Netzen der Tiere. Erkennungsmuster auf der Cuticula sind bereits von Insekten bekannt [126, 127]. Allerdings sind die chemischen Signale der Spinnen häufig nicht so spezifisch, da man Spinnen aus verschiedenen Netzgemeinschaften leicht austauschen kann, ohne irgendwelche feindlichen Reaktionen auszulösen. Dies gilt für verschiedene Arten, so können beispielsweise problemlos Populationen sozialer Stegodyphusarten vermischt werden [128]. Dadurch unterscheiden sich

die sozialen Spinnen wesentlich von den geschlossenen Gesellschaften vieler Insekten, z. B. Ameisen, in denen sich Mitglieder einer Art schon bekämpfen, wenn sie aus verschiedenen Nestern stammen. In dieser Hinsicht sind die offenen Gesellschaften der sozialen Spinnen eher mit Schwärmen von Fischen oder Vögeln vergleichbar.

Von M. Trabalon *et al.* wurden verschiedene Studien zur chemischen Zusammensetzung der Cuticula von *Tegenaria atrica* und die Veränderungen dieser Zusammensetzungen während des Übergangs von der sozialen zur solitären Phase gemacht. Hierbei konnte gezeigt werden, dass es sowohl qualitative als auch quantitative Veränderungen der Cuticularinhaltsstoffe während dieses Übergangs gibt [124]. Während dieser Untersuchungen fiel auf, dass es offensichtlich auch ein taktil-chemisches Signal auf der Seide gibt, das für das Zusammenfinden der Geschlechter entscheidend ist [129, 130, 131]. Männchen dieser Art können zwischen rezeptiven und nicht rezeptiven Weibchen anhand der Seide unterscheiden. Weibchen werden als nicht rezeptiv bezeichnet, wenn die Männchen nach Kontakt mit ihnen keine Balzreaktionen zeigten und die Weibchen nach dem Kontakt mit agonistischem Verhalten reagieren. Umgekehrt lösen rezeptive Weibchen das Balzverhalten der Männchen aus. Das männliche Balzverhalten manifestiert sich in erster Linie im langsamen Pedipalpentrommeln. In weiteren Biotests wurden die Männchen mit Netzen von rezeptiven bzw. nicht rezeptiven Weibchen in Kontakt gebracht. Auch ohne die Anwesenheit eines Weibchens reagierten die Männchen auf diese Netze unterschiedlich. Die erste Reaktion der Männchen auf die Netze von rezeptiven Weibchen ist eine deutlich geringere Bewegungsaktivität. Gleichzeitig emittieren sie vibratorische Signale auf das Netz des Weibchens durch Schwingungen des Abdomens. Dieses Verhalten wechselt sich ab mit Phasen plötzlicher, sehr mobiler Untersuchung der Netze. Insgesamt läßt sich sagen, dass die Männchen auf den Netzen von rezeptiven Weibchen signifikant mobiler sind und ein längeres Pedipalpentrommeln zeigen als auf den Netzen von nicht rezeptiven Weibchen [131]. Im folgenden wird analog zu der Unterscheidung zwischen rezeptiven und nicht rezeptiven Weibchen auch von rezeptiver respektive nicht rezeptiver Seide gesprochen.

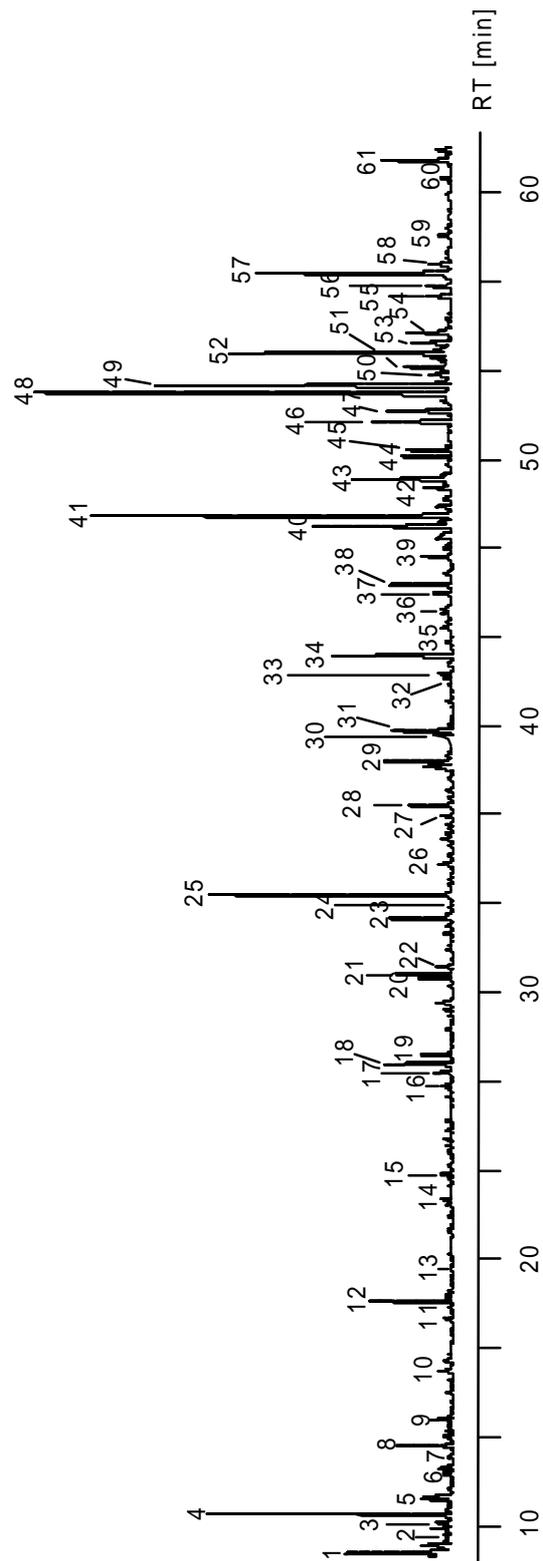
**Tabelle 7.1.** Balzreaktionen der männlichen *Tegenaria atrica* auf die Netze von rezeptiven und nicht rezeptiven Weibchen [131]. Die Zeit vor einer beobachtbaren Reaktion wird Latenzzeit genannt.

<b>Reaktionen</b>	<b>rezeptive Netze</b>	<b>nicht rezeptive Netze</b>
<b>Latenzzeit (s)</b>		
Abdominale Vibration	101 ± 80	141 ± 91
Pedipalpentrommeln	54 ± 38	59 ± 17
<b>Dauer (s)</b>		
Immobilität	315 ± 91	604 ± 115
Pedipalpentrommeln	219 ± 74	85 ± 41
<b>Anzahl (N/min)</b>		
Abdominale Vibrationen	21 ± 8	24 ± 6
Pedipalpentrommeln	16 ± 9	30 ± 12

Zur Untersuchung des chemischen Signals auf der Seide wurden Extrakte mit verschiedenen Lösungsmitteln hergestellt und anschließend in einem Biotest untersucht. Für den Biotest wurde auf nicht rezeptive Seide Extrakte rezeptiver Seide aufgebracht und dann die Seide abermals getestet. Hierbei zeigte sich, dass Methanolextrakte deutlich aktiver als Pentan oder Dichlormethanextrakte sind. Zur Untersuchung des Kontaktsignals, welches die Balzreaktionen der Männchen hervorruft, wurden methanolische Seidenextrakte mittels GC-MS analysiert. Desweiteren wurden auch Cuticulaabwaschungen (Pentan) sowie Pentanextrakte des Netzes untersucht, um mögliche Änderungen in der Zusammensetzung der unpolaren Inhaltsstoffe zu erfassen.

### 7.1. Analysen der Methanolextrakte der Seide von *Tegenaria atrica*

Zur besseren Chromatographierbarkeit der Substanzgemische und zur Erfassung der polaren Verbindungen wurden die methanolischen Extrakte mit MSTFA derivatisiert und anschließend analysiert. Abbildung 7.1. zeigt ein solches Chromatogramm.



**Abb. 7. 1.** GC-MS-Totalionenstromchromatogramm eines mit MSTFA derivatisierten methanolischen Seidenextraktes von rezeptiven Weibchen von *Tegenaria atrica* (Säule: 50 m BPX-5 fused silica-Kapillare; Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min isotherm anschließend mit 3 °C/min auf 300 °C; on column-Injektor).

**Tabelle 7.2.** In mit MSTFA derivatisierten methanolischen Seidenextrakten von rezeptiven *Tegenaria atrica* Weibchen identifizierte Verbindungen. Die Verbindungen sind unterteilt in Hauptkomponenten (H: > 5 %), Nebenkomponten (N: > 0.5 %), und Spurenkomponenten (S: < 0.5 % der Gesamtfläche im Totalionenstromchromatogramm). Zur besseren Unterscheidung von den übrigen im Text erwähnten nummerierten Verbindungen ist den Seidenextrakt-komponenten ein „S“ vorangestellt. In der Tabelle sind die underivatisierten Inhaltsstoffe angegeben.

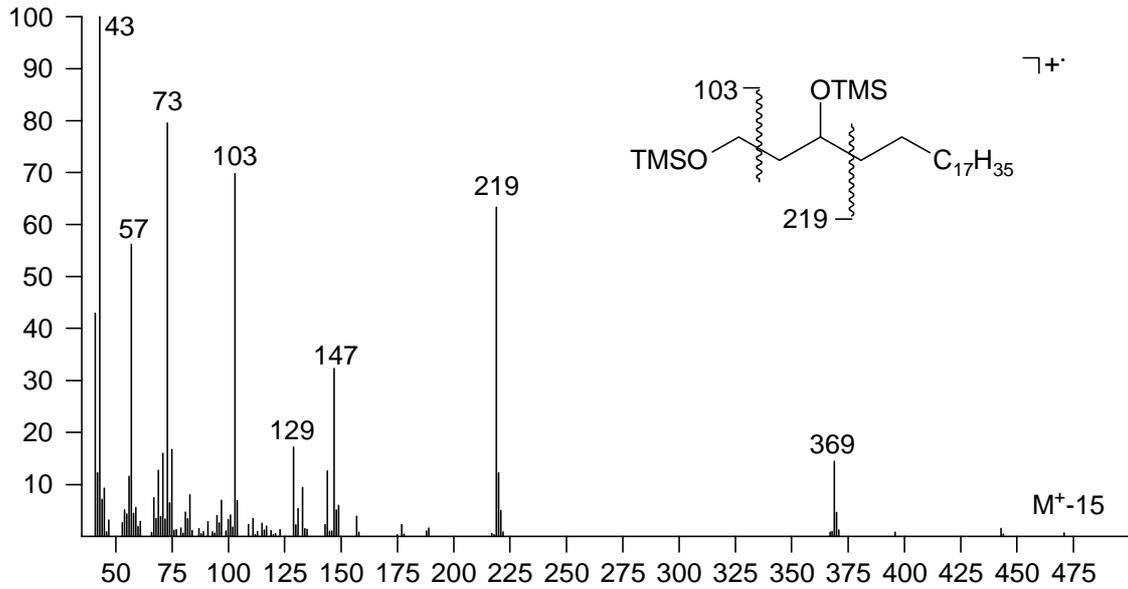
<b>S1</b>	N-Ethyl-bis-N-trimethylsilylamin (Artefakt)	H
<b>S2</b>	6-Methyl-3-heptanon ( <b>33</b> )	S
<b>S3</b>	1, 2-Propandiol	N
<b>S4</b>	Milchsäure	H
<b>S5</b>	Hexansäure	N
<b>S6</b>	Benzylalkohol	S
<b>S7</b>	1-Octanol	S
<b>S8</b>	Glycerin	H
<b>S9</b>	Octansäure	S
<b>S10</b>	Nonansäure	N
<b>S11</b>	2,2-Dimethyl-1-(2-hydroxy-1-methylethyl)-propyl-2-methylpropanoat (Artefakt)	S
<b>S12</b>	3-Hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl-2-methylpropanoat (Artefakt)	H
<b>S13</b>	Decansäure	S
<b>S14</b>	1-(1,1-Dimethylethyl)-2-methyl-1,3-(2-methyl)-propanoat (Artefakt)	S
<b>S15</b>	Undecansäure	N
<b>S16</b>	Tridecan	S
<b>S17</b>	Ionol (Artefakt)	N
<b>S18</b>	Dodecansäure	H
<b>S19</b>	Phthalat (Artefakt)	N
<b>S20</b>	Tridecansäure	N
<b>S21</b>	Pentadecan	H
<b>S22</b>	5-Methylpentadecan	N
<b>S23</b>	Hexadecan	H

<b>S24</b>	Tetradecensäure	S
<b>S25</b>	Tetradecansäure	H
<b>S26</b>	1-Hexadecanol	N
<b>S27</b>	Hexadecensäure	N
<b>S28</b>	Hexadecansäure	H
<b>S29</b>	1-Octadecanol	H
<b>S30</b>	Octadecensäure	H
<b>S31</b>	Octadecansäure	N
<b>S32</b>	2-Nonadecanon	N
<b>S33</b>	Tricosan	S
<b>S34</b>	1-Nonadecanol	H
<b>S35</b>	2,3-Dihydroxypropyltetradecanoat ( <b>64</b> )	S
<b>S36</b>	1-Docosen-3-on ( <b>67</b> )	N
<b>S37</b>	1-Eicosanol ( <b>70</b> )	N
<b>S38</b>	2-Heneicosanon ( <b>69</b> )	S
<b>S39</b>	Eicosansäure	N
<b>S40</b>	Pentacosan	H
<b>S41</b>	1-Docosanol	H
<b>S42</b>	2-Tricosanon	N
<b>S43</b>	2,3-Dihydroxypropylhexadecanoat ( <b>65</b> )	H
<b>S44</b>	Heineicosan-1,3-diol ( <b>61</b> )	N
<b>S45</b>	1-Tricosanol	N
<b>S46</b>	Phthalat (Artefakt)	N
<b>S47</b>	Docosansäure	N
<b>S48</b>	Docosan-1,3-diol ( <b>60</b> )	H
<b>S49</b>	Heptacosan	H
<b>S50</b>	1-Hydroxy-3-docosanon ( <b>68</b> )	N
<b>S51</b>	1-Tetracosanol	N
<b>S52</b>	2,3-Dihydroxypropyloctadecanoat ( <b>66</b> )	H
<b>S53</b>	3-Methylheptacosan	N
<b>S54</b>	Tricosan-1,3-diol ( <b>62</b> )	N
<b>S55</b>	Octacosan	N
<b>S56</b>	Squalen	N

<b>S57</b>	Tetracosan-1,3-diol ( <b>63</b> )	H
<b>S58</b>	Nonacosan	N
<b>S59</b>	1-Hexacosanol	N
<b>S60</b>	1-Octacosanol	N
<b>S61</b>	Cholesterol	N

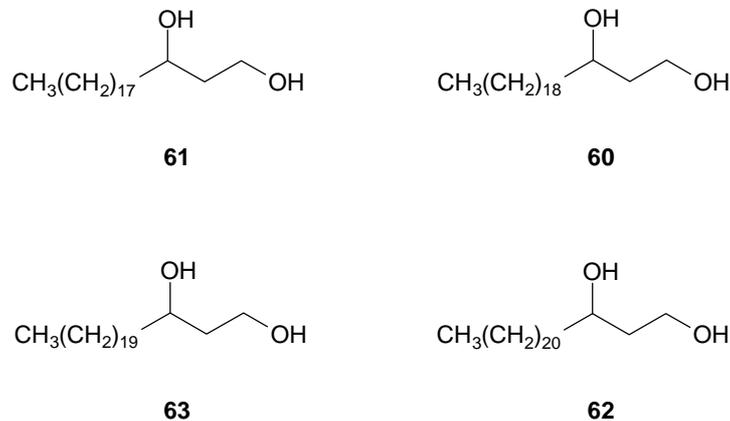
---

In den methanolischen Extrakten der Seide dominieren geradzahlige Fettsäuren und Alkohole. Neben den üblichen Fettsäuren ( $C_{14}$ ,  $C_{16}$  und  $C_{18}$ ) konnten auch verschiedene Säuren mit Kettenlängen von  $C_6$ - $C_{12}$  sowie Milchsäure identifiziert werden. Auffällig sind vier spät eluierende homologe Verbindungen (**S44**, **S48**, **S54** und **S57**), die sich jeweils um 14 Masseneinheiten, also vermutlich einer  $CH_2$ -Gruppe, unterscheiden. Die Verbindungen konnten in den underivatisierten Proben nicht nachgewiesen werden. In den Massenspektren treten die für silylierte Verbindungen typischen Fragmentationen  $m/z = 73$  (TMS),  $m/z = 89$  (OTMS) und  $m/z = 103$  ( $CH_2OTMS$ ) auf sowie  $m/z = 147$  ( $(CH_3)_2SiOTMS$ ), die durch verschiedene Reaktionen entstehen können [132]. Besonders auffällig ist das in allen vier Spektren vorhandene Fragmentation  $m/z = 219$ , das auf ein Bis-trimethylsilyl-1,3-diol ( $TMSOCHCH_2CH_2OTMS = 219$ ) hinweist. Im höheren Massenbereich dominiert bei **S48**, der Hauptkomponente dieser vier Verbindungen, das Fragmentation  $m/z = 369$ . Die höchste detektierbare Masse ist  $m/z = 471$ , was auf eine Molekülmasse von 486 hindeutet, da in Massenspektren von silylierten Verbindungen gewöhnlich nur das Ion  $M^+ - 15$  sichtbar ist. In den Spektren der anderen drei Verbindungen sind diese Fragmentationen um jeweils 14 Masseneinheiten verschoben. Unter der Annahme, dass es sich bei dem Fragmentation  $m/z = 369$  um die Abspaltung  $M^+ - 117$  ( $TMSOCH_2CH_2$ ) handelt, ergibt sich der in Abbildung **7.2.** gezeigte Strukturvorschlag Docosan-1,3-diol (**60**).



**Abb. 7. 2.** EI-Massenspektrum der Extraktkomponente **S48**, Strukturvorschlag **60** und angenommene Fragmentierung.

In Analogie dazu wurden die homologen Verbindungen als Heineicosan-1,3-diol (**61**), Tricosan-1,3-diol (**62**) und Tetracosan-1,3-diol (**63**) identifiziert, wobei die geradzahliges Verbindungen **60** und **63** in deutlich höherer Konzentration auftreten als die ungeradzahliges Verbindungen **61** und **62**.

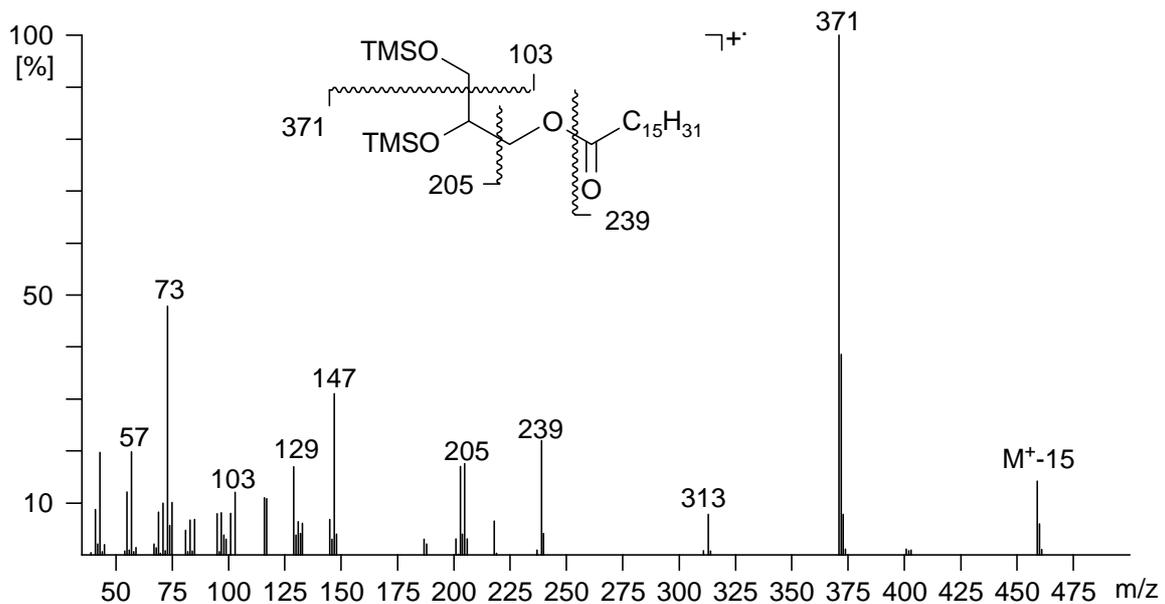


**Abb. 7. 3.** Strukturvorschläge für die Extraktkomponenten **S44**, **S48**, **S54** und **S57**.

Weitere bislang noch nicht auf Spinnseide identifizierte Verbindungen sind die drei homologen Substanzen **S35**, **S43** und **S52**. Auch diese Verbindungen sind in underivatisierten GC-MS-Proben nicht detektierbar. Der untere Bereich der Massenspektren zeigt die typischen Fragmentationen silylierter Verbindungen, die auch schon bei den 1,3-Diolen auftraten<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> m/z = 73, m/z = 89, m/z = 103, m/z = 147.

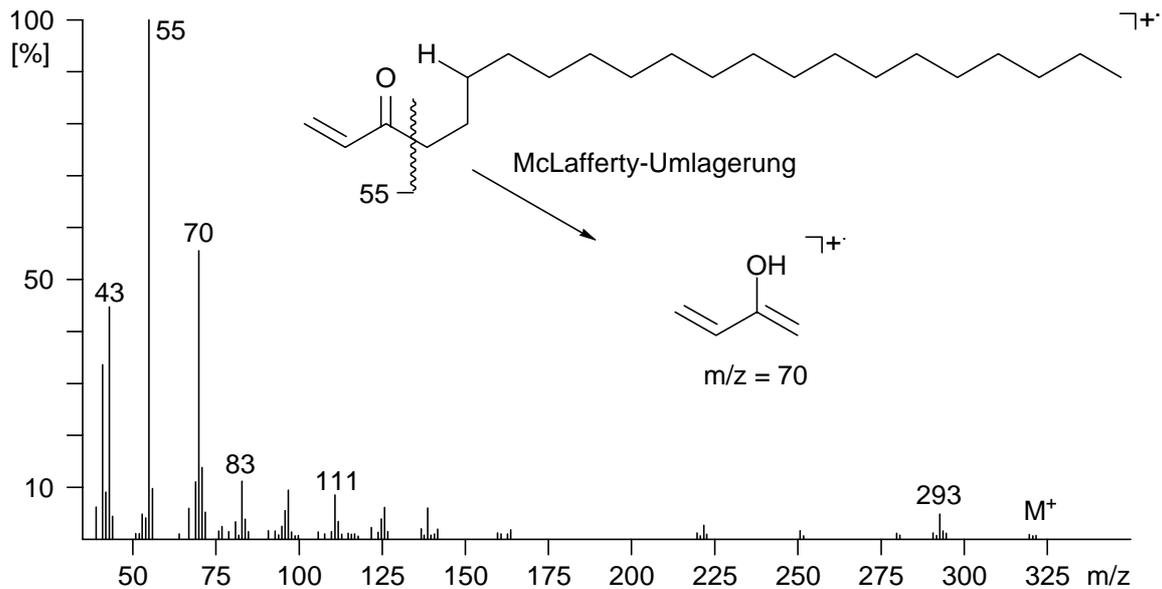
Ausgehend davon, dass die höchste detektierbare Masse  $M^+ - 15$  ist, haben die Verbindungen ein Molekulargewicht von 446, 474 bzw. 502. Sie unterscheiden sich also jeweils um 28 Masseneinheiten, was vermutlich zwei  $\text{CH}_2$ -Gruppen entspricht. *Base-Peak* im Spektrum von **S43** ist  $m/z = 371$ . Das entspricht einer Abspaltung  $M^+ - 103$  ( $\text{TMSOCH}_2$ ), ausgehend von der Molekülmasse 474. Die entsprechenden Fragmentionen  $m/z = 343$  und  $m/z = 399$  finden sich auch in den Spektren von **S35** und **S52** wieder. In allen drei Verbindungen ist das Fragmention  $m/z = 205$ , welches auf ein bis-trimethylsilyliertes 1,2-Diol ( $\text{TMSOCH}_2\text{CHOTMS} = 205$ ) hindeutet, vorhanden. Das Massenspektrum von **S43** weist außerdem ein Fragmention  $m/z = 239$  auf und die entsprechend verschoben Peaks finden sich in den Spektren der homologen Verbindungen **S35** und **S52**. Dieses Fragmention tritt auch im Massenspektrum der Hexadecansäure auf, wo es durch  $\alpha$ -Spaltung entsteht. Aufgrund dieser Interpretation wurde für die drei Verbindungen angenommen, dass es sich um die Monoglycerinester der Tetradecan-, Hexadecan und Octadecansäure (**64**, **65** und **66**) handelt. Das Massenspektrum von **S43** und der angenommene Zerfall der Verbindung **65** ist in Abbildung 7.4. dargestellt.



**Abb. 7.4.** EI-Massenspektrum und Strukturvorschlag für Verbindung **65** sowie angenommene Fragmentierung.

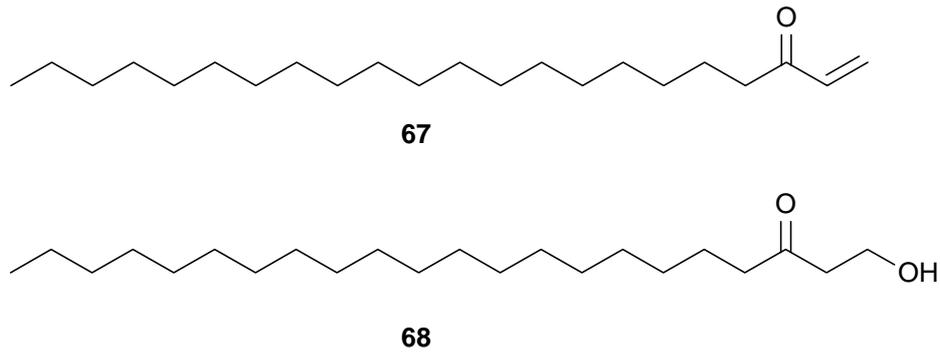
Darüber hinaus zeigen die Gaschromatogramme der Seidenextrakte noch zwei weitere unbekannte Verbindungen. Dabei handelt es sich um die beiden spät eluierenden Verbindungen **S36** und **S50**. Während **S50** nur in mit MSTFA derivatisierten Proben detektierbar ist, findet sich **S36** auch in nicht modifizierten Proben. Das Massenspektrum der Verbindung **S36** zeigt als höchstes sichtbares Fragmention  $m/z = 322$ . Intensiver ist allerdings das Fragmention  $m/z$

=293, welches sich durch die Abspaltung von 29 amu aus dem postulierten Molekülion  $M = 322$  ergibt. *Base-Peak* ist  $m/z = 55$  und ein weiteres intensives Fragment ist  $m/z = 70$ . Das gemeinsame Auftreten dieser beiden Fragmentionen kann als Hinweis auf ein Vinylketon gewertet werden,  $m/z = 55 = C_3H_5O$  entsteht durch  $\alpha$ -Spaltung und  $m/z = 70 = C_4H_6O$  lässt sich durch eine McLafferty-Umlagerung erklären. Dementsprechend wurde für die unbekannte Verbindung **S36** der in Abbildung 7.5. gezeigte Strukturvorschlag 1-Docosen-3-on (**67**) postuliert.

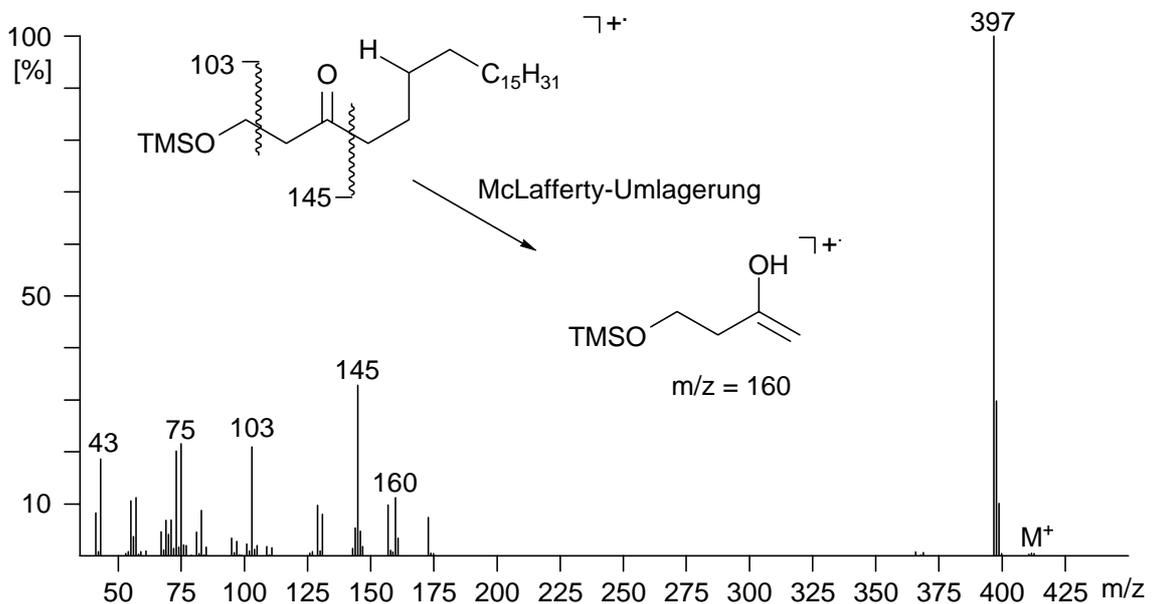


**Abb. 7. 5.** EI-Massenspektrum und postulierte Struktur und Fragmentierung der Verbindung **S36**.

Im EI-Massenspektrum der Verbindung **S50** ist der *base-Peak* und gleichzeitig das Fragmention mit der höchsten Masse  $m/z = 397$ , was auf eine Molekülmasse von 412 schließen lässt. Auffällig ist auch das intensive Fragmention  $m/z = 145$ , welchem die Zusammensetzung  $C_3H_4O + TMS$  zugeschrieben wurde. Das nicht vorhandensein des Fragmentions  $m/z = 147$  ist ein Hinweis darauf, dass das Molekül nur eine Trimethylsilylgruppe enthält. Zieht man 72 amu (TMS) von der Molekülmasse 412 ab, würde die unterivatisierte Verbindung eine Molmasse von 340 haben. Somit beträgt die Molekülmasse genau 18 Masseneinheiten mehr als die des beschriebenen Vinylketon **67**. Die Vermutung liegt also nahe, dass es sich bei der unbekanntem Substanz **S50** um die entsprechende hydroxylierte Verbindung **68** handelt.



**Abb. 7. 6.** Strukturvorschläge für die unbekanntenen Verbindungen **S36** und **S50** aus Seidenextrakten von *Tegenaria atrica*.

