

**ISOLIERUNG, STRUKTURAUFKLÄRUNG UND
BEITRÄGE ZUR SYNTHESE VON NATURSTOFFEN
AUS TROPISCHEN HEILPFLANZEN
SOWIE
ETABLIERUNG CHIRALER ON-LINE-ANALYTIK**

**DISSERTATION ZUR ERLANGUNG DES
NATURWISSENSCHAFTLICHEN DOKTORGRADES DER
BAYERISCHEN JULIUS-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT WÜRZBURG**

**vorgelegt von
Kim Sven Messer
aus
Crailsheim**

Würzburg 2002

Eingereicht am:
bei der Fakultät für Chemie und Pharmazie

1. Gutachter:
2. Gutachter:
der Dissertation.

1. Prüfer:
2. Prüfer:
der mündlichen Prüfung.

Tag der mündlichen Prüfung:

Doktorurkunde ausgehändigt am:

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom
Mai 1998 bis Juli 2001
am Institut für Organische Chemie
der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität
angefertigt.

Herrn Prof. Dr. G. Bringmann danke ich
für die ständige Unterstützung, die hilfreichen Anregungen
und nicht zuletzt für die zur Verfügung gestellten Möglichkeiten und Freiräume.

Teile der im Rahmen dieser Dissertation erzielten Ergebnisse waren bereits Gegenstand von
Publikationen^[38,93,105,126,177,193,230,233,250,267-270,294-296] sowie von Posterpräsentationen und
Vorträgen.

FÜR ANGELIKA

INHALTSVERZEICHNIS

ALLGEMEINER TEIL		1
1	Einleitung	1
2	Isolierung der Inhaltsstoffe aus <i>Ancistrocladus congolensis</i> (Ancistrocladaceae)	7
2.1	<i>Ancistrocladus congolensis</i> J. Léonard (Ancistrocladaceae)	7
2.2	Kenntnisstand der Inhaltsstoffe	8
2.3	Isolierung und Strukturaufklärung der Ancistrocongoline	10
2.3.1	Extraktion und Aufreinigung	10
2.3.2	Isolierung von Korupensamin A (15)	13
2.3.3	Strukturaufklärung von Ancistrocongolin A (18)	14
2.3.3.1	Spektroskopische Charakterisierung von 18	14
2.3.3.2	Die absolute Konfiguration von Ancistrocongolin A (18)	15
2.3.4	Strukturaufklärung von Ancistrocongolin B (19)	17
2.3.4.1	Isolierung von 19	17
2.3.4.2	Spektroskopische Charakterisierung von 19	17
2.3.4.3	Die absolute Konfiguration von Ancistrocongolin B (19)	18
2.3.5	Strukturaufklärung von Ancistrocongolin C (20)	20
2.3.5.1	Spektroskopische Charakterisierung von 20	20
2.3.5.2	Die absolute Konfiguration von Ancistrocongolin C (20)	21
2.3.6	Strukturaufklärung von Ancistrocongolin D (22)	22
2.3.6.1	Spektroskopische Charakterisierung von 22	22
2.3.6.2	Absolute Konfiguration von Ancistrocongolin D (22)	24
2.3.7	Versuchte Isolierung dimerer Naphthylisochinolin-Alkaloide	25
2.4	Einordnung und Bioaktivität der Alkaloide	26
3	Isolierung von Habropetalin A aus <i>Triphyphyllum peltatum</i>	29
3.1	<i>Triphyphyllum peltatum</i> (Hutch et Dalz.) Airy Shaw	29
3.2	Kenntnisstand	29
3.3	Extraktion und Aufreinigung ^[90]	30
3.4	Strukturaufklärung von Habropetalin A (25)	30
3.4.1	Spektroskopische Charakterisierung von 25	30

