Das Bürzeldrüsensekret der Reiherente (*Aythya fuligula*)

The Uropygial Gland Wax from the Tufted Duck

JÜRGEN JACOB *

Universität Hamburg

und

ALFRED ZEMAN **

Unilever-Forschungslaboratorium Hamburg

(Z. Naturforsch. **25 b**, 1438—1447 [1970]; eingegangen am 31. Juli 1970)

The acidic and alcoholic components of the uropygial gland wax from the tufted duck (*Aythya fuligula*) were investigated by a combination of GLC and mass spectrometry. Main components of the acidic part of the waxes are 2,4,6-trimethyl-nonanoic (39.0%) 2,4,6-trimethyl-octanoic (8.7%) and 2,6-dimethyl nonanoic acid (5.9%). Besides, 2,4,8-, 2,6,8-, and 2,6,10-trimethyl-substituted fatty acids occur. As minor components 2-methyl- and homologous series of 2,4-, 2,6-, 2,8-, and 2,10-dimethyl-substituted fatty acids could be detected.

Main components of the wax alcohols were n-hexadecanol and n-octadecanol. As minor components 2-, 6-, 10-, 12-, and 14-methyl-branched primary alkanols occur.

The tufted duck shows an uropygial gland wax which is typical for the 17th order of the natural system.

Zahlreiche Untersuchungen der letzten Jahre über die Bürzeldrüsensekrete verschiedener Vögel haben einen Zusammenhang zwischen der chemischen Zusammensetzung dieses Sekretes und ihrer Zugehörigkeit zu bestimmten Ordnungen des natürlichen Systems erkennen lassen. So ist das Vorkommen von *n*-Alkan-2,3-diolen für die Arten der Hühnervögel (18. Ordnung, Galliformes) charakteristisch¹⁻⁴, während bei den Gänseartigen (17. Ordnung, Anseres) das Auftreten polymethylsubstituierter Fettsäuren chemotaxonomisches Merkmal ist⁵⁻¹⁶. Über die heterogene Vogelgruppe der 20. Ordnung (Laro-limicolae) liegen erst 2 Publikationen vor^{17,18}, die bislang keine chemotaxono-

mischen Schlüsse zulassen; dagegen scheinen in der 32. Ordnung (Passeres) 2-methyl- und vor allem 3-methylsubstituierte Fettsäuren als Bestandteile des Bürzelwachses zu dominieren¹⁹⁻²¹.

Die vornehmlich von ODHAM untersuchte 17. Ordnung ist in fast allen Unterfamilien mit einem näher analysierten Exemplar belegt. Es fehlen in der Unterfamilie *Anatinae* lediglich Untersuchungen der Tribus *Aythiini* und *Oxyurini*. Aus der ersteren stand uns jetzt ein Exemplar in der Reiherente (*Aythya fuligula*) zur Verfügung, deren Bürzeldrüsensekret in der vorliegenden Arbeit analysiert wurde.

Sonderdruckanforderungen an Dr. rer. nat. JÜRGEN JACOB, D-2000 Hamburg-66, Kakenhaner Weg 14.

* Anschrift des Verfassers: Dr. JÜRGEN JACOB, 2000 Hamburg-66, Kakenhaner Weg 14. ** Dr. ALFRED ZEMAN, Unilever-Forschungslaboratorium Hamburg, 2000 Hamburg-50, Behringstr. 154.

¹ I. A. HANSEN, B. K. TANG u. E. EDKINS, J. Lipid Res. **10**, 267 [1969].

² E. O. A. HAATHI u. H. M. FALES, J. Lipid Res. **8**, 131 [1967].

³ J. JACOB u. G. GRIMMER, Z. Naturforsch. **25 b**, 577 [1970].

⁴ J. JACOB u. G. GRIMMER, Z. Naturforsch. **25 b**, 689 [1970].

⁵ G. WEITZEL u. K. LENNERT, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **288**, 251 [1951].

⁶ K. LENNERT u. G. WEITZEL, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **288**, 266 [1951].

⁷ G. WEITZEL, A.-M. FRETZDORFF u. J. WOJAHN, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **291**, 29 [1952].

⁸ G. WEITZEL, A.-M. FRETZDORFF u. J. WOJAHN, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **291**, 46 [1952].

⁹ G. ODHAM, Ark. Kemi **21**, 379 [1963].

¹⁰ G. ODHAM, Ark. Kemi **22**, 417 [1964].

¹¹ G. ODHAM, Ark. Kemi **23**, 431 [1965].

¹² G. ODHAM, Ark. Kemi **25**, 543 [1966].

¹³ G. ODHAM, Ark. Kemi **27**, 251 [1967].

¹⁴ G. ODHAM, Ark. Kemi **27**, 263 [1967].

¹⁵ G. ODHAM, Ark. Kemi **27**, 289 [1967].

¹⁶ G. ODHAM, Ark. Kemi **27**, 295 [1967].

¹⁷ H. KARLSSON u. G. ODHAM, Ark. Kemi **31**, 143 [1969].

¹⁸ J. JACOB u. G. GRIMMER, Z. Naturforsch. **25 b**, 54 [1970].

¹⁹ J. JACOB u. A. GLASER, Z. Naturforsch., im Druck.

²⁰ J. JACOB u. A. ZEMAN, Z. Naturforsch. **25 b**, 984 [1970].

²¹ J. JACOB u. A. ZEMAN, Z. Naturforsch., in Vorbereitung.

