

PHEROMONE XVII<sup>1)</sup>. (Z)-11-HEXADECENYLACETAT, EIN SEXUALLOCKSTOFF DES  
PHEROMONSYSTEMS DER KOHLEULE MAMESTRA BRASSICAE.

H.J. Bestmann\*, O. Vostrowsky, K.H. Koschatzky, H. Platz, A. Szymanska,  
Institut für Organische Chemie der Universität Erlangen-Nürnberg,  
D 8520 Erlangen, Henkestr. 42 (BRD), und  
W. Knauf, Abtlg. Pflanzenschutz-Biologie, Hoechst AG, D 6230 Frankfurt (BRD).

(Received in Germany 7 December 1977; received in UK for publication 22 December 1977)

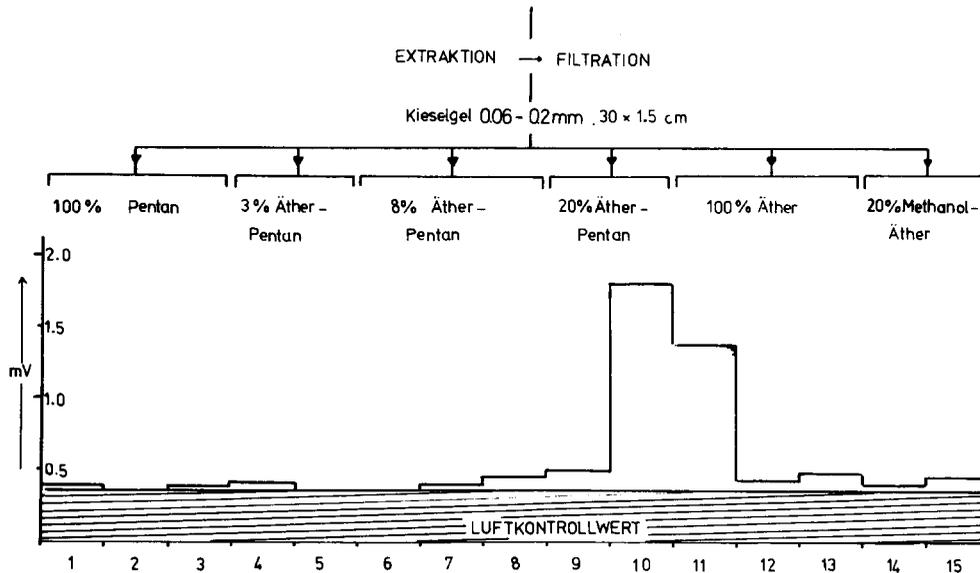
Die Kohleule Mamestra brassicae (Noctuidae, Lepidoptera) gehört zu den Gemüse-schädlingen der gemäßigten Zonen Europas und Asiens, deren Bekämpfung auch heute noch schwierig ist. In der Literatur war bis jetzt bekannt, daß M. brassicae ein Sexualpheromon zur zwischengeschlechtlichen Kommunikation benützt<sup>2)</sup>. Wir konnten jetzt nachweisen, daß (Z)-11-Hexadecenylacetat (1) in den Pheromondrüsen weiblicher Tiere von M. brassicae produziert wird, und diese Verbindung sowohl im Olfaktometertest als auch im Freiland attraktive Wirkung auf Männchen der gleichen Species besitzt.

Die für die Analysen, Labor- und Freilandversuche benötigten Faltermengen wurden auf Kunstfutterdiät, deren Zusammensetzung literaturbekannten "Noctuiden-Mischungen" entsprach, gezüchtet, und die am Ende der Larvalentwicklung entstehenden Puppen nach Geschlechtern getrennt. Für die Extraktion des Pheromons verwendeten wir einen Tag alte Weibchen, für die Lockversuche im Olfaktometer und im Freilandtest jeweils drei Tage alte, "jungfräuliche" Männchen.

Von 400 Kohleule-Weibchen wurden die Abdomenspitzen abgetrennt und diese in Hexan gesammelt. Der über Glaswolle filtrierte Pheromonextrakt wurde mittels Säulenchromatographie (Kieselgel 0.06 - 0.2 mm, 30 x 1.5 cm) mit einem Eluens steigender Polarität (Pentan/Äther) in 15 Fraktionen aufgetrennt und die physiologische Aktivität der einzelnen Fraktionen mittels Summenableitung der langsamen Antennenrezeptorpotentiale (Elektroantennogramm, EAG<sup>3)</sup>) bestimmt (siehe Abb. 1).

Die aktiven Fraktionen (Nr. 10 und 11) wurden vereinigt und sowohl gaschromatographisch als auch mittels Kombination Gaschromatograph-Massenspektrometer<sup>4)</sup> analysiert.

Abbildung 1: Isolationsschema und Wirksamkeitsbestimmung des Pheromons der Kohleule *Mamestra brassicae*.