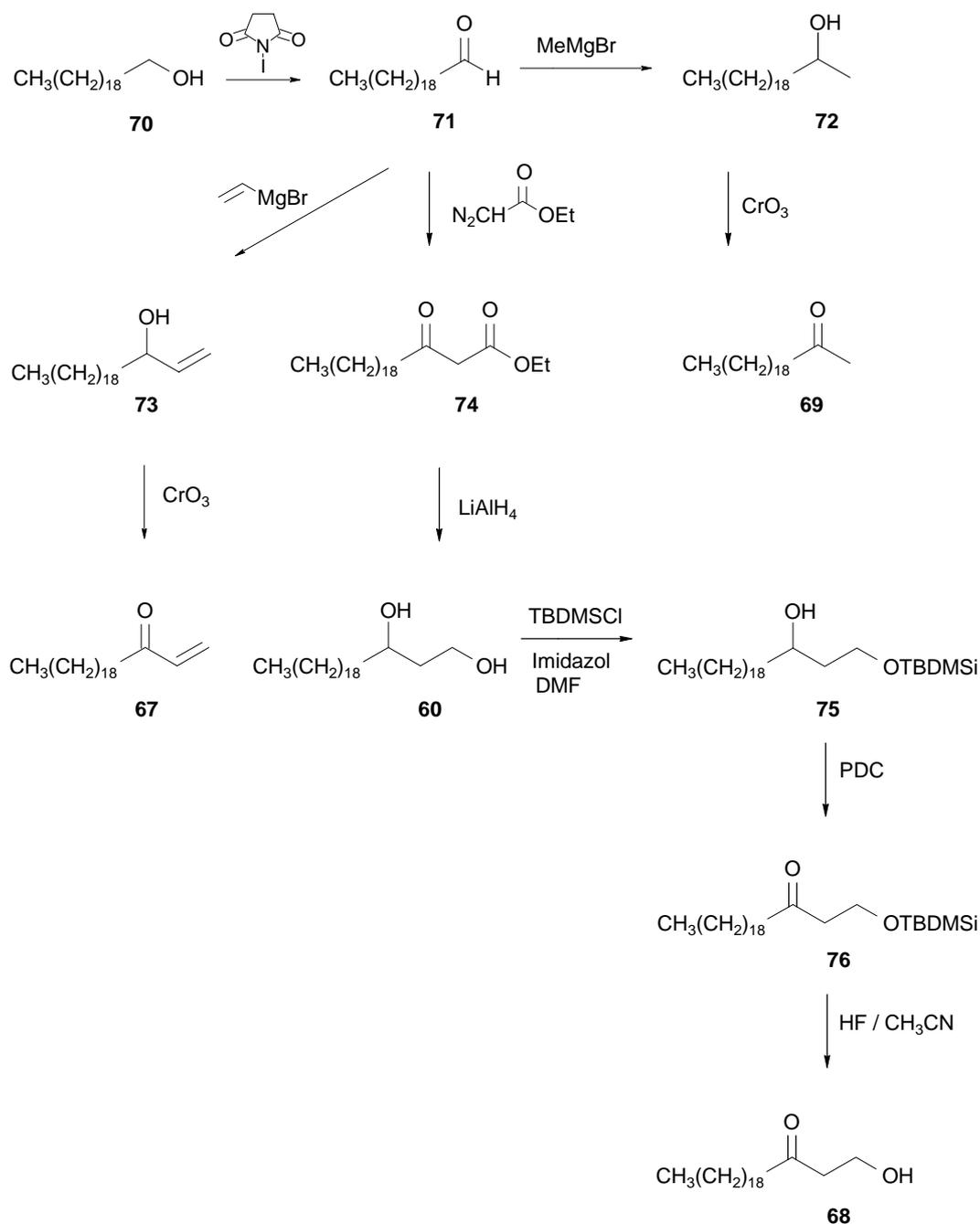


**Abb. 7. 7.** EI-Massenspektrum und angenommene Fragmentierung der Verbindung **68**.

## 7. 2. Synthesen einiger auf der Seide von *Tegenaria atrica* identifizierten Verbindungen

Es wurden exemplarisch einige der identifizierten Verbindungen synthetisiert. Zuerst wurde die Verbindung **S38**, für die aufgrund der gaschromatographischen Retentionszeit und des Massenspektrums 2-Heneicosanon (**69**) als Struktur vorgeschlagen wurde, hergestellt. Hierzu wurde Eicosanol (**70**) mit *N*-Iodsuccinimid zu dem entsprechenden Aldehyd **71** oxidiert [133]. Dieser wurde in einer Grignardreaktion mit Methyljodid zum sekundären Alkohol **72**

umgesetzt und dann mit Jones-Reagenz zu dem gewünschten Methylketon **69** oxidiert [134, 135]. Das Vinylketon **67** wurde ebenfalls aus Eicosanal (**71**) durch eine Grignardreaktion mit Vinylmagnesiumbromid zu dem Vinylalkohol **73** umgesetzt, aus dem durch Jones-Oxidation 1-Docosen-3-on (**67**) erhalten wurde.



**Abb. 7. 8.** Darstellung von 2-Heneicosanon (**69**), 1-Docosen-3-on (**67**), racemischem Docosan-1,3-diol (**60**) und 1-Hydroxy-3-docosanon (**68**).

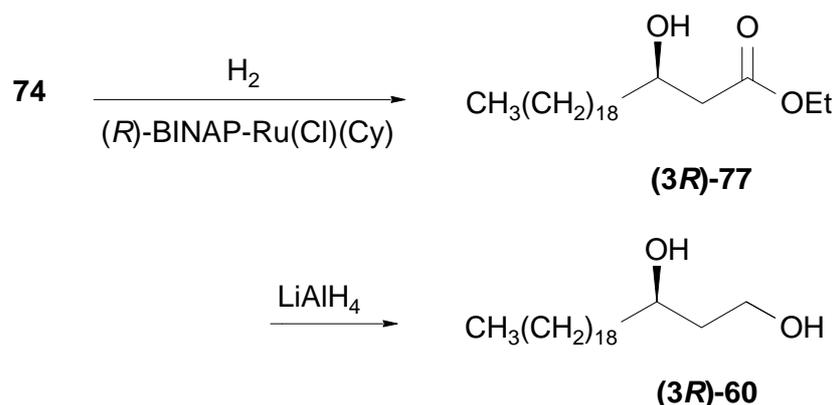
1,3-Diole lassen sich leicht durch die Reduktion von  $\beta$ -Ketoestern erhalten. Diese sind durch verschiedene Methoden zugänglich. Sehr häufig ist in der Literatur die sogenannte Dianionmethode beschrieben, bei der Acetessigsäureethylester zweifach deprotoniert und anschließend mit einem Alkylhalogenid zu dem  $\beta$ -Ketoester umgesetzt wird [136]. Weniger aufwendig und durch die Stickstoffentwicklung gut zu verfolgen ist eine neuere Methode, mit der Aldehyde mit Diazoessigsäureethylester unter Katalyse von Zinn(II)chlorid zu den entsprechenden  $\beta$ -Ketoester umgesetzt werden [137]. Diese Methode liefert in guten Ausbeuten saubere Produkte. Auf diese Weise konnte aus Eicosanal (**71**) 3-Oxodocosan-säureethylester (**74**) hergestellt werden. Reduktion von **74** mit Lithiumaluminiumhydrid liefert das racemische Docosan-1,3-diol (**60**). Die Synthese des erwartungsgemäß labilen Hydroxyketons **68** erwies sich als schwierig. Das zunächst verfolgte Synthesekonzept zur Darstellung des Hydroxyketons **68** nach der Seebachschen Dithian-Methode scheiterte. Hierzu sollte Eicosanal (**71**) mit 1,3-Propandithiol zu dem entsprechendem Dithian umgesetzt werden [138]. Diese Reaktion gelang mit einer moderaten Ausbeute von 60 %. Anschließend wurde das Dithian mit *tert*-Butyllithium deprotoniert und bei -25 °C mit Oxiran hydroxyethyliert [139]. Der Synthesepfad sah dann eine neutrale Quecksilberhydrolyse zur Deblockierung vor. Leider scheiterte bereits die Hydroxyethylierung. Vermutlich ist diese Methode für so langkettige Verbindungen ungeeignet, da bei den tiefen Temperaturen, bei denen die Reaktion durchgeführt wird, immer Löslichkeitsprobleme auftreten. Ein neueres Verfahren zur Darstellung von  $\beta$ -Hydroxyketonen ist von Kirihara *et al.* beschrieben [140]. Bei dieser Methode werden tertiäre Cyclopropylsilylether mit katalytischen Mengen von Vanadium(III)acetylacetonat in einer Sauerstoffatmosphäre zu den entsprechenden  $\beta$ -Hydroxyketonen oder  $\beta$ -Diketonen umgesetzt. Die Herstellung eines silylierten Eduktes schien bei dieser langkettigen Verbindung nicht ganz unproblematisch zu sein. Als Alternative zu diesen Synthesen wurde ein Konzept ausgehend von dem 1,3-Diol (**60**) verfolgt, da hier das Edukt bereits vorhanden war. Hierzu wird zunächst die primäre Hydroxygruppe des Diols **60** als TBDMS-Ether **75** geschützt [141, 142]. Die ersten Versuche dieses Syntheseschrittes scheiterten, vermutlich weil noch vorhandenes TBDMSCl sich während der Aufarbeitung nicht vollständig zersetzt hatte und dann im späteren Reinigungsschritt die freigesetzte Salzsäure das blockierte Produkt wieder entschützt hat. Normalerweise wird die Reaktion mit einem geringen Überschuß von TBDMSCl durchgeführt. In diesem Fall aber scheint es sinnvoll, äquimolar zu arbeiten, da bei dieser Kettenlänge der Umsatz nicht vollständig ist und so verhindert wird, dass eine größere Menge an

TBDMSCl bestehen bleibt. Zur vollständigen Zerstörung des Chlorids wurde die Lösung über Nacht mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gerührt<sup>2</sup>, anschließende Reinigung ergab das selektiv an der primären Hydroxygruppe geschützte Produkt **75**. Im folgenden Schritt wird die sekundäre Hydroxygruppe mit PDC oxidiert und so die Ketoverbindung **76** dargestellt [143]. Die Deblockierung erfolgte mit Flußsäure in Acetonitril bei -5 °C [144]. Diese Variante stellt eine sehr milde und damit für den vorliegenden Fall sehr geeignete Methode zum Entfernen von Silylschutzgruppen dar. Die Versuche, andere Schutzgruppen, z.B. THP-Ether einzusetzen scheiterten, da sich bei der Deblockierung sofort das dehydratisierte Vinylketon **67** bildete.

Von Docosan-1,3-diol (**60**) wurden selektiv auch die (*R*)- und (*S*)-Enantiomere synthetisiert. Das Chiralitätszentrum konnte dabei durch eine Hydrierung des  $\beta$ -Ketoester **74** an einem chiralen Katalysator eingeführt werden. Als Katalysator wurde dabei [R-(+)-2,2'-Bis-(diphenylphosphino)-1,1'-binaphtalin]-chloro-(*p*-cymol)-rutheniumchlorid ((*R*)-BINAP-Ru) bzw. (*S*)-BINAP-Ru eingesetzt [145, 146]. Beim Einsatz von (*R*)-BINAP-Ru entsteht der (*3R*)-3-Hydroxydocosansäureethylester (*3R*)-(**77**), während dementsprechend der (*S*)-Katalysator zur (*S*)-Konfiguration im Produkt führt. Die Enantiomerenüberschüsse für diese Reaktion sind in der Literatur mit mindestens 97 % angegeben, allerdings werden in der Literatur keine Beispiele für die Reaktion mit langkettigen Kohlenwasserstoffresten wie in dem hier dargestellten Fall beschrieben. Versuche, die Enantiomeren nach verschiedenen Derivatisierungsmethoden gaschromatographisch an einer chiralen Phase zu trennen, erwiesen sich als schwierig. Weder das TMS- noch das TFA-Derivat ließ sich an einer chiralen Phase chromatographieren [147, 148]. Erst nach der Umsetzung mit (*S*)-2-Acetoxypropionylchlorid konnten die entstandenen Diastereomere gaschromatographisch an einer unpolaren Phase getrennt werden und so der Enantiomerenüberschuß bestimmt werden [149]. Die Reduktionen mit den chiralen Katalysatoren lieferte die jeweiligen Enantiomere mit einem ee von ca. 80 % ((*3S*)-**77**: ee = 80 %,  $[\alpha]_D^{20} = +84.4$  (c=1.8 in Dichlormethan); (*3R*)-**77**: ee = 82 %,  $[\alpha]_D^{20} = -83.8$  (c = 1.7, Dichlormethan)).

In einer anschließenden zweiten Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid konnte aus den  $\beta$ -Hydroxyestern (*3R*)-**77** und (*3S*)-**77** (*3R*)- bzw. (*3S*)-Docosan-1,3-diol (**60**) hergestellt werden.

<sup>2</sup> In der in der Literatur beschriebenen Methode wird zur Aufarbeitung höchsten 30 Minuten mit Hydrogencarbonatlösung gerührt.

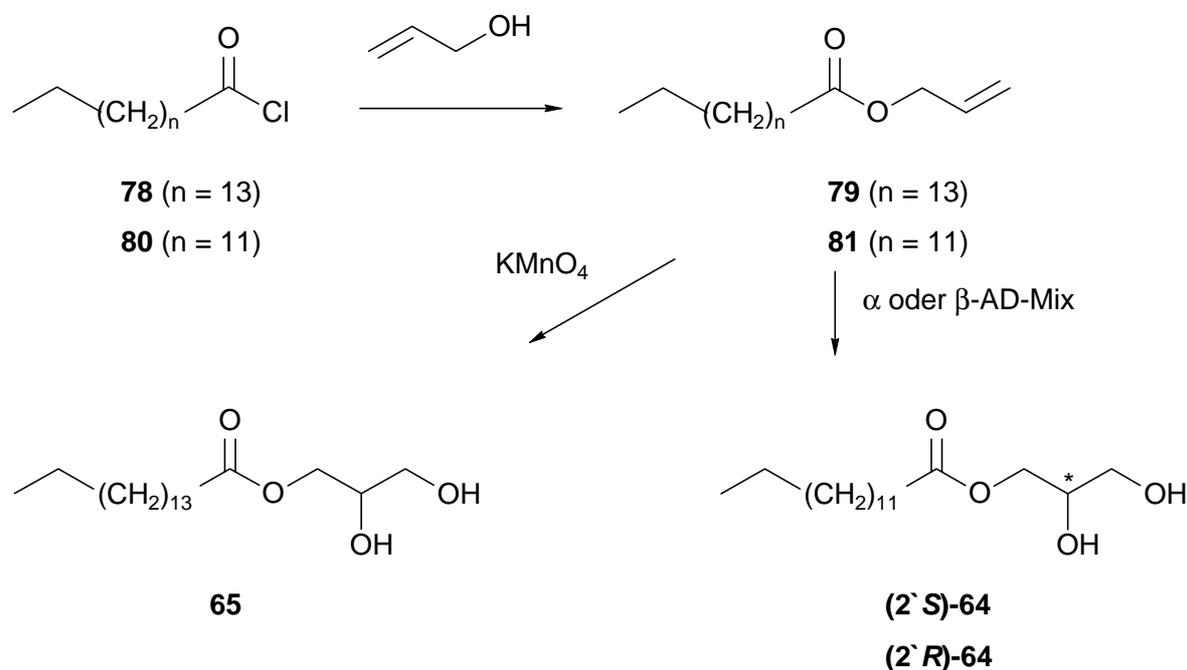


**Abb. 7. 9.** Enantioselektive Synthese von (3R)-Docosan-1,3-diol (3R)-60).

Die gaschromatographische Bestimmung der Enantiomerenüberschüsse gelang nach der Veresterung der primären Hydroxygruppe mit Mosher's Reagens ((S)-(+)- $\alpha$ -Methoxy- $\alpha$ -trifluormethylphenylethylsäurechlorid) und der anschließenden Trennung der Diastereomeren an einer unpolaren Phase [150]. Erwartungsgemäß hatten sich die Enantiomerenüberschüsse im Vergleich zu denen der  $\beta$ -Hydroxyester **77** nicht verändert ((3R)-**60**:  $[\alpha]_D^{20} = -33.67$  (c = 1.4, Dichlormethan); (3S)-**60**:  $[\alpha]_D^{20} = 33.99$  (c = 1.4, Dichlormethan)).

Zur Absicherung des Strukturvorschlages der Monoacylglyceride **64**, **65** und **66** wurde exemplarisch 2,3-Dihydroxypropylhexadecanoat (**65**) racemisch synthetisiert. Synthesen von Monoacylglyceriden sind in der Literatur gut dokumentiert [151, 152]. Die Originalmethode von Fischer *et al.* mit Glycerin als Ausgangsprodukt und ähnliche Varianten sind recht aufwendig, und man erhält häufig das entsprechende 2-Acylglycerin als Nebenprodukt [153]. Eine neuere Methode ist die Hydroxylierung der Allylster mit Cetyltrimethylammoniumpermanganat [154]. Im Fall der vorliegenden Arbeit wurde, trotz schlechterer Ausbeuten, der Allylster aus zeitlichen Gründen mit Kaliumpermanganat hydroxyliert. Hierzu wurde zunächst Hexadecansäurechlorid (**78**) mit Allylalkohol verestert und das entstandene Produkt **79** mit Kaliumpermanganat bishydroxyliert [96]. Die Hydroxylierung von Alkenen mit Kaliumpermanganat liefert die Dirole im allgemeinen nur in schlechten Ausbeuten, ist aber sehr einfach durchzuführen und ungiftig im Gegensatz zur Verwendung von Osmiumtetroxid. Einen Zugang zu den optisch aktiven Diolen stellt die asymmetrische Dihydroxylierung mit  $\alpha$ - und  $\beta$ -AD-Mix dar [155, 156, 157, 158, 159]. Diese Reagenzien sind Gemische aus Spuren von katalytisch wirksamem Kaliumosmat, den Basen Dihydroquinidin ( $\alpha$ -AD-Mix) oder Dihydroquinin ( $\beta$ -AD-Mix) und Kaliumferrocyanid und Kaliumcarbonat. Bei monosubstituierten Alkenen können mit dieser Methode Enantiomerenüberschüsse von *ca.*

54-90 % erreicht werden [160]. Langkettige Edukte benötigen aber sehr lange Reaktionszeiten und sind nur in schlechter Ausbeute (*ca.* 4 %) erhältlich. Aus 2-Propenyl-tetradecanoat (**81**) wurden so beide Enantiomere von 2,3-Dihydroxypropyltetradecanoat (**64**) erhalten.



**Abb. 7. 10.** Synthese des racemischen Monoglycerinester **65** und der Enantiomere von **64**.

Eine Voraussage über die zu erwartende Stereochemie dieser Reaktion ist schwierig. Das Modell, das für die Voraussage genutzt wird, basiert lediglich auf empirischen Daten. Unterschiedliche Substituenten können verschiedene Interaktionen zwischen dem Substrat und dem Katalysator bewirken und so die Stereochemie beeinflussen. Am zuverlässigsten sind die Voraussagen bei *trans*-disubstituierten und monosubstituierten Alkenen. Nach dem Modell ist bei dem Einsatz des  $\beta$ -AD-Mixes das (*S*)-Enantiomer zu erwarten, während das (*R*)-Enantiomer durch die Katalyse mit  $\alpha$ -AD-Mix erhalten wird [160]. Ähnlich wie bei den Diolen traten auch bei diesen Verbindungen Schwierigkeiten bei der gaschromatographischen Bestimmung der Enantiomerenüberschüsse auf. Der Ester **64** wurde mit MSTFA, TFA und 2,2-Dimethoxypropan derivatisiert und an diversen chiralen Trennphasen untersucht. Die Enantiomere konnte auf diese Weise nicht getrennt werden. Erst eine Derivatisierung mit (*S*)-2-Acetoxypropionylchlorid und der anschließenden Trennung der Diastereomeren auf einer unpolaren Säule brachte den gewünschten Erfolg. Dabei zeigte sich, dass das (*S*)-Enantiomer aus der Reaktion mit  $\beta$ -AD-Mix einen ee von 82 % ( $[\alpha]_D^{20} = 3.1$  ( $c = 0.4$ , Diethylether)) und (*R*)-**64** einen ee von 84 % ( $[\alpha]_D^{20} = -3.0$  ( $c = 0.4$ , Diethylether)) hat.

### 7.3. Analyse der Pentanextrakte der Seide von *Tegenaria atrica*

Zur Untersuchung der Kohlenwasserstoffe und eventueller Veränderungen der Zusammensetzung auf den Netzen und der Cuticula wurden auch Pentanextrakte der Seide und der Tiere gaschromatographisch-massenspektrometrisch an unpolaren Trennphasen untersucht. Erwartungsgemäß dominieren in beiden Extrakten geradkettige und monomethylverzweigte Kohlenwasserstoffe (C<sub>14</sub>-C<sub>39</sub>).

**Tabelle 7.3.** Inhaltsstoffe von Cuticula- und Netzpentanextrakten von rezeptiven und nicht rezeptiven Weibchen von *Tegenaria atrica*. Die Verbindungen sind unterteilt in Hauptkomponenten (H: > 5 %), Nebenkomponten (N: > 0.5 %), und Spurenkomponenten (S: < 0.5 % der Gesamtfläche im Totalionenstromchromatogramm). Die Substanzen sind systematisch angeordnet und nicht nach der Retentionszeit.

Substanzen	rezeptive Weibchen		nicht rezeptive Weibchen	
	Netz	Cuticula	Netz	Cuticula
Tetradecan	H	S	N	N
Pentadecan	N	S	N	N
Hexadecan	N	S	N	H
Heptadecan	N	N	N	N
Octadecan	N	N	N	H
Octadecen	S	-	S	-
Nonadecan	N	S	S	S
Eicosan	N	S	N	N
Eicosen	S	-	S	-
Heneicosan	H	S	H	S
Docosan	N	N	N	N
Tricosan	H	S	N	N
Tetracosan	H	N	N	N
Pentacosan	H	H	H	H
3-Methylpentacosan	N	N	H	S
Hexacosan	H	H	H	H
2-Methylhexacosan	N	S	N	S
3-Methylhexacosan	-	N	-	S

Heptacosan	H	H	H	H
2-Methylheptacosan	H	H	H	H
3-Methylheptacosan	N	N	H	N
Octacosan	N	N	N	H
2-Methyloctacosan	-	N	-	N
3-Methyloctacosan	-	N	-	N
Nonacosan	N	S	N	N
2-Methylnonacosan	-	N	-	N
3-Methylnonacosan	-	N	-	S
5-Methylnonacosan	-	H	-	N
7-Methylnonacosan	-	H	-	N
11-+ 9-Methylnonacosan	-	N	-	N
Triacontan	N	N	S	N
2-Methyltriacontan	-	N	-	S
3-Methyltriacontan	-	S	-	S
14- + 12- + 10-Methyltriacontan	-	N	-	S
Hentriacontan	N	S	H	N
2-Methylhentriacontan	N	N	N	S
3-Methylhentriacontan	-	S	-	S
5-Methylhentriacontan	-	N	-	S
7-Methylhentriacontan	-	N	-	S
15- + 13-Methylhentriacontan	-	S	-	S
11- + 9-Methylhentriacontan	-	S	-	S
Dotriacontan	S	S	S	S
2-Methyldotriacontan	-	N	-	S
3-Methyldotriacontan	-	S	-	S
Tritriacontan	-	N	-	S
17- + 15-Methyltritriacontan	-	S	-	S
13- + 11-Methyltritriacontan	-	S	-	S
13,17-Dimethyltritriacontan	-	S	-	S
15,19-Dimethyltritriacontan	-	S	-	S
Tetratriacontan	-	N	-	S
Pentatriacontan	-	N	-	S

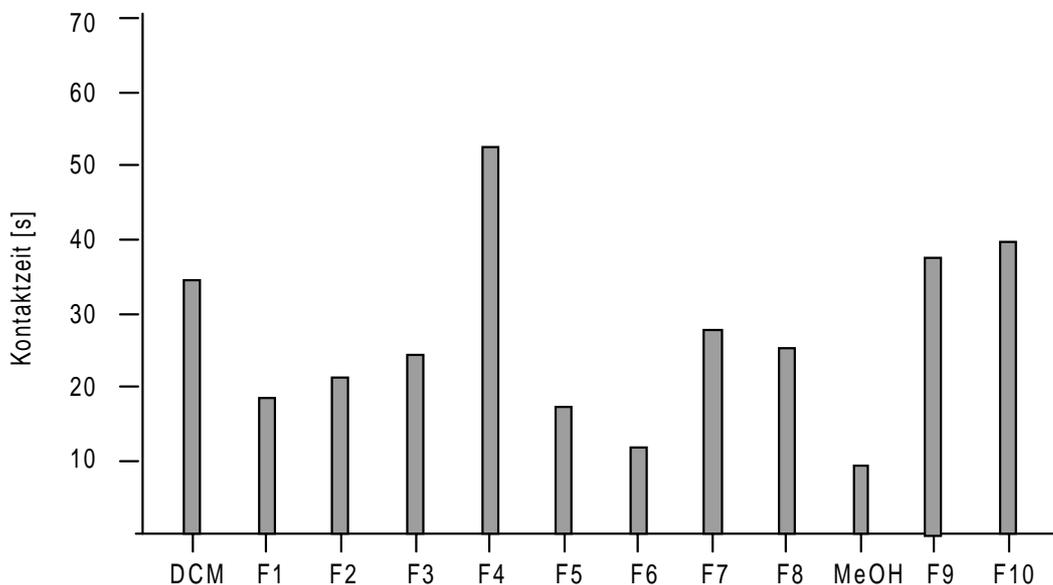
13- + 11-Methylpentatriacontan	-	S	-	S
17- + 15-Methylpentatriacontan	-	S	-	S
Hexatriacontan	-	S	-	S
Heptatriacontan	-	S	-	S
13- + 11-Methylheptatriacontan	-	S	-	S
17- + 15-Methylheptatriacontan	-	S	-	S
Octatriacontan	-	N	-	S
Nonatriacontan	-	S	-	S
13- + 11-Methylnonatriacontan	-	S	-	S
17- + 15-Methylnonatriacontan	-	S	-	S

Ein qualitativer Vergleich zwischen den Pentanextrakten der Seide und der Cuticula zeigt in weiten Teilen Übereinstimmung. Gesättigte unverzweigte Kohlenwasserstoffe sind die Hauptkomponenten sowohl der Cuticula als auch der Netzextrakte. Zu erwähnen sind hier Pentacosan, Hexacosan und Heptacosan, die in allen Extrakten in großen Mengen vorkommen. Auffällig ist das geringere Vorkommen von Monomethylalkanen ab einer Kettenlänge von  $C_{28}$  auf der Seide im Gegensatz zur Cuticula. An Position zwei oder drei verzweigte Monomethylalkane der Kettenlänge  $C_{25}$ ,  $C_{26}$  und  $C_{27}$  gehören dagegen ebenfalls zu den Hauptkomponenten beider Extrakte. Die quantitative Auswertung zeigt die deutlich geringere Konzentration von Monomethylalkanen auf der Cuticula von unrezeptiven Weibchen als auf der von rezeptiven Weibchen. Während der prozentuale Anteil der Monomethylalkane aller Verbindungen des Pentanextraktes bei rezeptiven Weibchen 44 % ausmacht, beträgt er bei nicht rezeptiven Weibchen nur 27 % [131]. Beispiele hierfür sind das deutlich geringere Vorkommen von 5-Methylhentriacontan und 3-Methylpentacosan in den Cuticularextrakten der nicht rezeptiven Weibchen.

#### **7.4. Fraktionierung von Extrakten der Seide rezeptiver *Tegenaria atrica* Weibchen**

In den Methanolextrakten, die zur Untersuchung eines bzw. mehrerer potentieller Signalstoffe zur Anlockung eines Geschlechtspartners analysiert wurden, konnten eine Vielzahl verschiedener, möglicherweise verhaltensmodifizierender, Substanzen identifiziert werden.

Zur Einschränkung der möglichen aktiven Verbindungen wurde deshalb im Mikromaßstab ein natürlicher methanolischer Extrakt der Spinnseide von rezeptiven Weibchen säulenchromatographisch an Kieselgel (930 mg) mit Pentan/Dichlormethan/Methanol-Gemischen als Elutionsmittel mit steigender Polarität fraktioniert. Die säulenchromatographische Vortrennung ist durch die Anzahl an erzeugten Fraktionen aufgrund des relativen hohen zeitlichen Aufwandes für die Biotests nicht praktikabel. Deshalb wurden die hergestellten 32 Fraktionen zu 10 gröberen Fraktionen vereinigt, die dementsprechend eine größere Anzahl verschiedener Substanzen enthielten. Diese 10 Fraktionen wurden dann in einem Biotest von Dr. M. Trabalon untersucht, um so die mögliche aktive Verbindung zu erfassen. Dabei zeigte sich das in der folgenden Abbildung dargestellte Ergebnis.



**Abb 7. 11.** Ergebnisse der Biotests der einzelnen Fraktionen und Kontrolltests mit reinem Dichlormethan (DCM) und Methanol.

Eine statistisch signifikante Aktivität zeigen die Fraktionen 9 und 10. Diese beiden Fraktionen wurden nach dem Testen und nach einer Derivatisierung mit MSTFA gaschromatographisch-massenspektrometrisch untersucht. Erwartungsgemäß befinden sich in den beiden letzten Fraktionen nur sehr polare Substanzen. So konnten zwei der Monoacylglyceride 2,3-Dihydroxypropylhexadecanoat (**65**) und 2,3-Dihydroxypropyloctadecanoat (**66**) sowie die Diole Docosan-1,3-diol (**60**) und Tetracosan-1,3-diol (**63**) und Hexacosanol, Octacosanol und Cholesterol wiedergefunden werden. Das Fehlen des im Gesamtextrakt auch identifizierten dritten Monoacylglycerids 2,3-Dihydroxypropyltetradecanoat (**64**) und der beiden anderen

1,3-Diole Heneicosan-1,3-diol (**61**) und Tricosan-1,3-diol (**62**) in den Fraktionen ist wahrscheinlich auf eine zu geringe Wiederfindungsrate zurückzuführen. Diese Substanzen lagen bereits im Gesamtextrakt nur als Spurenkomponenten vor, und bei der säulenchromatographischen Behandlung fiel ihre Konzentration unter die Nachweisgrenze. Die Reaktion auf Fraktion 4 unterscheidet sich zwar nicht signifikant von der Lösungsmittelkontrolle (DCM), trotzdem ist eine deutliche Tendenz sichtbar. An dieser Stelle sei auch noch anzumerken, dass die Kontrolltests der reinen Lösungsmittel in diesem Zusammenhang etwas problematisch erscheinen, da die Fraktionen ja in Lösungsmittelgemischen vorlagen und getestet wurden. Mit Hilfe von GC-MS-Analysen von Fraktion 4 konnten das Vinylketon **67**, 2-Heneicosanon (**69**), Nonadecanol, Eicosanol (**70**), Tricosanol und 2-Tricosanon in Spuren identifiziert werden<sup>3</sup>. Nachteilig bei der Fraktionierung, dem anschließenden Testen, der Derivatisierung und der erneuten GC-MS-Analyse wirkt sich die erhöhte Kontaminierungsgefahr für den Probenextrakt aus, die durch den zusätzlichen Einsatz von Glasgeräten, Lösungsmitteln und dem Derivatisierungsreagenz entsteht. Alle Fraktionen waren nach der Prozedur stark mit Ölsäureamid kontaminiert, was die Analyse der ohnehin nur in geringen Konzentrationen vorliegenden Verbindungen erschwerte. Nichtsdestotrotz hat die Fraktionierung die potentiell biologisch aktiven Substanzen eingeschränkt. Die bisherigen Ergebnisse sollen nun durch Testen der in den aktiven Fraktionen identifizierten Einzelsubstanzen und Mischungen derer vervollständigt werden. Die Biotests werden derzeit von Dr. M. Trabalon und ihrer Arbeitsgruppe, Université H. Poincaré, Nancy, durchgeführt.

## 7. 5. Diskussion

Die auffälligsten hier identifizierten Strukturen sind sicherlich das Hydroxyketon **68** und das Vinylketon **67**. Unklar ist, ob das Vinylketon **67** tatsächlich ein Naturstoff ist oder ob es nicht nur das Abbauprodukt des wesentlich labileren Hydroxyketons **68** handelt. In der Natur sind ähnliche Verbindungen bekannt, so konnten gesättigte und einfach ungesättigte Vinylketone mit Kettenlängen von C<sub>14</sub>-C<sub>18</sub> in Frontaldrüsen der Termitenspezies *Schedorhinotermes lamanianus* identifiziert werden [161, 162, 163]. Vinylketone haben oft eine stark toxische Wirkung. Solche  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Carbonylverbindungen können *in vivo* Thiolgruppen von

---

<sup>3</sup> Andere in dieser Fraktion zu erwartende Substanzen konnten nicht nachgewiesen werden, was vermutlich auch an der niedrigen Wiederfindungsrate liegt.