Material und Methode

Material

Die Bürzeldrüse einer frisch getöteten weiblichen Reiherente (Behrendsdorf, Hohwacher Bucht) wurde präpariert und in der üblichen Weise aufgearbeitet¹⁹.

Aufarbeitung

Die Extraktion mit $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ (2:1) lieferte nach Trennung der Phase durch Zugabe von Wasser die Rohlipide (173,1 mg). Ein Teil davon (132 mg) wurde über eine 5-g- SiO_2 -Säule durch Elution mit Cyclohexan + 15% Benzol (100 ml) gereinigt. Die resultierende Fraktion (127,6 mg) erwies sich dünnschichtchromatographisch als einheitlich. Die Umesterung mit 5-proz. methanolischer HCl und anschließende säulenchromatographische Trennung¹⁹ ergab die Methyl ester (61,2 mg) und Alkohole (65,6 mg). Nach GLC-Untersuchungen wurden die Alkohole (60,1 mg) mit 30 ml des Chromsäure-Oxydationsgemisches²⁰ versetzt und die resultierenden Fettsäuren in der üblichen Weise aufgearbeitet.

Gaschromatographie (GLC)

Die GLC wurde bereits früher ausführlich beschrieben¹⁸⁻²⁰.

Massenspektrometrie (MS)

Für die GLC-MS-Kombination wurde eine 50-m-Kapillarsäule mit SE 30 als stationäre Phase (Perkin-Elmer Typ 11G20) benutzt, die über einen einstufigen Biemann-Separator an ein einfach-fokussierendes Massenspektrometer (Varian CH 7) angekoppelt war.

Die GLC der Wachs-fettsäuremethylester wurde bei programmierter Säulentemperatur (100–200° mit 10°/Min., Injektionstemperatur 300°, Separatortemperatur 250°, Trägergasstrom 2 ml He/Min.) ausgeführt.

Die GLC der aus den Alkoholen resultierenden Methyl ester wurde ebenfalls im Temperaturprogramm von 200–250° mit 10°/Min. unter sonst gleichen Bedingungen vorgenommen. Die Registrierung erfolgte durch Messung des Totalionenstromes an den Monitorblenden.

Ergebnisse

Das durch Trennung an einer gepackten Säule erhaltene Gaschromatogramm (Abb. 1) der Wachse läßt bereits erkennen, daß es sich nicht um eine einfache homologe Reihe von Esterwachsen handelt.

Die nach der Umesterung erhaltenen Fettsäuremethylester zeigen im Ionenstromchromatogramm (Abb. 2) über 40 verschiedene Komponenten, von denen 31 (Peak 2–32, Peak 1 = Lösungsmittel) in ihrer Struktur aufgeklärt wurden.

Abb. 1. Gaschromatogramm der Bürzelwachs der Reiherente (2-m-Stahlsäule, stationäre Phase HIEFF/8BP 3% auf GasChrom Q, ϕ 3 mm, Säulentemperatur 250°, Injektionstemperatur 280°, Trägergasströmung 35 ml N_2 /Min.).

Alle Komponenten sind methylverzweigte Fettsäuremethylester und zeigen die für diese Stoffklasse charakteristischen Fragmentierungen^{17, 22, 23},

die die folgenden Bruchstücke liefern:

M^+ , $\text{M}-\text{OCH}_3$ entsprechend $m/e = \text{M}-31$, $\text{M}-(\text{CH}_2)_n\text{R}$, $\text{M}-[(\text{CH}_2)_n\text{R} + \text{CH}_3\text{OH}]$, $\text{M}-[(\text{CH}_2)_n\text{R} + \text{CH}_3\text{OH} + \text{H}_2\text{O}]$, $(\text{CH}_2)_m\text{COOCH}_3$ entsprechend m/e 87, 101, 115, 129... für $m=2, 3, 4, 5...$ und $[(\text{CH}_2)_m\text{COOH}_3 + \text{H}, + 2\text{H}]^+$.

Daneben findet man das durch McLafferty-Umlagerung unter Wanderung des γ -H-Atoms entstandene Ion:

mit $m/e = 74$ für $\text{X} = \text{H}$ bzw. $m/e = 88$ für $\text{X} = \text{CH}_3$.

Diese Umlagerung ermöglicht Substituenten am C-2-Atom sicher zu erkennen.

²² S. MEYERSON u. L. C. LEITCH, J. Amer. chem. Soc. **88**, 56 [1966].

²³ A. ZEMAN u. H. SCHARMANN, Fette Seifen einschl. Anstrichmittel, im Druck.

Abb. 2. Ionenstromchromatogramm der Fettsäuremethylester aus dem Bürzelwachs der Reiherente (Bedingungen der GLC s. dort).

Eine weitere Umlagerung unter Eliminierung von
(2)
 $\text{CH}_3\text{OH} + \text{CH}_2 = \text{CHOH} (M-76)$ resp. $\text{CH}_3\text{OH} \cdot$

findet nur bei Substitution in 6-Stellung statt und ist zum Erkennen von in 6- oder 2.6-Position substituierten Verbindungen nützlich:

(*M-76* bzw. *M-90* bei Methylsubstitution am C-2-Atom)

Einige zur Identifizierung unbekannter verzweigter Fettsäuremethylester nützliche, empirisch gefundene Regeln wurden von KARLSSON und ODHAM zusammengestellt¹⁷.

Im folgenden sind die Massenspektren der gaschromatographisch getrennten Methylester (Peak 2 bis 32) diskutiert.