3.4.2	Absolute Konfiguration von 25	31
3.4.3	Biologische Aktivität von Habropetalin A (25)	33
4	Isolierung und Strukturaufklärung von Dioncophyllin E aus <i>Dioncophyllum thollonii</i> (Dioncophyllaceae)	35
4.1	<i>Dioncophyllum thollonii</i> Baillon	35
4.2	Kenntnisstand der Inhaltsstoffe	36
4.3	Isolierung und Strukturaufklärung von Dioncophyllin E (37)	39
4.3.1	Extraktion und Aufreinigung	39
4.3.2	Strukturaufklärung von Dioncophyllin E (37)	39
4.4	Bestimmung der Rotationsbarriere von Dioncophyllin E (37)	50
4.4.1	Theoretische Berechnung mit AM1	50
4.4.2	Experimentelle Bestimmung der Rotationsbarriere	50
4.4.3	Einschätzung der Ergebnisse	53
4.5	Einordnung von Dioncophyllin E (37)	55
4.6	Biologische Aktivität von Dioncophyllin E (37)	56
5	Beiträge zur Synthese von Dioncophyllin E (37)	57
5.1	Zielsetzung	57
5.2	Analyse der Synthesestrategie	57
5.3	Synthese des Naphthalin-Bausteins	62
5.3.1	Synthese in Anlehnung an Watanabe <i>et al.</i> ^[156]	62
5.3.2	Desulfonierung von Chromotropsäure-Derivaten	63
5.3.3	1,8-Diaminonaphthalin als Edukt	64
5.3.4	Synthese nach Erdmann	64
5.4	Kupplung der Bausteine	66
6	Die absolute Konfiguration von Isoshinanolon	69
6.1	Kenntnisstand	69
6.2	Die relative Konfiguration	72
6.3	Die absolute Konfiguration von Isoshinanolon (26)	73
6.3.1	Der chemische Abbau	73
6.3.2	Die HPLC-Analytik	75
6.3.3	CD-Spektroskopie von Isoshinanolon (26)	76

6.3.4	Röntgenbeugungsanalyse von Isoshinanolon (26)	80
7	Die HPLC-CD-Kopplung in der Naturstoffanalytik	83
7.1	Die HPLC-CD-Kopplung	83
7.2	Die LC-CD-Analytik im Verbund der analytischen Triade ^[211]	85
7.2.1	Voruntersuchungen	85
7.2.2	Untersuchung von <i>Triphyophyllum peltatum</i>	86
7.2.3	Untersuchung von <i>Habropetalum dawei</i>	89
7.2.4	Beurteilung des HPLC-CD-Detektors	94
7.3	HPLC-CD Analytik von TaClo	95
7.4	Chirale on-line-Analytik am Beispiel von Murrastifolin-F	99
7.5	Cyclorocaglamid, eine Ausnahme der Regel?	104
7.6	Thalidomid und seine Metaboliten	108
7.7	Abschließende Betrachtung	113
8	Zusammenfassung	115
9	Summary	121
	EXPERIMENTELLER TEIL	127
1	Allgemeine Methoden	127
1.1	Verwendete Messgeräte und Apparaturen	127
1.2	Chromatographische Methoden	128
1.3	Vorbereitung der Versuche	131
2	Untersuchung von <i>Ancistrocladus congolensis</i>	133
2.1	Isolierung der Naturstoffe	133
2.2	Ancistrocongolin A (18)	134
2.3	Ancistrocongolin B (19)	136
2.4	Ancistrocongolin C (20)	138
2.5	Ancistrocongolin D (22)	141
3	Untersuchung von <i>Triphyophyllum peltatum</i>	145
3.1	Isolierung von Habropetalin A (25)	145
3.2	Habropetalin A (25)	145