Enzymen oder Glutathion in Michael-artigen Reaktionen angreifen [164]. Die Giftwirkung läßt sich durch die entstehende Inaktivierung des Enzyms erklären [165, 166]. Interessanterweise stellen die beiden kurzkettigen Vinylketone 1-Hexen-3-on und 1-Octen-3-on die Hauptaromastoffe von Artischocken und Champignons dar [167].  $\beta$ -Hydroxyketone, wie **68**, sind bisher als Naturstoffe nicht beschrieben worden.

Auch 1,3-Diole sind als Naturstoffe verbreitet, dabei handelt es sich aber meistens um kürzerkettige als die hier beschriebenen Verbindungen. (3*R*)-Nonan-1,3-diol konnte beispielsweise von Francke *et al.* in den Rectaldrüsen von Fruchtfliegen identifiziert werden [168, 169]. Ob die Verbindung dort eine spezifische biologische Funktion haben, ist allerdings unbekannt. Langkettige ( $C_{22}$  und  $C_{24}$ ) 1,3-Diole sind in den Cuticularlipiden der Blätter von *Papaver alpinum* identifiziert worden<sup>4</sup> [170]. Die erhöhte Konzentration der geradzahligen ( $C_{22}$  und  $C_{24}$ ) 1,3-Diole in den Seidenextrakten von *Tegenaria atrica* im Vergleich zu den ungeradzahligen ( $C_{21}$  und  $C_{23}$ ) 1,3-Diolen entspricht den Vorstellungen der Biosynthese solcher Acetogenine. Vermutlich stammen die Verbindungen aus dem Fettsäuremetabolismus, wo sie durch Kettenverlängerung, Reduktion der Carboxygruppe zur primären Hydroxygruppe sowie Hydroxylierung entstehen. Da die Synthesen meistens von Acetyl-CoA und nur seltener von Propionyl-CoA ausgehen sind die geradzahligen Fettsäuren bzw. Fettsäuremetaboliten weiter verbreitet.

$\alpha$ -Monoacylglyceride wie **64**, **65** und **66** sind als Naturstoffe bekannt und verbreitet. Sie kommen allerdings nicht so häufig vor wie die vollständig veresterten ubiquitären Glyceride. Monoacylglycerin-3-phosphat, aus dem durch Hydrolyse das Monoacylglycerin entstehen kann, tritt als Zwischenprodukt sowohl bei der Synthese von Phosphoglyceriden als auch bei der von Triacylglyceriden auf. 2,3-Dihydroxypropylhexadecanoat (**65**) konnte aus Schweinepankreas isoliert werden, während 2,3-Dihydroxypropyloctadecanoat (**66**) ein Nebenprodukt der Stoffwechselprodukte aus *Penicillium biefeldianum*, Dodge, darstellt [171, 172]. Als Bestandteile der Cuticula von Spinnen sind sie dagegen noch nicht beschrieben.

Auch die Methylketone (**S32**, **S38** und **S42**) sind bislang nicht in Spinnen oder deren Seide gefunden worden. Biotests mit einigen der hier identifizierten Substanzen werden momentan von Dr. M. Trabalon durchgeführt. Entscheidend ist natürlich auch die Klärung der Stereochemie der 1,3-Diole (**60**, **61**, **62**, und **63**) und  $\alpha$ -Monoglyceride (**64**, **65** und **66**). Für die Zuordnung der absoluten Konfiguration der 1,3-Diole bietet sich die Derivatisierung eines

---

<sup>4</sup> Neben diesen 1,3-Diolen traten auch Hexacosan-1,7-diol, Octacosan-1,9-diol, Nonacosan-1,10-diol und Triacontan-1,11-diol in den *Papaver alpinum* Cuticularextrakten auf.

natürlichen Extraktes mit Mosher's Reagens und anschließender Trennung der Diastereomeren auf einer unpolaren Phase an. Allerdings liegen die Ausbeuten bei dieser Reaktion nur bei ca. 40 %, es muß also eine ausreichende Menge an natürlichem Material zur Verfügung stehen, um die derivatisierten Verbindungen wiederzufinden. Ähnliches gilt für die Zuordnung der absoluten Konfiguration der  $\alpha$ -Monoglyceride (**64**, **65** und **66**). Hierfür scheint eine Derivatisierung mit (*S*)-2-Acetoxypropionylchlorid und eine anschließende gaschromatographische Trennung am geeignetsten zu sein, aber auch hier muß eine hinreichende Menge an natürlichem Probenmaterial vorhanden sein. Beim Abschluß dieser Arbeit lag eine solche Menge natürlichen Materials nicht vor, so dass die Zuordnung der Konfiguration noch aussteht.

Anzumerken sei an dieser Stelle auch, dass das flüchtige 6-Methyl-3-heptanon (**33**) auch in *head space*-Extrakten von *Agelenopsis aperta*, einer Agelenidenspezies der neuen Welt, identifiziert wurde<sup>5</sup>. Es erscheint aber unwahrscheinlich, dass die Verbindung **33** eine Bedeutung für das Zusammenfinden der Geschlechter hat, da sie in den im Biotest sehr aktiven methanolischen Extrakten nur als Spurenkomponente vorkommt. In höheren Konzentrationen dagegen ist **33** in ebenfalls untersuchten, hier aber nicht diskutierten, Dichlormethanextrakten der Seide zu finden. Auch spricht die hohe Flüchtigkeit der Verbindung gegen die Bedeutung als Kontaktsignal. Verhaltensbiologische Beobachtungen von *Tegenaria atrica* legen die Vermutung nahe, dass die Weibchen dieser Spezies auch ein flüchtiges Signal zur Anlockung der Männchen abgeben. Aus diesem Grunde wurden auch *head space*-Extrakte der Weibchen mit dem closed loop Verfahren hergestellt und mit GC-MS an verschiedenen Trennphasen untersucht. Das Keton **33** konnte in diesen Extrakten nicht wiedergefunden werden, stattdessen fanden sich eine Reihe von geradkettigen Aldehyden (C<sub>7</sub>-C<sub>11</sub>), Kohlenwasserstoffen (C<sub>9</sub>-C<sub>18</sub>) und das Monoterpen Limonen. Da keine Unterschiede zwischen subadulten und adulten Weibchen gefunden wurden<sup>6</sup> und es sich bei den identifizierten Verbindungen um gängige und weit verbreitete Substanzen handelt, werden die Analyseergebnisse hier nicht weiter dargestellt und diskutiert.

Die Pentanextrakte der Cuticula und Netze zeigten als Hauptkomponenten langkettige aliphatische Kohlenwasserstoffe, wobei die hier gefundene Zusammensetzung ähnlich den beschriebenen Lipidpattern in anderen Spinnenarten oder auch anderen Arthropoden ist [173, 174, 175]. Deutliche qualitative Unterschiede in der Zusammensetzung der Kohlenwasserstoffe in

---

<sup>5</sup> Vgl. Kapitel 3.1..

<sup>6</sup> Erwartungsgemäß sollte nur das adulte Weibchen ein Signal zur Anlockung potentieller Geschlechtspartner emittieren.

den Pentanextrakten rezeptiver und nicht rezeptiver Weibchen sind nicht zu verzeichnen. Allerdings unterscheiden sich die Extrakte in der quantitativen Zusammensetzung. Die durchgeführten Biotests zeigen einen klaren Zusammenhang zwischen den polaren Substanzen der Seide in den methanolischen Extrakten und einem möglichen Sexualpheromon. Aus den Analysen ergibt sich auch, dass die Rezeptivität der Weibchen ebenfalls mit einer quantitativen Veränderung der Kohlenwasserstoffe auf den Netzen und der Cuticula einhergeht. Vermutlich sind die unterschiedlichen Kohlenwasserstoffmuster wichtig für die intra- und interspezifische Arterkennung und damit für die reproduktive Isolation. Auch bei dem Übergang von der quasisozialen zur solitären Phase bei *Tegenaria atrica* besteht vermutlich eine Relation zur Veränderung des Kohlenwasserstoffmusters auf der Cuticula. Dieses Phänomen ist nur schwer zu untersuchen, da ein Biotest zur Arterkennung schwierig durchzuführen ist, weil es keinen eindeutigen Indikator für eine positive bzw. negative Reaktion gibt. Möglicherweise könnten bestimmte agonistische Verhaltensweisen als solcher Indikator genutzt werden. Fortführende Arbeiten sind nun nötig, um verhaltensmodifizierende Effekte der synthetischen Produkte und Mischungen der Kohlenwasserstoffe, die in signifikanterweise die Pentanextrakte rezeptiver und nicht rezeptiver Weibchen unterscheiden, zu untersuchen.

## 8. Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden chemische Signalstoffe untersucht, die Spinnen für die inter- und intraspezifische Kommunikation nutzen. Nicht nur für Lebewesen, die in Sozialitäten leben sondern auch für solitär lebende Tiere, wie die meisten Spinnen, hat Kommunikation zumindest während der sexuellen Fortpflanzung oder jeglicher sozialer Interaktion eine essentielle Bedeutung. In einer kurzen Einführung in die Biologie der Spinnen stehen ökologische und chemisch-ökologische Aspekte im Vordergrund. Außerdem wird ein Überblick über die Zusammensetzung, Funktion und Biosynthese der Spinnseidenlipide gegeben, welche einen weiteren Schwerpunkt dieser Arbeit bilden.

Im ersten Teil der Arbeit wird die Strukturaufklärung eines Kontaktpheromons von *Cupiennius salei* (Ctenidae), einer tropischen Jagdspinne, beschrieben. Auf den Sicherungsfäden der Weibchen konnte das (3*S*)-Enantiomer des asymmetrischen Dimethylesters der Citronensäure (*Cupilure*) (**21**) nachgewiesen werden. Diese Verbindung ist bislang nicht als Naturstoff beschrieben worden. Die Identifizierung basiert auf NMR-spektroskopischen Untersuchungen methanolischer Extrakte der Seide von adulten Weibchen. Diese Extrakte lösten in einem hierfür entwickelten Biotest bei den Männchen spezifische Balzreaktionen aus. *Cupilure* **21** wurde racemisch durch Hydrolyse von Trimethylcitrat (**23**) hergestellt. Durch eine enantio-selektive Synthese ausgehend von (2*S*) bzw. (2*R*)-Äpfelsäure (**27**) konnten beide Enantiomere von **21** dargestellt werden. Der Schlüsselschritt der Synthese lehnt sich an eine von Seebach *et al.* entwickelte Methode nach dem Prinzip der Selbstregeneration von Stereozentren an. Die Äpfelsäure (**27**) wird diastereoselektiv mit Pivalaldehyd zum 1,3-Dioxolanon **28** kondensiert, welches im folgenden Schritt deprotoniert und wiederum diastereoselektiv mit Allylbromid alkyliert wird. Nach der Entfernung des chiralen Hilfszentrums und der gleichzeitigen Methylierung der beiden Säuregruppen wird die Doppelbindung zur Säure oxidiert und so das Zielmolekül **21** erhalten. Die Zuordnung des natürlichen Enantiomers erfolgte, nach Derivatisierung mit Isopropanol, über chirale GC-MS an einer Cyclodextrinphase und zeigte, dass das Naturprodukt aus einer 95 : 5 (*S*) / (*R*) Mischung besteht. Das (3*S*)-Enantiomer von **21** bewirkte im Biotest eine statistisch signifikante positive Reaktion, die stärker als die hervorgerufene Reaktion des Racemats ist. Dagegen konnte die vibratorische Balz nicht durch das (3*R*)-Enantiomer ausgelöst werden. *Cupilure* **21** konnte auch auf der Seide der Weibchen von *Cupiennius getazi* und *Cupiennius coccineus*, zwei Spezies, die auch zur Gattung der Ctenidae

gehören, nachgewiesen werden. Offensichtlich dient die Substanz als Auftaktsignal für die Balz, die differenzierte Arterkennung erfolgt in der anschließenden vibratorischen Phase der Balz. Mit Hilfe der Syntheseprodukte konnte erstmalig ein Pheromonrezeptor von Spinnen auf den Haarsensillen der Pedipalpen identifiziert werden.

Die Weibchen der Trichterspinne *Agelenopsis aperta* (Agelenidae) benutzen ein flüchtiges Pheromon, um die Männchen über größere Distanzen anzulocken. Verhaltensbiologische Untersuchungen haben gezeigt, dass die Abgabe des Pheromons mit dem Reproduktionsstatus der Weibchen zusammenhängt. Attraktiv sind nur die Weibchen, die älter als zwei Wochen nach der Reifehäutung sind. In *head space*-Extrakten wurden mittels GC-MS 6-Methyl-3-heptanon (**33**) und 8-Methyl-2-nonanon (**34**) als für diesen Reproduktionsstatus spezifische Verbindungen identifiziert. Beide Verbindungen wurden nach gängigen Methoden synthetisiert und ihre verhaltensmodifizierende Wirkung in Biotests untersucht. Dabei zeigte sich, dass 6-Methyl-3-heptanon (**33**) keine Reaktion bei den Männchen auslöst, während 8-Methyl-2-nonanon (**34**) das typische Balzverhalten hervorruft.

In Seidenextrakten von *Araneus diadematus* (Araneidae), der heimischen Gartenkreuzspinne, konnten mit GC-MS 2-Pyrrolidon (**40**), das bislang auf Spinnseide nicht nachgewiesene *N, N*-Dimethylaminoethyloctanoat (**41**) sowie Spuren einiger anderer *N, N*-Dimethylaminoethyl-ester identifiziert werden. Im schwerflüchtigen Bereich treten typische Seidenlipide, z. B. unverzweigte und monomethylverzweigte Alkane, auf. Auch der Wachsester Hexadecyl-2,4-dimethyltetradecanoat (**39**) kommt auf der Seide vor. Die ausschließlich in adulten Weibchen identifizierte Octansäure und *N, N*-Dimethylaminoethyloctanoat (**41**) wurden auf eine mögliche anlockende Wirkung in einer Feldstudie untersucht. Dabei wurden zwar einige Männchen in den mit Octansäure präparierten Fallen gefangen, aber zu wenige, um von einem positiven Resultat zu sprechen. *N, N*-Dimethylaminoethyloctanoat (**41**) hat keine anlockende Wirkung auf die Männchen. Weitere Versuche zur Aufklärung der Funktion dieser Verbindungen stehen noch aus.

Zu den bekanntesten Spinnenarten gehört die schwarze Witwe *Latrodectus revivensis* (Theridiidae), die in der zentralen Negev Wüste in Israel weit verbreitet ist. Die adulten Weibchen dieser Art haben ein chemisches Signal auf ihrer Seide, das beim Männchen nach dem Kontakt das Balzverhalten auslöst. In Seidenextrakten von adulten Weibchen konnten neben

den gängigen langkettigen Kohlenwasserstoffen und deren monomethylverzweigten Isomeren auch 2-Pyrrolidon (**40**),  $\gamma$ -Aminobuttersäure (**1**) und drei unverzweigte 1-Methoxyalkane mit Kettenlängen von C<sub>26</sub> (**47**), C<sub>28</sub> (**48**) und C<sub>30</sub> (**49**) identifiziert werden. Zur Strukturabsicherung und für Biotests wurden die drei 1-Methoxyalkane nach gängigen Synthesemethoden hergestellt. In einem Biotest zeigte sich, dass die Männchen auf  $\gamma$ -Aminobuttersäure (**1**) und die drei 1-Methoxyalkane (**47**, **48**, **49**) bzw. Mischungen dieser vier Komponenten, mit einem charakteristischem Suchverhalten reagieren. Dieses Suchverhalten ist auch als Reaktion auf natürliches aktives Material bekannt. Ob eine weitere Komponente in dem chemischen Signal zum Auslösen der Balz fehlt, ist bislang unklar. Neben diesem Kontaktsignal scheint das Weibchen aber auch ein leichtflüchtiges Pheromon zur Anlockung der Männchen über größere Distanzen zu produzieren. In den *head space*-Extrakten von adulten Weibchen konnten 1-Dodecen (**52**) und Carvon (**53**) identifiziert werden. Beide Verbindungen werden in der nächsten Zeit in Freilandversuchen untersucht. Anzumerken sei noch, dass bei diesem Projekt das Sammeln der Tiere und der Seide, die Probennahme und die Biotests integraler Bestandteil der Arbeit waren.

Auf den Netzen der amerikanischen Baldachinspinne *Linyphia litigosa* konnte die bei der europäischen Baldachinspinne *Linyphia triangularis* als Pheromon bereits bekannte (3*R*, 3'*R*)-3-(3-Hydroxybutyryloxy)-buttersäure (**13**) identifiziert werden. Nach einer Synthesemethode von Seebach *et al.* konnte die Verbindung hergestellt werden. (3*R*)-Hydroxybuttersäuremethylester (**54**) wird an der Säurefunktion respektive der Alkoholfunktion geschützt und die beiden Einheiten anschließend kondensiert. Eine gaschromatographische Untersuchung an einer chiralen Phase bestätigte die (*R*)-Konfiguration des Naturproduktes. Das synthetische Material wurde dann in einem Freilandversuch getestet, zeigte aber weder eine anlockende Wirkung auf die Männchen noch löste es das Netzreduktionsverhalten aus. Ist die (3*R*, 3'*R*)-3-(3-Hydroxybutyryloxy)-buttersäure (**13**) ein von verschiedenen Linyphiidenarten benutztes Signal fehlt zum Auslösen des Netzreduktionsverhaltens möglicherweise ein bestimmtes speziesspezifisches Signal. Vorstellbar ist, dass die auf der Seide auch gefundenen spinnenspezifischen 1-Methoxyalkane dafür genutzt werden.

Bei der weit verbreiteten europäischen Winkelspinne *Tegenaria atrica* (Agelenidae) gibt es auf der Seide ein weibchenspezifisches Signal, das bei den Männchen die Balz auslöst. In den im Biotest aktiven methanolischen Seidenextrakten der Weibchen konnten mittels GC-MS

geradzahlige Fettsäuren, langkettige Alkohole (C<sub>16</sub>-C<sub>28</sub>) und 2-Ketone (C<sub>19</sub>-C<sub>23</sub>) als Hauptkomponenten identifiziert werden. Daneben traten für Spinnseide neuartige Verbindungen wie vier 1,3-Diole der Kettenlängen C<sub>21</sub>-C<sub>24</sub> (**60**, **61**, **62** und **63**), 1-Docosan-3-on (**67**), 1-Hydroxydocosan-3-on (**68**) sowie drei  $\alpha$ -Monoacylglyceride **64**, **65** und **66** auf. Ausgewählte Verbindungen der identifizierten Substanzmischung wurden nach gängigen Methoden synthetisiert. Reduktion des  $\beta$ -Ketoesters (**74**) mit chiralen Rutheniumkatalysatoren lieferte die beiden Enantiomeren des Diols **60** mit einem ee von ca. 80 %. Zur Darstellung des 1-Hydroxydocosan-3-on (**68**) wurde die primäre Hydroxygruppe von **60** geschützt, die sekundäre Hydroxygruppe oxidiert und anschließend die Verbindung deblockiert. Racemisches 2,3-Dihydroxypropylhexadecanoat (**65**) wurde durch Bishydroxylierung des Allylesters hergestellt, während 2,3-Dihydroxypropyltetradecanoat (**64**) enantioselektiv durch Bishydroxylierung des Allylesters mit  $\alpha$ - bzw.  $\beta$ -AD-Mix dargestellt wurde. Ein methanolischer Extrakt wurde säulenchromatographisch aufgetrennt und die einzelnen Fraktionen in einem Biotest auf ihre Aktivität untersucht. Dabei wiesen die polarsten Fraktionen, bestehend aus 2,3-Dihydroxypropylhexadecanoat (**65**) und 2,3-Dihydroxypropyloctadecanoat (**66**) sowie den Diolen Docosan-1,3-diol (**60**) und Tetracosan-1,3-diol (**63**) und Hexacosanol, Octacosanol sowie Cholesterol, eine deutliche Aktivität auf. In der anderen schwach aktiven Fraktion wurden in Spuren das Vinylketon **67**, 2-Heneicosanon (**69**), Nonadecanol, Eicosanol (**70**), Tricosanol und 2-Tricosanon nachgewiesen. Die Wirkung der Einzelsubstanzen auf die Männchen wird momentan in Biotests untersucht. Um die Veränderung der unpolaren Lipide zu untersuchen wurden Pentanextrakte der Cuticula und der Seide von rezeptiven und nicht rezeptiven Weibchen verglichen. Hierbei zeigte sich, dass qualitative Unterschiede zwischen den verschiedenen Extrakten, die vornehmlich aus Kohlenwasserstoffen bestehen, kaum festzustellen sind. Dagegen zeigen sich quantitative Veränderungen wie z. B. der Anteil der Monomethylalkane auf der Cuticula bei rezeptiven Weibchen (44 %) im Gegensatz zu dem bei nicht rezeptiven Weibchen (27 %).

Vergleicht man die untersuchten Spezies untereinander, lassen sich durchaus Ähnlichkeiten in den Hauptbestandteilen der Lipide auf der Seide feststellen. Bei allen Arten dominieren ähnlich wie auf der Cuticula von Insekten die Kohlenwasserstoffe, einige monomethyl- und dimethylverzweigte Isomere und Fettsäuren. Eine Ausnahme bildet die Seide von *Cupiennius salei* (Ctenidae), auf der kaum Kohlenwasserstoffe auftreten. Dies ist wohl damit zu erklären, dass die Spinnen aus dieser Seide keine Netze sondern Sicherungsfäden bauen, an die andere

Ansprüche, hinsichtlich der Beständigkeit, Haltbarkeit und Elastizität *etc.* gestellt werden. Strukturelle oder biogenetische Zusammenhänge zwischen den identifizierten Substanzen sind schwierig herzustellen. Die Pheromone von *Linyphia litigosa* und *Cupiennius salei* weisen eine enge strukturelle Verwandtschaft zum Primärstoffwechsel auf, während die übrigen Verbindungen typische Acetogenine oder Polyketide darstellen.

Abschließend läßt sich sagen, dass es sicherlich lohnenswert ist chemische Signalstoffe von Spinnen weiter zu untersuchen. Abgesehen von dem Interesse an neuen Strukturen bietet die Thematik neue Einblicke in das Leben dieser Organismen und ihrer Ökosysteme. Das Verständnis der Funktionsweisen von Ökosystemen ist letztendlich die Grundlage für einen wirkungsvollen Schutz der Biodiversität. Denn während in der Vergangenheit die Aufmerksamkeit sich vornehmlich auf den Schutz gefährdeter Arten richtete werden heute eher Maßnahmen zum Schutz ganzer Ökosysteme entwickelt. Dieser weit wirksamere Ansatz setzt fundierte Kenntnisse über biozönotische Zusammenhänge voraus.

## 9. Experimenteller Teil

### 9.1. Allgemeines

**NMR-Spektroskopie:** Kernresonanzspektren wurden mit den Geräten AMX-400 (400 MHz für  $^1\text{H}$  und 101 MHz für  $^{13}\text{C}$ ) und DRX-500 (500 MHz für  $^1\text{H}$  und 126 MHz für  $^{13}\text{C}$ ) der Firma BRUKER aufgenommen. Als interner Standard diente Tetramethylsilan (TMS,  $\delta = 0$ ), im Falle silylierter Verbindungen wurden die chemischen Verschiebungen der Protonen auf das Lösungsmittelsignal geeicht ( $\text{CHCl}_3$  in  $\text{CDCl}_3$ :  $\delta = 7.26$  ppm). In nicht eindeutigen Fällen wurden HH- und CH-COSY Spektren aufgenommen, um eine Zuordnung der Signale zu ermöglichen.

**Massenspektrometrie:** GC-MS-Untersuchungen wurden an den Kombinationen HP5985A/VG70-250-S (Hewlett-Packard und VG-Analytical) sowie GC8008/MD800 (Fisons) mit Elektronenstoßionisation (EI) bei 70 eV durchgeführt, wobei Helium als Trägergas diente. Angegeben sind Massenzahlen ( $m/z$ ) und relative Intensitäten (in %) bezogen auf das intensivste Signal. Ionen unter 2 % wurden nur in Einzelfällen berücksichtigt.

**Gaschromatographie:** Es wurden Geräte des Typs Satochrom (Sato) oder GC8000 (Fisons) verwandt. Hierbei diente Wasserstoff als Trägergas und die Detektion erfolgte mit einem Flammenionisationsdetektor. Für die Messungen wurden *fused-silica* Kapillaren, belegt mit FFAP-, Innowax-, DB5-, Optima5- und BPX5-Phasen sowie verschiedene im Text angegebene chirale Cyclodextrinphasen (Länge 25, 30, 50 oder 60 m Länge, 0.25 mm Innendurchmesser, 0.25  $\mu\text{m}$  Phasendicke) eingesetzt.

**Dünnschichtchromatographie:** Es wurde Kieselgelfolie 60 F254 mit Fluoreszenz-Indikator der Firma Merck verwandt. Zur Detektion diente ein Molybdat-Tauchbad (0.5 g Molybdato-phosphorsäure in 100 ml Ethanol) mit anschließender Wärmebehandlung.

**Säulenchromatographie:** Die säulenchromatographischen Trennungen wurden an Merck Kieselgel 60, 240-400 mesh, als Flashchromatographie bei *ca.* 0.5 bar Überdruck oder an neutralem Aluminiumoxid der Firma Fluka, 100-125 mesh, als Normaldruckchromatographie durchgeführt. Häufig wurden redestillierte wassergesättigte Ethylacetat / Petrolether 60/70 als

Laufmittel eingesetzt. Die Polarität des Eluenten wurde dabei so eingestellt, dass die  $R_f$ -Werte der zu isolierenden Verbindungen zwischen 0.2 und 0.3 lagen.

**Schmelzpunkte:** Elektrothermal-Schmelzpunkt-Apparatur.

**Polarimetrie:** Drehwerte optischer aktiver Substanzen wurden mit einem Perkin-Elmer-Polarimeter 241 oder 243 in 10 cm Küvetten bei 589 nm gemessen.

## 9.2. Gewinnung der *head space*-Extrakte

Für die Gewinnung der *head space*-Extrakte von *Agelenopsis aperta* und *Tegenaria atrica* wurde jeweils ein Tier in einem Glasgefäß mit einem Volumen von 25 oder 50 ml für etwa 16 Stunden an eine Closed-Loop-Apparatur angeschlossen. Die Adsorption der flüchtigen Inhaltsstoffe erfolgte an Aktivkohlefiltern (1 und 2 mg Aktivkohle), welche mit 30 µl frisch destilliertem Schwefelkohlenstoff extrahiert wurden. Die Extrakte wurden in zugeschmolzenen Glasampullen bei -18 °C gelagert. In den meisten Fällen wurden zur GC-MS-Untersuchung zwei bis drei Extrakte vereinigt und im Wasserbad auf *ca.* 10 µl eingeeengt. Zur Gewinnung der *head space*-Extrakte von *Latrodectus revivensis* wurden drei bis fünf Weibchen einzeln in nach zwei Seiten offenen Glasgefäßen (Volumen: 20 ml) gehalten, die durch Teflonschläuche verbunden waren. Mit Hilfe von Pumpen wurde für 6 bis 12 Stunden Luft durch die offene Apparatur gezogen und über einen Aktivkohlefilter zur Adsorption der flüchtigen Substanzen geleitet. Die einströmende Luft wurde in manchen Fällen durch ein weiteren Aktivkohlefilter vor den Glasgefäßen gereinigt. Die Extraktion erfolgte auf die oben beschriebene Weise.

## 9.3. Derivatisierungen

### 9.3.1. Silylierung

20-50 µl des zu untersuchenden Extraktes wird im Schraubgläschen mit *ca.* 5 µl MSTFA versetzt und 60 min bei 50 °C gehalten. Das überschüssige MSTFA wird im Stickstoffstrom

abgeblasen, der Rückstand in ca. 50 µl trockenem Dichlormethan aufgenommen und gaschromatographisch-massenspektrometrisch untersucht [83].

### **9.3.2. Methylierung**

In einer speziellen Destillationsapparatur werden 0.5 g *N*-Methylnitrosomethylharnstoff [134] tropfenweise mit 40 %iger Kaliumhydroxidlösung versetzt. Das entstehende gasförmige Diazomethan kondensiert bei -78 °C in eine Pentanvorlage. Der Naturextrakt wird mit einigen Tropfen der Pentanlösung versetzt und eine halbe Stunde bei Raumtemperatur gelassen. Nach dem Einengen kann die derivatisierte Probe analysiert werden [83].

### **9.3.3. Veresterung von Diolen mit Moshersreagenz ((*S*) (+)- $\alpha$ -Methoxy- $\alpha$ -(trifluoromethyl)phenylacetylchlorid) oder mit (*S*)-2-Acetoxypropionylchlorid**

Es werden ca. 1 mg der zu derivatisierenden Substanz in 1.5 ml Isooctan aufgenommen und mit 20 µl einer Lösung aus 50 mg Pyridin in 1 ml Ether und 1 µl des jeweiligen Reagenzes versetzt. Die Mischung wird zwölf Stunden bei 80 °C gehalten und anschließend mit einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen, über Kieselgel filtriert und gaschromatographisch untersucht [149, 150].

### **9.3.4. Derivatisierung von Diolen mit Trifluoressigsäureanhydrid**

Ca. 1 mg des zu derivatisierenden Diols werden mit sechs Tropfen abs. Dichlormethan und zwei Tropfen Trifluoressigsäureanhydrid im Schraubgläschen 30 min bei Raumtemperatur stehen gelassen. Das überschüssige Trifluoressigsäureanhydrid wird mit Stickstoff abgeblasen und die Probe gaschromatographisch analysiert [147].

### **9.3.5. Derivatisierung mit Dimethyldisulfid**

Ca. 10 µl Extrakt werden mit 5 µl einer 5 %igen Iodlösung und 50 µl Dimethyldisulfid versetzt. Die Mischung wird über Nacht bei 40 °C gehalten. Nach der Zerstörung des überschüssigen Iods mittels 20 µl einer 10 %igen Natriumthiosulfatlösung wird die organische Phase abgetrennt, bei 40 °C eingengt und gaschromatographisch-massenspektrometrisch analysiert.

## 9.4. Synthesen

### 9.4.1. Synthesen der identifizierten Verbindungen auf der Seide von *Cupiennius salei*

#### 9.4.1.1. Synthese von 5-Oxo-prolinmethylester (**20**)

Zu einer eisgekühlten Lösung von 1.4 g (11 mmol) Pyroglutaminsäure in 20 ml abs. Methanol werden langsam 2 ml (25 mmol) frisch destilliertes Thionylchlorid getropft. Nach Beendigung der Zugabe wird die Reaktionsmischung 4 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (Dichlormethan : Methanol, 5:1) gereinigt. Ausbeute 1.01 g (7.06 mmol, 66 %) 5-Oxo-prolinmethylester (**20**) in Form eines gelblichen Öls [69].

<sup>1</sup>H-NMR (d<sub>4</sub>-Methanol, 400 MHz):  $\delta$  = 2.13-2.65 (m, 4H, 3-H + 4-H), 3.81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.34 (m, 1H, 2-H) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (d<sub>4</sub>-Methanol, 101 MHz):  $\delta$  = 25.57 (t, CH<sub>2</sub>), 29.21 (t, CH<sub>2</sub>), 51.47 (d, C-2), 56.05 (q, OCH<sub>3</sub>), 173.47 (s, C-5 oder C-1'), 180.09 (s, C-5 oder C-1') ppm.

MS (70eV), m/z (%): 143 (6) [M<sup>+</sup>], 85 (12), 84 (100), 56 (15), 41 (32).