Von jeder der 15 Fraktionen wurde die dem Drüseninhalt von 12 Weibchen, (12 Weibchen-äquivalente, FE) entsprechende Menge als Reizquellenbeladung im EAG geprüft (mV pro Fraktion).

Computergesteuerte Massenfragmentographie (64 msec/amu Integrationszeit) von jeweils 5 Weibchenäquivalenten (5 FE) bezüglich der Ionen  $61.0^+$  ( $\text{CH}_3\text{COOH}_2$ ),  $152.1^+$  ( $\text{C}_{11}\text{H}_{20}$ ),  $194.2^+$  ( $\text{C}_{14}\text{H}_{26}$ ) und  $222.2^+$  ( $\text{C}_{16}\text{H}_{30}$ ,  $\text{M}^+-\text{CH}_3\text{COOH}$ ) ergab die zeitliche Koinzidenz dieser vier Ionen zur Retentionszeit von Hexadecenylacetaten mit den erwarteten Ionenintensitäten.

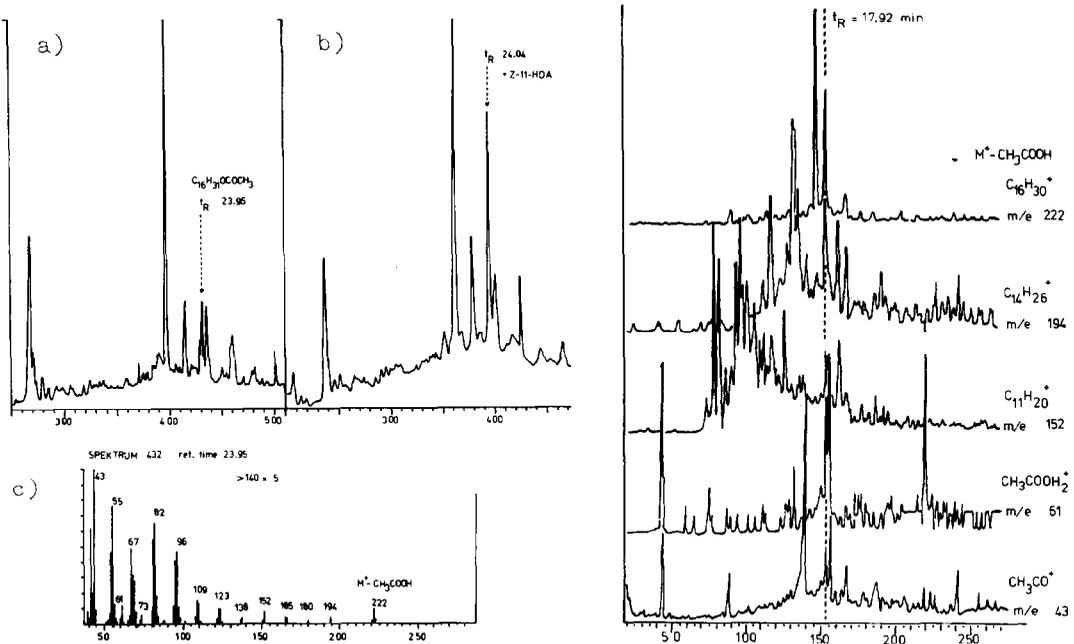
Jeweils 40 Weibchenäquivalente (40 FE) wurden anschließend an Dünnschichtglaskapillaren hoher Trennleistung temperatur-programmiert chromatographiert und die Massenspektren mittels Datensystem registriert. Das Totalionenstromchromatogramm (TIC) zeigte ein gut aufgelöstes Signal (Spektrum Nr. 432 in Abb. 2a), dessen Retentionszeit  $t_R=23.95$  min und Massenspektrum (Abb. 2c) mit dem von (Z)-11-Hexadecenylacetat (1) identisch war, wie durch Kochromatographie mit synthetischem Material (Spektrum Nr. 393 in Abb. 2b) bewiesen wurde.

GC-MS Bedingungen: 50 m Glasdünnschicht-Trennkapillare OV 101, 2 ml He/min. T-Programm: splitlos injiziert, 3 min Raumtemperatur, dann 80-220°C (6°/min) und hold. EI-Spektren, Elektronenenergie 70 eV, preamp.  $10^{-8}$  A/V, Emission 0.25 mA. mass range 37-100 (1 msec/amu), 101-200 (3 msec/amu) und 201-250 (6 msec/amu), 3 sec/scan.