Peak 2

$M^\oplus = 72$, ein intensives McLafferty-Ion $m/e = 88$, zusammen mit den intensiven Ionen $m/e = 101$ und 129 sowie dem Fehlen von $m/e = 115$ deuten auf das Vorliegen von 2.4-Dimethylheptansäuremethylester. Dies wird durch das intensive Ion *M-59* ($M\text{-}\dot{\text{C}}\text{OOCH}_3$) bei $m/e = 113$ bestätigt.

Peak 3

$M^\oplus = 186$, neben der Abspaltung von $\dot{\text{C}}\text{H}_3$ ($m/e = 171$) beobachtet man ein intensives Ion *M- $\dot{\text{C}}_2\text{H}_5$* mit $m/e = 157$, das in einer Folgereaktion CH_3OH verliert ($m/e = 125$). Das McLafferty-Ion $m/e = 88$, intensive Ionen der Serie $^\oplus(\text{CH}_2)_m\text{-CH-COOCH}_3$ mit $m = 1$ ($m/e = 101$),

2 ($m/e = 115$), 3 ($m/e = 129$) und 5 ($m/e = 157$)

identifizieren die Verbindung als 2.6-Dimethyloctansäuremethylester.

Das für 6-Substitution typische Umlagerungs-Ion *M-76* (bzw. *M-90*) d. h. $M\text{-(CH}_3\text{OH} + \text{CH}_2 =$

l. c.²²) tritt nur wenig intensiv auf ($m/e=96$). Seine Bildung ist offenbar abhängig von der Länge der Fettsäure-Kette (vgl. z. B. Massenspektren von Peak 8 und 13). Das nach KARLSSON und ODHAM¹⁷ zu erwartende Ion $M-49$ wird bei $m/e=137$ beobachtet.

Peak 4

$M^\oplus=200$; im oberen Massenbereich treten die Ionen $M-47$ ($m/e=153$) und $M-49$ ($m/e=151$) auf. Die Ionen mit $m/e=88$, 101 und 129 werden mit großer Intensität gebildet, $m/e=115$ dagegen fehlt, d. h. die zweite Methylgruppe befindet sich am C-4-Atom. Die Eliminierung von CH_3OH und anschließend von H_2O aus dem Esterion $m/e=171$ zeigt, daß sich in Position 6 eine dritte CH_3 -Gruppe befindet. Das Massenspektrum ist identisch mit dem von ODHAM¹¹ publizierten Spektrum des aus dem Bürzelfett des Schwanes isolierten 2.4.6-Trimethyloctansäuremethylesters.

Peak 5

$M^\oplus=200$, die Ionen $m/e=141$ ($M-59$), $m/e=88$ und das intensive Ion $m/e=101$ sowie 129 identifizieren diese Komponente als 2.4-Dimethylnonansäuremethylester.

Peak 6

Die von Peak 7 nur unvollkommen getrennte Komponente hat ein $M^\oplus$ bei $m/e=200$. Die intensiven Ionen bei $m/e=88$, 101, 115, 129 und 157 deuten auf das Vorliegen von Methylverzweigungen am C-2- und C-6-Atom. Damit in Übereinstimmung steht das Auftreten der Fragmente 157- CH_3OH ($m/e=125$), $M-47$, $M-49$ und $M-90$ ($m/e=110$). Letzteres Ion entsteht durch Eliminierung von

nente Peak 6 ist somit ein Homologes von Peak 3, nämlich 2.6-Dimethylnonansäuremethylester.

Peak 7

$M^\oplus=214$, die Ionen $m/e=88$, 101, 129, 143 und 171 (letzteres spaltet CH_3OH und H_2O ab $\rightarrow m/e=139$ und 121) sowie die Ionen $M-49$ ($m/e=$

165) und $M-87$ ($m/e=127$) identifizieren die Komponente Peak 7 als 2.4.6-Trimethylnonansäuremethylester. Das Massenspektrum ist mit dem der von ODHAM¹¹ aus dem Bürzeldrüsensekret des Schwanes isolierten Verbindung identisch.

Peak 8

$M^\oplus=214$, die Ionen $M-49$ ($m/e=165$), $M-90$ ($m/e=124$) und das Fehlen des Ester-Ions $m/e=143$ zeigen, daß es sich um ein Homologes von Peak 6, um 2.6-Dimethyldecansäuremethylester handelt.

Peak 9

$M^\oplus=214$, das McLafferty-Ion tritt bei $m/e=88$ auf und beweist eine Methylsubstitution am C-2-Atom. Eine zweite Methylgruppe befindet sich am C-8-Atom, was aus dem Auftreten der Ionen $M-\dot{\text{C}}_2\text{H}_5$ ($m/e=185$), $M-(\dot{\text{C}}_2\text{H}_5 + \text{CH}_3\text{OH})$ ($m/e=153$) und $M-(\dot{\text{C}}_2\text{H}_5 + \text{CH}_3\text{OH} + \text{H}_2\text{O})$ mit $m/e=135$ folgt. Die Komponente muß als 2.8-Dimethyldecansäuremethylester gedeutet werden.