#### 9.4.1.2. Racemischer 3-Hydroxy-3-methoxycarbonylpentandisäuremonomethylester (**21**)

##### Trimethylcitrat (**23**)

In eine Lösung aus 48 g (250 mmol) Citronensäure (**22**) in abs. Methanol werden 1.5 Stunden Chlorwasserstoff eingeleitet, anschließend wird die Lösung 6 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur kristallisiert das Produkt als weißer Feststoff aus und wird durch Umkristallisieren aus Wasser gereinigt. Ausbeute 43.01 g (184 mmol, 74 %) Trimethylcitrat (**23**) [70].

Fp. 77 °C.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 2.71$  (d,  $J = 15.8$  Hz, 2H, 2-H + 4-H), 2.83 (d, 2H, 2'-H + 4'-H), 3.59 (s, 6H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.73 (s, 3H,  $\text{C3-CO}_2\text{CH}_3$ ) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 63 MHz):  $\delta = 43.02$  (t, C-2, C-4), 51.96 (q, 2  $\text{CH}_3$ ), 53.17 (q,  $\text{CH}_3$ ), 73.22 (s, C-3), 170.18 (s, 2  $\text{CO}_2\text{Me}$ ), 173.79 (s,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ) ppm.

MS (70eV), m/z (%): 235 (0.5) [ $\text{M}^+\text{H}$ ], 176 (2), 175 (42), 161 (4), 156 (2), 153 (19), 145 (3), 144 (19), 143 (100), 129 (7), 126 (2), 125 (7), 116 (3), 114 (2), 111 (20), 102 (11), 101 (91), 98 (3), 88 (3), 87 (3), 84 (15), 75 (4), 74 (30), 71 (2), 70 (2), 69 (64), 67 (3), 60 (3), 59 (82), 57 (49), 56 (21), 55 (16), 53 (4), 47 (7), 45 (23), 44 (10), 43 (64), 42 (74), 40 (5), 39 (16).

$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_7$  (234.21): ber. C 46.16, H 6.03; gef. C 46.09, H 6.07.

### 3-Hydroxy-3-methoxycarbonylpentendisäuremonomethylester (21)

### 3-Carboxy-3-hydroxypentendisäuredimethylester (24)

In 20 ml Methanol werden 1 g (4.3 mmol) Trimethylcitrat (**23**) gelöst und mit 21.5 ml 0.1 N Natronlauge versetzt. Nach 18 Stunden Rühren, wird die Lösung zweimal mit Essigester extrahiert, die organischen Phasen verworfen und die wäßrige Phase unter vermindertem Druck auf *ca.* 20 ml eingengt. Anschließend wird 30 min mit saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR 120, aktiviert mit 1N Salzsäure und mit destilliertem Wasser bis pH 6.5 nachgespült) gerührt, dieser abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Eine säulenchromatographische Trennung (Dichlormethan : Methanol : Ameisensäure, 50:1:0.5) liefert ein Gemisch der beiden Diester (**21:24**) im Verhältnis 2:1. Ausbeute 845 mg (3.84 mmol, 89 %) in Form eines farblosen Sirups. Nach einigen Wochen bei  $-18$  °C kristallisieren die beiden Produkte aus [71].

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{d}_4\text{-Methanol}$ , 400 MHz):  $\delta = 2.70\text{-}3.01$  (m, 8H, 2-H, 4-H), 3.68 (s, 9H,  $\text{CH}_3$ ), 3.79 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ) ppm.

Für eine GC-MS Analyse wird das Produktgemisch nach der allgemeinen Vorschrift mit MSTFA derivatisiert.

O,O-Bis-(trimethylsilyl)-3-hydroxy-3-methoxycarbonylpentandisäuremonomethylester

MS (70eV), m/z (%): 349 (1.4) [M<sup>+</sup>-15], 305 (3), 289 (6), 273 (8), 259 (2), 231 (7), 217 (2), 215 (11), 199 (5), 183 (4), 173 (6), 163 (5), 159 (6), 157 (3), 153 (8), 149 (2), 148 (3), 147 (19), 143 (5), 133 (6), 131 (5), 129 (8), 117 (5), 116 (3), 115 (7), 111 (4), 105 (8), 101 (7), 99 (4), 91 (4), 90 (5), 89 (52), 76 (3), 75 (38), 74 (10), 73 (100), 72 (6), 69 (4), 67 (5), 61 (5), 60 (2), 59 (27), 58 (4), 57 (3), 55 (3), 47 (5), 45 (21), 44 (5), 43 (8), 41 (2).

O,O-Bis-(trimethylsilyl)-3-carboxy-3-hydroxypentandisäuredimethylester

MS (70eV), m/z (%): 349 (1.8) [M<sup>+</sup>-15], 305 (2), 289 (21), 273 (6), 259 (10), 247 (16), 231 (23), 215 (76), 199 (16), 147 (34), 143 (22), 105 (11), 101 (12), 89 (45), 75 (27), 73 (100), 69 (5), 59 (26), 47 (6), 45 (17), 43 (6), 41 (3).

3-Hydroxy-3-methoxycarbonylpentandisäuremethylesterbenzylester (25)

Zunächst werden 150 mg (0.5 mmol) *N*-Benzyl-*N*-nitroso-*p*-toluolsulfonsäureamid portionsweise zu einer Lösung aus 27 mg (0.5 mmol) Natriummethanolat in 1 ml Methanol und 10 ml Ether gegeben. Die Lösung verfärbt sich rötlich, wird 15 min unter Rückfluß erhitzt und nach dem Abkühlen mit 10 ml Wasser verdünnt. Anschließend wird die organische Phase abgetrennt und zweimal mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Währenddessen werden 100 mg (0.48 mmol) des Diestergemisches in Ether gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Hierzu wird die Phenyl Diazomethanlösung solange tropfenweise dazugegeben, bis die rote Farbe 20 min bestehen bleibt. Die Lösung wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Zur Zerstörung von überschüssigem Phenyl Diazomethan werden zwei Tropfen verdünnte Essigsäure zu der Lösung gegeben und anschließend die abgetrennte organische Phase dreimal mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Eine säulenchromatographische Auftrennung des Rückstandes an Kieselsigel mit Hexan : Ether (30:1) ergibt 37 mg (0.12 mmol, 25 %) des gewünschten Diesters (**25**), der immer noch mit *ca.* 5 % des symmetrischen Diesters **26** verunreinigt ist [72, 73].

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 1.64 (br.s, 1H, OH), 2.80 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H, 2-H oder 4-H), 2.85 (d, 1H, 2-H oder 4-H), 2.91 (d, *J* = 15.3 Hz, 1H, 2-H oder 4-H), 2.95 (d, 1H, 2-H

oder 4-H), 3.68 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.75 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 5.12 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ar), 7.34-7.36 (m, 5H, Ar-H) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz): δ = 43.19 (t, C-2 oder C-4), 42.32 (t, C-2 oder C-4), 52.03 (q, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 53.15 (q, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 66.88 (t, CH<sub>2</sub>Ar), 73.34 (s, C-3), 128.41 (d, arom. C), 128.44 (d, 2C, arom. C), 128.61 (d, 2C, arom. C), 135.34 (s, arom. C), 169.60 (s, COOCH<sub>3</sub>), 170.23 (s, COOCH<sub>3</sub>), 173.79 (s, COOBz) ppm.

MS (70eV), m/z (%): 310 (0.12) [M<sup>+</sup>], 176 (3), 175 (4), 144 (2), 1453 (12), 126 (3), 116 (5), 108 (3), 107 (4), 101 (8), 91 (100), 90 (3), 89 (3), 88 (2), 79 (3), 77 (4), 69 (2), 59 (6), 43 (4), 42 (3), 39 (2).

### 3-Hydroxy-3-methoxycarbonylpentandisäuremonomethylester (21)

Eine Lösung von 37 mg (0.12mmol) des Benzylesters in 5 ml Essigester wird unter Zugabe einer Spatelspitze des Katalysators (10 % Pd auf Aktivkohle) 40 min bei 0.1 bar in einem 4 ml Schraubgläschen hydriert. Anschließend wird der Katalysator abfiltriert, eingengt und der Rückstand an Kieselgel mit Ether : Hexan (15:1) als Laufmittel säulenchromatographisch gereinigt. Ausbeute: 26 mg (0.12 mmol, 97 %).

<sup>1</sup>H-NMR (d<sub>4</sub>-Methanol, 400 MHz): δ = 2.70-3.01 (m, 4H, 2-H, 4-H), 3.68 (s, 3H, C1-OCH<sub>3</sub>), 3.79 (s, 3H, C3-OCH<sub>3</sub>) ppm.

### **9.4.1.3. Synthese der Enantiomere von 3-Hydroxy-3-methoxycarbonylpentandisäuremonomethylester (21)**

#### (2S,5S)-2-tert Butyl-5-methoxycarbonyl-1,3-dioxolan-4-on (28)

Zu einer Suspension aus 10 g (75 mmol) (S)-Äpfelsäure (27), 10 g (116 mmol) Pivalinaldehyd, 1.25 g p-Toluolsulfonsäure in 125 ml Pentan werden 2 Tropfen konz. Schwefelsäure gegeben und 4 Stunden mit einem Wasserabscheider und Intensivkühler unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen und Filtrieren wird der Rückstand in 100 ml Dichlormethan

gelöst. Die organische Phase wird zweimal mit je 50 ml 8 %iger wäßriger Phosphorsäure gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach dem Einengen auf das halbe Volumen wird die Lösung über Nacht bei -18 °C aufbewahrt. Die überstehende Lösung wird von den ausgefallenen weißen Kristallen abdekantiert und es werden 8.41 g (44.7 mmol, 56 %) (2*S*, 5*S*)-2-*tert*-Butyl-5-methoxycarbonyl-1,3-dioxolan-4-on (**28**) erhalten [79].

Fp. = 107 °C (Lit. 102-104 °C).

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -1.72$  (c = 1.51 in CHCl<sub>3</sub>), (Lit.  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -2.3$  (c = 1.9 in CHCl<sub>3</sub>) [79]).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 0.98 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.77-2.94 (dd,  $J_{2',5} = 7.6$  Hz, 1H, 2'-H), 3.01-3.05 (dd,  $J_{2',5} = 3.6$  Hz, 1H, 2'-H), 4.63-4.68 (dd,  $^4J_{5,2} = 1.0$  Hz, 1H, 5-H), 5.20 (s, 1H, 2-H) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz): δ = 22.97 (q, 3C, CH<sub>3</sub>), 33.81 (s, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 34.85 (t, CH<sub>2</sub>), 71.01 (d, C-5), 109.46 (d, C-2), 171.60 (s, C-4), 173.45 (s, COOH) ppm.

C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub> (202.08): ber. C (53.46), H (6.98), gef. C (53.66), H (7.11).

Zur Bestimmung des Diastereomerenverhältnisses wird das Produkt mit Diazomethan nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift methyliert und dann gaschromatographisch untersucht (ds = 95 %), (Lit. ds = 98 %, [79]).

(2*S*, 5*S*)-5-Allyl-2-*tert*-butyl-5-methoxycarbonyl-1,3-dioxolan-4-on (**29**)

1.01 g (5 mmol) **28** in 60 ml abs. THF werden unter Schutzgas auf -78 °C gekühlt. Zu dieser Lösung werden 21 ml einer 0.5 M Lithiumhexamethydisilazidlösung in THF-Hexan (3:1) getropft. Nach 20 min Rühren gibt man 1.3 g (10.5 mmol) frisch destilliertes 1-Bromprop-2-en hinzu. Die Lösung wird weitere 3 Stunden gerührt, wobei die Temperatur auf -20 °C steigt. Dann wird die Lösung mit 1 N Salzsäure auf einen pH-Wert von 2-3 angesäuert und dreimal mit je 40 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird aus Ether und Hexan bei Raumtemperatur umkristallisiert, die ausgefallenen weißlichen

Kristalle zweimal mit Hexan gewaschen und dann im Ölpumpenvakuum getrocknet. Ausbeute: 1.08 g (4.5 mmol, 90 %) (2*S*,5*S*)-5-Allyl-2-*tert*-butyl-5-methoxycarbonyl-1,3-dioxolan-4-on (**29**) [79].

Fp. = 122 °C.

$[\alpha]_D^{20} = +11.75$  (c = 1.83, Diethylether).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.88$  (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 2.51-2.64 (m, 2H,  $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CHCH}_2$ ), 2.83 (s, 2H,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{COOH}$ ), 5.21 (s, 1H, 2-H), 5.22-5.28 (m, 2H,  $-\text{CH}_2\text{CH}\underline{\text{C}}\text{H}_2$ ), 5.76-5.88 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}\underline{\text{C}}\text{H}_2$ ) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{d}_4$ -Methanol, 101 MHz):  $\delta = 24.45$  (q, 3C,  $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$ ), 35.46 (s,  $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$ ), 36.82 (t,  $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CHCH}_2$ ), 38.00 (t,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{COOH}$ ), 86.14 (s, C-5), 112.06 (d, C-2), 121.563 (t,  $-\text{CH}_2\text{CH}\underline{\text{C}}\text{H}_2$ ), 132.01 (d,  $-\text{CH}_2\text{CH}\underline{\text{C}}\text{H}_2$ ), 171.51 (s,  $\underline{\text{C}}\text{OOH}$ ), 174.77 (s, C-4) ppm.

MS (70eV), m/z (%): 243 (0.27) [ $\text{M}^+ + \text{H}$ ], 202 (2), 185 (2), 184 (3), 157 (3), 156 (9), 139 (4), 129 (3), 128 (8), 113 (3), 111 (3), 110 (2), 101 (6), 100 (4), 99 (7), 87 (10), 86 (14), 85 (4), 83 (3), 71 (7), 70 (5), 69 (10), 58 (5), 57 (100), 56 (7), 55 (10), 54 (2), 53 (4), 45 (3), 44 (7), 43 (34), 42 (13), 41 (52), 40 (19), 39 (14).

$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_5$  (242.27): ber. C (59.49), H (7.49), gef. C (59.41), H (7.02).

### 3-Hydroxy-3-methoxycarbonyl-pentandisäureisopropylestermethylester (31)

5 ml trockenes *iso*-Propanol und 0.25 ml Acetylchlorid werden 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Zu dieser Lösung gibt man 25 mg (0.11 mmol) des Diesters **21** und erhitzt 15 min unter Rückfluß. Das Lösungsmittel und der entstandene Chlorwasserstoff wird mit Stickstoff abgeblasen, der Rückstand in halbgesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung aufgenommen und dreimal mit Essigester extrahiert. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wird das Lösungsmittel im Feinvakuum entfernt und man erhält 26 mg (0.1 mmol, 91 %) des *iso*-Propylesters **31**. Im Mikromaßstab wird die Reaktion in einem 2 ml Schraubgläschen durchgeführt, welches 15 min im Trockenschrank bei 60 °C gehalten wird. Nach dem

Entfernen des Lösungsmittel wird die Probe in Dichlormethan aufgenommen und kann direkt gaschromatographisch untersucht werden [83].

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 1.23$  (d,  $^3J_{1a,1b} = 6.1$  Hz, 6H,  $-\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$ ), 2.70-2.94 (m, 4H, H-2, H-4), 3.63 (s, 3H, C1- $\text{O}_2\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ), 3.84 (s, 3H, C3- $\text{CO}_2\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ), 5.01 (sep, 1H,  $-\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2$ ) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 21.65$  (q,  $-\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$ ), 43.17 (t, C-2 oder C-4), 43.56 (t, C-2 oder C-4), 51.96 (q,  $\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ), 53.08 (q,  $\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ), 68.67 (d,  $-\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2$ ), 73.32 (s, C-3), 169.26 (s, C-1 oder C-5 oder C-5'), 170.18 (s, C-1 oder C-5 oder C-5'), 173.86 (s, C-1 oder C-5 oder C-5') ppm.

MS (70eV), m/z (%): 262 (0.19) [ $\text{M}^+$ ], 203 (6), 175 (5), 171 (4), 161 (11), 153 (3), 144 (7), 139 (3), 129 (24), 126 (3), 116 (4), 115 (2), 111 (13), 102 (4), 101 (24), 87 (7), 84 (6), 74 (7), 69 (14), 61 (2), 60 (6), 59 (38), 58 (2), 57 (9), 56 (12), 55 (4), 45 (12), 44 (6), 43 (100), 42 (32), 41 (26), 39 (11).

$\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_7$  (262.11): ber. C (50.36), H (6.92); gef. C (49.73), H (7.10).

### (3S)-3-Hydroxy-3-methoxycarbonyl-hex-5-ensäuremethylester (30)

3.9 g (16 mmol) **29** werden in 50 ml abs. Methanol gelöst und bei 0 °C tropfenweise mit 5 Äquivalenten (11.4 g, 81 mmol) Bortrifluoridethyletherat versetzt. Die Lösung wird bei Raumtemperatur gerührt und die Reaktion dünnschichtchromatographisch verfolgt. Trotz des nicht vollständigen Umsatzes wird die Reaktion nach zwei Tagen abgebrochen, da sich verschiedene nicht weiter analysierte Nebenprodukte bilden. Die Mischung wird mit 1N Natronlauge neutralisiert, anschließend fünfmal mit Essigester extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Hexan : Essigester (4:1) gereinigt und man erhält 1.88 g (9.16 mmol, 57 %) 3-Hydroxy-3-methoxycarbonyl-hex-5-ensäuremethylester in Form eines farblosen Öls.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -1.65$  (c = 1.01, Diethylether).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  = 1.55 (br.s, 1H, OH), 2.40-2.50 (dd,  $J_{4,6}$  = 1.0 Hz,  $J_{4,5}$  = 7.1 Hz, 2H, 4-H), 2.72 (d,  $^2J_{2,2'}$  = 16.3 Hz, 1H, 2-H), 2.93 (d, 1H, 2-H), 3.67 (s, 3H, C1-O<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.83 (s, 3H, C3-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.09-5.17 (m, 2H, 6-H), 5.73-5.84 (ddt,  $^3J_{5,6}$  = 10.2 Hz,  $^3J_{5,6'}$  = 17.1 Hz, 1H, 5-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta$  = 44.05 (t, C-2 oder C-4), 44.07 (t, C-2 oder C-4), 52.32 (q, OCH<sub>3</sub>), 53.31 (q, OCH<sub>3</sub>), 66.26 (s, C-3), 120.00 (t, C-6), 131.74 (s, C-5), 172.79 (s, C-1 oder C-3'), 174.87 (s, C-1 oder C-3') ppm.

MS (70eV), m/z (%): 184 (2) [ $\text{M}^+$ -18], 161 (25), 144 (3), 143 (37), 133 (4), 129 (14), 125 (2), 111 (15), 101 (100), 83 (2), 74 (4), 70 (4), 69 (81), 68 (7), 67 (2), 65 (2), 59 (49), 57 (15), 55 (6), 53 (3), 43 (22), 42 (20), 41 (52), 40 (5), 39 (20).

$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_5$  (202.21): ber. C (53.46), H (6.98); gef. C (53.8), H (7.10).

Die optische Reinheit wird mittels chiraler Gaschromatographie an einer Lipodex E Säule (25 m, 0.25 mm i. D.) bei 100 °C isotherm bestimmt, ee = 93 %.

### (3S)-3-Hydroxy-3-methoxycarbonylpentendisäuremonomethylester (21)

Zu einer Suspension aus 600 mg (2.97 mmol) (3S)-3-Hydroxy-3-methoxycarbonyl-hex-5-ensäuremethylester (**30**) und 2.86 g (13.37 mmol) Natriumperiodat in 8 ml Tetrachlorkohlenstoff, 8 ml Acetonitril und 12 ml Wasser werden 17 mg (2.5 mol %) Rutheniumchlorid-Hydrat gegeben. Die Lösung wird drei Tage bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Zugabe von 10 ml Dichlormethan und 10 ml gesättigter Natriumchloridlösung wird die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan und dreimal mit Essigester extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte werden mit Magnesiumsulfat getrocknet und auf ca. 15 ml eingengt. In Spuren vorhandenes Rutheniumchlorid wird durch Filtration über einen Membranfilter entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ether : Hexan : Essigsäure (20:15:0.3) gereinigt. Ausbeute: 115 mg (0.53 mmol, 18%) eines farblosen Öls [81, 82].

$[\alpha]_D^{20} = -3.54$  ( $c = 0.74$ , Methanol).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 2.745$  (d, 15.8 Hz, 1H, 2-H oder 4-H), 2.842 (d,  $J = 15.8$  Hz, 1H, 2-H oder 4-H), 2.910 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H, 2-H oder 4-H), 2.981 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H, 2-H oder 4-H), 3.68 (s, 3H, C1-OCH<sub>3</sub>) 3.78 (s, 3H, C3-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 43.16$  (t, CH<sub>2</sub>), 43.26 (t, CH<sub>2</sub>), 51.21 (q, OCH<sub>3</sub>), 52.07 (q, OCH<sub>3</sub>), 73.61 (s, C-3), 170.74 (s, C-5), 172.25 (s, COOCH<sub>3</sub>), 174.33 (s, COOCH<sub>3</sub>) ppm.

$\text{C}_9\text{O}_7\text{H}_{12}$  (220.18): ber.: C (49.09), H (5.49); gef. C (49.08), H (5.21).

Für eine GC-MS Analyse wird das Produkt nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift mit MSTFA derivatisiert.

(3S)-O,O-Bis-(trimethylsilyl)-3-hydroxy-3-methoxycarbonylpentandisäuremonomethylester

MS (70eV),  $m/z$  (%): 349 (1.4) [M-15], 305 (3), 289 (6), 273 (8), 259 (2), 231 (7), 217 (2), 215 (11), 199 (5), 183 (4), 173 (6), 163 (5), 159 (6), 157 (3), 153 (8), 149 (2), 148 (3), 147 (19), 143 (5), 133 (6), 131 (5), 129 (8), 117 (5), 116 (3), 115 (7), 111 (4), 105 (8), 101 (7), 99 (4), 91 (4), 90 (5), 89 (52), 76 (3), 75 (38), 74 (10), 73 (100), 72 (6), 69 (4), 67 (5), 61 (5), 60 (2), 59 (27), 58 (4), 57 (3), 55 (3), 47 (5), 45 (21), 44 (5), 43 (8), 41 (2).

Zur Bestimmung der optischen Reinheit wurde das Produkt analog der bereits beschriebenen Methode als Isopropylester **31** derivatisiert und gaschromatographisch an einer chiralen Trennflüssigkeit (50 % Heptakis-(6-*O*-TBDMS-2,3-di-*O*-acetyl)- $\beta$ -cyclodextrin und 50 % OV1701) bei 110 °C isotherm aufgetrennt, ee = 92%.

(2S,5R)-2-(tert Butyl)-5-(methoxycarbonyl)-1,3-dioxolan-4-on (**28**)

Analog zu Darstellung von (2S,5S)-**28** wird (2S,5R)-2-*tert*-Butyl-5-methoxycarbonyl-1,3-dioxolan-4-on (**28**) dargestellt. Eingesetzt werden 10 g (75 mmol) (2R)-Äpfelsäure (**27**), 10 g (116 mmol) Pivalinaldehyd, 1.25 g *p*-Toluolsulfonsäure in 125 ml Pentan. Ausbeute 5.03 g (25 mmol, 33 %) (2S,5R)-**28** [79].

Fp. = 109 °C (Lit. 102-104 °C).

$[\alpha]_D^{20} = +1.68$  (c = 1.42 in  $\text{CHCl}_3$ ).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.98$  (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 2.77-2.94 (dd,  $J_{2',5} = 7.6$  Hz, 1H, 2'- $\text{H}_{\text{cis}}$ ), 3.01-3.05 (dd,  $J_{2',5} = 3.6$  Hz, 1H, 2'- $\text{H}_{\text{trans}}$ ), 4.63-4.68 (dd,  $^4J_{5,2} = 1.0$  Hz, 1H, 5-H), 5.20 (s, 1H, 2-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 22.97$  (q, 3C,  $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$ ), 33.81 (s,  $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$ ), 34.85 (t,  $\text{CH}_2$ ), 71.01 (d, C-5), 109.46 (d, C-2), 171.60 (s, C-4), 173.45 (s,  $\underline{\text{C}}\text{O}_2\text{H}$ ) ppm.

$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_5$  (202.08): ber. C (53.46), H (6.98), gef. C (53.81), H (7.17).

Zur Bestimmung des Diastereomerenverhältnisses wird das Produkt mit Diazomethan nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift methyliert und dann gaschromatographisch untersucht (ds = 95 %).

(2*S*,5*R*)-5-Allyl-2-*tert*-butyl-5-methoxycarbonyl-1,3-dioxolan-4-on (**29**)

Die Darstellung von (2*S*,5*R*)-**29** erfolgt analog zur Darstellung des (2*S*,5*S*)-Enantiomeres **29**. Eingesetzt werden 3.02 g (15 mmol) des Dioxolanons **28**, 3.63 g (30 mmol) Allylbromid und 63 ml einer 0.5 M Lithiumhexamethyldisilazidlösung in THF. Ausbeute: 3.31 g (14 mmol, 93 %) (2*S*,5*R*)-5-Allyl-2-*tert*-butyl-5-methoxycarbonyl-1,3-dioxolan-4-on (**29**) [79].

Fp. = 123 °C.

$[\alpha]_D^{20} = -6.56$  (c = 1.01, Ether).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.98$  (s, 9H,  $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$ ), 2.51-2.64 (m, 2H,  $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CHCH}_2$ ), 2.83 (s, 2H,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CO}_2\text{H}$ ), 5.21 (s, 1H, 2-H), 5.22-5.28 (m, 2H,  $-\text{CH}_2\text{CH}\underline{\text{C}}\text{H}_2$ ), 5.76-5.88 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}\underline{\text{C}}\text{H}_2$ ) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{d}_4$ -Methanol, 101 MHz):  $\delta = 24.45$  (q, 3C,  $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$ ), 35.46 (s,  $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$ ), 36.82 (t,  $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CHCH}_2$ ), 38.00 (t,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{COOH}$ ), 86.14 (s, C-5), 112.06 (d, C-2), 121.563 (t,

$-\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 132.01 (d,  $-\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 171.51 (s,  $\text{CO}_2\text{H}$ ), 174.77 (s, C-4) ppm.

MS (70eV), m/z (%): 243 (0.27) [ $\text{M}^+\text{H}$ ], 202 (2), 185 (2), 184 (3), 157 (3), 156 (9), 139 (4), 129 (3), 128 (8), 113 (3), 111 (3), 110 (2), 101 (6), 100 (4), 99 (7), 87 (10), 86 (14), 85 (4), 83 (3), 71 (7), 70 (5), 69 (10), 58 (5), 57 (100), 56 (7), 55 (10), 54 (2), 53 (4), 45 (3), 44 (7), 43 (34), 42 (13), 41 (52), 40 (19), 39 (14).

$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_5$  (242.27): ber. C (59.49), H (7.49), gef. C (59.32), H (7.15).

(3R)-3-Hydroxy-3-methoxycarbonyl-hex-5-ensäuremethylester (30)

Die Abspaltung der Schutzgruppe zur Darstellung von (3R)-**30** erfolgt analog zur Darstellung von (3S)-**30**. Eingesetzt wurden 3.3 g (14 mmol) (2S,5R)-5-Allyl-2-tert-butyl-5-methoxycarbonyl-1,3-dioxolan-4-on (**29**) und 7.07 g (50 mmol) Bortrifluoridetherat, wobei in diesem Falle die Reaktionsmischung 5 Tage bei Raumtemperatur gerührt wird. Ausbeute 1.70 g (8.41 mmol, 60 %) 3-Hydroxy-3-methoxycarbonyl-hex-5-en-säuremethylester (**30**) als farbloses Öl.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +1.65$  (c = 1.01, Diethylether).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 1.55$  (br.s, 1H, OH), 2.40-2.50 (dd,  $J_{4,6} = 1.0$  Hz,  $J_{4,5} = 7.1$  Hz, 2H, 4-H), 2.72 (d,  $^2J_{2,2'} = 16.3$  Hz, 1H, 2-H), 2.93 (d, 1H, 2-H), 3.67 (s, 3H, C1- $\text{O}_2\text{CH}_3$ ), 3.83 (s, 3H, C3- $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 5.09-5.17 (m, 2H, 6-H), 5.73-5.84 (ddt,  $^3J_{5,6} = 10.2$  Hz,  $^3J_{5,6'} = 17.1$  Hz, 1H, 5-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 44.05$  (t, C-2 oder C-4), 44.07 (t, C-2 oder C-4), 52.32 (q,  $\text{OCH}_3$ ), 53.31 (q,  $\text{OCH}_3$ ), 66.26 (s, C-3), 120.00 (t, C-6), 131.74 (s, C-5), 172.79 (s, C-1 oder C-3'), 174.87 (s, C-1 oder C-3') ppm.

MS (70eV), m/z (%): 184 (2) [ $\text{M}^+-18$ ], 161 (25), 144 (3), 143 (37), 133 (4), 129 (14), 125 (2), 111 (15), 101 (100), 83 (2), 74 (4), 70 (4), 69 (81), 68 (7), 67 (2), 65 (2), 59 (49), 57 (15), 55 (6), 53 (3), 43 (22), 42 (20), 41 (52), 40 (5), 39 (20).

$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_5$  (202.21): ber. C (53.46), H (6.98); gef. C (53.90), H (7.19).

Die optische Reinheit wurde mittels chiraler Gaschromatographie an einer Lipodex E Säule (25 m, 0.25 mm i. D.) bei 100 °C isotherm bestimmt, ee = 93 %.

(3*R*)-3-Hydroxy-3-methoxycarbonylpentandisäuremonomethylester (21)

Analog zur Darstellung von (3*S*)-**21** wird aus 1.70 g (8.41 mmol) 3-Hydroxy-3-methoxycarbonyl-hex-5-ensäuremethylester (**30**), 700 mg Natriumperodat und 4 mg Rutheniumchlorid in 2 ml Tetrachlorkohlenstoff, 2 ml Acetonitril und 3 ml Wasser (3*R*)-**21** dargestellt. Ausbeute 453 mg (2.06 mmol, 25 %) [81, 82].

$[\alpha]_D^{21} = 3.84$  (c= 0.41, Methanol).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta = 2.745$  (d, 15.8 Hz, 1H, 2-H oder 4-H), 2.842 (d,  $J = 15.8$  Hz, 1H, 2-H oder 4-H), 2.910 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H, 2-H oder 4-H), 2.981 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H, 2-H oder 4-H), 3.68 (s, 3H, C1-O<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) 3.78 (s, 3H, C3-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz):  $\delta = 43.158$  (t, CH<sub>2</sub>), 43.26 (t, CH<sub>2</sub>), 51.21 (q, OCH<sub>3</sub>), 52.07 (q, OCH<sub>3</sub>), 73.61 (s, C-3), 170.74 (s, C-5), 172.25 (s, COOCH<sub>3</sub>), 174.33 (s, COOCH<sub>3</sub>) ppm.

C<sub>9</sub>O<sub>7</sub>H<sub>12</sub> (220.18): ber.: C (49.09), H (5.49); gef. C (49.47), H (5.73).

Zur Bestimmung der optischen Reinheit wird das Produkt analog der bereits beschriebenen Methode als Isopropylester **31** derivatisiert und gaschromatographisch an einer chiralen Trennflüssigkeit (50% Heptakis-(6-*O*-TBDMS-2,3-di-*O*-acetyl)- $\beta$ -cyclodextrin und 50 % OV1701) bei 110 °C isotherm analysiert, ee = 93 %.