3.3	Vergleich von „5'- <i>O</i> -Methyltriphyopeltin (33)“ und Habropetalin A (25)	147
4	Untersuchung von <i>Dioncophyllum thollonii</i>	149
4.1	Isolierung von Dioncophyllin E (37)	149
4.2	Dioncophyllin E (37)	149
5	Beiträge zur Synthese von Dioncophyllin E	153
5.1	Synthese des Naphthalin-Bausteins	153
5.1.1	Synthese in Anlehnung an Watanabe <i>et al.</i> ^[156]	153
5.1.2	Desulfonierung von Chromotropsäure-Derivaten	153
5.1.3	1,8-Diaminonaphthalin als Edukt	154
5.1.3.1	Bucherer-Reaktion	154
5.1.3.2	Diazotierung	154
5.1.4	1,8-Dihydroxynaphthalin (73)	154
5.1.5	8-Hydroxy-1-methoxynaphthalin (70)	155
5.1.6	8-Hydroxy-1-(methoxymethoxy)-naphthalin (77)	156
5.1.7	1,8-Dimethoxynaphthalin (74)	157
5.1.8	1-(Methoxymethoxy)-8-methoxynaphthalin (78)	157
5.1.9	2-Brom-1-(Methoxymethoxy)-8-methoxynaphthalin (79)	158
5.1.10	1-(Methoxymethoxy)-8-methoxy-2-tributylstannyl-naphthalin (80)	159
5.1.11	1-(Methoxymethoxy)-8-methoxy-2-naphthalin-boronsäure (81)	160
5.2	Versuchte Kupplung zu (1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)- <i>N</i> -Benzyl-7-[5'-methoxy-4'-(methoxymethoxy)-3'-naphthyl]-8-(methoxymethoxy)-1,3-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (82)	161
5.2.1	Versuchte Suzuki-Kupplung zu 82	161
5.2.2	Versuchte Stille-Kupplung zu 82	161
6	HPLC-Analytik von Isoshinanolon	163
6.1	Chirale HPLC-Analytik	163
6.2	HPLC-CD-Kopplung	163
7	HPLC-CD-Kopplung in der Naturstoffanalytik	164
7.1	Untersuchung von Extrakten von <i>T. peltatum</i>	164
7.2	Untersuchung von TaClo (90)	164
7.3	Untersuchung von Murrastifolin-F (97) und Derivaten	165
7.3.1	Murrastifolin-F (97)	165

7.3.2	Bis-O-desmethylnurrastifolin-F (98) [1-Hydroxy-4-(1'-hydroxy-3'-methyl-9'H-carbazol-9'-yl)-3-methyl-9H-carbazol]	165
7.3.3	1-Hydroxy-4-{9'-[1'-((2''S)-methoxy(trifluormethyl)-phenylacetoxy)-3'-methyl-9H-carbazolyl]}-3-methyl-9H-carbazol (99)	166
7.3.4	[4-(1'-hydroxy-3'-methyl-9'H-carbazol-9'-yl)-3-methyl-9H-carbazol-1-yl]-camphersulfonat (100)	166
7.3.5	rac-unlike-1'-Methoxy-9'-(1-methoxy-3-methyl-9H-carbazol-4-yl)-4'-(1''-methoxy-3''-methyl-9''H-carbazol-9-yl)-3'methyl-9'H-carbazol (rac- <i>u</i> - 101)	166
7.4	Untersuchung von Cyclorocaglamid (103)	167
7.5	Untersuchung von Thalidomid (104) und seinen Metaboliten	167
8	Anhang	169
8.1	Struktur- und Ortsparameter der Röntgenbeugungsanalyse von 26b	169
LITERATUR UND ANMERKUNGEN		171