Peak 10

$M^\oplus=228$. Die gaschromatographische Retentionszeit läßt vermuten, daß ein trimethylsubstituierter Methylester vorliegt. Das McLafferty-Ion $m/e=88$ und das gegenüber $m/e=115$ sehr intensive Ion $m/e=129$ (aus $129-32 \rightarrow 97$) zeigen Methylsubstitutionen am C-2- und C-4-Atom an. Das Ion $m/e=157$ entspricht dem intensiven Ion $m/e=143$ in den Spektren der *n*-Fettsäuremethylester, das durch α -Methylsubstitution um 14 Masseneinheiten verschoben wird. Irrelevant ist auch die große Intensität des Ions $M-43$ ($m/e=185$), da dieses weitgehend durch Eliminierung der C-Atome 2 und 3 gebildet wird²⁴. Die Position der dritten Methylgruppe am C-8-Atom erhält man aus dem Ion $m/e=199$ und seinen Folge-Ionen $m/e=167$ ($-\text{CH}_3\text{OH}$) und 149 ($-\text{CH}_3\text{OH}-\text{H}_2\text{O}$). Aus den Spektren folgt, daß es sich um einen 2.4.8-Trimethyldecansäuremethylester handelt (vgl. Abb. 3).

²⁴ I. M. CAMPBELL u. J. NAWORAL, J. Lipid Res. **10**, 593 [1969].

Abb. 3. Massenspektrum der Komponente Peak 10.

Peak 11

$M^{\oplus} = 228$. Nach der GLC-Retentionszeit handelt es sich um einen trimethyl-substituierten Fettsäuremethylester. Das McLafferty-Ion tritt bei $m/e = 88$ auf und beweist damit eine Methylgruppe am C-2-Atom. Weitere Methylgruppen befinden sich am C-6- und C-8-Atom. Die dafür charakteristischen Ionen werden bei $m/e = 138$ ($M-90$) und 199 ($M-\dot{C}_2H_5$) beobachtet, gefolgt von CH_3OH - und H_2O -Eliminierung ($m/e = 167$ und 149).

Das Spektrum ist identisch mit dem des 2.6.8-Trimethyldecansäuremethylesters der aus dem Bürzelwachs der Eiderente isoliert wurde¹⁴.

Peak 13

$M^{\oplus} = 228$. Die charakteristischen Ester-Ionen $m/e = 88, 101, 115, 129, 157$ und das Umlagerungs-Ion 138 ($M-90$) identifizieren die Komponente als 2.6-Dimethylundecansäuremethylester.

Peak 14

$M^{\oplus} = 228$. Hier liegt nach der GLC-Retentionszeit ebenfalls ein dimethylverzweigter Fettsäuremethylester vor. Die Ionen der Ester-Serie werden bei $m/e = 88, 101, 115, 129, 143, 157$ und 185 mit großer Intensität beobachtet. Letzteres Ion eliminiert in einer Folgereaktion CH_3OH ($m/e = 153$) und H_2O ($m/e = 135$). Ein Ion $M-59$ tritt bei $m/e = 169$ auf. Aus diesen Spaltungen ist zu schließen, daß ein 2.8-Dimethylundecansäuremethylester vorliegt. Dies stimmt mit der von ODHAM¹⁴ angegebenen Reihenfolge der gaschromatographischen Retentionszeiten für 2.4-, 2.6-, 2.8- und 2.10-disubstituierte Fettsäuremethylester überein.

Peak 15

$M^{\oplus} = 242$. Die Retentionszeit gibt einen Hinweis auf einen trisubstituierten Methylester. Charakteristisch für Methylgruppen am C-2- und C-4-Atom sind die Ionen $m/e = 88, 101$ und 129 (groß) gegenüber 115 (klein). Die Ionen $m/e = 199$ und 167/149 (s. Peak 10) sind mit einer Substitution am C-8-Atom vereinbar. Das in Abb. 3 beobachtete Ion $M-87$ ist hier zu $m/e = 155$ verschoben. Die auftretenden Fragmentierungen identifizieren die Komponente 15 als ein Homologes von Peak 10, als 2.4.8-Trimethylundecansäuremethylester.

Peak 16

$M^{\oplus} = 242$. Wie bei Peak 15 muß es sich nach der GLC-Retentionszeit um einen trimethylsubstituierten Fettsäuremethylester handeln. Die Intensität der Ester-Ionen $m/e = 88, 101, 115, 129, 143$ (sehr klein), 157, 171, 185 (sehr klein) und 199 deutet auf Methylgruppen am C-2-, C-6- und C-8-Atom. Dies wird durch die Ionen $m/e = 167$ ($M - [\dot{C}_2H_5 + CH_3OH]$), $m/e = 149$ ($M - [\dot{C}_2H_5 + CH_3OH + H_2O]$) und $m/e = 152$ ($M-90$) bestätigt. Die Komponente Peak 16 ist identisch mit 2.6.8-Trimethylundecansäuremethylester und damit homolog zu Peak 11.

Peak 17

$M^{\oplus} = 228$. Das McLafferty-Ion wird bei $m/e = 88$ beobachtet. Anhand der Intensitäten der Ester-Ionen $(CH_2)_mCOOCH_3$ mit $m/e = 101, 115 \dots$ und einem intensiven Ion $m/e = 169$ ($M-59$ bzw. $M-\dot{C}OOCH_3$) läßt sich diese Komponente als 2-Methyldodecansäuremethylester identifizieren.