## 9.4.2. Synthese der Ketone aus *Agelenopsis aperta*

### 9.4.2.1. Synthese von 8-Methyl-2-nonanon (34)

#### 5-Hexenyl-p-toluolsulfonat (37)

16 g (84.6 mmol) *p*-Toluolsulfonylchlorid werden portionsweise zu einer gerührten, eisgekühlten Lösung von 4.23 g (42 mmol) 5-Hexen-1-ol (36) in 30 ml trockenem Pyridin gegeben. Die Lösung wird zwei Stunden bei ca. 0 °C gehalten und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird die Lösung auf eisgekühlte 1N Salzsäure gegossen und dreimal mit Ether extrahiert. Anschließend werden die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter Natriumchloridlösung und Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Das kristalline Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether : Essigester (5:1) gereinigt. Ausbeute 6.98 g (27.8 mmol, 74 %).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 1.37-1.50 (tt,  $J_{3,2} = 6.9$  Hz, 2H, 3-H), 1.61-1.69 (tt,  $J_{2,1} = 6.3$  Hz, 2H, 2-H), 1.97-2.03 (m, 2H, 4-H), 2.45 (s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>), 4.03 (t, 3H, 1-H), 4.92-4.99 (m, 2H, 6-H), 5.72 (ddtt,  $J_{5,6t} = 17.0$  Hz,  $J_{5,6c} = 10.7$  Hz,  $J_{5,4} = 6.3$  Hz,  $J_{3,5} = 3.2$  Hz, 1H, 5-H), 7.36 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H, arom. H), 7.77 (d, 2H, arom. H) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz): δ = 21.6 (q, Ar-CH<sub>3</sub>) 24.6 (t), 28.2 (t), 32.9 (t), 70.4 (t, C-1), 115.1 (t, C-6), 127.9 (d, 2C, arom. C), 130.23 (d, 2C, arom. C), 133.3 (s, arom. C), 137.9 (d, C-5), 144.7 (s, arom. C) ppm.

MS (70eV), m/z (%): 254 (4) [M<sup>+</sup>], 215 (5), 155 (18), 117 (5), 108 (7), 107 (10), 106 (6), 105 (5), 104 (5), 99 (6), 97 (5), 92 (15), 91 (100), (16), 89 (20), 84 (5), 83 (10), 82 (71), 81 (45), 80 (8), 79 (18), 78 (12), 77 (17), 73 (6), 69 (7), 68 (12), 67 (86), 65 (49), 64 (11), 63 (14), 62 (6), 61 (6), 57 (10), 56 (6), 55 (34), 54 (55), 53 (27), 52 (9), 51 (17), 50 (15), 44 (9), 43 (8), 41 (94).

8-Methyl-1-nonen (38)

In Anlehnung einer Vorschrift von M. Schlosser *et al.* werden 1.77 g (72 mmol) aktiviertes Magnesium mit 20 ml abs. THF überschichtet, mit 0.5 ml 1,2-Dibrommethan versetzt und kurzzeitig erhitzt. Nach dem Abklingen der Reaktion gibt man 7.40 g (54 mmol) 1-Brom-2-methylpropan dazu und erhitzt eine Stunde unter Rückfluß. Die entstandene Lösung wird vorgekühlt und zu einer auf -70 °C gekühlten Lösung von 6.98 g (27 mmol) 5-Hexenyl-*p*-toluolsulfonat **37** in 30 ml abs. THF gegeben. Nach beendeter Zugabe wird die Reaktionsmischung mit 1 ml einer 0.1 M Lösung von Lithiumtetrachlorocuprat in THF versetzt. Nach dem Erreichen der Raumtemperatur wird die Mischung weitere 24 Stunden gerührt. Zur Aufarbeitung wird mit gesättigter Ammoniumchloridlösung hydrolysiert. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und mit Ether gewaschen. Anschließend wird die organische Phase abgetrennt und die wäßrige Phase dreimal mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel vorsichtig am Rotationsverdampfer entfernt. Das Produkt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Pentan gereinigt. Ausbeute 2.50 g (20 mmol, 76 %) [97].

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 0.92 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H, 9-H + 9'H), 1.45-1.54 (non, 1H, 8-H), 1.08-1.42 (m, 8H, CH<sub>2</sub>), 1.95-1.99 (m, 2H, 3-H), 4.94-5.02 (m, 2H, 1-H), 5.73 (ddt, *J*<sub>2,1t</sub> = 17.0 Hz, *J*<sub>2,1c</sub> = 10.8 Hz, *J*<sub>2,3</sub> = 6.4 Hz, 1H, 2-H) ppm.

MS (70eV), *m/z* (%): 140 (2) [M<sup>+</sup>], 97 (3), 84 (4), 83 (5), 74 (5), 73 (3), 71 (4), 70 (10), 69 (22), 68 (4), 67 (5), 61 (39), 59 (11), 57 (23), 56 (54), 55 (42), 54 (6), 53 (8), 52 (2), 45 (21), 44 (15), 43 (100), 42 (24), 41 (64).

8-Methyl-2-nonanon (34)

Eine Suspension aus Palladium(II)chlorid (136 mg, 0.08 mmol) und Kupfer(I)chlorid (800 mg, 8 mmol) in einem Gemisch aus Wasser (4 ml) und DMF (40 ml) wird in einer Sauerstoffatmosphäre gerührt, bis eine grünliche Färbung entsteht (1 Stunde). Anschließend werden 824 mg (5.90 mmol) 8-Methyl-1-nonen (**38**) in 5 ml DMF zugetropft und die Lösung 40 min bei 50 °C gerührt, dann mit Wasser verdünnt und dreimal mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte werden je zweimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und

gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und eingengt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether : Essigester (20:1) gereinigt und es werden 619 mg (3.97 mmol, 67%) 8-Methyl-2-nonanon (**34**) in Form einer süßlich riechenden, farblosen Flüssigkeit erhalten [98-100].

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.86$  (d,  $J = 6.7$  Hz, 6H, 9-H + 9'-H), 1.46-1.56 (non, 1H, 8-H), 1.12-1.32 (m, 6H,  $\text{CH}_2$ ), 1.56-1.64 (m, 2H, 4-H), 2.12 (s, 3H, 1-H), 2.42 (t,  $J_{3,4} = 7.6$  Hz, 2H, 3-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 24.1$  (q, C-9 + C-9'), 24.3 (t,  $\text{CH}_2$ ), 29.3 (t,  $\text{CH}_2$ ), 29.6 (d, C-8), 30.0 (q, C-1), 30.1 (t,  $\text{CH}_2$ ), 39.3 (t, C-3), 44.1 (t,  $\text{CH}_2$ ), 210.0 (s, C-2) ppm.

MS (70eV), m/z (%): 156 (4) [ $\text{M}^+$ ], 155 (3), 139 (2), 123 (2), 115 (3), 98 (5), 82 (11), 71 (27), 70 (2), 59 (20), 58 (89), 57 (10), 56 (2), 45 (12), 44 (4), 43 (100), 42 (2), 41 (5).

$\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}$  (156.27): ber. C (76.92), H (12.82); gef. C (76.77), H (12.77).

#### 9.4.2.2. Synthese von 6-Methyl-3-heptanon (**33**)

Ein Grignardreagenz aus 2.1 g (14 mmol) 1-Brom-3-methylbutan und 370 mg (16 mmol) Magnesium in 25 ml abs. THF wird innerhalb von 2 Stunden langsam zu einer auf  $-78$  °C gekühlten Lösung von 2.4 g (26 mmol) Propionylchlorid (**35**) in 30 ml THF getropft. Das Gemisch wird weitere 2 Stunden gerührt, wobei es sich langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Nach Zugabe von 50 ml Wasser wird die wäßrige Phase abgetrennt und zweimal mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden je zweimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Die säulenchromatographische Reinigung erfolgt an Kieselgel mit Petrolether : Essigester (40:1). Ausbeute 690 mg (5.4 mmol, 39%) [96].

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.89$  (d,  $J = 6.1$  Hz, 6H, 7-H, 7'-H), 1.05 (t,  $J = 7.6$  Hz, 3H, 1-H), 1.43-1.57 (m, 3H, 6-H + 5-H), 2.37-2.46 (m, 4H, 2-H + 4-H) ppm.

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 14.52$  (q, C-1), 22.87 (t,  $\text{CH}_2$ ), 23.07 (q, C-7 + C-7'), 27.32 (d, C-6), 33.17 (t, C-2), 36.23 (t, C-4), 212.50 (s, C-3) ppm.

MS (70eV), m/z (%): 128 (0.15) [ $\text{M}^+$ ], 83 (9), 72 (4), 71 (66), 70 (6), 56 (2), 55 (20), 54 (3), 53 (6), 50 (4), 48 (7), 47 (5), 44 (11), 43 (80), 42 (20), 41 (100),

$\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_1$  (128.21): ber. C (74.87), H (12.47); gef. C (74.90), H (12.46).

### 9.4.3. Synthese von *N, N*-Dimethylaminoethyloctanoat (41)

7.7 g (48 mmol) Octansäurechlorid (**43**) werden innerhalb von 15 min zu einer eisgekühlten Lösung aus 5 g (56 mmol) Dimethylaminoethanol (**42**) in 30 ml abs. Dichlormethan getropft. Die Lösung wird 5 Stunden unter Rückfluß erhitzt und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird die Lösung unter vermindertem Druck eingeeengt und der Rückstand in 75 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung aufgenommen. Anschließend wird dreimal mit Ether extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Ausbeute 3.86 g (18 mmol, 38%) [111].

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.97$  (t,  $J_{11,12} = 6.1$  Hz, 3H, 12-H), 1.37 (m, 8H, 4  $\text{CH}_2$ ), 1.71 (m, 2H, 7-H), 2.37 (s, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 2.43 (t,  $J_{6,7} = 1.9$  Hz, 2H, 6-H), 2.64 (t,  $J_{2,3} = 5.6$  Hz, 2H, 2-H), 4.26 (t, 2H, 3-H) ppm.

MS (70eV), m/z (%): 186 (3) [ $\text{M}^+ - 29$ ], 171 (8), 144 (7), 131 (12), 127 (10), 99 (6), 88 (8), 73 (7), 72 (57), 71 (74), 59 (24), 58 (100), 56 (17), 55 (15), 45 (6), 44 (16), 43 (22), 42 (34), 41 (28).

#### 9.4.4. Synthese der 1-Methoxyalkane (47, 48 und 49)

##### 1-Octacosanol (51)

250 mg (0.57 mmol) Octacosansäuremethylester (**50**) werden in trockenem Ether aufgenommen und zu einer Suspension aus *ca.* 25 mg Lithiumaluminiumhydrid in Ether so zugetropft, dass der Ether gelinde siedet. Nach 5 Stunden bei 40 °C wird das Reaktionsgemisch über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und anschließend in 30 ml eiskaltes Wasser gegossen. Das überschüssige Lithiumaluminiumhydrid wird durch Zugabe von 10 %iger Schwefelsäure zerstört. Die organische Phase wird abgetrennt und die verbleibende Phase viermal mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether : Essigester (20:1) gereinigt. Ausbeute 192 mg (0.47 mmol, 82 %) [96].

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.89$  (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H, 28-H), 1.37 (br.s, 52H,  $\text{CH}_2$ ), 3.63 (t,  $J = 6.9$  Hz, 2H, 1-H) ppm.

##### 1-Methoxyoctacosan (48)

192 mg (0.47 mmol) des Alkohols (**51**) werden in 4 ml Methyljodid gelöst und mit 280 mg Silber(I)oxid versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 8 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wird die Lösung filtriert und eingeeengt. Eine säulenchromatographische Reinigung erfolgt an Kieselgel mit Petrolether : Essigester (50:1) und liefert 122 mg (0.27 mmol, 61 %) des gewünschten Methylethers (**48**) [117].

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.89$  (t,  $J = 6.6$  Hz, 3H, 28-H), 1.31 (br.s, 52H,  $\text{CH}_2$ ), 3.32 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.35 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H, 1-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 14.21$  (q, C-28), 22.94 (t,  $\text{CH}_2$ ), 26.27 (t,  $\text{CH}_2$ ), 29.24 (t, 22C,  $\text{CH}_2$ ), 30,10 (t,  $\text{CH}_2$ ), 32.56 (t,  $\text{CH}_2$ ), 58.61 ( $\text{OCH}_3$ ), 73.07 (C-1) ppm.

MS (70eV), m/z (%): 392 (11) [ $M^+ - 32$ ], 364 (4), 167 (3), 153 (4), 139 (6), 125 (14), 112 (8), 111 (25), 97 (59), 96 (16), 95 (7), 85 (30), 83 (86), 82 (49), 71 (53), 69 (67), 68 (43), 57 (100), 55 (74), 45 (69), 43 (98), 41 (47).

$C_{29}H_{60}O_1$  (424.80): ber. C (82.00), H (14.24); gef. C (81.73), H (13.99).

#### 1-Methoxyhexacosan (47)

Die Darstellung von 1-Methoxyhexacosan erfolgt analog der Darstellung von 1-Methoxyoctacosan (**48**), ausgehend von 160 mg (0.42 mmol) 1-Hexacosanol und 260 mg Silber(I)oxid. Das Produkt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt mit Petrolether : Essigester (50:1) als Laufmittel. Ausbeute: 108 mg (0.27 mmol, 65 %) [117].

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz):  $\delta$  = 0.88 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 3H, 26-H), 1.31 (br.s, 48H,  $CH_2$ ), 3.33 (s, 3H,  $OCH_3$ ), 3.36 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 2H, 1-H) ppm.

$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 101 MHz):  $\delta$  = 14.21 (q, C-26), 22.87 (t,  $CH_2$ ), 26.21 (t,  $CH_2$ ), 29.24 (t, 20C,  $CH_2$ ), 30.07 (t,  $CH_2$ ), 32.56 (t,  $CH_2$ ), 58.72 ( $OCH_3$ ), 73.09 (C-1) ppm.

MS (70eV), m/z (%): 364 (31) [ $M^+ - 32$ ], 336 (9), 280 (2), 167 (4), 154 (5), 153 (5), 140 (6), 139 (9), 126 (8), 125 (19), 112 (11), 111 (38), 97 (76), 85 (31), 83 (96), 82 (59), 71 (56), 70 (32), 69 (75), 68 (51), 57 (100), 55 (78), 45 (79), 43 (97), 41 (50).

$C_{27}H_{56}O_1$  (396.75): ber. C (81.74), H (14.23); gef. C (81.31), H (14.21).

#### 1-Methoxytriacontan (49)

Die Darstellung von 1-Methoxytriacontan (**49**) erfolgt analog der Darstellung von 1-Methoxyoctacosan (**48**), in diesem Fall ausgehend von 124 mg (0.28 mmol) 1-Triacontanol und 200 mg Silber(I)oxid. Ausbeute 55 mg (0.12 mmol, 43 %).

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz):  $\delta$  = 0.88 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 3H, 30-H), 1.31 (br.s, 56H,  $CH_2$ ), 3.33 (s, 3H,  $OCH_3$ ), 3.36 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 2H, 1-H) ppm.

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 14.19$  (q, C-30), 22.94 (t,  $\text{CH}_2$ ), 26.27 (t,  $\text{CH}_2$ ), 29.25 (t,  $24\text{C}$ ,  $\text{CH}_2$ )-30,47 (t,  $\text{CH}_2$ ), 32.56 (t,  $\text{CH}_2$ ), 58.67 ( $\text{OCH}_3$ ), 73.11 (C-1) ppm.

MS (70eV), m/z (%): 420 (15) [ $\text{M}^+$ -32], 392 (5), 167 (2), 153 (3), 139 (6), 125 (12), 111 (26), 97 (57), 96 (20), 85 (30), 83 (76), 82 (51), 71 (53), 69 (64), 68 (41), 57 (100), 55 (73), 45 (56), 43 (95), 41 (55).

$\text{C}_{31}\text{H}_{64}\text{O}_1$  (452.85): ber. C (82.22), H (14.25); gef. C (81.67), H (13.87).

#### 9.4.5. Synthese der (3R)-[(3R)-3-Hydroxybutyryloxy]-buttersäure (13)

##### (3R)-3-Hydroxybuttersäure (12)

11 g (93 mmol) (3R)-3-Hydroxybuttersäuremethylester (**54**) werden auf 0 °C abgekühlt und mit 100 ml eisgekühlter 1N Kaliumhydroxidlösung versetzt. Nach vollendeter Zugabe wird 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die Lösung erneut auf 0 °C abgekühlt und 80 ml 1N Salzsäure zugefügt, bis die Mischung einen pH-Wert von *ca.* 2 erhält. Die wäßrige Phase wird mit Natriumchlorid gesättigt und vier Tage kontinuierlich mit 1 l Ether in einem flüssig / flüssig Extraktor extrahiert. Der organische Extrakt wird über Magnesiumsulfat getrocknet und im Wasserstrahlvakuum destilliert. Ausbeute 6 g (58 mmol, 62 %) [96].

K.p. 140 °C/17 hPa.

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 1.27$  (d,  $J = 3.2$  Hz, 3H, 4-H), 2.52 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, 2-H), 2.54 (d,  $J = 3.6$  Hz, 1H, 2-H), 4.19-4.29 (br. m, 1H, 3-H) ppm.

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 22.50$  (q, C-4), 43.60 (t, C-2), 64.23 (d, C-3), 180.12 (s, C-1) ppm.

##### (3R)-3-Hydroxybuttersäurebenzylester (55)

4 g (39 mmol) (3R)-3-Hydroxybuttersäure (**12**) werden mit 43 ml (389 mmol) Benzylalkohol und 200 mg *p*-Toluolsulfonsäure 12 Stunden in 200 ml abs. Benzol unter Rückfluss erhitzt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert und der

Rückstand in Ether aufgenommen. Die etherische Lösung wird zweimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und der Ether im Feinvakuum entfernt. Das Rohprodukt wird im Ölpumpenvakuum destilliert, K.p. 95-97 °C / 0.04 torr. Ausbeute 5.27 g (27 mmol, 71 %) [121].

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 1.23$  (d,  $J = 3.2$  Hz, 3H, 4-H), 2.49 (dd,  $J = 8.8$  Hz, 1H, 2-H), 2.54 (dd,  $J = 4.0$  Hz, 1H, 2-H), 4.18-4.27 (br. m, 1H, 3-H), 4.49 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{-Ar}$ ), 7.30-7.41 (m, 5H, arom.) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 22.00$  (q, C-4), 42.39 (t, C-2), 63.84 (d, C-3), 72.96 (t,  $\text{CH}_2\text{Ar}$ ), 127.58 (d, arom. C-4'), 127.95 (d, 2C, arom. C), 135.16 (d, 2C, arom. C), 158.72 (s, arom. C-1'), 172.22 (s, C-1) ppm.

MS (70eV), m/z (%): 194 (0.4) [ $\text{M}^+$ ], 166 (4), 148 (5), 109 (3), 108 (37), 107 (58), 106 (6), 105 (21), 92 (9), 91 (100), 90 (7), 89 (7), 87 (4), 79 (18), 78 (4), 77 (12), 71 (2), 70 (4), 69 (6), 65 (18), 63 (5), 52 (2), 51 (7), 50 (2), 45 (21), 44 (5), 43 (24), 42 (18), 41 (5), 39 (11).

### (3R)-3-Benzoyloxybuttersäuremethylester (56)

Ein Gemisch aus 5.5 g (46 mmol) (3R)-3-Hydroxybuttersäuremethylester (**54**) und 13 g (51 mmol) *O*-Benzyltrichloracetamidimidat in 120 ml Cyclohexan und Dichlormethan (1:1) wird mit 2.3 ml Trifluormethansulfonsäure versetzt und anschließend bei Raumtemperatur gerührt. Nach 14 Stunden wird die orange Lösung mit eisgekühlter gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung verdünnt, die abgetrennte organische Phase mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird abdestilliert und der verbleibende Rückstand in 50 ml Hexan aufgenommen. Nach 10 Stunden wird das ausgefallene Trichloroacetimidat abfiltriert, das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt destillativ im Ölpumpenvakuum gereinigt. Ausbeute 3.58 g (17 mmol, 36 %) [122].

K.p. = 90-100°C / 0.04 torr.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 1.27$  (d,  $J = 6.2$  Hz, 3H, 4-H), 2.45 (dd, 1H,  $J_{2,3} = 7.6$  Hz,  $J_{2,2'} = 14.8$  Hz, 1H, 2-H), 2.65 (dd,  $J_{2,3} = 5.6$  Hz, 1H, 2'-H), 3.63 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 4.17-4.27 (br. m, 1H, 3-H), 4.57 (s, 1H,  $\text{CH}_2\text{-Ar}$ ), 7.35 (m, 3H, arom. H), 7.51 (m, 2H, arom. H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 19.40$  (q, C-4), 41.43 (t, C-2), 51.13 (q,  $\text{OCH}_3$ ), 70.41 (d, C-3), 71.48 (t,  $\text{CH}_2\text{-Ar}$ ), 127.86 (d, 2C, arom. C), 128.35 (d, 2C, arom. C), 128.60 (d, arom. C), 138.06 (s, arom. C), 172.26 (s, C-1) ppm.

MS (70eV), m/z (%): 176 (0.3) [ $\text{M}^+ - 32$ ], 134 (3), 108 (40), 105 (5), 103 (2), 102 (30), 92 (10), 91 (100), 90 (2), 89 (5), 87 (30), 8 (2), 79 (18), 78 (3), 77 (11), 74 (6), 69 (3), 65 (16), 63 (3), 59 (11), 51 (5), 50 (2), 45 (2), 43 (8), 42 (7), 41 (5).

### (3R)-3-Benzoyloxybuttersäure (57)

Zu 3.58 g (17 mmol) des Methylesters **56** werden tropfenweise 20 ml (20 mmol) eisgekühlte 1N Kaliumhydroxidlösung gegeben. Nach 16 Stunden intensivem Rühren bei dieser Temperatur werden ca. 15 ml 1N Salzsäure hinzugefügt, so dass die Reaktionsmischung einen pH-Wert von 2-3 erreicht. Die Lösung wird dreimal mit Ether extrahiert und die vereinigten organischen Extrakte mit gesättigter Natriumchloridlösung und gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und eingengt. Das Produkt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit einem Petrolether-Essigester-Gemisch gereinigt. Ausbeute 2.62 g (14 mmol, 76 %) [96].

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 1.28$  (d,  $J = 6.2$  Hz, 3H, 4-H), 2.52 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, 2-H), 2.54 (d,  $J = 3.6$  Hz, 1H, 2-H), 4.18-4.27 (br. m, 1H, 3-H), 4.57 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{-Ar}$ ), 7.35-7.51 (m, 5H, arom. H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 22.50$  (q, C-4), 43.60 (t, C-2), 70.41 (d, C-3), 71.48 (t,  $\text{CH}_2\text{-Ar}$ ), 127.86 (d, 2C, arom. C), 128.35 (d, 2C, arom. C), 128.60 (d, arom. C), 138.06 (s, arom. C), 172.26 (s, C-1) ppm.

(3R)-3-Benzyloxybuttersäurechlorid (58)

2.62 g (14 mmol) (3R)-3-Benzyloxybuttersäure (57) werden in einer Schutzgasatmosphäre in 50 ml trockenem Dichlormethan aufgenommen und tropfenweise vorsichtig mit 17 g (137 mmol) Oxalylchlorid versetzt. Die Reaktionsmischung wird anschließend 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel und das überschüssige Oxalylchlorid werden am Rotationsverdampfer abdestilliert, der Rückstand erneut in Dichlormethan aufgenommen und wieder eingengt. Dieser Schritt wird dreimal wiederholt und dann wird das Rohprodukt ohne weitere Reinigungsschritte in der folgenden Reaktion eingesetzt. Es werden 2.85 g (13 mmol, 96 %) (3R)-3-Benzyloxybuttersäurechlorid (58) als Rohprodukt erhalten [96].

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 1.25 (d, *J* = 6.1 Hz, 3H, 4-H), 2.80-3.40 (m, 2H, 2-H), 3.89-4.30 (m, 1H, 3-H), 4.59 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-Ar), 7.32-7.41 (m, 5H, arom. H) ppm.

(3R, 3'R)-3-(3-Benzyloxybutyryloxy)buttersäurebenzylester (59)

Eine Lösung aus 2.72 g (14 mmol) (3R)-3-Hydroxybuttersäurebenzylester (55), 1.2 ml Pyridin und einer Spatelspitze 4-Dimethylaminopyridin in 30 ml abs. THF werden in einer Schutzgasatmosphäre auf 0 °C abgekühlt. Zu dieser Mischung wird unter intensivem Rühren vorsichtig eine Lösung aus 2.97 g (14 mmol) (3R)-3-Benzyloxybuttersäurechlorid (58) in 20 ml abs. THF getropft. Nach vollendeter Zugabe wird die Lösung 20 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Rohprodukt wird mit 30 ml gesättigter Natriumchloridlösung verdünnt, die organische Phase abgetrennt und die wäßrige Phase dreimal mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Feinvakuum entfernt. Das Produkt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit einem Petrolether/Essigester Gemisch gereinigt. Ausbeute 1.59 g (4.3 mmol, 31 %) [120].

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 1.23 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.27 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.34 (dd, *J*<sub>2,2'</sub> = 14.8 Hz, *J*<sub>2,3</sub> = 6.0 Hz, 1H, 2-H), 2.54 (dd, *J*<sub>2,2'</sub> = 15.2 Hz, *J*<sub>2,3</sub> = 6.0 Hz, 1H, 2-H), 2.57 (dd, *J*<sub>2,3</sub> = 6.0 Hz, 1H, 2-H), 2.67 (dd, *J*<sub>2,3</sub> = 6.0 Hz, 1H, 2-H), 3.94 (m, 1H, 3'-H), 4.47 (s, 2H, 3'-OCH<sub>2</sub>-Ar), 5.11 (s, 2H, COOCH<sub>2</sub>-Ar), 5.30 (m, 1H, 3-H), 7.3-7.5 (m, 10H, arom. H) ppm.

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 19.85$  (q,  $\text{CH}_3$ ), 19.86 (q,  $\text{CH}_3$ ), 40.80 (t,  $\text{CH}_2$ ), 42.13 (t,  $\text{CH}_2$ ), 66.45 (d, C-3 oder C-3'), 67.43 (t, O- $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ -Ar), 70.82 (d, C-3 oder C-3'), 71.98 (t, COO- $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ -Ar), 127.62 (d, 2C, arom. C), 128.32 (d, 2C, arom. C), 128.34 (d, 2C, arom. C), 128.72 (d, 2C, arom. C), 128.75 (d, arom. C), 128.89 (d, arom. C); 135.74 (s, arom. C-1'), 138.53 (s, arom. C-1), 170.02 (s, C-1 oder C-1'), 170.57 (s, C-1 oder C-1') ppm.

(3*R*, 3'*R*)-(3-Hydroxybutyryloxy)-buttersäure (13)

Eine Lösung von **60** (1.28 g, 3.5 mmol) in 20 ml absolutem Ethanol werden unter Zugabe von 384 mg Katalysator (10 % Pd auf Aktivkohle) 20 Stunden hydriert. Anschließend wird vom Katalysator abfiltriert, eingedampft und der Rückstand über eine kurze Kieselgelsäule (50 g Kieselgel, Ethanol) filtriert. Ausbeute 652 mg, 3.4 mmol, 97 %).

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -19.8$  (c = 0.7, Methanol), Lit.  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -33.7$  (c = 1.19, Methanol).

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 1.24$  (d,  $J = 6.4$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.31 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.34 (dd,  $J_{2,2'} = 14.8$  Hz,  $J_{2,3} = 6.0$  Hz, 1H, 2-H), 2.54 (dd,  $J_{2,2'} = 15.2$  Hz,  $J_{2,3} = 6.0$  Hz, 1H, 2-H), 2.57 (dd,  $J_{2,3} = 6.0$  Hz, 1H, 2-H) 2.67 (dd,  $J_{2,3} = 6.0$  Hz, 1H, 2-H), 4.17-4.25 (m, 1H, H-3'), 5.25-5.37 (m, 1H, H-3) ppm.

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 19.38$  (q,  $\text{CH}_3$ ), 21.78 (q,  $\text{CH}_3$ ), 40.99 (t, C-2 oder C-2'), 42.36 (t, C-2 oder C-2'), 64.03 (d, C-3 oder C-3'), 67.05 (d, C-3, C-3'), 171.39 (s, C-1 oder C-1'), 171.57 (s, C-1 oder C-1') ppm.

## 9.4.6. Synthese der auf der Seide von *Tegenaria atrica* identifizierten Verbindungen

### 9.4.6.1. Synthese von 2-Heneicosanon (69)

#### Eicosanal (71)

Zu einer Suspension aus 3.27 g (8.85 mmol) Tetra-*N*-butylammoniumiodid und 10 g (44.25 mmol) *N*-Iodsuccinimid in 100 ml abs. Dichlormethan gibt man 2.64 g (8.85 mmol) Eicosanol (70) und rührt 14 Stunden bei Raumtemperatur. Nach der Zugabe von 50 ml gesättigter Natriumthiosulfatlösung wird weitere 15 min gerührt, die Phasen getrennt und die wäßrige Phase zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte werden mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether : Essigester (10:1) gereinigt und man erhält 1.69 g (5.71 mmol, 65 %) des gewünschten Aldehyds 71 [133].

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta = 0.97$  (t,  $J = 7.12$  Hz, 3H, 20-H), 1.25 (m, 34H,  $\text{CH}_2$ ), 2.42 (dt,  $J_{2,1} = 2.03$  Hz, 2H, 2-H), 9.76 (t, 1H, 1-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 14.11$  (q, C-20), 22.09 (t,  $\text{CH}_2$ ), 22.69 (t,  $\text{CH}_2$ ), 29.16 (t,  $\text{CH}_2$ ), 29.36 (t,  $\text{CH}_2$ ), 29.42 (t,  $\text{CH}_2$ ), 29.58 (t,  $\text{CH}_2$ ), 29.69 (t,  $\text{CH}_2$ ), 31.92 (t,  $\text{CH}_2$ ), 43.92 (t, C-2), 202.99 (d, C-1) ppm.

MS (70eV),  $m/z$  (%): 297 (0.03) [ $\text{M}^+\text{+H}$ ], 295 (0.03) [ $\text{M}^+\text{-H}$ ], 152 (2), 138 (4), 126 (2), 125 (5), 123 (10), 113 (2), 112 (3), 11 (14), 109 (18), 99 (5), 98 (7), 95 (36), 93 (2), 86 (2), 85 (17), 84 (10), 83 (38), 82 (72), 81 (40), 80 (5), 79 (4), 72 (5), 71 (31), 70 (15), 69 (36), 68 (38), 67 (32), 66 (8), 58 (5), 57 (86), 56 (22), 55 (69), 54 (12), 53 (5), 45 (9), 44 (30), 43 (100), 42 (16), 41 (75), 39 (8).

$\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}_1$  (296.54): ber. C (80.93), H (13.49); gef. C (80.72), H (13.58).

2-Heneicosanol (72)

Zu einer Grignardlösung aus 55 mg (2.28 mmol) Magnesium und 197 mg (2.07 mmol) Methyljodid in abs. Ether werden vorsichtig 450 mg (1.52 mmol) Eicosanal (**71**), gelöst in 10 ml abs. Ether, getropft und zwei Stunden unter Rückfluß erhitzt. Nach der Hydrolyse mit Eiswasser wird die organische Phase abgetrennt und die wäßrige Phase zweimal mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte werden mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Das entstandene Produkt wird ohne weitere Reinigung in den folgenden Reaktionen eingesetzt. Ausbeute 379 mg (1.21 mmol, 80 %) [134].

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$  = 1.02 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 3H, 21-H), 1.33 (d,  $J_{1,2}$  = 6.1 Hz, 3H, 1-H), 1.42 (br s, 36H,  $\text{CH}_2$ ), 1.62 (dt,  $J_{3,2}$  = 6.6 Hz, 2H, 3-H), 3.95 (m, 1H, 2-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta$  = 13.66 (q, C-21), 23.04 (q, 1-C), 25.32 (t,  $\text{CH}_2$ ), 28.91 (t, 16C,  $\text{CH}_2$ ), 29.21 (t,  $\text{CH}_2$ ), 39.57 (t, C-3), 67.77 (d, C-2) ppm.

MS (70eV), m/z (%): 294 (0.02) [ $\text{M}^+$ -18], 111 (10), 97 (14), 83 (16), 82 (9), 75 (6), 71 (14), 70 (11), 69 (19), 67 (11), 57 (26), 56 (14), 55 (44), 54 (8), 45 (100), 43 (60), 42 (19), 41 (50).