Weiterhin durchgeführte Massen-chromatogramme über die Ionen  $43^+$ ,  $61^+$  und Ionen für die entsprechenden Kettenbruchstücke gesättigter ( $154^+$ ,  $C_{11}H_{22}$ ,  $168^+$ ,  $C_{12}H_{24}$ ,  $196^+$ ,  $C_{14}H_{28}$  und  $224^+$ ,  $C_{16}H_{32}$ ) und einfach ( $152^+$ ,  $C_{11}H_{20}$ ,  $166^+$ ,  $C_{12}H_{22}$ ,  $194$ ,  $C_{14}H_{26}$  und  $222^+$ ,  $C_{16}H_{30}$ ) bzw. zweifach ungesättigter Acetate ( $150^+$ ,  $C_{11}H_{18}$ ,  $164^+$ ,  $C_{12}H_{20}$ ,  $192^+$ ,  $C_{14}H_{24}$  und  $220^+$ ,  $C_{16}H_{28}$ ) bzw. Alkohole ergaben außer für 1 keine Koinkidenz weiterer Ionen und damit keinen Hinweis für das Vorliegen eines weiteren Acetates bzw. Alkoholes vergleichbarer Konzentration in den EAG-aktiven Fraktionen des Pheromonsystems von *M. brassicae* (Abb. 3).

Abbildung 2: GC-MS Analyse

Abbildung 3: Massenchromatogramme



- a) Totalionenstromchromatogramm  
 b) Kochromatographie mit synth. Z-11-HDA  
 c) Massenspektrum des Pheromons

Zur weiteren Absicherung bezüglich Position und Geometrie der Doppelbindung des identifizierten Hexadecenylacetates (1) wurden die Retentionseigenschaften außerdem an vier anderen Trennsäulen mit denen von synthetischem (Z)-11-Hexadecenylacetat (1) verglichen [a) 20 m Glasdünnfilmkapillare SE 54 mit 2 ml  $N_2$ /min b) 20 m Glasdünnfilmkapillare OV 1, 2 ml He/min c) 1/8" Stahlsäule 5% SE 30 auf Chromosorb WAW 80-100, 20 ml  $N_2$ /min und d) 20 m Glasdünnfilmkapillare UCON HB 5100, 2ml  $N_2$ /min].

(Z)-11-Hexadecenylacetat (1) erwies sich im Elektroantennogrammtest von ungefähr 100 getesteten Verbindungen als die wirksamste, und zeigte bis zur Reizquellenbeladung von  $0.001 \mu\text{g}$  die erwarteten Antwortamplituden<sup>1b)</sup>. Die Laborprüfung des synthetisierten

Lockstoffes <sup>1c)</sup> erfolgte in einem neu entwickelten Einrohr-Olfaktometer mit simultaner Videobandaufzeichnung bei 48-facher Zeitraffung <sup>5)</sup>. Dabei zeigte die Verbindung eindeutige Lockwirkung bis zur Reizquellenbeladung von  $10^{-5}$   $\mu\text{g}$ . In den Monaten Juli-August durchgeführte Freilandversuche ergaben bei einer Fallenbeladung von 50 $\mu\text{g}$  pro Falle eine um etwa 30 Prozent höhere Fangquote als fünf lebende Weibchen.

Es muß angenommen werden, daß (Z)-11-Hexadecenylacetat (1) den Hauptbestandteil eines Multikomponenten-Pheromonkomplexes von *Mamestra brassicae* darstellt, wie er bei anderen Schmetterlingsarten heute vermutet wird oder bewiesen werden konnte <sup>6) 7)</sup>.

Wir danken dem Bundesministerium für Forschung und Technologie für die Förderung dieser Arbeit.

#### Literatur:

- 1) a) als XV. und XVI. Mitt. gelten: G. Kasang, O. Vostrowsky und H.J. Bestmann, *Angew. Chemie* 89, im Druck (1977), und K.E. Kaibling und H.J. Bestmann, *Science* im Druck (1977).
- b) XIV. Mitt.: E. Priesner, H.J. Bestmann, O. Vostrowsky und P. Rösel, *Zeitschrift Naturforsch.* 32c, im Druck (1977).
- c) XIII. Mitt.: H.J. Bestmann, I. Kantardjiew, P. Rösel, W. Stransky und O. Vostrowsky, *Chem. Ber.* 110, im Druck (1977).
- d) XII. Mitt.: H.J. Bestmann, O. Vostrowsky und H. Platz, *Experientia* 33, 874 (1977).
- 2) D. Otto, R. Pilz und I. Behnisch, *Arch. Phytopatol. und Pflanzenschutz, Berlin* 12 (3), 197 (1976).
- 3) D. Schneider, *Z. vergl. Physiologie* 40, 8 (1957).
- 4) Finnigan 3200 E mit Finnigan Data System 6000.
- 5) W. Knauf, H.J. Bestmann und O. Vostrowsky, in Vorbereitung.
- 6) M. Silverstein, in "Pest Management with Insect Sex Attractants, ed. M. Beroza; ACS Symposium Series, No. 23. American Chemical Society, Washington, D.C. (1976).
- 7) H.J. Bestmann, Vortragsreferat der Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Fettwissenschaft, Würzburg, 20.-23.9.1977.