Peak 18

$M^{\oplus} = 242$. Die GLC-Retentionszeit läßt vermuten, daß ein dimethyl-substituierter Fettsäuremethylester vorliegt. Ein sehr intensives Ion $M-90$ ($m/e = 152$) zusammen mit dem McLafferty-Ion $m/e = 88$ beweisen das Vorliegen von 2,6-Dimethyldodecansäuremethylester. Die gegenüber dem Ester-Ion mit $m/e = 115$ besonders große Intensität des homologen Ions $m/e = 129$ sowie das Ion $M-59$ zeigen, daß im Peak 18 neben dem 2,6-Isomeren wahrscheinlich auch das 2,4-Isomere enthalten ist.

Peak 19

$M^{\oplus} = 242$. Auch hier sollte nach der GLC-Retentionszeit ein disubstituierter Ester vorliegen. Die Ionen $m/e = 88$, und 185 ($185 - \text{CH}_3\text{OH} = 153$; $153 - \text{H}_2\text{O} = 135$) identifizieren Komponente Peak 19 als ein Homologes von Peak 14, als 2,8-Dimethyldodecansäuremethylester.

Peak 20

$M^{\oplus} = 242$. Das Ion $m/e = 88$ und die CH_3OH - und H_2O -Eliminierung aus dem Ester-Ion $m/e = 213$ ($M-\dot{\text{C}}_2\text{H}_5$) ($213 - \text{CH}_3\text{OH} = 181$; $181 - \text{H}_2\text{O} = 163$) beweisen, daß es sich um 2,10-Dimethyldodecansäuremethylester handelt. Diese Zuordnung wird durch die GLC-Retentionszeit bestätigt.

Peak 21

$M^{\oplus} = 242$. Das Ion $M-59$ ($m/e = 183$), das McLafferty-Ion $m/e = 88$ und die Intensitäten in der Ester-Ionen-Serie

Abb. 4. Massenspektrum der Komponente Peak 22.

sprechen für einen am C-2-Atom monomethylsubstituierten Tridecansäuremethylester. Dieses Ergebnis stimmt mit den GLC-Befunden überein.

Peak 22

$M^{\oplus} = 256$. Die für 2- und 6-Substitution typischen Ionen treten bei $m/e = 88$ und 166 ($M-90$) auf (vgl. Abb. 4).

Die Position einer dritten Methylgruppe am C-10-Atom läßt sich mittels der Ionen $m/e = 227$, 195 ($= 227 - \text{CH}_3\text{OH}$) und 177 ($= 227 - \text{CH}_3\text{OH} - \text{H}_2\text{O}$) ableiten. Ionen $M-49$ und $M-47$ werden bei $m/e = 207$ und 209 beobachtet. Das Massenspektrum ist mit dem Vorliegen eines 2,6,10-Trimethyldodecansäuremethylesters vereinbar

Peak 23/24/25

Alle drei Komponenten haben ein $M^{\oplus} = 256$. Dies deutet zusammen mit den GLC-Retentionszeiten darauf hin, daß isomere dimethyl-substituierte Tridecansäuremethylester vorliegen. Im Spektrum der Komponente 23 treten das McLafferty-Ion bei $m/e = 88$ und das für 2,6-Substitutionen charakteristische Ion $M-90$ bei $m/e = 166$ auf und identifizieren sie als 2,6-Dimethyltridecansäuremethylester.

Die Komponenten 24 und 25 haben ebenfalls Methylgruppen am C-2- und am C-8- bzw. C-10-Atom. Die dafür typischen Ester-Ionen mit ihren Folgeionen werden bei $m/e = 185$ (mit $185 - \text{CH}_3\text{OH} = 153$ und $153 - \text{H}_2\text{O} = 135$) und m/e

= 213 (mit $213 - \text{CH}_3\text{OH} = 181$ und $181 - \text{H}_2\text{O} = 163$) beobachtet.

Die Komponenten 24 und 25 sind somit Homologen der Verbindungen der Peaks 19 und 20.

Peak 26

$M^{\oplus} = 270$. Die Ionen $m/e = 88$ und 180 ($M-90$) beweisen die 2,6-Substitution. Eine weitere Methylgruppe befindet sich am C-10-Atom, da das Ion $m/e = 227$ Methanol und H_2O eliminiert ($m/e = 195$ und 177). Die Ionen $M-47$ und $M-49$ (vgl. Peak 22) treten bei $m/e = 221$ und 223 auf. Die beobachteten Ionen identifizieren die vorliegende Komponente als ein Homologes von Peak 22, nämlich als 2,6,10-Trimethyltridecansäuremethylester.

Peak 27

$M^{\oplus} = 256$. Aus der GLC-Retentionszeit und den Ionen $m/e = 88$ und 197 ($M-59$) läßt sich ersehen, daß ein 2-Methyltetradekansäuremethylester vorliegt.

Peak 28/29/30

Die Verbindungen sind gaschromatographisch kaum getrennt; trotzdem ist aus der GLC-Retentionszeit und den Massenspektren der Gemische eine eindeutige Identifizierung möglich. Alle Komponenten haben ein $M^{\oplus} = 270$, d. h. es handelt sich, wenn man die Retentionszeit berücksichtigt, um dimethylsubstituierte Tetradekansäuremethylester. Die charakteristischen Ionen sind identisch mit denen in den Massenspektren der Komponenten 23, 24 und 25, d. h. es liegen die Homologen 2,6-, 2,8- und 2,10-Dimethyltetradekansäuremethylester vor.

Peak 31

$M^{\oplus} = 270$, ist ein Homologes von Peak 27 und kann als 2-Methylpentadecansäuremethylester identifiziert werden.

Peak 32

$M^{\oplus} = 284$. Die GLC-Retentionszeit und die Ionen $m/e = 88$ und 194 ($M-90$) identifizieren diese Ver-

bindung als 2,6-Dimethyltetradekansäuremethylester.

