

# Flüchtige Inhaltsstoffe von Ambrosiakäfern (Coleoptera: Scolytidae), I

## Volatile Substances from Ambrosia Beetles, I

W. Francke, V. Heemann und K. Heyns

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Hamburg

(Z. Naturforsch. **29 c**, 243–245 [1974]; eingegangen am 20. Februar 1974)

Ambrosia Beetles, Attractant, *Xyloterus*

3-Hydroxy-3-methylbutan-2-one was found in equal amounts in the extracts of males and females of three species of ambrosia beetles: *Xyloterus domesticus* L., *Xyloterus signatus* F. and *Xyloterus lineatus* Oliv. The substance may play an important role as an attractant because the concentration is highest in the highly attractive extracts of boring beetles. Two additional compounds, 2,3-dihydroxy-2-methyl-butane and 2-hexanol were identified from *X. domesticus* extracts.

Nachdem festgestellt worden war, daß frisch ausfliegende Männchen und Weibchen des in Laubholz brütenden Ambrosia-Käfers *Xyloterus domesticus* L. Substanzen enthalten, die auf Männchen und Weibchen gleichermaßen attraktiv wirken<sup>1</sup>, wurden die flüchtigen Inhaltsstoffe solcher Käfer untersucht.

„Trockendestillate“ bei 50 °C und 100 °C im Heliumstrom sowie Fraktionen, die durch Gefrier-trocknung erhalten wurden, ergaben bei Lockversuchen keine aktiven Stoffgemische.

Bei der Säulenchromatographie von Aceton- oder Ätherextrakten an Kieselgel mit Benzol/Äthanol/Wasser 80 : 16 : 1,3 erwies sich die zuerst eluierte Fraktion als aktiv, die mit Benzol/Hexan/Essigester 85 : 10 : 5 weiter aufgetrennt werden konnte. Im Verlauf der chromatographischen Trennvorgänge ging gegenüber den Rohextrakten jedoch ein erheblicher Anteil an Attraktivität durch das Abdestillieren der relativ hochsiedenden Laufmittel und durch die Aktivität des Kieselgels verloren. Auftrennung eines lockenden Duftbuketts in mehrere weniger aktive Fraktionen war nicht erfolgt, da bei Rekombination keine Erhöhung der Lockwirkung eintrat. Ähnliche Erfahrungen bei chromatographischen Trennungen hatten Borden *et al.*<sup>2</sup> bei der Aufarbeitung aktiver Bohrmehrextakte von *Xyloterus (Trypodendron) lineatus* L. gemacht.

### Aufarbeitung von Käfer-Rohextrakten

In Vorversuchen war festgestellt worden, daß die Destillate von Aceton- oder Ätherextrakten bei vorsichtiger Destillationsführung den Käfern gegenüber

stets inaktiv blieben, so daß bei diesen Lösungsmitteln keine Substanzverluste beim Einengen eintraten.

150 000 Käfer wurden in –20 °C kaltem Aceton getötet, unter Stickstoff bei –70 °C zermahlen und abzentrifugiert. Ein Teil des Fettkörpers der Käfer blieb bei der niedrigen Temperatur ungelöst. Die hellgelbe, klare Lösung wurde eingeeengt, auf –70 °C gekühlt, von den ausgefallenen schwer löslichen Komponenten (Lipide etc.) befreit und weiter konzentriert, bis der Rückstand etwa 40 ml ausmachte. Beim Abkühlen trennte sich dieser in eine obere, dunkelbraune, ölige, wasserunlösliche und in eine untere, hellgelbe, wasserlösliche Phase, wobei das restliche Aceton teilweise als Lösungsvermittler zwischen beiden Phasen diente.

Nach der Abtrennung der oberen Phase („Fettkörper“ der Käfer) wurde die verbleibende wäßrige Lösung mit Kochsalz gesättigt, von den sich erneut abscheidenden öligen Substanzen befreit und mit Pentan extrahiert. Der Pentanextrakt wurde in einem Kolben mit Kapillaransatz<sup>3</sup> auf 80 mg eingedampft.