2-Heneicosanon (69)

379 mg (1.21 mmol) 2-Heneicosanol (**72**) werden in 5 ml Aceton aufgenommen. Die Lösung wird auf *ca.* 5 °C abgekühlt und bis zum Farbumschlag von braun-gelb nach grün-blau tropfenweise mit Jones-Reagenz (133.5 g  $\text{CrO}_3$ , 115 ml konz. Schwefelsäure *ad* 500 ml Wasser) versetzt und weitere 15 min gerührt. Anschließend wird die Lösung eingengt und in 10 ml Wasser aufgenommen und dreimal mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte werden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird an Kieselgel mit einem Gemisch aus Petrolether und Essigester gereinigt. Ausbeute 325 mg (1.04 mmol, 85 %) [135].

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta$  = 0.88 (t,  $J$  = 6.9 Hz, 3H, 21-H), 1.34 (br s, 36H,  $\text{CH}_2$ ), 2.13 (s, 3H, 1-H), 2.42 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H, 3-H) ppm.

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 14.10$  (q, C-21), 29.60 (q, C-1), 29.47 (t, 17), 43.83 (t, C-3), 209.34 (s, C-2) ppm.

MS (70eV), m/z (%): 310 (0.7) [ $\text{M}^+$ ], 97 (3), 96 (5), 95 (3), 85 (9), 83 (5), 82 (5), 81 (3), 71 (25), 69 (7), 67 (3), 58 (62), 57 (18), 56 (5), 55 (19), 54 (3), 43 (100), 42 (9), 41 (28).

$\text{C}_{21}\text{H}_{44}\text{O}_1$  (312.58): ber. C (80.61), H (14.07); gef. C (80.83), H (13.54).

#### 9.4.6.2. Synthese von racemischem-, (3S)- und (3R)-1,3-Docosandiol (60)

##### 3-Oxo-docosansäureethylester (74)

Zu einer Suspension aus 32 mg (0.17 mmol) trockenem Zinn(II)chlorid und 205 mg (1.78 mmol) Diazoessigsäureethylester unter Schutzgas in abs. Dichlormethan werden vorsichtig einige Tropfen einer Lösung aus 500 mg (1.69 mmol) Eicosanal (**71**) in 5 ml abs. Dichlormethan gegeben. Nach Beendigung der Stickstoffentwicklung wird langsam die restliche Lösung zugetropft. Eine weitere Spatelspitze Zinn(II)chlorid wird nach einer Stunde Rühren bei Raumtemperatur hinzugefügt, wobei eine erneute Stickstoffentwicklung zu beobachten ist. Nach zwei Stunden wird die Mischung mit 40 ml gesättigter Natriumchloridlösung verdünnt und dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte werden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether : Essigester (50:1) gereinigt, Ausbeute 483 mg (1.26 mmol, 75 %) [137].

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):  $\delta = 0.91$  (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H, 21-H), 1.28-1.35 (m, 37H,  $\text{CH}_2 + \text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 2.52 (t,  $J = 6.9$  Hz, 2H, 4-H), 3.43 (s, 2H, 2-H), 4.22 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ) ppm.

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 14.51$  (q, C-22), 14.84 (q,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 23.09 (t,  $\text{CH}_2$ ), 23.90 (t,  $\text{CH}_2$ ), 29.76 (t, 11  $\text{CH}_2$ ), 29.85 (t,  $\text{CH}_2$ ), 30.01 (t,  $\text{CH}_2$ ), 32.34 (t,  $\text{CH}_2$ ), 43.47 (t, C-4), 61.28 (t, C-2), 61.74 (t,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 156.71 (s, C-1), 210.45 (s, C-3) ppm.

$C_{24}H_{46}O_3$  (382.63): ber. C (75.27), H (12.02); gef. C (74.78), H (11.99).

*rac*-Docosan-1,3-diol (**60**)

Zu einer Suspension von 25 mg (0.63 mmol) Lithiumaluminiumhydrid in 20 ml trockenem Ether werden unter Rühren 146 mg (0.38 mmol) des  $\beta$ -Ketoesters **74** gelöst in 10 ml trockenem Ether so zugetropft, dass das Gemisch gelinde siedet. Nach 18 Stunden Rühren bei Raumtemperatur, wird das Produkt mit Eis gekühlt und vorsichtig mit gekühlter 10 %iger Schwefelsäure versetzt. Die organische Phase wird abgetrennt und die verbleibende wäßrige Phase noch zweimal mit Ether extrahiert. Nach dem Waschen der vereinigten organischen Extrakte mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das ausgefallene Produkt wird über Nacht an der Ölpumpe getrocknet und säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether : Essigester (1:1) gereinigt. Ausbeute **60** 105 mg (0.31 mmol, 78 %) [96].

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz):  $\delta$  = 0.94 (t,  $J$  = 7.0 Hz, 3H, 22-H), 1.21-1.39 (m, 34H,  $CH_2$ ), 1.53-1.89 (m, 4H, 4-H + 2-H), 3.86-3.95 (m, 3H, 1-H + 3-H) ppm.

$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 101 MHz):  $\delta$  = 14.52 (q, C-22), 23.10 (t,  $CH_2$ ), 25.93 (t,  $CH_2$ ), 30.04 (t, 15  $CH_2$ ), 32.34 (t,  $CH_2$ ), 38.71 (t, C-2), 62.36 (t, C-1), 72.86 (d, C-3) ppm.

$C_{22}H_{46}O_2$  (342.60): ber. C (77.19), H (13.45); gef. C (75.97), H (13.01).

Zur gaschromatographischen und massenspektrometrischen Untersuchung wird das Produkt nach der allgemeinen Vorschrift mit Trifluoessigsäureanhydrid und MSTFA derivatisiert.

O,O-Bis-(trifluoracetyl)-docosan-1,3-diol

MS (70eV), m/z (%): 474 (0.27) [ $M^+$  -69], 153 (3), 125 (6), 123 (3), 112 (3), 111 (12), 110 (5), 109 (7), 98 (5), 97 (24), 96 (11), 95 (15), 85 (14), 84 (8), 82 (15), 81 (21), 80 (3), 79 (5), 71 (28), 70 (15), 69 (5), 68 (13), 67 (25), 58 (3), 57 (80), 56 (24), 55 (58), 54 (13), 44 (4), 43 (100), 42 (18), 41 (56).

O, O-Bis-(trimethylsilyl)-docosan-1,3-diol

MS (70eV), m/z (%): 471 (0.63) [ $M^+$  -15], 443 (2), 370 (5), 369 (14), 220 (12), 219 (64), 189 (2), 177 (2), 157 (4), 149 (5), 148 (5), 147 (32), 144 (13), 143 (2), 133 (9), 131 (5), 130 (3),

129 (17), 117 (2), 115 (3), 11 (3), 109 (2), 103 (70), 102 (2), 101 (4), 97 (7), 96 (3), 95 (4), 91 (3), 83 (8), 82 (3), 81 (5), 75 (17), 74 (6), 73 (75), 72 (3), 71 (8), 70 (4), 69 (13), 68 (3), 67 (7), 61 (3), 59 (6), 58 (4), 57 (56), 56 (12), 55 (10), 54 (5), 53 (3), 47 (3), 45 (9), 44 (7), 43 (100), 42 (12), 41 (43), 39 (4).

(3R)-3-Hydroxydocosansäureethylester (77)

In einem Autoklaven werden 150 mg (0.39 mmol) des  $\beta$ -Ketoesters **74**, 10 ml Methanol und eine Spatelspitze [*R*-(+)-2,2'-Bis-(diphenylphosphino)-1,1'-binaphtalin]-chloro-(*p*-cymol)-rutheniumchlorid gemischt. Bei einem Wasserstoffdruck von 40 bar und einer Temperatur von 80 °C wird drei Tage gerührt. Zur Abtrennung des Katalysators wird die Lösung über einen Membranfilter filtriert, das Methanol abdestilliert und das Produkt zur Entfernung des restlichen Methanols 8 Stunden an der Ölpumpe getrocknet. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether : Essigester (10:1) gereinigt. Ausbeute 146 mg (0.38 mmol, 97 %) [145, 146].

$[\alpha]_D^{20} = -83.81$  (c = 1.7, Dichlormethan)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.93$  (t,  $J = 6.6$  Hz, 3H, 21-H), 1.28-1.35 (m, 37H,  $\text{CH}_2 + \text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 2.57 (dt,  $J_{2,3} = 7.1$  Hz, 2H, 2-H), 3.67 (m, 1H, 3-H), 4.22 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 14.51$  (q, C-22), 14.84 (q,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 23.09 (t,  $\text{CH}_2$ ), 23.90 (t,  $\text{CH}_2$ ), 29.76 (t, 11  $\text{CH}_2$ ), 29.85 (t,  $\text{CH}_2$ ), 30.01 (t,  $\text{CH}_2$ ), 32.34 (t,  $\text{CH}_2$ ), 43.47 (t, C-4), 56.98 (t, C-2), 61.74 (t,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 67.39 (d, C-3), 156.71 (s, C-1) ppm.

$\text{C}_{24}\text{H}_{48}\text{O}_3$  (384.64): ber. C (74.87), H (12.47); gef. C (75.22), H (11.97).

Zur gaschromatographischen und massenspektrometrischen Untersuchung wird das Produkt nach der allgemeinen Vorschrift mit MSTFA derivatisiert.

O-Trimethylsilyl-3-hydroxydocosansäureethylester

MS (70eV), m/z (%): 456 (0.74) [M<sup>+</sup>], 441 (3) [M<sup>+</sup> -15], 191 (3), 190 (6), 189 (41), 147 (16), 145 (9), 143 (3), 130 (3), 129 (3), 117 (11), 111 (4), 108 (4), 105 (3), 101 (13), 97 (12), 95 (6), 91 (3), 75 (53), 74 (11), 73 (100), 71 (28), 70 (8), 69 (20), 68 (4), 67 (8), 61 (5), 59 (8), 58 (5), 57 (68), 55 (34), 54 (4), 45 (8), 43 (97), 42 (17), 41 (43).

Der Enantiomerenüberschuß konnte durch Derivatisierung mit (*S*)-2-Acetoxypropionylchlorid und anschließender gaschromatographischer Trennung der Diastereomeren auf einer unpolaren Säule (30 m BPX-5 fused silica-Kapillare; Temperaturprogramm: 100 °C, 5 min isotherm und anschließend mit 4 °C / min auf 300 °C; R<sub>t</sub> = 45.59 min) bestimmt werden, ee = 82 %.

(3*R*, 2'*S*)-3-(2-Acetoxypropoxy)-docosansäureethylester

MS (70eV), m/z (%): 412 (0.3), 411 (0.2), 368 (2), 367 (21), 366 (8), 322 (3), 321 (11), 320 (9), 303 (6), 284 (3), 279 (2), 278 (5), 277 (2), 269 (4), 267 (8), 237 (2), 236 (3), 193 (3), 191 (2), 169 (3), 167 (3), 152 (2), 151 (3), 129 (5), 128 (3), 127 (3), 126 (5), 125 (6), 115 (20), 114 (14), 113 (7), 111 (9), 110 (7), 109 (7), 108 (5), 101 (5), 100 (3), 98 (5), 97 (8), 96 (7), 95 (6), 89 (3), 88 (9), 87 (13), 85 (4), 84 (3), 83 (10), 82 (5), 81 (6), 80 (4), 70 (9), 69 (7), 68 (4), 67 (6), 57 (17), 56 (15), 55 (24), 54 (9), 53 (3), 45 (4), 43 (100), 41 (20).

(3*R*)-Docosan-1,3-diol (**60**)

Einer gerührten Suspension von *ca.* 10 mg Lithiumaluminiumhydrid in 20 ml trockenem Ether werden 58 mg (0.15 mmol) (3*R*)-3-Hydroxydocosansäureethylester (**77**) gelöst in Ether so zugetropft, dass die Mischung gelinde siedet. Das Reaktionsgemisch wird 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, anschließend auf 0 °C abgekühlt und mit 5 %iger Schwefelsäure versetzt. Die organische Phase wird abgetrennt und die wäßrige Phase zweimal mit Ether extrahiert. Nach dem Waschen der vereinigten organischen Extrakte mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel mit einem Petrolether : Essigester (1:1) Gemisch. Ausbeute 34 mg (0.10 mmol, 66 %) (3*R*)-Docosan-1,3-diol (**60**) [96].

$[\alpha]_D^{20} = -33.67$  (c = 1.4, Dichlormethan)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.94$  (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H, 22-H), 1.21-1.39 (m, 34H,  $\text{CH}_2$ ), 1.53-1.89 (m, 4H, 4-H + 2-H), 3.86-3.95 (m, 3H, 1-H + 3-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 14.52$  (q, C-22), 23.10 (t,  $\text{CH}_2$ ), 25.93 (t,  $\text{CH}_2$ ), 30.04 (t, 15  $\text{CH}_2$ ), 32.34 (t,  $\text{CH}_2$ ), 38.71 (t, C-2), 62.36 (t, C-1), 72.86 (d, C-3) ppm.

Der Enantiomerenüberschuß konnte durch Derivatisierung mit (*S*)-Mosher's Reagenz und anschließender gaschromatographischer Trennung der Diastereomeren auf einer unpolaren Säule (30 m BPX-5 fused silica-Kapillare; Temperaturprogramm: 100 °C, 5 min isotherm und anschließend mit 5 °C / min auf 300 °C;  $R_t = 52.25$  min) bestimmt werden, ee = 82 %.

( $\alpha$ S, 3R)-( $\alpha$ -Methoxy- $\alpha$ -trifluormethyl)-phenyllessigsäure-3-hydroxydocosanylester

MS (70eV), m/z (%): 489 (1) [ $\text{M}^+ - 69$ ], 369 (3), 344 (2), 343 (3), 328 (8), 325 (10), 324 (3), 315 (9), 307 (3), 306 (8), 301 (7), 297 (4), 295 (3), 294 (9), 291 (8), 284 (3), 281 (3), 279 (7), 278 (3), 269 (8), 260 (5), 259 (4), 258 (2), 250 (4), 249 (3), 247 (8), 225 (2), 207 (11), 203 (4), 190 (15), 189 (72), 188 (2), 186 (5), 183 (2), 175 (11), 171 (3), 170 (27), 159 (2), 158 (6), 141 (5), 137 (2), 139 (11), 137 (3), 127 (7), 125 (9), 124 (3), 123 (4), 121 (6), 119 (13), 11 (20), 110 (5), 105 (22), 99 (6), 98 (4), 97 (36), 96 (11), 95 (11), 92 (3), 91 (11), 85 (22), 84 (5), 83 (42), 82 (13), 81 (19), 80 (2), 79 (5), 78 (3), 77 (19), 75 (4), 73 (24), 72 (13), 71 (46), 70 (11), 69 (61), 68 (15), 67 (25), 63 (3), 61 (4), 60 (3), 59 (11), 58 (17), 57 (100), 56 (19), 55 (64), 54 (12), 53 (5), 51 (5), 45 (5), 43 (64), 42 (2), 41 (27).

(3S)-3-Hydroxydocosansäureethylester (77)

Die Darstellung des  $\beta$ -Hydroxyester **77** erfolgt analog der Darstellung von (3R)-3-Hydroxydocosansäureethylester (**77**), wobei 150 mg (0.39 mmol) **74** mit [*S*-(-)-2,2'-Bis-(diphenylphosphino)-1,1'-binaphtalin]-chloro-(*p*-cymol)-rutheniumchlorid als Katalysator hydriert werden. Ausbeute 146 mg (0.38 mmol, 98 %) [145, 146].

$[\alpha]_D^{20} = +84.44$  (c=1.8 in Dichlormethan).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.93$  (t,  $J = 6.6$  Hz, 3H, 21-H), 1.28-1.35 (m, 37H,  $\text{CH}_2 + \text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 2.57 (dt,  $J_{2,3} = 7.1$  Hz, 2H, 2-H), 3.67 (m, 1H, 3-H), 4.22 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 14.51$  (q, C-22), 14.84 (q,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 23.09 (t,  $\text{CH}_2$ ), 23.90 (t,  $\text{CH}_2$ ), 29.76 (t, 11  $\text{CH}_2$ ), 29.85 (t,  $\text{CH}_2$ ), 30.01 (t,  $\text{CH}_2$ ), 32.34 (t,  $\text{CH}_2$ ), 43.47 (t, C-4), 56.98 (t, C-2), 61.74 (t,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 67.39 (d, C-3), 156.71 (s, C-1) ppm.

ee = 80 % (Bestimmung erfolgte analog der Bestimmung des Enantiomerenüberschusses von (3*R*)-**77**,  $R_t = 44.91$  min).

#### (3*S*)-Docosan-1,3-diol (60)

30 mg (0.26 mmol) des (3*S*)-3-Hydroxyesters **77** in abs. Ether werden unter Rühren innerhalb von 5 Stunden zu einer Suspension von 16 mg (0.41 mmol) Lithiumaluminiumhydrid in 20 ml abs. Ether so zugetropft, dass das Gemisch gelinde siedet. Nach 20 Stunden Rühren bei Raumtemperatur wird die Lösung abgekühlt und eine 10 %ige Schwefelsäure-Eiswasserlösung hinzugefügt. Nachdem die organische Phase abgetrennt ist, wird die wäßrige Phase zweimal mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das ausgefallene Produkt wird über Nacht an der Ölpumpe getrocknet und säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether : Essigester (1:1) gereinigt. Ausbeute 42 mg (0.12 mmol, 46 %) [96].

$[\alpha]_D^{20} = 33.99$  (c = 1.4, Dichlormethan).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.94$  (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H, 22-H), 1.21-1.39 (m, 34H,  $\text{CH}_2$ ), 1.53-1.89 (m, 4H, 4-H + 2-H), 3.86-3.95 (m, 3H, 1-H + 3-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 14.52$  (q, C-22), 23.10 (t,  $\text{CH}_2$ ), 25.93 (t,  $\text{CH}_2$ ), 30.04 (t, 15  $\text{CH}_2$ ), 32.34 (t,  $\text{CH}_2$ ), 38.71 (t, C-2), 62.36 (t, C-1), 72.86 (d, C-3) ppm.

ee = 80 % (Bestimmung erfolgte analog der Bestimmung des Enantiomerenüberschusses von (3*R*)-**60**,  $R_t = 52.04$  min).

#### 9.4.6.3. Synthese von 1-Docosen-3-on (**67**)

##### 1-Docosen-3-ol (**73**)

Aus 48 mg (2 mmol) Magnesium in 10 ml abs. THF und 214 mg (2 mmol) Vinylbromid wird ein Grignardreagenz hergestellt. Zu dieser Lösung werden 300 mg (1.01 mmol) Eicosanal (**71**) so zugetropft, dass die Temperatur nicht über 30 °C steigt. Nach vollendeter Zugabe wird die Mischung 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch mit 20 ml gesättigter Ammoniumchloridlösung versetzt, die organische Phase abgetrennt und die wäßrige Phase dreimal mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird ohne weitere Reinigung in der folgenden Reaktion eingesetzt. Ausbeute 243 mg (0.75 mmol, 74 %) [134].

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.89$  (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H, 22-H), 1.21-1.43 (m, 18H,  $\text{CH}_2$ ), 3.25 (dt,  $J_{3,2} = 7.1$  Hz,  $J_{3,4} = 6.6$  Hz, 1H, 3-H), 4.89 (ddd,  $J_{1c,2} = 10.7$  Hz,  $^2J_{1c,1t} = 1.5$  Hz,  $J_{1c,3} = 1.0$  Hz, 1H, 1- $\text{H}_{\text{cis}}$ ), 5.05 (ddd,  $J_{1t,2} = 17.3$  Hz,  $J_{1t,3} = 1.0$  Hz, 1H, 1- $\text{H}_{\text{trans}}$ ), 5.69 (ddd,  $J_{2,3} = 6.1$  Hz, 1H, 2-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 15.1$  (q, C-23), 25.24 (t,  $\text{CH}_2$ ), 29.99 (t, 17  $\text{CH}_2$ ), 30.10 (t,  $\text{CH}_2$ ), 73.71 (d, C-3), 114.92 (t, C-1), 144.79 (d, C-2) ppm.

$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_1$  (324.51): ber. C (81.48), H (13.58); gef. C (78.37), H (12.96).

MS (70eV), m/z (%): 306 (0.33) [ $\text{M}^+ - 18$ ], 110 (3), 109 (3), 97 (8), 96 (12), 95 (9), 85 (10), 84 (2), 83 (12), 82 (19), 81 (15), 80 (3), 79 (5), 73 (7), 71 (10), 70 (5), 69 (13), 68 (18), 67 (19), 58 (6), 57 (100), 56 (9), 54 (13), 53 (4), 44 (3), 43 (54), 42 (8), 41 (39).

1-Docosen-3-on (67)

100 mg (0.30 mmol) 1-Docosen-3-ol (**73**) werden in 5 ml Aceton aufgenommen. Die Lösung wird auf *ca.* 5 °C abgekühlt und bis zum Farbumschlag von braun-gelb nach grün-blau tropfenweise mit Jones-Reagenz (133.5 g CrO<sub>3</sub>, 115 ml konz. Schwefelsäure *ad* 500 ml Wasser) versetzt und 15 min gerührt. Anschließend wird das Aceton im Vakuum entfernt und der Rückstand in Wasser aufgenommen und dreimal mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte werden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Das Rohprodukt wird an Kieselgel mit einem Gemisch aus Petrolether und Essigester gereinigt. Ausbeute 99 mg (0.30 mmol, 99 %) [135].

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  = 0.93 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 3H, 22-H), 1.25 (br. s, 34H, CH<sub>2</sub>), 2.39 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H, 4-H), 5.86 (dd,  $J_{1c,2}$  = 10.7 Hz,  $J_{1c,1t}$  = 1.02 Hz, 1H, 1-H<sub>cis</sub>), 6.25 (dd,  $J_{1t,2}$  = 17.7 Hz, 1H, 1-H<sub>trans</sub>), 6.40 (dd, 1H, 2-H) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz):  $\delta$  = 14.49 (q, C-22), 23.07 (t, CH<sub>2</sub>), 24.43 (t, CH<sub>2</sub>), 29.74 (t, 12 CH<sub>2</sub>), 29.80 (t, CH<sub>2</sub>), 30.07 (t, CH<sub>2</sub>), 40.07 (t, C-4), 128.21 (t, C-1), 137.00 (d, C-2), 204.54 (s, C-3) ppm.

MS (70eV),  $m/z$  (%): 322 (0.69) [M<sup>+</sup>], 293 (5), 267 (3), 262 (2), 222 (3), 139 (6), 135 (2), 126 (6), 125 (4), 122 (2), 112 (4), 111 (9), 106 (3), 97 (9), 96 (6), 95 (3), 84 (4), 83 (11), 81 (4), 77 (2), 72 (5), 71 (14), 70 (59), 69 (12), 67 (6), 56 (10), 55 (100), 55 (4), 54 (4), 53 (5), 47 (2), 44 (4), 43 (45), 42 (9), 41 (34), 39 (6).

C<sub>22</sub>H<sub>42</sub>O<sub>1</sub> (322.58): ber. C (81.48), H (13.58); gef. C (80.76), H (13.02).

**9.4.6.4. Synthese von 1-Hydroxy-3-docosanon (68)**1-tert-Butyl-dimethylsiloxydocosan-3-ol (75)

Zu einer Lösung aus 85 mg (0.25 mmol) des Diols **60** und 40 mg (0.27 mmol) Imidazol in 20 ml abs. Dichlormethan werden 40 mg (0.26 mmol) *tert*-Butyldimethylsilylchlorid hinzugefügt und anschließend wird die Mischung bei Raumtemperatur intensiv gerührt. Nach vollständiger Umsetzung (8 Stunden) gibt man 20 ml gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung hinzu und

rührt über Nacht zur vollständigen Zersetzung des überschüssigen *tert*-Butyldimethylsilylchlorids. Zur Aufarbeitung wird die organische Phase abgetrennt und die wäßrige Phase dreimal mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zweimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und mit Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether : Essigester (10:1) als Laufmittel. Ausbeute 99 mg (0.22 mmol, 86 %) [141, 142].

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  = 0.03 (s, 3H, Si-CH<sub>3</sub>), 0.04 (s, 3H, Si-CH<sub>3</sub>), 0.88 (t,  $J$  = 6.9 Hz, 3H, 22-H), 1.07 (s, 9H, Si-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.25 (br. s, 34H, CH<sub>2</sub>), 1.40-1.52 (m, 2H), 1.64-1.79 (m, 2H), 3.80-3.92 (m, 4H, 1-H +3-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta$  = -5.00 (q, Si-CH<sub>3</sub>), -4.98 (q, Si-CH<sub>3</sub>), 14.13 (q, C-22), 19.01 (s, Si-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 22.70 (t, CH<sub>2</sub>), 25.52 (t, CH<sub>2</sub>), 26.56 (q, Si-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 29.61 (t, 15 CH<sub>2</sub>), 29.67 (t, CH<sub>2</sub>), 31.93 (t, CH<sub>2</sub>), 62.00 (t, C-1), 72.50 (d, C-3) ppm.

#### 1-*tert*-Butyl-dimethylsiloxydocosan-3-on (76)

99 mg (0.22 mmol) 1-*tert*-Butyl-dimethylsiloxydocosan-3-ol (75) werden zu einer Suspension aus *ca.* 200 mg Pyridiniumdichromat und *ca.* 50 mg gemörsertem Molekularsieb (3 Å) in 20 ml Dichlormethan gegeben und 48 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Entfernung des Lösungsmittels wird der Rückstand zur Abtrennung des Pyridiniumdichromats über eine kurze Kieselgelsäule filtriert (Petrolether:Essigester 12:1). Ausbeute: 70 mg (0.15 mmol, 70 %) [143].

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  = 0.03 (s, 3H, Si-CH<sub>3</sub>), 0.04 (s, 3H, Si-CH<sub>3</sub>), 0.83 (s, 9H, Si-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.88 (t,  $J$  = 6.9 Hz, 3H, 22-H), 1.21 (br. s, 34H, CH<sub>2</sub>), 1.51 (m, 2H, 5-H), 2.39 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 2H, 4-H), 2.54 (t,  $J$  = 6.1 Hz, 2H, 2-H), 3.83 (t, 2H, 1-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta$  = -5.00 (q, Si-CH<sub>3</sub>), -4.94 (q, Si-CH<sub>3</sub>), 14.12 (q, C-22), 18.23 (s, Si-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 23.78 (t, CH<sub>2</sub>), 25.87 (s, Si-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 28.95 (t, CH<sub>2</sub>), 29.24 (t, 13 CH<sub>2</sub>), 29.38 (t, CH<sub>2</sub>), 29.49 (t, CH<sub>2</sub>), 43.93 (t, C-4), 45.60 (t, C-2), 58.96 (t, C-1), 210.27 (s, C-3) ppm.

MS (70eV), m/z (%): 455 (0.11) [M<sup>+</sup>-H], 397 (4), 157 (2), 129 (2), 89 (2), 83 (4), 81 (2), 75 (22), 73 (5), 71 (8), 70 (15), 69 (4), 67 (3), 60 (2), 59 (3), 58 (3), 57 (38), 56 (8), 55 (52), 53 (3), 47 (69), 45 (10), 44 (3), 43 (100), 42 (16), 41 (70).

#### 1-Hydroxy-3-docosanon (68)

60 mg (0.13 mmol) 1-*tert*-Butyl-dimethylsilyloxydocosan-3-on (**76**) in 2 ml Acetonitril werden in einem 5 ml Schraubgläschen bei *ca.* -5 °C mit 10 Tropfen einer Mischung aus Acetonitril und Flußsäure (95:5) versetzt. Die Lösung wird 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend in gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung gegossen und dreimal mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an neutralem Alox mit Petrol-ether:Essigester (10:1) gereinigt. Ausbeute: 29 mg (0.08 mmol, 66 %) [144].

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  = 0.87 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H, 22-H), 1.27 (br. s, 34H, CH<sub>2</sub>), 1.55 (m, 2H, 5-H), 2.39 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, 4-H), 2.60 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H, 2-H), 3.97 (t, 2H, 1-H) ppm.

#### 9.4.5.6. Synthese der Monoacylglyceride

##### Tetradecansäure-2-propenylester (81)

Zu 1.45 g (25 mmol) frisch destilliertem Allylalkohol in 50 ml trockenem Ether und 10 ml trockenem Pyridin bei 0 °C werden langsam 12 g (50 mmol) Tetradecansäurechlorid (**80**) in 20 ml trockenem Ether gelöst zugetropft. Die Lösung wird 3 Stunden bei 40 °C und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsansatz wird dann auf eisgekühlte gesättigte Ammoniumchloridlösung gegossen und die abgetrennte organische Phase mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether : Essigester (50:1) gereinigt. Ausbeute 4.38 g (16.4 mmol, 66 %) [96].

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.81$  (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H, 14-H), 1.25 (br. s, 14H,  $\text{CH}_2$ ), 1.63 (m, 2H, 3-H), 2.33 (t,  $J_{1,2} = 7.1$  Hz, 2H, 1-H), 4.58 (dt,  $J_{1',2'} = 5.6$  Hz,  $J_{1',3'} = 1.5$  Hz, 2H, 1'-H), 5.23 (ddt,  $J_{3',2'} = 10.7$  Hz,  $J_{3',3't} = 4.6$  Hz, 1H, 3'- $\text{H}_{\text{cis}}$ ), 5.28 (ddt,  $J_{3',2'} = 17.3$  Hz, 1H, 3'- $\text{H}_{\text{trans}}$ ), 5.87-5.98 (ddt, 1H, 2'-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 14.54$  (q, C-14), 23.11 (t,  $\text{CH}_2$ ), 25.38 (t,  $\text{CH}_2$ ), 29.56 (t,  $\text{CH}_2$ ), 29.77 (t, 3  $\text{CH}_2$ ), 29.87 (t,  $\text{CH}_2$ ), 31.93 (t,  $\text{CH}_2$ ), 34.30 (t,  $\text{CH}_2$ ), 64.92 (t, C-1'), 118.06 (t, C-3'), 132.37 (d, C-2') 173.53 (s, C-1) ppm.

MS (70eV), m/z (%): 268 (0.13) [ $\text{M}^+$ ], 225 (3), 211 (13), 191 (2), 155 (2), 137 (2), 135 (2), 127 (3), 125 (4), 123 (4), 121 (2), 115 (2), 114 (3), 113 (32), 111 (9), 109 (8), 107 (2), 101 (9), 100 (43), 99 (8), 98 (6), 97 (17), 96 (3), 95 (14), 93 (2), 85 (18), 84 (7), 83 (22), 82 (12), 81 (11), 79 (3), 73 (5), 72 (3), 71 (36), 70 (7), 69 (32), 68 (3), 67 (10), 58 (12), 57 (60), 56 (20), 55 (60), 54 (18), 53 (3), 44 (4), 43 (80), 42 (14), 41 (100).

#### (2S)-2,3-Dihydroxypropyltetradecanoat (64)

Zu einer Suspension aus 10 g  $\beta$ -AD-Mix in einem Gemisch aus *tert*-Butanol und Wasser (1:1) werden bei 0 °C 1.93 g (7.1 mmol) Tetradecansäure-2-propenylester (**80**) gegeben und 7 Tage bei dieser Temperatur gerührt. Zur Aufarbeitung werden 10.7 g Natriumdisulfit hinzugefügt und nach dem Abklingen der starken Gasentwicklung wird die Lösung mit 30 ml Dichlormethan verdünnt. Die Phasen werden getrennt und die wäßrige Phase dreimal mit je 50 ml 1N Kaliumhydroxidlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und eingeengt. Es erfolgt eine säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel mit Petrolether : Essigester (5:1) als Laufmittel. Ausbeute 88 mg (0.29 mmol, 4 %) [155-160].