Die quantitative Zusammensetzung der aus dem Bürzelwachs der Reiherente isolierten Fettsäuren ist in Tab. 1 wiedergegeben.

Peak-Nr. in Abb. 2	Struktur der Fettsäure als Bestandteil des Bürzelwachses	Anteil in Flächen%
2	2,4-Dimethylheptansäure	0,3
3	2,6-Dimethyloctansäure	0,5
4	2,4,6-Trimethyloctansäure	8,7
5	2,4-Dimethylnonansäure	0,2
6	2,6-Dimethylnonansäure	5,9
7	2,4,6-Trimethylnonansäure	39,0
8	2,6-Dimethyldecansäure	2,1
9	2,8-Dimethyldecansäure	0,7
10	2,4,8-Trimethyldecansäure	1,5
11	2,6,8-Trimethyldecansäure	2,6
12	2,4,6,8-Tetramethyldecansäure	3,6
13	2,6-Dimethylundecansäure	2,5
14	2,8-Dimethylundecansäure	1,3
15	2,4,8-Trimethylundecansäure	3,5
16	2,6,8-Trimethylundecansäure	2,7
17	2-Methyl-dodekansäure	2,5
18	2,4-Dimethyldodekansäure und 2,6-Dimethyldodekansäure	1,5
19	2,8-Dimethyldodekansäure	1,0
20	2,10-Dimethyldodekansäure	1,6
21	2-Methyltridecansäure	0,7
22	2,6,10-Trimethyldodekansäure	3,3
23	2,6-Dimethyltridecansäure	2,0
24	2,8-Dimethyltridecansäure	
25	2,10-Dimethyltridecansäure	0,9
26	2,6,10-Trimethyltridecansäure	1,6
27	2-Methyltetradekansäure	2,4
28	2,6-Dimethyltetradekansäure	1,2
29	2,8-Dimethyltetradekansäure	
30	2,10-Dimethyltetradekansäure	0,7
31	2-Methylpentadecansäure	0,7
32	2,6-Dimethylpentadecansäure	1,0
—	nicht identifiziert	3,8

Tab. 1. Quantitative Zusammensetzung der aus dem Bürzelwachs der Reiherente isolierten Fettsäuren (in Flächen-%).

Im Ionenstromchromatogramm (Abb. 5) der durch Chromsäureoxidation aus den Alkoholen erhaltenen Fettsäuremethylester treten ca. 30 Komponenten auf.

Von 16 Komponenten wurden Massenspektren erhalten. Die Komponenten der Peaks 1, 2, 4, 7, 12 und 14 ließen sich mit Hilfe der gaschromatographischen Retentionszeiten und der massenspektrometrischen Befunde als $n\text{-C}_{12}$, C_{13} , C_{14} , C_{16} , C_{17} und C_{18} -Methylester identifizieren.

Von besonderem Interesse sind die Bereiche der methylverzweigten Methylester mit Kettenlängen von 17 und 19 C-Atomen. Die gute Trennleistung der GLC-MS-Kombination erlaubte diese bei ande-

Abb. 5. Ionenstromchromatogramm der aus den Wachsalkoholen resultierenden Fettsäuremethylester.

ren Bürzelwachskomponenten bislang nur unvollkommen getrennten Bereiche genauer zu untersuchen.

Im Bereich der verzweigten Methylester mit 17 C-Atomen ließen sich folgende Verbindungen identifizieren.

Peak 9

$M^{\oplus} = 284$. Nach der GLC liegt ein mono-methyl-substituierter Fettsäuremethylester vor. Bei verzweigten Fettsäuremethylestern mit längerer Alkylkette treten durch Fragmentierung an der Verzweigungsstelle charakteristische Ester-Ionen und ihre um H und 2 H reicheren Begleiter auf. Diese Ionen werden bei $m/e = 171, 172$ und 173 [$(\text{CH}_2)_8\text{COOCH}_3 + \text{H}, + 2 \text{H}$] $^{\oplus}$ mit hoher Intensität beobachtet. Sie weisen auf eine Substitution am C-10-Atom hin. Das bei 10-Substitution zu erwartende Fragment $m/e = 199$ tritt intensiv auf und verliert erwartungsgemäß CH_3OH ($m/e = 167$) und H_2O ($m/e = 149$).

Eine detaillierte Interpretation des Massenspektrums zeigt, daß neben 10-Methylhexadecansäuremethylester in geringerer Konzentration noch wei-

tere Isomere in Peak 9 enthalten sein müssen. Den Ionen-Serien

zugehörige Ionen treten bei $m/e = 107, 125$ (7-Substitution), $121, 139$ (8-Substitution) und $135, 153$ (9-Substitution) auf.

Peak 10

$M^{\oplus} = 284$. Für die Erkennung der Verzweigungsstelle wichtige Ionen treten bei $m/e = 199, 200, 201$ [$(\text{CH}_2)_{10}\text{COOCH}_3 + \text{H}, + 2 \text{H}$] $^{\oplus}$ auf, sowie bei $m/e = 227$ (daneben $195 = 227 - \text{CH}_3\text{OH}$ und $177 = 195 - \text{H}_2\text{O}$). Die Hauptkomponente in Peak 10 stellt somit 12-Methylhexadecansäuremethylester dar. In geringer Menge sind Isomeren mit Methylverzweigungen am C-7-, C-8-, C-9- und C-10-Atom nachweisbar. ($m/e = 107/125; 121/139; 135/153$ und $149/167$).