ALLGEMEINER TEIL

1 Einleitung

War in den 30er Jahren die herrschende Meinung noch von Optimismus über den anstehenden Sieg der Wissenschaft über die Infektionskrankheiten geprägt und schienen auch die Erfolge der hochwirksamen Antibiotika in den darauffolgenden 30 Jahren diese Entwicklung zu bestätigen, so erscheint mit dem Beginn des neuen Jahrtausends eine Rekonvaleszenz dieser in der westlichen zivilisierten Welt beherrschte geglaubten Probleme bevorzustehen.^[1] Die zunehmende Resistenz von z.B. Vancomycin-resistenten^[2] bakteriellen Krankheitserregern (**1**), oftmals das letzte für die Heilung zur Verfügung stehende Mittel, mit einem prozentualen Anstieg von 0.4 % im Jahre 1989 bis auf 25.9 % zu Beginn von 1999 offenbart dramatisch diesen rasanten Anstieg. Die durch die Erfolge des Fortschritts zu Beginn der 70er Jahre vernachlässigte Suche nach neuen Wirkstoffen sowie die teilweise unbeaufsichtigte und damit verbundene oft falsche Verabreichung der Medikamente erlaubt nun das Wiederaufflammen dieser Krankheiten in vielen Bereichen. Nicht zuletzt veränderte Lebensgewohnheiten wie z.B. eine zunehmende Globalisierung mit somit völlig neuen Übertragungsgeschwindigkeiten fördern und unterstützen diesen Prozess.^[1] Der Bedarf an neuen Wirkstoffen wird offensichtlich immer dringlicher. Doch nicht nur durch menschliche Versäumnisse entstandene Lücken, sondern auch die erstaunliche Anpassungsfähigkeit der Parasiten wie z.B. des Malariaerregers *Plasmodium falciparum*, der nun mit multi-resistenten Formen erneut die südlichen Bereiche Amerikas wiedererobert, drängen auf schnelle Abhilfe durch wirksame Medikamente. Mit der immensen Zahl von geschätzten 1.1 Millionen^[1] oder sogar 2.1 Millionen^[3] Toten pro Jahr, ca. 2.2 Millionen Opfern der Diarrhö, 2.3 Millionen AIDS-Toten oder den 3.5 Millionen Betroffenen der Pneumonie ist der Handlungsbedarf klar definiert. Bei vielen der bekannten Wirkstoffe wie bei dem 1956 entdeckten Vancomycin (**1**),^[2,4] bei dem seit langem gegen die Malaria verwendeten Chinin (**2**) oder bei dem nun gegen Brustkrebs erfolgreich eingesetzten Taxol (**3**) handelt es sich um aus Pflanzen isolierte Naturstoffe (s. Abb. 1, Seite 2). Die Natur eröffnet mit ihrer strukturellen Vielfalt einen nahezu unerschöpflichen Pool an therapeutisch wirksamen Substanzen. Die Bedeutung der Naturstoffe spiegelt sich z.B. darin wider, dass es sich bei 39 % der 520 zwischen den Jahren 1983 und 1994 zugelassenen Wirkstoffe um Naturstoffe oder davon abgeleitete Derivate handelte; bei den Antibiotika und Anti-Krebs-Wirkstoffen liegt dieser Anteil bei über 60 %.^[5,6]

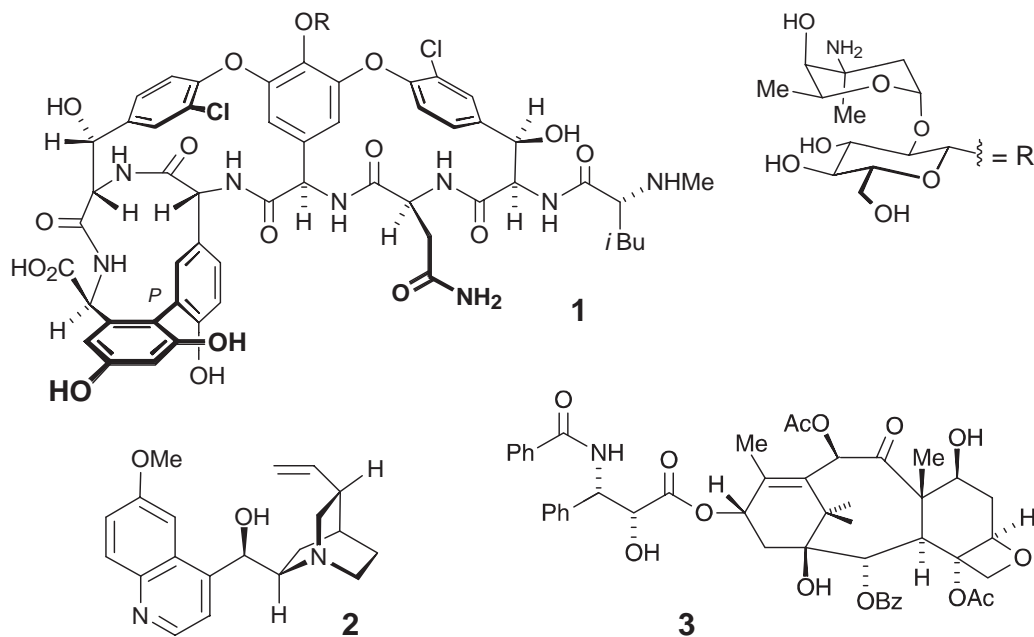


Abb. 1. Wirkstoffe aus der Natur: Vancomycin (1), Chinin (2) und Taxol (3)