### Identifizierung flüchtiger Käferinhaltsstoffe

Das Gaschromatogramm (50 m Stahlkapillare mit 0,2 mm i. D.; als Trennflüssigkeit Marlophen 87; Temperatur-Programm 50–100 °C mit 2,5 °C pro min; Perkin-Elmer F6) zeigte neben Verunreinigungen aus dem Lösungsmittel vier Verbindungen, die eindeutig aus den Käfern stammten, von denen sich diejenige mit der kürzesten Retentionszeit (zwischen Benzol und Toluol) wegen ihrer äußerst geringen Konzentration bisher einer Identifizierung entzog. Kurz nach Mesityloxid (eindeutig ein Produkt der Selbstkondensation des Lösungsmittels Aceton) wurde eine Substanz eluiert, von der

Sonderdruckanforderungen and Dr. W. Francke, Chemisches Institut der Universität, D-2000 Hamburg 13, Papendamm 6.



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition “no derivative works”). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

durch präparative Gaschromatographie (18 m Stahlsäule 4,65 mm im Durchmesser, 5% Marlophen 87 auf Chromosorb G 30/40 mesh, Perkin-Elmer F 21) 1 mg aus 70 mg des Konzentrats erhalten wurde. Die Verbindung war silylierbar mit einem Molekulargewicht von 102 (charakteristischer Peak bei  $m/e = 159 - M-15$  des Trimethylsilyläthers). Mit Hilfe eines hochauflösenden Massenspektrometers (SM 1 – Varian MAT, 70 eV) wurden die Massen der Hauptpeaks der reinen Substanz bestimmt. Es ergab sich:  $m/e = 59 = C_3H_7O^+$  und  $m/e = 43 = C_2H_3O^+$ . Die Intensitäten der übrigen Fragmente machten entweder 3-Hydroxy-3-methylbutan-2-on oder 3-Hydroxy-3-methyl-1,2-epoxybutan wahrscheinlich. Die Massenspektren authentischer Proben beider Substanzen ergaben zwar die gleichen Bruchstücke, zeigten jedoch Unterschiede in den Intensitäten der Fragmente  $m/e = 43$  und  $m/e = 41$ :

Massenspektrum von *	Massenspektrum von
3-Hydroxy-3-methylbutan-2-on	2-Hydroxy-2-methyl-3,4-epoxybutan
$m/e$ 59 = 100%	$m/e$ 59 = 100%
= $M^{\oplus}-43$	= $M^{\oplus}-43$
43 = 23%	43 = 46%
= $[CH_3 - CO]^{\oplus}$	= $[CH_3CO]^{\oplus}$
41 = 14%	41 = 5%
= $[C_3H_5]^{\oplus}$	= $[C_3H_5]^{\oplus}$
87 = 4%	87 = 2%
= $M^{\oplus}-15$	= $M^{\oplus}-15$
69 = 2%	69 = 1%
= $M^{\oplus}-15-18$	= $M^{\oplus}-15-18$
84 = 1% = $M^{\oplus}-18$	84 = 1% = $M^{\oplus}-18$
102 = 1% = $M^{\oplus}$	102 = 1% = $M^{\oplus}$

Das Spektrum von 3-Hydroxy-3-methylbutan-2-on stimmte mit dem der natürlichen Verbindung überein. Bei der Prüfung auf gaschromatographisch identisches Verhalten wurde bei einem Zumischversuch auf der Marlophensäule unter Temperaturprogramm Ketol und natürliche Verbindung gleichzeitig eluiert, während das Epoxidol 2 min später erschien.

Zwei weitere käfereigene Verbindungen wurden durch Anwendung der Kombination Gaschromatographie – Massenspektroskopie direkt aus dem Kon-