Peak 11

$M^{\oplus} = 284$. Die für einen anteiso-Ester charakteristischen Ionen $M \cdot \dot{\text{C}}_2\text{H}_5$, $M \cdot (\dot{\text{C}}_2\text{H}_5 + \text{CH}_3\text{OH})$ und $M \cdot (\dot{\text{C}}_2\text{H}_5 + \text{CH}_3\text{OH} + \text{H}_2\text{O})$ treten bei $m/e = 255, 223$ und 205 auf. Die durch Spaltung an der Verzweigungsstelle gebildeten Esterfragmente werden bei $m/e = 227, 228$ und 229 beobachtet.

Bei der Komponente 11 handelt es sich daher um 14-Methylhexadecansäuremethylester.

Im Bereich der verzweigten Methylester mit 19 C-Atomen wurden Peak 15 und 16 identifiziert.

Peak 15

$M^{\oplus} = 312$. Die GLC-Retentionszeit deutet auf einen mittelständig monomethyl-substituierten Fettsäuremethylester. Aus den Ionen $m/e = 236$ ($M - 76$, d. i. $\text{CH}_3\text{OH} + \text{CH}_2 = \text{CHOH}$), $171, 172$ und 173 , d. i. [$(\text{CH}_2)_8\text{COOCH}_3 + \text{H}, + 2 \text{H}$] $^{\oplus}$ sowie 199 mit den resultierenden Ionen $167 = 199 - \text{CH}_3\text{OH}$ und $149 = 167 - \text{H}_2\text{O}$ läßt sich ersehen, daß ein Gemisch aus 6- und 10-Methyloctadecansäuremethylester vorliegt. Die intensiven Ionen $m/e = 139$ und 121 [$171 - \text{CH}_3\text{OH}$ bzw. $171 - (\text{CH}_3\text{OH} + \text{H}_2\text{O})$] lassen vermuten, daß im Gemisch in geringer Menge auch das 8-Isomere enthalten ist.

Peak 16

$M^{\oplus} = 312$. Die Hauptkomponente in Peak 16 wird durch die Ester-Ionen $m/e = 227, 228, 229$ $[(CH_2)_{12}COOCH_3, +H, +2H]$ und durch M - $(C_4H_9 + CH_3OH + H_2O)$ mit $m/e = 205$ sowie durch $m/e = 255$ $(M-\dot{C}_4H_9)$ und 223 $[M-(\dot{C}_4H_9 + CH_3OH)]$ als 14-Methyloctadecansäuremethylester identifiziert. Daneben werden gemäß der entsprechenden Ionen-Serien die Isomeren mit der Methylgruppe am C-7-, C-8-, C-9-, C-10-, C-11- und C-12-Atom nachgewiesen.

Die gaschromatographisch ermittelte quantitative Zusammensetzung der aus den Alkoholen durch Chromsäure-Oxidation erhaltenen Fettsäuremethylester gibt für die ersteren das in Tab. 2 wiedergegebene Bild.

Peak Nr. in Abb. 5	Struktur des Alkohols	Anteil in Flächen-%
1	<i>n</i> -Dodecanol	0,4
2	<i>n</i> -Tridecanol	0,6
3	2-Methyl-tridecanol	0,7
4	<i>n</i> -Tetradecanol	2,0
5	2-Methyl-pentadecanol	0,5
6	nicht identifiziert	0,7
7	<i>n</i> -Hexadecanol	22,4
8	2-Methyl-hexadecanol	3,2
9	10-Methyl-hexadecanol	3,3
10	12-Methyl-hexadecanol	2,1
11	14-Methyl-hexadecanol	5,6
12	<i>n</i> -Heptadecanol	5,8
13	2- sowie 10-Methyl-heptadecanol	0,3
14	<i>n</i> -Octadecanol	41,5
15	6- sowie 10-Methyl-octadecanol	2,9
16	14-Methyl-octadecanol	4,6
—	nicht identifiziert	3,4

Tab. 2. Gaschromatographisch ermittelte Zusammensetzung der Wachsalkohole (aus den Oxydationsprodukten bestimmt).

Diskussion

Im Bürzelwachs der Reiherente (*Aythya fuligula*) treten als saure Komponenten mono-(2-Methyl-), di-(2.4-, 2.6-, 2.8- und 2.10-Dimethyl-), tri-(2.4.6-, 2.4.8-, 2.6.8- und 2.6.10-Trimethyl-) und tetramethylsubstituierte Fettsäuren mit Kettenlängen

von C₇–C₁₅ auf. Unverzweigte Fettsäuren kommen nicht vor.

Als alkoholische Komponenten finden sich unverzweigte primäre Alkanole mit Kettenlängen zwischen C₁₂ und C₁₈ neben verzweigten primären Alkoholen mit Verzweigungen in 2-, 6-, 7-, 8-, 9-, 10-, 11-, 12- und 14-Position. Andere monomethylsubstituierte Alkanole sind als Spurenkomponenten nicht auszuschließen.