Unter den biologisch aktiven Naturstoffen zeichnen sich die Alkaloide nicht nur aufgrund ihrer strukturellen Vielfalt, sondern vor allem auch wegen ihrer pharmakologischen Wirksamkeiten aus.^[7,8] Die noch junge Substanzklasse der sogenannten Naphthylisochinolin-Alkaloide^[9-11] mit ihren bislang ca. achtzig bekannten Vertretern ist, trotz ihrer außergewöhnlichen acetogeninen Biosynthese,^[12] in dieser Hinsicht ein klassisches Beispiel. Diese Verbindungsklasse wurde bislang ausschließlich in den beiden eng verwandten^[13] paläotropischen Pflanzenfamilien der Dioncophyllaceen und Ancistrocladaceen gefunden.¹ Ihr offensichtlichstes Strukturmerkmal ist die die beiden Molekülhälften verbindende Biarylachse (s. Abb. 2, Seite 3). Diese aufgrund der sterischen Rotationshinderung hier meist stereogene Einheit eröffnet durch die möglichen unterschiedlichen Verknüpfungspunkte der Achse die breite strukturelle Diversität der Naphthylisochinoline. So zeichnet sich z.B. der „A-Typ“, wie im Dioncophyllin A (4a) oder Dioncopeltin A (5), durch eine 7,1'-Verknüpfung² der beiden Molekülhälften aus, der „B-Typ“ des Dioncophyllin B (6) durch eine 7,6'-Kupplung und der beim Dioncophyllin C (7) auftretende „C-Typ“ durch eine 5,1'-

¹ Siehe Kapitel 2 (Seite 7) und Kapitel 4 (Seite 35) für eine nähere Aufschlüsselung der Familien.

² Das Naphthalin-System der Naphthylisochinolin-Alkaloide wird in dieser Arbeit abweichend von den IUPAC-Regeln und unabhängig von der Kupplungsposition stets so beziffert, dass ein 2'-Methyl-4',5'-dioxysubstitutionsmuster resultiert.

Verknüpfung des Naphthalinrings mit dem 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolinring (Abb. 2, unten).^[9,10]

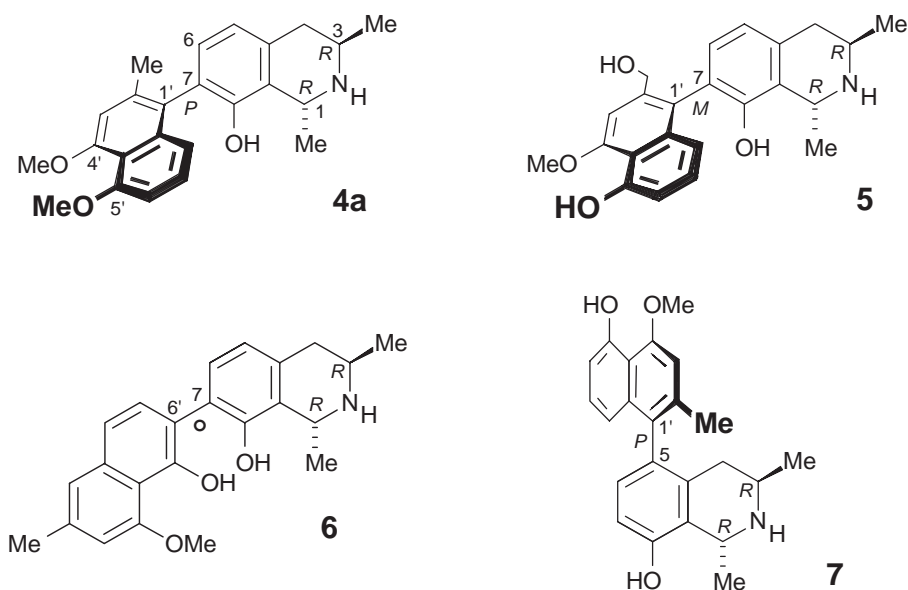


Abb. 2. Aus *Triphyophyllum peltatum* (Dioncophyllaceae) isolierte Naturstoffe: Dioncophyllin A (**4a**), Dioncopeltin A (**5**), Dioncophyllin B (**6**) und C (**7**) (o: konfiguratив labile Achse)