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = 3.1$  (c = 0.4, Diethylether).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.88$  (t,  $J = 6.6$  Hz, 3H, 14-H), 1.27 (br. s, 20H,  $\text{CH}_2$ ), 1.64 (quin,  $J_{2,3} = 7.3$  Hz, 2H, 3-H), 2.34 (t, 2H, 2-H), 3.58-3.63 (dd,  $J_{3',2'} = 5.7$  Hz, 1H, 3'-H), 3.68-3.72 (dd,  $J_{3',2'} = 3.8$  Hz, 1H, 3'-H), 3.93 (m, 1H, 2'-H), 4.13-4.17 (dd,  $J_{1',2'} = 6.0$  Hz, 1H, 1'-H), 4.19-4.23 (dd,  $J_{1',2'} = 4.4$  Hz, 1H, 1'-H) ppm.

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta$  = 14.13 (q, C-14), 22.69 (t,  $\text{CH}_2$ ), 24.93 (t,  $\text{CH}_2$ ), 29.36 (t, 10  $\text{CH}_2$ ), 31.93 (t,  $\text{CH}_2$ ), 63.34 (t, C-1'), 65.70 (t, C-3'), 70.01 (d, C-2'), 170.68 (s, C-1) ppm.

Zur gaschromatographischen Bestimmung des Enantiomerenverhältnisses wurde das Produkt nach den allgemeinen Vorschriften mit MSTFA, Mosher's Reagenz, (*S*)-2-Acetoxypropionylchlorid derivatisiert. Das (*S*)-2-Acetoxypropionylderivat ließ sich auf einer unpolaren Säule (30 m BPX-5 fused silica-Kapillare; Temperaturprogramm: 100 °C mit 20 °C / min auf 255 °C, 50 min isotherm;  $R_t$  = 17.35 min für das (*R*)-Enantiomer und  $R_t$  = 17.59 min für das (*S*)-Enantiomer) trennen und somit konnte der ee mit 82 % bestimmt werden.

(*S*)-O,O-Bis(trimethylsilyl)-2,3-dihydroxypropyltetradecanoat

MS (70eV), m/z (%): 431 (22) [ $\text{M}^+$ -15], 343 (100), 211 (21), 205 (18), 203 (17), 147 (29), 129 (16), 103 (12), 73 (48), 57 (16), 55 (10), 43 (21).

(2*S*,  $\alpha$ *S*)-2-Hydroxy-3-( $\alpha$ -methoxy- $\alpha$ -trifluormethyl-phenylacetoxyl)-propyltetradecanoat

MS (70eV), m/z (%): 393 (2), 339 (3), 329 (3), 328 (1), 327 (2), 307 (2), 304 (2), 297 (2), 290 (2), 279 (4), 267 (3), 211, (10), 210 (2), 209 (5), 195 (5), 194 (3), 191 (2), 190 (4), 189 (69), 188 (4), 185 (5), 182 (2), 180 (4), 169 (4), 167 (3), 161 (6), 160 (2), 156 (6), 155 (4), 141 (5), 140 (6), 139 (4), 127 (3), 126 (3), 99 (4), 98 (2), 92 (5), 91 (2), 85 (15), 84 (6), 80 (2), 75 (3), 74 (2), 73 (4), 71 (18), 70 (5), 69 (4), 66 (4), 61 (2), 60 (2), 58 (3), 57 (100), 55 (15), 54 (4), 53 (2), 43 (62), 41 (16).

(2*S*, 2'*S*)-2-Hydroxy-3-(2-acetoxypropyl)-propyltetradecanoat

MS (70eV), m/z (%): 398 (7) [ $\text{M}^+$ -18], 356 (3), 355 (4), 313 (2), 299 (5), 285 (6), 284 (3), 283 (2), 272 (2), 271 (23), 268 (3), 255 (2), 243 (7), 241 (4), 230 (12), 212 (5), 211 (45), 190 (3), 189 (45), 188 (19), 185 (5), 175 (21), 171 (3), 170 (3), 169 (2), 168 (2), 158 (3), 137 (2), 129 (13), 128 (3), 126 (3), 117 (5), 116 (17), 115 (93), 113 (3), 112 (8), 111 (7), 109 (5), 101 (3), 100 (12), 99 (3), 98 (20), 97 (13), 95 (8), 87 (48), 85 (11), 84 (20), 83 (17), 82 (4), 81 (9), 75 (2), 74 (3), 73 (4), 72 (2), 71 (10), 70 (9), 69 (8), 68 (6), 67 (3), 60 (2), 58 (2), 57 (26), 56 (19), 55 (29), 45 (3), 44 (4), 43 (100), 41 (21).

Auch zur gaschromatographischen Untersuchung des Enantiomerenverhältnisses wurde **64** zusätzlich mit 2,2-Dimethoxypropan derivatisiert.

Tetradecansäure-2,2-dimethyl-dioxolan-4-ylester

(2*S*)-2,3-Dihydroxypropyltetradecanoat (**64**) (50 mg (0.16 mmol)) werden in 3 ml 2,2-Dimethoxypropan aufgenommen und mit einer Spatelspitze *p*-Toluolsulfonsäure versetzt. Die Reaktionsmischung wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und anschließend auf eiskalte gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung gegossen. Das resultierende Gemisch wird dreimal mit Ether extrahiert und die vereinigten Extrakte mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether : Essigester (10:1) gereinigt. Ausbeute 49 mg (0.14 mmol, 90 %).

MS (70eV), m/z (%): 328 (22) [M<sup>+</sup>+H-15], 327 (70) [M<sup>+</sup>-15], 285 (4), 284 (6), 283 (2), 255 (3), 241 (9), 227 (4), 213 (3), 212 (3), 211 (17), 199 (4), 185 (18), 172 (3), 171 (23), 158 (4), 143 (5), 130 (5), 129 (57), 123 (4), 117 (7), 116 (65), 115 (7), 114 (16), 112 (3), 11 (7), 109 (9), 102 (10), 101 (91), 100 (3), 99 (17), 98 (12), 97 (14), 96 (2), 95 (18), 93 (3), 87 (2), 86 (6), 85 (34), 84 (11), 83 (29), 82 (3), 81 (14), 79 (5), 74 (5), 73 (29), 72 (42), 71 (65), 70 (8), 69 (38), 68 (4), 67 (13), 61 (8), 59 (34), 58 (10), 57 (87), 56 (24), 55 (74), 54 (5), 53 (4), 45 (3), 44 (11), 43 (100), 42 (34), 41 (76).

(2*R*)-2,3-Dihydroxypropyltetradecanoat (64)

Die Darstellung erfolgt analog der Synthese von (2*S*)-2,3-Dihydroxypropyltetradecanoat (**64**), in diesem Fall ausgehend von 1.65 g (6.14 mmol) des Allylesters **81** und 8.42 g  $\alpha$ -AD-Mix. Ausbeute: 43 mg (0.14 mmol, 3 %) [155-160].

$[\alpha]_D^{20} = -3$  (c = 0.4, Diethylether).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  = 0.88 (t, *J* = 6.6 Hz, 3H, 14-H), 1.27 (br. s, 20H, CH<sub>2</sub>), 1.64 (quin, *J*<sub>2,3</sub> = 7.3 Hz, 2H, 3-H), 2.34 (t, 2H, 2-H), 3.58-3.63 (dd, *J*<sub>3',2'</sub> = 5.7 Hz, 1H, 3'-H), 3.68-3.72 (dd, *J*<sub>3',2'</sub> = 3.8 Hz, 1H, 3'-H), 3.93 (m, 1H, 2'-H), 4.13-4.17 (dd, *J*<sub>1',2'</sub> = 6.0 Hz, 1H, 1'-H), 4.19-4.23 (dd, *J*<sub>1',2'</sub> = 4.4 Hz, 1H, 1'-H) ppm.

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 14.13$  (q, C-14), 22.69 (t,  $\text{CH}_2$ ), 24.93 (t,  $\text{CH}_2$ ), 29.36 (t, 10  $\text{CH}_2$ ), 31.93 (t,  $\text{CH}_2$ ), 63.34 (t, C-1'), 65.70 (t, C-3'), 70.01 (d, C-2'), 170.68 (s, C-1) ppm.

ee = 84 % (Bestimmung erfolgte analog der ee Bestimmung von (S)-**64**).

#### Hexadecansäure-2-propenylester (**79**)

Die Darstellung von Hexadecansäure-2-propenylester (**79**) erfolgt analog der Synthese des Tetradecansäure-2-propenylesters (**81**), in diesem Fall mit 1.45 g (25 mmol) Allylalkohol und 14.8 g (50 mmol) Hexadecansäurechlorid. Die säulenchromatographische Reinigung des Rohproduktes an Kieselgel mit Petrolether: Essigester (50:1) ergab eine Ausbeute von 4.41g (15.14 mmol, 61%) [96].

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 0.81$  (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H, 16-H), 1.25 (br. s, 18H,  $\text{CH}_2$ ), 1.63 (m, 2H, 3-H), 2.33 (t,  $J_{1,2} = 7.1$  Hz, 2H, 1-H), 4.58 (dt,  $J_{1',2'} = 5.6$  Hz,  $J_{1',3'} = 1.5$  Hz, 2H, 1'-H), 5.23 (ddt,  $J_{3',2'} = 10.7$  Hz,  $J_{3',3't} = 4.6$  Hz, 1H, 3'- $\text{H}_{\text{cis}}$ ), 5.28 (ddt,  $J_{3',2'} = 17.3$  Hz, 1H, 3'- $\text{H}_{\text{trans}}$ ), 5.87-5.98 (ddt, 1H, 2'-H) ppm.

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta = 14.54$  (q, C-16), 23.11 (t,  $\text{CH}_2$ ), 25.38 (t,  $\text{CH}_2$ ), 29.56 (t,  $\text{CH}_2$ ), 29.77 (t, 5  $\text{CH}_2$ ), 29.87 (t,  $\text{CH}_2$ ), 31.93 (t,  $\text{CH}_2$ ), 34.30 (t,  $\text{CH}_2$ ), 64.92 (t, C-1'), 118.06 (t, C-3'), 132.37 (d, C-2') 173.53 (s, C-1) ppm.

MS (70eV), m/z (%): 296 (0.55) [ $\text{M}^+$ ], 253 (7), 240 (4), 239 (21), 219 (3), 211 (4), 197 (3), 169 (14), 155 (6), 153 (4), 149 (4), 139 (7), 137 (4), 135 (5), 127 (7), 125 (11), 123 (8), 121 (5), 115 (4), 114 (7), 113 (70), 112 (4), 111 (18), 109 (14), 101 (22), 100 (75), 99 (20), 98 (14), 97 (40), 96 (6), 95 (25), 93 (4), 85 (43), 84 (15), 83 (45), 82 (21), 81 (22), 79 (4), 73 (6), 71 (53), 70 (11), 69 (50), 67 (17), 58 (22), 57 (80), 56 (36), 55 (74), 54 (25), 44 (6), 43 (92), 41 (100).

#### rac-2,3-Dihydroxypropylhexadecanoat (**65**)

Hexadecansäure-2-propenylester (**79**) (700 mg (2.36 mmol)) werden in Ethanol gelöst und bei 0 °C mit einer Lösung aus 372 mg (2.36 mmol) Kaliumpermanganat in 10 ml Wasser versetzt.

Anschließend wird die Reaktionsmischung 12 Stunden bei Raumtemperatur und weitere 12 Stunden bei 40 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wird der entstandene Braunstein abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum fast vollständig entfernt. Der verbleibende wäßrige Rückstand wird mit Natriumchlorid gesättigt und dreimal mit Ether extrahiert. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wird der Ether abdestilliert. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether : Essigester (1:1). Ausbeute 69 mg (0.22 mmol, 9 %) [96].

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  = 0.88 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 3H, 14-H), 1.27 (br. s, 20H,  $\text{CH}_2$ ), 1.64 (quin,  $J_{2,3}$  = 7.3 Hz, 2H, 3-H), 2.34 (t, 2H, 2-H), 3.58-3.63 (dd,  $J_{3',2'}$  = 5.7 Hz, 1H, 3'-H), 3.68-3.72 (dd,  $J_{3',2'}$  = 3.8 Hz, 1H, 3'-H), 3.93 (m, 1H, 2'-H), 4.13-4.17 (dd,  $J_{1',2'}$  = 6.0 Hz, 1H, 1'-H), 4.19-4.23 (dd,  $J_{1',2'}$  = 4.4 Hz, 1H, 1'-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta$  = 14.13 (q, C-14), 22.69 (t,  $\text{CH}_2$ ), 24.93 (t,  $\text{CH}_2$ ), 29.36 (t, 10  $\text{CH}_2$ ), 31.93 (t,  $\text{CH}_2$ ), 63.34 (t, C-1'), 65.70 (t, C-3'), 70.01 (d, C-2'), 170.68 (s, C-1) ppm.

$\text{C}_{19}\text{O}_4\text{H}_{28}$  (320.43): ber. C (71.22), H (8.81); gef. C (70.99), H (8.35).

10 mg (0.032 mmol) 2,3-Dihydroxypropylhexadecanoat (**65**) werden zur gaschromatographischen-massenspektrometrischen Untersuchung nach den allgemeinen Arbeitsvorschriften mit MSTFA und (*S*)-2-Acetoxypropionylchlorid derivatisiert.

#### O,O-Bis(trimethylsilyl)-2,3-dihydroxypropylhexadecanoat

MS (70eV), m/z (%): 459 (12) [ $\text{M}^+$ -15], 371 (100), 312 (6), 239 (19), 205 (17), 203 (17), 147 (29), 129 (16), 117 (13), 103 (11), 73 (49), 57 (17), 55 (10), 43 (19).

#### (S)-2-Hydroxy-3-(2-acetoxypropoxy)-propylhexadecanoat

MS (70eV), m/z (%): 426 (2) [ $\text{M}^+$ -18], 304 (5), 303 (32), 296 (5), 282 (2), 281 (7), 261 (2), 239 (7), 231 (3), 230 (2), 189 (4), 188 (4), 187 (2), 172 (10), 171 (2), 137 (2), 135 (2), 133 (4), 131 (2), 129 (4), 127 (2), 126 (2), 125 (3), 123 (2), 122 (2), 121 (2), 119 (3), 117 (5), 116 (8), 115 (100), 114 (2), 113 (7), 112 (13), 111 (6), 110 (3), 109 (5), 107 (2), 99 (5), 98 (16), 97 (12), 96 (7), 95 (8), 94 (2), 93 (3), 91 (3), 88 (3), 87 (46), 85 (8), 84 (8), 83 (10), 82 (4), 81 (6), 79 (3), 73 (11), 71 (9), 70 (3), 69 (10), 68 (3), 67 (5), 61 (2), 60 (4), 57 (21), 56 (10), 55 (20), 45 (7), 44 (30), 43 (83), 42 (5), 41 (23).

---

## 10. Literaturverzeichnis

- 1 J. Roth in *Im Bistro nach Mitternacht* (Hrsg. K. Ochse), Kiepenheuer & Witsch, Köln, **1999**, 65.
- 2 A. Butenandt, R. Beckmann, D. Stamm, E. Hecker, *Z. Naturforsch.* **1960**, *15b*, 283-284.
- 3 R. F. Foelix, *Biologie der Spinnen*, Thieme Verlag, Stuttgart, **1992**.
- 4 J. Gotthelf, *Die schwarze Spinne*, Insel Verlag, Frankfurt / Main **1987** (it 951).
- 5 W. Bonsels, *Die Biene Maja und ihre Abenteuer*, Albert Langen, Georg Müller Verlag, Wien, **1980**.
- 6 A. Canard, *Mem. Soc. Roy. belge Ent.* **1986**, *33*, 47-50.
- 7 T. Friedel, *Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Spinnengift auf Insekten*, Diplomarbeit, Universität Regensburg, **1987**.
- 8 G. G. Habermehl, *Gift-Tiere und ihre Waffen*, Springer Verlag Berlin, **1994**, 38.
- 9 S. Schulz, *Angew. Chem. Int. Edt. Engl.* **1997**, *36*, 314-326.
- 10 K. D. McCormick, J. Meinwald, *J. Chem. Ecol.* **1993**, *19*, 2411-2451.
- 11 Y. Aramaki, T. Yashuhara, T. Higashijima, M. Yoshioka, A. Miwa, N. Kawai, T. Nakajima, *Proc. Jpn. Acad. Ser. B* **1986**, *62*, 359-362.
- 12 E. V. Grishin, T. M. Volkowa, A. S. Arseniev, O. S. Reshetova, V. v. Onoprienko, L. G. Magazanik, S. M. Antonov, I. M. Fedorova, *Bioorg. Khim.* **1986**, *12*, 1121-1124.
- 13 G. B. Quistad, C. C. Reuter, W. S. Skinner, P. A. Dennis, S. Suwanrumpha, E. W. Fu, *Toxicon* **1991**, *29*, 329-336.
- 14 A. L. Mueller, R. Roeloffs, H. Jackson in *The Alkaloids*, Vol. 45 (Hrsg.: G. Cordell, A. Brosi), Academic Press, New York, **1995**, 63.
- 15 I. S. Blagbrough, P. T. H. Brackley, M. Bruce, B. W. Bycroft, A. J. Mather, S. Millington, H. L. Sudan, P. N. R. Usherwood, *Toxicon* **1992**, *30*, 303-322.
- 16 F. Vollrath, *Spektrum der Wissenschaft* **1992**, Nr. 5, 82-89.
- 17 J. F. Anderson, *Comp. Biochem. Physiol.* **1970**, *33*, 51-56.
- 18 R. R. Jackson, *Zool J. Linn. Soc.* **1986**, *88*, 179-185.
- 19 R. R. Jackson, R. J. Brassington, *J. Zool. Lond.* **1982**, *196*, 255-261.
- 20 W. S. Bristowe, G. H. Locket, *Proc. Zool. Soc.*, **1926**, 317-320.

- 
- 21 W. J. Tietjen, J. S. Rovner in *Spider Communication* (Hrsg.: P. N. Witt, J. S. Rover), Princeton University Press, Princeton New Jersey, **1982**, 249-279.
- 22 D. M. Stewart in *Endocrinology of Selected Invertebrate Types* (Hrsg.: H. Laufer, G. H. Downer), Alan R. Liss, New York, **1988**, 415-428.
- 23 W. J. Tietjen, *Psyche* **1979**, 84, 165-178.
- 24 K. Ross, R. L. Smith, *J. Arachnol.* **1979**, 7, 69-77.
- 25 R. R. Jackson, *J. Arachnol.* **1978**, 5, 185-230.
- 26 H. Dijkstra, *Proc. K. Ned. Akad. Wet.* **1976**, 79, 235-244.
- 27 B. M. Hegdekar, C. C. Dondale, *Can. J. Zool.* **1973**, 51, 400-410.
- 28 R. Blanke, *Z. Tierpsychol.* **1975**, 38, 62-74.
- 29 S. D. Pollard, A. M. Macnab, R. R. Jackson, *Ecophysiology of Spiders* (Hrsg. W. Nentwig), Springer Verlag Berlin, 133-141.
- 30 M. K. Stowe, J. H. Tumlinson, R. R. Heath, *Science* **1987**, 236, 964-967.
- 31 W. G. Eberhard, *Science* **1977**, 198, 1173-1174.
- 32 W. G. Eberhard, *Psyche* **1985**, 92, 105-114.
- 33 D. A. Carlson, M. S. Mayer, D. L. Silhacek, J. D. James, M. Beroza, B. A. Bierl, *Science* **1971**, 174, 76-78.
- 34 A. M. Schaner, R. J. Bartelt, L. L. Jackson, *J. Chem. Ecol.* **1987**, 13, 1777-1786.
- 35 R. A. Allan, M. A. Elgar, R. J. Capon, *Proc. R. Soc. London Ser. B* **1996**, 263, 69-73.
- 36 S. Schulz, S. Toft, *Science* **1993**, 260, 1635-1637.
- 37 P. J. Watson, *Science* **1986**, 233, 219-221.
- 38 P. Weygoldt in *How Animals Communicate* (Hrsg. T. A. Sebeok), Indiana University Press, Bloomington / In. **1977**, 303.
- 39 J. S. Rovner, F. G. Barth, *Science* **1981**, 214, 464-466.
- 40 R. C. P. Lee, M. Nyffeler, E. Krelina, B. W. Pennycook, *Mitteilg. Schweiz. Entomol. Ges.* **1986**, 59, 337-342.
- 41 M. F. Land in *Neurobiology of Arachnids*, (Hrsg. F. G. Barth), Springer Verlag, Berlin, **1985**, 53.
- 42 S. Takahashi, A. Gassa, *J. Chem. Ecol.* **1995**, 21, 1837-1845.
- 43 K. E. Espelie, E. A. Bernays, J. J. Brown, *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **1991**, 17, 223-233.
- 44 R. B. Suter, C. M. Shane, A. J. Hirscheimer, *J. Arachnol.* **1987**, 15, 157-162.

- 
- 45 R. B. Suter, C. M. Shane, A. J. Hirscheimer, *J. Arachnol.* **1989**, *17*, 237-240.
- 46 R. B. Suter, A. J. Hirscheimer, *Animal. Behav.* **1986**, *34*, 748-753.
- 47 B. J. Kaston, *Entomol. Am.* **1936**, *5*, 185-230.
- 48 R. B. Suter, G. Renkes, *Animal. Behav.* **1982**, *30*, 714-718.
- 49 L. R. Ayyagari, W. J. Tietjen, *J. Chem. Ecol.* **1987**, *13*, 237-243.
- 50 S. Schulz, G. Uhl, unveröffentlichte Ergebnisse.
- 51 S. Schulz, S. Toft, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 6805-6820.
- 52 R. Ryhage, E. Stenhagen, *Ark. Kemi.* **1961**, *15*, 291-304.
- 53 S. Schulz, *Chem. Commun.* **1997**, 969-970.
- 54 M. Riederer, L. Schreiber in *Waxes: Chemistry, Molecular Biology and Functions* (Hrsg.: R. J. Hamilton), The Oily Press. Dundee, **1995**, 131.
- 55 M. Hattori, K. Miyachi, S. Hada, U. Kakiuchi, F. Kiuchi, K. Tsuda, T. Namba, *Chem. Pharm. Bull.* **1987**, *35*, 3507-3513.
- 56 W. Francke, S. Schulz in *Comprehensive Natural Products Chemistry* (Hrsg.: Sir D. Barton, K. Nakanishi, Vol. Hrsg.: K. Mori), Vol. 8, Elsevier, Oxford, **1999**, 203-241.
- 57 M. Luckner, *Secondary Metabolism in Microorganisms, Plants and Animals*, Springer-Verlag, Berlin, **1999**.
- 58 „Römpf Lexikon Naturstoffe“, (Hrsg.: B. Fugmann, S. Lang-Fugmann, W. Steglich), Georg Thieme Verlag, Stuttgart · New York, **1997**.
- 59 C. J. J. Richter, H. C. J. Stolting, L. Vlijm, *J. Zool. Lond.* **1971**, *165*, 285-290.
- 60 R. Blanke, *Naturwissenschaften* **1973**, *60*, 481-486.
- 61 F. G. Barth, *Balz und vibratorische Kommunikation der Spinne Cupiennius salei Keys. (Ctenidae)*, Film C2318, Österreichisches Bundesinstitut für den Wissenschaftlichen Film, Wien, **1992**.
- 62 F. G. Barth, *Comp. Biochem. Physiol.* **1993**, *104A*, 717-733.
- 63 H. Homann, *Z. Morph. Tiere* **1971**, *69*, 201-207.
- 64 F. G. Barth, E. A. Seyfarth, H. Bleckmann, W. Schüch, *Oecologia* **1988**, *77*, 187-193.
- 65 F. G. Barth, E. A. Seyfarth, *J. Arachnol.* **1979**, *7*, 255-263.
- 66 J. S. Rovner, F. G. Barth, *Science* **1981**, *214*, 464-466.
- 67 F. G. Barth, A. Schmitt, *Behav. Ecol. Sociobiol.* **1991**, *29*, 333-339.
- 68 A. Schmitt, M. Schuster, F. G. Barth, *J. Arachnol.* **1990**, *18*, 249-255.
- 69 J. Ackermann, M. Matthes, C. Tamm, *Helv. Chim. Acta* **1990**, *73*, 122-132.

- 
- 70 W. E. Donaldson, R. F. McCleary, E. F. Degering, *J. Am. Chem. Soc.* **1934**, *56*, 459-460.
- 71 K. Hirota, H. Kitagawa, M. Shimamura, S. Ohmori, *Chem. Letters* **1980**, 191-194.
- 72 H. Klemm, U. Hintze, G. Gercken, *J. Chromatogr.* **1973**, *75*, 19-27.
- 73 J. Oehlenschläger, U. Hintze, G. Gercken, *J. Chromatogr.* **1975**, *110*, 53-62.
- 74 L. Kvittingen, V. Partali, J. U. Brænden, T. Anthonsen, *Biotech. Lett.* **1991**, *13*, 13-18.
- 75 R. Chênevert, B. I. Ngatcha, Y. S. Rose, D. Goupil, *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9*, 4325-4329.
- 76 R. J. Bergeron, M. G. Xin, R. E. Smith, M. Wollenweber, J. S. McManis, C. Ludin, K. A. Abboud, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 427-434.
- 77 D. Seebach, A. R. Sting, M. Hoffmann, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2880-2921.
- 78 D. Seebach, R. Imwinkelried, T. Weber in *Modern Synthetic Methods Vol. 4*, (Ed. R. Scheffold), Springer Verlag, Berlin, **1986**, 125-259.
- 79 D. Seebach, R. Naef, G. Calderari *Tetrahedron* **1984**, *40*, 1313-1324.
- 80 W. A. König, R. Krebber, P. Mischnick, *J. High Resolut. Chromatogr.* **1984**, *12*, 732-738.
- 81 P. H. J. Carlsen, T. Katsuki, V. S. Martin, K. B. Sharpless *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 3936-3938.
- 82 B. E. Rossiter, T. Katsuki, K. B. Sharpless, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 464-465.
- 83 K. Blau, A. Darbre in *Handbook of Derivatives for Chromatography* (Hrsg. K. Blau, J. M. Halket), John Wiley & Sons, New York, **1993**, 11-28.
- 84 A. Dietrich, B. Maas, V. Karl, P. Kreis, D. Lehmann, B. Weber, A. Mosandel, *J. High Resolut. Chromatogr.* **1992**, *15*, 176-179.
- 85 H. Tichy, R. Ehn, M. Papke, S. Schulz, in Vorbereitung.
- 86 A. Schmitt, M. Schuster, F. G. Barth, *Ethology* **1992**, *90*, 293-306.
- 87 A. Schmitt, M. Schuster, F. G. Barth, *Anim. Behav.* **1994**, *48*, 1155-1171.
- 88 N. A. Campell in *Biologie*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **1997**, 1300.
- 89 E. A. Seyfarth, *Physiol. Entomol.* **1980**, *5*, 199-206.
- 90 C. Lange, C. Paris, M. L. Celerier, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1992**, *6*, 289-292.
- 91 P. H. Duffield, A. M. Duffield, P. R. Carroll, D. Morgans, *Biomed. Mass Spectrom.* **1979**, *6*, 105-108.
- 92 S. E. Riechert, F. D. Singer, *Animal. Behav.* **1995**, *49*, 715-723.

- 
- 93 W. Boland, P. Ney, L. Jaenicke, G. Gassmann in *Anal. Volatiles: Methods Appl. Proc.-Int. Workshop*, (Ed. P. Schreier), de Gruyter, Berlin, **1984**, 371-380.
- 94 M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh in *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1997**, 213.
- 95 F. W. McLafferty, F. Turecek, *Interpretationen von Massenspektren*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **1995**.
- 96 L. F. Tietze, T. Eicher, *Reaktionen und Synthesen im organisch-chemischen Forschungslaboratorium*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1991**, 111.
- 97 C. Fouquet, M. Schlosser, *Angew. Chem.* **1974**, 86, 50-51.
- 98 J. Tsuji, H. Nakashima, K. Hori, *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 2678-2682.
- 99 J. Tsuji, *Synthesis* **1984**, 369-384.
- 100 F. Schröder, *Dissertation*, Universität Hamburg **1996**.
- 101 S. Riechert, M. Papke, S. Schulz in Vorbereitung.
- 102 S. E. Riechert, *Am. Nat.* **1981**, 117, 871-892.
- 103 S. E. Riechert, C. R. Tracy, *Ecology* **1975**, 56, 265-284.
- 104 S. N. Austad in *Sperm Competition and the Evolution of Animal Mating Systems*, (Ed. R. L. Smith), Academic Press, Orlando, **1984**, 223-249.
- 105 D. Joulain, R. Laurent, J. P. Fourniol, K. B. Yaacob, *J. Essent. Oil Res.* **1991**, 3, 355-357.
- 106 R. Tressl, L. Friese, *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* **1978**, 166, 350-354.
- 107 T. Ikeshoji, M. S. Mulla, *Jap. J. Sanit. Zool.* **1977**, 25, 89-94.
- 108 K. A. Seitz, *Z. Morph. Tiere* **1972**, 72, 245-262.
- 109 H. Schildknecht, P. Kunzelmann, D. Krauss, C. Kuhn, *Naturwissenschaften* **1972**, 59, 98-99.
- 110 E. K. Tillinghast, R. J. Huxtable, W. H. Watson, M. A. Townley, *Comp. Biochem. Physiol. B* **1987**, 88, 457-460.
- 111 M. Protiva, V. Valenta, Z. Kopicova, J. Lukac, J. Holubek, I. Krejci, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1990**, 55, 1278-1289.
- 112 F. Vollrath, W. F. Fairbrother, R. J. P. Williams, E. K. Tillinghast, D. T. Bernstein, K. S. Gallagher, M. A. Townley, *Nature* **1990**, 345, 526-528.
- 113 A. Anava, Y. Lubin, *Bull. Br. arachnol. Soc.* **1993**, 9, 119-122.
- 114 G. Levy, P. Amitai, *Zool. J. Linn. Soc.* **1983**, 77, 39-63.

- 
- 115 Y. Lubin, M. Kotzmann, S. Ellner, *J. Arachnol.* **1991**, *19*, 4-48.
- 116 Y. Lubin, pers. Mitteilung.
- 117 K. A. Karlsson, B. E. Samuelsson, G. O. Steen, *Chem. Phys. Lipids* **1973**, *11*, 17-38.
- 118 J. S. Rovner, *Z. Tierpsychol.* **1968**, *25*, 232-245.
- 119 D. Seebach, M. Züger, *Helv. Chim. Acta* **1982**, *65*, 495-503.
- 120 D. Seebach, U. Brändli, P. Schnurrenberger, M. Przybylski, *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 155-167.
- 121 T. Olsen, J. M. Merrick, I. J. Goldstein, *Biochemistry* **1965**, *4*, 453-456.
- 122 U. Widmer, *Synthesis* **1987**, 568-570.
- 123 E. O. Wilson, *The Insect Societies*, Belknap Press of Harvard University Press, **1971**, Cambridge/Mass., 130.
- 124 M. Trabalon, A. G. Bagnères, N. Harmann, A. M. Vallet, *Insect Biochem. Molec. Biol.* **1996**, *26*, 77-84.
- 125 B. Krafft, Proc. *6<sup>th</sup> Inter. Arachnol. Congress* **1975**, Amsterdam, 107-112.
- 126 R. W. Howard in *Insect Lipids: Chemistry, Biochemistry and Biology*, (Ed. D. W. Stanley-Samuelson, D. R. Nelson), University of Nebraska Press, **1993**, Lincoln, 179-226.
- 127 D. R. Nelson, G. J. Blomquist in *Chemistry, Molecular Biology and Functions*, (Ed. R. J. Hamilton), The Oily Press, **1995**, Dundee, UK, 1-90.
- 128 U. Seibt, W. Wickler, *J. Arachnol.* **1988**, *16*, 35-39.
- 129 C. Roland, *J. Arachnol.* **1984**, *11*, 309-314.
- 130 M. Trabalon, A. G. Bagnères, C. Roland, *J. Chem. Ecol.* **1997**, *23*, 747-758.
- 131 O. Prouvost, M. Trabalon, M. Papke, S. Schulz, *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **1999**, *40*, 194-202.
- 132 J. Diekman, J. B. Thomason, C. Djerassi, *J. Org. Chem.* **1968**, *33*, 2271-2284.
- 133 S. Hanessian, D. H. Wong, M. Therien, *Synthesis* **1981**, 394-395.
- 134 Autorenkollektiv, *Organikum*, 16. Aufl., VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften **1986**, Berlin, 499.
- 135 K. Bowden, I. M. Heilbron, E. R. H. Jones, B. C. L. Weedon, *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, *148*, 39-45.
- 136 C. M. Thompson, D. L. C. Green, *Tetrahedron* **1991**, *47*, 4223-4228.
- 137 C. R. Holmquist, E. J. Roskamp, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 3258-3260.