Die Biosynthese polymethyl-verzweigter Makrolide sowie einiger Fettsäuren aus Propionyl-CoA erscheint nach den Arbeiten zahlreicher Autoren geklärt^{26–31}. Auffällig ist jedoch im vorliegenden Fall sowie bei anderen Vertretern der 17. Ordnung, daß stets eine Methylverzweigung am C-2-Atom vorliegt, wie es z. B. auch bei der kürzlich untersuchten Saatkrähe¹⁹ aus der 32. Ordnung beobachtet wurde. Wir deuten diesen Befund wie an anderer Stelle vorgeschlagen¹⁹ damit, daß der terminale Schritt der Fettsäurebiosynthese — die Ablösung des Endproduktes von der Synthetase — nur mit Methylmalonyl-CoA möglich ist, sofern die Biosynthese überhaupt an einer üblichen Synthetase abläuft. Stütze dieser Hypothese ist das Fehlen von Fettsäuren mit der 1. Methylverzweigung in einer anderen als der 2-Position. Eine einzige Ausnahme scheint in der 17. Ordnung bei der Eiderente vorzuliegen¹⁴, wo das Vorkommen einer 4.6-Dimethyloctansäure beobachtet wurde.

Der Einbau von Methylmalonyl-CoA erfolgt in 1. Näherung statistisch, da fast alle in Frage kommenden Positionen auch tatsächlich realisiert werden (z. B. 2.4-, 2.6-, 2.8-, 2.10-, 2.4.6-, 2.4.8-, 2.6.8-, 2.6.10- und 2.4.6.8).

Die bislang ungeklärte Biosynthese der Wachsalkohole verläuft offenbar nach einem anderen Mechanismus, was sich an den Verzweigungspositionen erkennen läßt, von denen die 2-, 6-, 7-, 8-, 9-, 10-, 11-, 12- und 14-Position beobachtet wurden. Hier erscheint ein Methylübertragungs-Mechanismus wahrscheinlicher.

²⁵ NG, DINH-NGUYEN, R. RYHAGE, S. STÄLLBERG-STENHAGEN u. E. STENHAGEN, Ark. Kemi **18**, 393 [1961].

²⁶ R. NOBLE, R. STJERHOLM, D. MERCIER u. E. LEDERER, Nature [London] **199**, 600 [1963].

²⁷ H. GRISEBACH u. ACHENBACH, Z. Naturforsch. **17b**, 634 [1962].

²⁸ A. J. BIRCH, E. PRIDE, R. W. RICHARDS u. P. J. THOMSON, Chem. and Ind. **1960**, 1245.

²⁹ H. GRISEBACH u. W. HOFHEINZ, J. Roy. Inst. Chem. **1964**, 332.

³⁰ T. KANEDA, C. BUTTE, S. B. TAUBMAN u. J. W. CORCORAN, J. biol. Chemistry **237**, 322 [1962].

³¹ M. BERRY, Quart. Rev. (chem. Soc. London) **17**, 343 [1963].

Stellt man die bisherigen Ergebnisse aus den Untersuchungen der 17. Ordnung einander gegenüber, so ergibt sich:

Alle Arten zeigen in ihren Bürzellipiden das Auftreten von methylverzweigten Fettsäuren, deren

Im Bürzelwachs vorkommender Fettsäure-Typ	Untersuchte Art
tetramethyl-verzweigt	<i>Anser anser</i> (Graugans) ⁹
tetra- und trimethyl-verzweigt	<i>Dendrocygna viduata</i> (Witwenente) ¹⁴ <i>Cygnus olor</i> (Höckerschwan) ¹¹ <i>Branta leucopsis</i> (Weißwangengans) ¹⁴ <i>Tadorna tadorna</i> (Brandgans) ¹² <i>Tadorna ferruginea</i> (Rostgans) ¹²
tetra-, tri- und dimethyl-verzweigt	<i>Somateria mollissima</i> (Eiderente) ¹⁴
tetra-, tri-, di- und mono-methyl-verzweigt	<i>Aythya fuligula</i> (Reiherente)
monomethyl-verzweigt	<i>Pekingente</i> ¹⁰ <i>Anas platyrhynchos</i> (Stockente) ¹⁵
trimethyl-verzweigt	<i>Cairina moschata</i> (Moschusente) ¹⁴ <i>Mergus serrator</i> (Mittelsäger) ¹⁴

Tab. 3. Fettsäuretyp im Bürzelwachs verschiedener Anatiden.

Verzweigungsgrad in Abhängigkeit von der Art in Tab. 3 wiedergegeben ist.

Nimmt man die Zusammensetzung der einzelnen Wachsalkohole hinzu, so zeigen sich in dieser Ordnung deutliche Verwandtschaften. Von den angeführten Arten kommen unverzweigte Alkohole nur bei *Dendrocygna viduata*, *Anser anser*, *Cairina moschata*, *Mergus serrator*, *Tadorna tadorna* und *Tadorna ferruginea* vor; bei den anderen Arten finden sich daneben wechselnde Mengen an methylverzweigten Alkanolen. Chemotaxonomisch lassen sich Verwandtschaften zwischen *Dendrocygna* und *Tadorna*, die aus verschiedenen Unterfamilien stammen, sowie zwischen *Cairina* und *Mergus* feststellen, die unterschiedlichen Tribus der gleichen Unterfamilie angehören. Die hier untersuchte Art (*Aythya fuligula*) gleicht im wesentlichen der Eiderente.

Weitere Untersuchungen werden nötig sein, um biologische Querverbindungen deutlich werden zu lassen.

³² G. NIETHAMMER, K. M. BAUER u. U. N. GLUTZ v. BLOTZHEIM, in: Handbuch der Vögel Europas, **Bd. 2**, Teil 1. Akadem. Verlagsges. Frankfurt/M. 1968.