zentrat identifiziert (GNOM, Varian-MAT 111, 80 eV): Kurz nach 3-Hydroxy-3-methylbutan-2-on erschien im Gaschromatogramm eine weitere silylierbare Verbindung mit dem Molekulargewicht 102, die mit Hilfe von authentischer Vergleichssubstanz als 2-Hexanol identifiziert wurde. Die vierte insekteneigene ebenfalls silylierbare Verbindung hatte ein Molekulargewicht von 104. Das Massenspektrum zeigte neben den Bruchstücken  $m/e = 89$  ( $M-CH_3$ ) und  $m/e = 86$  ( $M^{\oplus}-H_2O$ )  $m/e = 71$  ( $M-CH_3-H_2O$ ) als drittstärksten Peak hinter  $m/e = 43$  und erneut dem charakteristischen Ion  $m/e = 59$ . Nach Acetylierung des Ausgangsgemisches wurde eine Substanz gefunden, deren Massenspektrum mit dem von 2-Methyl-2,3-diacetoxybutan<sup>5</sup> gut übereinstimmte. 2,3-Dihydroxy-2-methylbutan zeigte identisches gaschromatographisches Verhalten und ergab das gleiche Massenspektrum wie die natürliche Verbindung, die sich damit als das Reduktionsprodukt des oben identifizierten Ketols erwies.

Bei der getrennten Aufarbeitung von Männchen und Weibchen zeigte sich, daß 3-Hydroxy-3-methylbutan-2-on in beiden Geschlechtern in etwa gleicher Konzentration vorkommt. Gleichzeitig wurde festgestellt, daß die Konzentration dieses Ketols mit zunehmender Lebensdauer der Käfer ständig abnimmt und in den wenig attraktiven Extrakten solcher Käfer, die die Eingangsröhre des neuen Gangsystems bereits fertiggestellt hatten, nur noch in Spuren nachweisbar ist.

Für eine eindeutige Zuordnung von 2,3-Dihydroxy-2-methylbutan und 2-Hexanol zu einem oder beiden Geschlechtern reichte die Zahl der aufgearbeiteten Individuen nicht aus. 2-Hexanol wurde jedoch in Weibchen nachgewiesen.

### Zur Biosynthese der identifizierten Verbindungen

Während 2-Hexanol aus dem Acetatstoffwechsel stammen dürfte, könnte es sich bei 3-Hydroxy-3-methylbutan-2-on, das auch in Äthanolextrakten der Käfer nachgewiesen werden konnte, bzw. 2,3-Dihydroxy-2-methylbutan um Metaboliten eines Häutungshormons handeln:

Ecdysterone kann offensichtlich zu Poststeron und 4-Hydroxy-4-methyl-valeriansäure abgebaut werden<sup>6,7</sup>, aus der nach  $\beta$ -Oxidation und Decarboxylier-

\* Die Daten stimmen mit den von Frearson und Brown<sup>4</sup> angegebenen nicht völlig überein.

rung 3-Hydroxy-3-methylbutan-2-on und als Folgeprodukt das zugehörige Diol entstehen könnten.

Bei einer derartigen Biosynthese des Ketols sollte dieses auch in anderen Insektenarten mindestens der Gattung *Xyloterus* vorkommen, und in der Tat fanden wir es in Männchen und Weibchen des laubholz-

brütenden *Xyloterus signatus* F. und des nadelholzbrütenden *Xyloterus lineatus* Oliv.

Über Anlockversuche mit 3-Hydroxy-3-methylbutan-2-on wurde berichtet<sup>8</sup>, die Wirkung der beiden anderen Verbindungen wird gegenwärtig untersucht.

<sup>1</sup> W. Francke, Z. angew. Ent. **74**, 319 [1973].

<sup>2</sup> J. H. Borden, R. G. Brownlee u. R. M. Silverstein, Can. Ent. **100**, 629 [1968].

<sup>3</sup> D. R. Wharton u. M. L. Bazinet, Anal. Chem. **43**, 623 [1971].

<sup>4</sup> M. J. Frearson u. D. M. Brown, J. Chem. Soc. **1968**, 2909.

<sup>5</sup> S. Sasaki, H. Abe, Y. Itagaki u. K. Nakanishi, Tetrahedron Letters **1967**, 2357.

<sup>6</sup> M. Hikino, Y. Ohizumi u. T. Takemoto, Chem. Comm. **1971**, 1036.

<sup>7</sup> M. N. Galbraith, D. M. S. Horn, E. J. Middleton, G. A. Thomson, J. B. Siddall u. W. Haffert, Chem. Comm. **1969**, 1134.

<sup>8</sup> W. Francke u. V. Heemann, Z. angew. Ent. **75**, 67 [1974].