Neben dieser Achse besitzt der Isochinolinteil zwei Methylsubstituenten in 1- und 3-Position, die mit ihrer chemotaxonomischen Relevanz der Einteilung dieser Strukturklasse dienen. Die oben genannten Alkaloide (**4a-7**) sind mit einer 3*R*-Konfiguration des Stereozentrums im Isochinolinring^[14] und einer unsubstituierten 6-Position typische Beispiele des sogenannten „Dioncophyllaceae-Typ“, wie er im gesamten Verbreitungsgebiet der Dioncophyllaceen von West- bis Zentralafrika auftritt. Im reinen „Ancistrocladaceae-Typ“, wie z.B. bei dem ersten isolierten Vertreter Ancistrocladin (**8**) aus *Ancistrocladus heyneanus* (Ancistrocladaceae),^[15,16] findet sich eine 3*S*-Konfiguration und ein Sauerstoffsubstituent in 6-Position (s. Abb. 3, Seite 4). Dieser reine Typ erscheint bislang ausschließlich in allen asiatischen und ostafrikanischen Arten. Im „Mischgebiet“ Zentralafrikas kommen in den Ancistrocladaceen auch Hybride mit Merkmalen beider Typen vor.

Doch nicht nur die strukturelle Vielfalt, sondern vor allem die vielschichtige biologische Aktivität begründet das große Interesse unseres Arbeitskreises an dieser Substanzklasse. So zeigt z.B. Dioncophyllin A (**4a**) (s. Abb. 2, oben) eine starke molluskizide Wirkung gegenüber *Biomphalaria glabrata*,^[17] dem Überträger der Schistosomiasis (Bilharziose), aber auch eine wachstums- und fraßhemmende Wirkung gegenüber den Larven des herbivoren Generalisten *Spodoptera littoralis* (ägyptische Baumwolleneule).^[18]

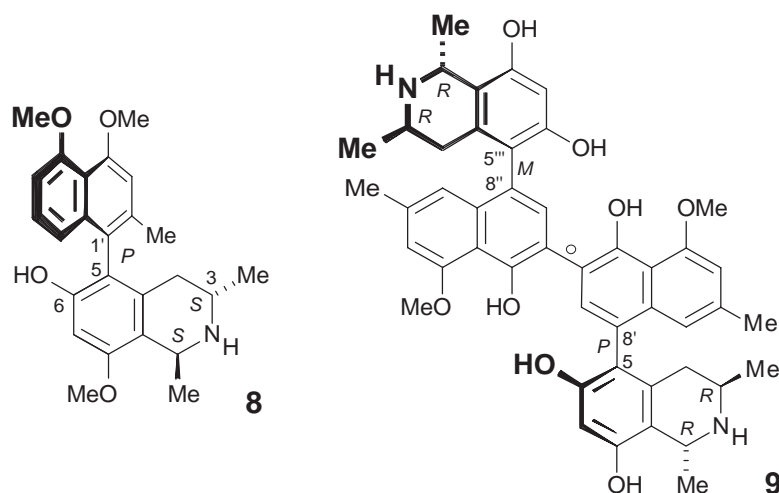


Abb. 3. Das „Ancistrocladaceae-Typ“ Alkaloid Ancistrocladin (**8**) und das dimere Naphthylisochinolin-Alkaloid Michelamin B (**9**)