- 
- 138 D. Seebach, E. J. Corey, *J. Org. Chem.* **1975**, *40*, 231-237.
- 139 D. Seebach, *Synthesis* **1969**, 17-36.
- 140 M. Kirihara, M. Ichinose, S. Takizawa, T. Momose, *Chem. Commun.* **1998**, 1691-1692.
- 141 H. Noguchi, T. Aoyama, T. Shioiri, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 10531-10544.
- 142 E. J. Corey, A. Venkateswarlu, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6190-6192.
- 143 E. J. Corey, G. Schmidt, *Tetrahedron Lett.* **1979**, 399-402.
- 144 S. J. Danishefsky, D. M. Armistead, F. E. Wincott, H. G. Selnick, R. Hungate, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *11*, 2967-2980.
- 145 R. Noyori, T. Ohkuma, M. Kitamura, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 5856-5858.
- 146 M. Kitamura, T. Ohkuma, S. Inoue, N. Sayo, H. Kumobayashi, S. Akutagawa, T. Ohta, H. Takaya, R. Noyori, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 629-631.
- 147 C. W. Gehrke, R. W. Zumwalt, L. L. Wall, *J. Chromatogr.* **1968**, *37*, 398-413.
- 148 C. W. Moss, M. A. Lambert, *J. Chromatogr.* **1971**, *60*, 134-136.
- 149 K. N. Slessor, G. G. S. King, D. R. Miller, M. L. Winston, T. L. Cutforth, *J. Chem. Ecol.* **1985**, *12*, 1659-1667.
- 150 P. Michelsen, G. Odham, *J. Chromatogr.* **1985**, *331*, 295-302.
- 151 A. Bhati, R. J. Hamilton, D. A. Steven in *Fats and Oils: Chemistry and Technology*, (Ed.: R. J. Hamilton, A. Bhati), Applied Science Publishers Ltd., London, **1980**, 59-107.
- 152 R. G. Jensen in *Topics in Lipid Chemistry*, (Ed.: F. D. Gunstone), Elek Science, London, **1972**, Vol. 3, 1-35.
- 153 E. Fischer, M. Bergmann, E. Barwind, *Ber.* **1920**, *53*, 1589-1598.
- 154 A. Gangadhar, R. Subbarao, G. Lakshminarayana, *Synth. Commun.* **1989**, *19*, 2505-2514.
- 155 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. L. Zhang, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 2768-2771.
- 156 D. Xu, G. A. Crispino, K. B. Sharpless, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7570-7571.
- 157 K. B. Sharpless, W. Amberg, M. Beller, H. Chen, J. Hartung, Y. Kawanami, D. Lübben, E. Manoury, Y. Ogino, T. Shibata, T. Ukita, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 4585-4588.

- 
- 158 Z. M. Wang, X. L. Zhang, K. B. Sharpless, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 2267-2270.
- 159 E. J. Corey, M. C. Noe, A. Guzman-Perez, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 10817-10824.
- 160 R. A. Johnson, K. B. Sharpless in *Catalytic Asymmetric Synthesis*, VCH, **1993**, Weinheim, 227-272.
- 161 G. D. Prestwich, M. Kaib, *Tetrahedron Lett.* **1975**, *52*, 4701-4704.
- 162 G. D. Prestwich, *Tetrahedron* **1981**, *38*, 1911-1919.
- 163 F. Ibarra, Diplomarbeit, *Universität Hamburg* **1998**.
- 164 E. Fujia, Y. Nagao, *Bioorg. Chem.* **1977**, *6*, 287-290.
- 165 N. Munsch, A. M. Recondo, C. Frayssinet, *FEBS Letters* **1973**, *6*, 287-290.
- 166 R. L. Hanson, H. A. Lardy, S. M. Kupchan, *Science* **1970**, *168*, 378-380.
- 167 W. Grosch, *Chem. in unserer Zeit* **1990**, 82-89.
- 168 W. Kitching, J. A. Lewis, M. T. Fletcher, R. A. I. Drew, C. J. Moore, W. Francke, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1986**, 853-854.
- 169 W. Kitching, J. A. Lewis, M. V. Perkins, R. Drew, C. J. Moore, V. Schurig, W. A. König, W. Francke, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 3893-3902.
- 170 R. Jetter, M. Riederer, A. Seyer, C. Mioskowski, *Phytochemistry* **1996**, *42*, 1617-1620.
- 171 W. W. Christie, *Nat. Prod. Rep.* **1987**, *4*, 113-128.
- 172 E. Härrä, W. Loeffler, H. P. Siss, H. Stähelin, C. Tamm, *Helv. Chim. Acta* **1963**, *49*, 1235-1243.
- 173 A. G. Bagnères, M. Trabalon, G. J. Blomquist, S. Schulz, *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **1997**, *36*, 295-314.
- 174 G. J. Blomquist, D. R. Nelson, M. De Renobales, *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **1987**, *6*, 227-265.
- 175 K. H. Lockey, *Comp. Biochem. Physiol.* **1988**, *89B*, 595-645.

## 11. Abkürzungsverzeichnis

$[\alpha]_D$	Drehwert bei Betsrahlung mit Natrium-Licht ( $\lambda = 589 \text{ nm}$ )
Abb.	Abbildung
Ac	Acetyl
AD	Asymmetrische Dihydroxylierung
ar.	aromatisch
ber.	berechnet
Bn	Benzyl
br	breit
CLSA	Closed Loop Stripping Apparatus
COSY	correlation spectroscopy
d	Dublett
$\delta$	chemische Verschiebung
DEPT	distortionless enhancement by polarisation transfer
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin
DMF	Dimethylformamid
DMDS	Dimethyldisulfid
DMSO	Dimethylsulfoxid
ee	Enantiomerenüberschuß
EI	Elektronenstoßionisation
Et	Ethyl
Ether	Diethylether
FD	Filmdicke
FID	Flammenionisationsdetektor
Fp.	Festpunkt
GC	Gaschromatographie
GC-MS	Kopplung von Gaschromatograph und Massenspektrometer
gef.	gefunden
HMDS-Li	Lithiumhexamethyldisilazidlösung
ID	Innendurchmesser
J	Kopplungskonstante
Kp.	Siedepunkt

m	Multipllett
M <sup>+</sup>	Molekularion
m/z	Masse/Ladung
Me	Methyl
MS	Massenspektrum
MSTFA	<i>N</i> -Methyl- <i>N</i> -trimethylsilyl-trifluoracetamid
NMR	nuclear magnetic resonance
Pd/C	Palladium auf Aktivkohle
PDC	Pyridiniumdichromat
Ph	Phenyl
q	Quartett
quin	Quintett
rac	racemisch
R <sub>t</sub>	Retentionszeit
s	Singulett
sept	Septett
<i>spp.</i>	Spezies (Plural)
t	Tripllett
Tab.	Tabelle
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
THF	Tetrahydrofuran
THP	2-Tetrahydropyranyl
TMS	Trimethylsilan
TFA	Trifluoressigsäure
Ts	<i>p</i> -Toluolsulfonyl
TsCl	<i>p</i> -Toluolsulfonsäurechlorid
TsOH	<i>p</i> -Toluolsulfonsäure

## 12. Sicherheitshinweise

Die folgende Liste beinhaltet die Verbindungen und Lösungsmittel, die in der vorliegenden Arbeit eingesetzt wurden. Soweit vorhanden sind die Gefahrstoffe mit den jeweiligen Gefahrensymbolen und R- und S-Sätzen versehen worden. Eine Erklärung der Gefahrensymbole und der R- und S-Sätze findet sich im Anschluß an die Tabelle.

Neue, hier dargestellte Verbindungen, für die keine Sicherheitshinweise existieren, sind als gefährlich einzustufen. Kontaminationen der Umwelt mit diesen Stoffen sind zu vermeiden. Diese Verbindungen sind in der Tabelle nicht mitaufgeführt.

### Lösungsmittel

Substanzname	Gefahrensymbol	R-Sätze	S-Sätze
Aceton	F	11	9-16-23-33
Acetonitril	F, T	11-23/24/25	16-27-45
<i>tert</i> -Butanol	F, Xn	11-20	9-16
Benzol	F, T	45-11- E48/23/24/25	53-45
Chloroform	Xn	22-38-40- 48/20/22	36/37
Dichlormethan	Xn	40	23-24/25-36/37
Diethylether	F+	12-19	9-16-29-33
Dimethylformamid	T	61-E20/21-36	53-45
Dimethylsulfoxid	Xi	36/38	26
Ethanol	F	11	7-16
Ethylacetat	F	11	16-23.2-29-33
Hexan	F, Xn	11-48/20	9-16-24/25-29-51
Methanol	F, T	11-23/25	7-16-24-45
Pentan	F	11	9-16-29-33
Pyridin	F, Xn	11-20/21/22	26-28
Schwefelkohlenstoff	F, T	11-36/38-48/23- 62-63	16-33-36/37-45
Tetrachlorkohlenstoff	T, N	23/24/25-40- 48/23-52/53-59	23.2-36/37-45-59- 61
Tetrahydrofuran	F, Xi	11-19-36/37	16-29-33
Toluol	F, Xn	11-20	16-25-29-33

## Reagenzien

Substanzname	Gefahrensymbol	R-Sätze	S-Sätze
Acetylchlorid	F, C	11-14-34	9-16-26-45
(S)-2-Acetoxypropionylchlorid	C	34	26-36/37/39-45
Allylalkohol	T, N	10-23/24/25-36/37/38-50	36/37/39-3845-61
Ameisensäure	C	35	23-26/45
(S)-Äpfelsäure	Xi	36	
Benzylalkohol	Xn	20/22	26
N-Benzyl-N-nitroso-p-toluolsulfonsäureamid	Xi	20/21/22-36/37/38	26-36
O-Benzyltrichloracetamidimidat	Xi	36/37/38	26-36
Bortrifluoridetherat	F, T	15-34-48/23	26-36/37/39-45
Chlorwasserstoff	C, T	23-35	9-26-36/37/39-45
Chrom(VI)-oxid	O, T, C, N	49-8-E25-35-43-50/53	53-45-60-61
Citronensäure	Xi	37/38-41	26-36/37/39
Diazoessigsäureethylester	Xi	5-10-20/21/22-40	15-27-36/37/39
2,2-Dimethoxypropan	F	11	
Dimethylaminoethanol	Xi	10-36/37/38	28.1
4-Dimethylaminopyridin	T	25-36/38	45
Dimethyldisulfid	F, Xn	11-20-36/37/38	16-33
Flußsäure	T+, C	26/27/28-35	7/9-26-36/37/39-45
Hexadecansäurechlorid	C	34-14	26-27-36/37/39-23
3-Hydroxybuttersäure	C	36/37/38	26-36
3-Hydroxybuttersäuremethylester	Xi	36/37/38	26-36
Imidazol	C	22-34	22-26-36/37/39-45
Kaliumcarbonat	Xn	22-36/37/38	22-26
Kaliumhydroxid	C	35	26-37/39-45
Kupfer(I)chlorid	Xn	22	22
Lithiumaluminiumhydrid	F	15	7/8-24/25-43.12
Lithiumhexamethydisilazidlösung in THF	Xn	19-34-20/21/22	16-26-27-36/37/39
Lithiumtetrachlorocuprat	C	19-22-36/37/38	16-26-36
Magnesium	F	11-15	7/8-43.6
(S) (+)- $\alpha$ -Methoxy- $\alpha$ -(trifluoromethyl)phenylacetylchlorid	C	34	26-36/37/39-45
Methyliodid	F	21-23/25-37/38-40	36/37-38-45
Natriumhydroxid	C	35	26-37/39-45
Natriumperiodat	O	8	
N-Methyl-N-(trimethyl)-2,2,2-trifluoracetamid	Xi	10-36/37/38	
N-Methylnitrosomethylharnstoff	T+	45-E23/24/25-43	53-45

Substanzname	Gefahrensymbol	R-Sätze	S-Sätze
Octacosansäuremethylester			22-24/25
Octansäurechlorid	C	14-22-34-37	26-36/37/39-45
Oxalylchlorid	T	14-23-34-37	26-36/37/39-45
Palladium(II)chlorid	C	34	26-36/37/39-45
Phosphorsäure	C	34	26-36/37/39-45
Pivalinaldehyd	Xn		3/7-16-33
Propionylchlorid	F, C	11-14-34	9-16-26-45
Pyridiniumdichromat	T	8-45-36/38- 23/24/25	53-17-26-27- 36/37/39
Pyroglutaminsäure	Xi	36	26
Rutheniumchlorid-Hydrat	C	22-34	26-36/37/39-45
Salzsäure	C	34-37	26-36/37/39-45
Schwefelsäure	C	35	26-30-45
Silber(I)oxid	Xi, O	8-41-44	26-39
<i>tert</i> -Butyldimethylsilylchlorid	C	10-34	26-36/37/39-45
Tetradecansäurechlorid	C	34-14	26-27-36/37/39-23
Tetra- <i>N</i> -butylammoniumiodid	Xn	22	
Thionylchlorid	C	14-34-37	26-45
<i>p</i> -Toluolsulfonsäure-Monohydrat	Xi	36/37/38	26-37
<i>p</i> -Toluolsulfonylchlorid	C	34	26-36/37/39-45
Trifluoressigsäureanhydrid	C	14-20/22-35	26-36/37/39-45
Trimethylcitrat			22-24/25
Vinylbromid	F+	12	9-16-33
Zinn(II)chlorid	Xn	22-36/37/38	26

### Gefahrensymbole

- E:** Explosionsgefährlich.  
**O:** Brandfördernd.  
**F:** Leichtentzündlich.  
**F+:** Hochentzündlich.  
**T:** Giftig.  
**T+:** Sehr giftig.  
**C:** Ätzend.  
**Xn:** Gesundheitsschädlich.  
**Xi:** Reizend.  
**N:** Umweltgefährlich.

**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 8.3 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser und Seife, möglichst auch mit Polyethylenglycol 400.
- S 8.4 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Polyethylenglycol 300 und Ethanol und anschließend mit viel Wasser und Seife.
- S 8.5 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Polyethylenglycol 400.
- S 8.6 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Polyethylenglycol 400 und anschließend Reinigung mit viel Wasser.
- S 8.7 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 angeben).
- S 41 Explosions- und Brandgase nicht einatmen.
- S 42 Bei Räucher/Versprühen geeignetes Atemschutzgerät anlegen und ... (geeignete Bezeichnungen vom Hersteller angeben).
- 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 Verschluss und für Kinder unzugänglich aufbewahren.
- S 3/7 Behälter dicht geschlossen halten und an einem kühlen Ort aufbewahren.
- S 3/9 Behälter an einem kühlen, gut gelüfteten Ort aufbewahren.
- S 3/9/14 An einem kühlen, gut belüfteten Ort entfernt von ... aufbewahren (inkompatible Substanzen sind vom Hersteller anzugeben).
- S 3/9/14.1 An einem kühlen, gut belüfteten Ort, entfernt von Reduktionsmitteln, Schwermetallverbindungen, Säuren und Alkalien aufbewahren.
- S 3/9/14.2 An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von oxidierenden und sauren Stoffen sowie Schwermetallverbindungen aufbewahren.
- S 3/9/14.3 An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von Eisen aufbewahren.
- S 3/9/14.4 An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von Wasser und Laugen aufbewahren.
- S 3/9/14.5 An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von Säuren aufbewahren.
- S 3/9/14.6 An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von Laugen aufbewahren.
- S 3/9/14.7 An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von Metallen aufbewahren.
- S 3/9/14.8 An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von oxidierenden und sauren Stoffen aufbewahren.
- S 3/9/14/49 Nur im Originalbehälter an einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von ... aufbewahren (inkompatible Substanzen sind vom Hersteller anzugeben).
- S 3/9/49 Nur im Originalbehälter an einem kühlen, gut gelüfteten Ort aufbewahren.
- S 3/14 An einem kühlen, von ... entfernten Ort aufbewahren (inkompatible Substanzen sind vom Hersteller anzugeben).
- S 7/8 Behälter trocken und dicht geschlossen halten.
- S 7/9 Behälter dicht geschlossen an einem gut gelüfteten Ort aufbewahren.
- S 7/47 Behälter dicht geschlossen und nicht bei Temperaturen über ... °C aufbewahren ( vom Hersteller anzugeben).
- S 20/21 Bei der Arbeit nicht essen, trinken und rauchen.
- S 24/25 Berührung mit den Augen und der Haut vermeiden.
- S 29/56 Nicht in die Kanalisation gelangen lassen und diesen Stoff und seinen Behälter der Problemabfallentsorgung zuführen.
- S 36/37 Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen.
- S 36/37/39 Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
- S 36/39 Bei 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).

### 13. Summary

This thesis investigates chemical signals, which spiders use for intra- and interspecific communication. Spiders are not thought of as particularly communicative animals. Most species are solitary and even cannibalistic throughout much of their life span. Yet even for these exemplary loners, communication plays an important role in all agonistic interaction and during reproduction. A short introduction describes the biology of spiders focussing on chemical-ecological aspects. Furthermore the introduction gives an overview of composition, function and biosynthesis of silk lipids, which are a further main focus of this thesis.

The first part of the thesis describes how a contact sex pheromone of *Cupiennius salei* (Ctenidae), a tropical wandering spider, was investigated. Females deposit the (*S*)-enantiomer of the asymmetrical dimethyl ester of citric acid **21** (*Cupilure*) on their dragline. Identification was based on analysis of methanol extracts of silk by <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy. Methanol extracts appeared to be strongly active in a bioassay. In order to verify the proposed structure the racemic compound **21** was synthesized by partial saponification. The absolute configuration of the compound was determined by an enantioselective synthesis of both enantiomers starting from either (*R*)- or (*S*)-malic acid. According to a method developed by Seebach *et al.*, these were each condensed with pivalaldehyde into the 1,3-dioxolanones, which were alkylated with allylic bromide. Deprotection and methylation were accomplished in one step. Final oxidative cleavage of the double bond yielded the desired products in high ee (92 %). Comparison of the synthetic samples with the natural compounds by chiral gas chromatography proved the predominant (*S*)-configuration (95:5 (*S*)/(*R*)) of the natural product. The (*S*)-enantiomer showed strong activity as a sex pheromone in the bioassay, whereas the racemic mixture was less active and the (*R*)-enantiomer proved to be inactive. *Cupilure* **21** was also found on the female silk of *Cupiennius getazi* and *Cupiennius coccineus*, two sympatric species belonging to the genus *Cupiennius* (Ctenidae). **21** clearly initiates vibratory courtship. The more differentiated mate recognition and reproductive isolation takes place in the following vibratory phase of courtship. With the synthetic products it was possible to identify the first spiders' pheromone-receptive tip pore sensilla located on pedipalps.

Males of the desert funnel-web spider *Agelenopsis aperta* (Agelenidae) respond with courtship to a volatile pheromone emitted by virgin females that are at least two weeks past their

final molt. In head space extracts of females in this reproduction stage 6-methyl-3-heptanon (**33**) and 8-methyl-2-nonanon (**34**) were identified by GC-MS. Both compounds were synthesized and subjected to behavioural assays. In separate trials 8-methyl-2-nonanon (**34**) was found to both attract males to the source of the cue and to elicit courtship behaviour from them at extremely low dosages. 6-Methyl-3-heptanon (**33**) showed no activity in the assays.

Silk extracts of the orb-web spider *Araneus diadematus* were analyzed by GC-MS and shown to contain 2-pyrrolidone (**40**) and *N, N*-dimethylaminoethyloctanoate (**41**) as well as traces of other *N, N*-dimethylaminoethylesters. Typical lipids occur in these extract as well. Unbranched and monomethyl branched hydrocarbons predominate, whereas the wax ester hexadecyl-2,4-dimethyltetradecanoate (**39**) occurs in a smaller amount. Octanoic acid, which has only been identified in extracts of adult females, and *N, N*-dimethylaminoethyloctanoate (**41**) were tested in a field study for their potential attractive effect. No males were caught in traps with *N, N*-dimethylaminoethyloctanoate (**41**) and only very few were found in traps with octanoic acid. Further experiments will be made to determine the function of these compounds.

Adult females of the Negev desert black widow spider *Latrodectus revivensis* (Theridiidae) have a chemical signal attached to their webs which males respond to with courtship behaviour. Besides the usual long chained hydrocarbons and their monomethyl branched isomers 2-pyrrolidone (**40**),  $\gamma$ -aminobutyric acid (**1**) and three unbranched methyl ethers with chain lengths of C<sub>26</sub> (**47**), C<sub>28</sub> (**48**) and C<sub>30</sub> (**49**) were identified by GC-MS in these extracts. The methyl ethers were synthesized and **40**, **1**, **47**, **48** and **49** were subjected to behavioural assays. Males react to  $\gamma$ -aminobutyric acid (**1**) and the three methyl ethers **47**, **48** and **49** and mixtures of these components with a characteristic searching behaviour. They do not show courtship reactions. The searching behaviour is also known as a reaction to the silk of adult females. It is possible that a further compound for eliciting courtship is missing. Besides this contact pheromone, females also produce a volatile signal to attract males over a long distance. 1-Dodecen (**52**) and Carvon (**53**) were found in head space extracts of adult females and will be tested in a field study.

(*R*)-3-[(*R*)-3-hydroxybutyryloxy]-butanoic acid (**13**), known as a pheromone from the European sheet-line weaver *Linyphia triangularis* (Linyphiidae), was identified on the webs of the American sheet-line weaver *Linyphia litigosa* (Linyphiidae). According to Seebach's method

**13** was synthesized by condensation of (3*R*)-hydroxybutyric acid (**12**), which was protected at the carboxy and hydroxy function, respectively. The absolute configuration was verified by chiral gas chromatography. Field studies showed that the compound did not attract males. If different Linyphiids use **13** as an attractant a species specific compound would facilitate species recognition. It is thinkable that the methyl ethers also identified on the silk fulfill this purpose.

The wide-spread European spider *Tegenaria atrica* (Agelenidae) has a female specific compound on the silk that elicits courtship in males. In active methanolic extracts of the silk fatty acids, long chain alcohols and methyl ketones were identified as main components. The extracts also contain several compounds such as four 1,3-diols (chain length C<sub>21</sub>-C<sub>24</sub> **60**, **61**, **62** and **63**), 1-docosen-3-one (**67**), 1-hydroxydocosan-3-one (**68**) and three  $\alpha$ -monoacylglycerides **64**, **65** and **66** which have not been determined on silk before. Some of these compounds were synthesized with common methods. Both enantiomers of docosan-1,3-diol (**60**) were obtained by reduction of the  $\beta$ -ketoester (**74**) with chiral ruthenium catalysts. Protection of the primary hydroxy group of **60** and oxidation of the secondary hydroxy group followed by deprotection yielded 1-hydroxydocosan-3-on (**68**). Racemic 2,3-dihydroxypropylhexadecanoat (**65**) was achieved by bishydroxylation of the allylic ester **79** with potassiumpermanganate whereas the enantiomers of 2,3-dihydroxypropyltetradecanoate (**64**) were obtained by bishydroxylation of the allylic ester **81** with  $\alpha$ - or  $\beta$ -AD-Mix. An active methanolic extract was separated by column chromatography on silica gel to differentiate the potential behaviour modifying substances. The single fractions were subjected to bioassays and in the strongest active fraction 2,3-dihydroxypropylhexadecanoate (**65**), 2,3-dihydroxypropyloctadecanoate (**66**), docosan-1,3-diol (**60**) and tetracosan-1,3-diol (**63**), hexacosanol and octacosanol were identified. Another less active fraction contained the vinyl ketone **67**, 2-heneicosanone (**69**), nonadecanol, eicosanol (**70**), tricosanol and 2-tricosanone. The effect of these single substances is now being analyzed in bioassays.

Changes in lipid content and composition were examined on the web and the cuticule of *Tegenaria atrica* females in relation to sexual receptivity. Hydrocarbons predominate in these extracts. Qualitative differences between receptive and unreceptive females were not noted, whereas some quantitative changes could be observed e.g. cuticle extracts of receptive females exhibit significantly more monomethylalkane than those of unreceptive females.

Comparison of the different species shows similarities of the main constituents among the lipid layer on the silk. The main components are long-chain aliphatic hydrocarbons, some monomethyl- and dimethyl-branched isomers and fatty acids. An exception is the silk of *Cupiennius salei*, where only few hydrocarbons are found. As this silk is not used for webs, but for safety threads, the different function may explain the different composition. Structural or biosynthetic connections between the identified substances are hard to establish. The pheromones from *Linyphia litigosa* and *Cupiennius salei* probably come from primary metabolism, whereas the other compounds are typically acetogenins or polyketides.

To conclude, it seems worthwhile to further investigate chemical communication systems of spiders. Apart from an existing interest in new structures, this research field provides deeper insights into the lives of these organisms and their ecosystems. Understanding of these systems is the basis for protection biodiversity. In the past the main focus was placed on protection of single endangered species whereas now the tendency is to protect whole ecosystems. This assumes a profound knowledge of the ecological context.

## Danksagung

Allen Kollegen und Kolleginnen im Arbeitskreis Francke danke ich für die gute Zusammenarbeit. Insbesondere möchte ich mich bei Dr. Ernst Plass für die Hilfe bei präparativen Problemen, Michael Specht für die Lösung fast aller Computerschwierigkeiten und Till Tolasch für die vielen Diskussionen biologischer Fragestellungen bedanken. Gaby Graack sei ganz herzlich gedankt für die Hilfe bei allen praktischen Fragen und ihre vielen Aufmunterungen.

Auch dem Arbeitskreis Schulz in Braunschweig insbesondere Frau Jasmin Müller sei gedankt für die Unterstützung und die freundliche Aufnahme in Braunschweig.

Herrn Prof. Dr. W. König sowie seiner Arbeitsgruppe danke ich für die Bereitstellung der chiralen Säulen und die Hilfe bei den Enantiomerentrennungen. Auch Herrn Dr. V. Sinnwell sei für die rasche und sorgfältige Durchführung der NMR-Untersuchungen insbesondere der Cupienniusproben gedankt.

Den biologischen Kooperationspartnern Herrn Prof. Dr. Harald Tichy (Universität Wien), Prof. Dr. Marie Tralalon (Université H. Poincaré, Nancy) und Prof. Dr. Susan Reichert (University of Tennessee, Knoxville) danke ich für die gute Zusammenarbeit, die Bereitstellung von Probenmaterial und die vielen Diskussionen bezüglich der gemeinsamen Projekte.

Ganz besonders möchte ich mich bei Prof. Dr. Yael Lubin für ihre Einführung in ökologische Fragestellungen und ihre Gastfreundschaft bedanken. Auch Ofer Eitan, Tamar Erez und Bettina Berendonck sei für ihre freundschaftliche und herzliche Aufnahme in Sde Boqer gedankt. An dieser Stelle möchte ich auch an Merav Ziv erinnern, die im August 1999 verstorben ist. Das Latrodectusprojekt wäre ohne sie und die vielen Gespräche in Chicago so nicht zustande gekommen.

Meinen Laborkollegen Fernando Ibarra und Jan Bergmann danke ich für ihre unglaubliche Hilfsbereitschaft und vor allem ihren unerschütterlichen Humor.

Besonders herzlich möchte ich mich bei den Menschen bedanken, die diese Arbeit - weniger durch chemisch-ökologische Beiträge - aber auf viele andere Arten unterstützt haben. An erster Stelle sind hier meine Eltern zu nennen, die glücklicherweise begeisterte Großeltern sind, und mich stets in vielerlei Hinsicht gefördert haben. Martin, Michi, Caroline, Everhard, Uli, Fernando (nochmals), Jana, ganz besonders Sven, Dorothee, Franca, Kata, Sarah, Cathrin, Rachel, Joachim, Bette, Frieder und nicht zu vergessen Oliver und vielen mehr danke ich für ihre Hilfe und vor allem für ihre Freundschaft.

Der größte Dank gilt meiner Kollegin und Freundin Christiane Meyer, die sich mit unendlicher Geduld und viel Humor alle Diss- und auch diverse andere Probleme angehört und mitgetragen hat.

Hiermit erkläre ich, dass ich bisher keine Promotionsversuche unternommen habe.

Hamburg, den 22. 03. 2000

Hiermit erkläre ich, die vorliegende Arbeit selbstständig durchgeführt und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwendet zu haben.

Hamburg, den 22. 03. 2000

## Lebenslauf

Name Mirjam Dorothee Papke, geb. Steffensky  
geboren am 9.11.1970 in Köln  
Eltern Prof. Dr. Edmund Steffensky  
Prof. Dr. Dorothee Steffensky, geb. Nipperdey  
Familienstand verheiratet, ein Kind

## Schulbildung

August 1976 - Juni 1977 Grundschule Bank Street School, New York N.Y., USA  
August 1977 - Juli 1981 Grundschule Trenknerweg, Hamburg  
August 1981 - Mai 1989 Gymnasium Hohenzollernring, Hamburg  
Mai 1989 Abitur

## Akademische Ausbildung

Oktober 1989 Immatrikulation im Studiengang Geschichte an der  
Universität Hamburg  
April 1990 Beginn des Chemiestudiums an der Universität Hamburg  
Dezember 1991 Abschluß des Vordiploms  
Januar 1993 - April 1993 Studienaufenthalt in Newcastle upon Tyne,  
Großbritannien im Rahmen eines Erasmus Projektes  
April 1994 Abschluß der Diplomhauptprüfungen  
Juni 1994 - Februar 1995 Anfertigung der Diplomarbeit in der Arbeitsgruppe von  
Prof. Dr. W. Francke, Institut für Organische Chemie  
der Universität Hamburg  
Titel: „Enantioselektive Synthese von *Elymniafuran*“  
März 1995 Zuerkennung des Diploms  
Juli 1995 Beginn der wissenschaftlichen Arbeit für die Dissertation  
unter Anleitung von Prof. Dr. W. Francke, Institut  
für Organische Chemie der Universität Hamburg und  
Prof. Dr. S. Schulz, Institut für Organische Chemie, TU-  
Braunschweig  
Titel: „Isolierung, Identifizierung und Synthese von

	Signalstoffen aus Spinnen“
März 1996 - Dezember 1996	Mutterschutz und Erziehungsurlaub
Seit Januar 1997	Fortführung der Dissertation
April 1999	Forschungsaufenthalt in Rahmen der Dissertation am Jacob Blaustein Institute for Desert Research (Ben Gurion University, Beer Sheva) in Sde Boqer Campus, Israel im Arbeitskreis von Prof. Dr. Yael Lubin.
Mai 2000	Rigorosum

### **Berufliches**

November 1994- Januar 1995	Studentische Hilfskraft am Institut für Organische Chemie, Universität Hamburg
Juli 1995 -April 1998	Wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Universität Hamburg in einem DFG-Projekt über „Chemische Kommunikationssysteme von Arachniden“
Juli 1998	Reisestipendium der Hansischen Universitätsstiftung zur Teilnahme an dem „XIV International Congress of Arachnology“ in Chicago, USA.
April 1999	DAAD-Stipendium für einen Forschungsaufenthalt in Israel zur Kooperation mit Prof. Dr. Yael Lubin, Blaustein Institute for Desert Research in Sde Boqer
Mai 1998 - Juli 2000	Wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Technischen Universität Braunschweig in einem DFG-Projekt über „Chemische Kommunikationssysteme von Arachniden“