

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**), γ -Aminobuttersäure (**1**) und drei unverzweigte 1-Methoxyalkane mit Kettenlängen von C₂₆ (**47**), C₂₈ (**48**) und C₃₀ (**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 γ -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 (C₁₆-C₂₈) und 2-Ketone (C₁₉-C₂₃) als Hauptkomponenten identifiziert werden. Daneben traten für Spinnseide neuartige Verbindungen wie vier 1,3-Diole der Kettenlängen C₂₁-C₂₄ (**60**, **61**, **62** und **63**), 1-Docosen-3-on (**67**), 1-Hydroxydocosan-3-on (**68**) sowie drei α -Monoacylglyceride **64**, **65** und **66** auf. Ausgewählte Verbindungen der identifizierten Substanzmischung wurden nach gängigen Methoden synthetisiert. Reduktion des β -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 α - bzw. β -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.