Dioncophyllin B (**6**) weist eine fungizide Wirksamkeit gegen verschiedene pflanzenpathogene Pilze auf.^[19] Von besonderem Interesse ist allerdings die ausgezeichnete antiplasmodiale *in-vitro*- und vor allem *in-vivo*-Aktivität von Dioncophyllin C (**7**) und Dioncopeltin A (**5**) gegenüber *Plasmodium falciparum*, dem Überträger der gefährlichsten Malariaart, der *Malaria tropica*.^[20-22] Die Entdeckung der „dimeren“ Naphthylisochinoline wie z.B. des Michellamins B (**9**) (s. Abb. 3, oben) in *Ancistrocladus korupensis* starteten durch ihre hochgradige Wirkung gegen das HI-Virus^[23] sowohl eine isolative^[24,25] als auch synthetische^[26-39] Suche nach Derivaten und Analoga dieser Substanzklasse. Leider konnte aufgrund der Zytotoxizität der Verbindungen das hohe Potenzial bislang nicht in klinischen Studien unter Beweis gestellt werden. Aufgrund all dieser bemerkenswerten biologischen Wirksamkeiten und der damit verbundenen Möglichkeiten stellen die Naphthylisochinolin-Alkaloide ein extrem lohnendes Ziel für die Isolation und Synthese zur Auffindung neuer Leitstrukturen in der Wirkstoffsuche dar.

So einfach jedoch die Wirkstoffsuche und -findung aus natürlichen Quellen klingt, so schwierig gestaltet sich in der Realität oftmals die tatsächliche Isolation der aktiven Prinzipien oder der interessierenden Naturstoffe aus dem entsprechenden Organismus. Eines der Hauptprobleme, neben der generellen Auswahl und Beschaffung in Frage kommender Ressourcen,^[40] ist die Identifikation der gesuchten Strukturen in dem Gros der Primär- und Sekundärmetaboliten in den betreffenden Extrakten. Der klassische und noch heute übliche Weg zur Gewinnung ist die sukzessive Aufreinigung bis zur Reinsubstanz. Dieser trotz der immer besser werdenden Methoden immer noch sehr zeitaufwendige Vorgang der präparativen Isolation einer Substanz lässt sich aber auch für die vollständige

Charakterisierung und die biologische Testung nicht umgehen. In jüngster Zeit unterstützen sogenannte on-line-Kopplungstechniken die *gezielte* Auffindung neuer Verbindungen durch das damit mögliche Aussortieren bereits bekannter Strukturen im Vorfeld der präparativen Arbeit. Diese Techniken erlauben durch die teilweise oder ganze chromatographische Aufschlüsselung der Extrakte auf analytischer Ebene einen Blick auf die Einzelbestandteile und ermöglichen eine *in-situ*-Strukturaufklärung und Identifikation der Analyten, was eine Konzentration der darauffolgenden präparativen Arbeit auf unbekannte Metaboliten ermöglicht. Allerdings gestatten die bislang etablierten Techniken der HPLC-NMR (High Performance Liquid Chromatography-Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy) und der HPLC-MS (HPLC-Mass Spectrometry) nur eine Aussage über die Konnektivität und relative Konformation eines Moleküls. Informationen über die chiroptischen Eigenschaften sind hiermit naturgemäß nicht möglich. Doch gerade im Bereich der biologisch aktiven Verbindungen ist dieses Merkmal oftmals von geradezu existenzieller Bedeutung, da z.B. spiegelbildliche Moleküle trotz identischer physikalischer Eigenschaften aufgrund ihres entgegengesetzten chiroptischen Verhaltens auch völlig unterschiedliche physiologische Wirkungen entfalten können.

Daraus ergaben sich für die vorliegende Arbeit folgende Zielsetzungen:

- Isolierung und Strukturaufklärung von Inhaltsstoffen aus der uns erstmalig zur Verfügung stehenden Ancistrocladaceae-Art *Ancistrocladus congolensis*, aus *Dioncophyllum thollonii* (Dioncophyllaceae) und aus Extrakten von *Triphyophyllum peltatum* (Dioncophyllaceae);
- Synthetischer Zugang zu 7,3'-gekoppelten Naphthylisochinolin-Alkaloiden am Beispiel von Dioncophyllin E;
- Aufklärung der absoluten Konfiguration des aus *D. thollonii* isolierten Tetralons Isoshinanolon;
- Etablierung und Anwendung der chiralen on-line-Analytik für die schnelle Bestimmung chiroptischer Eigenschaften in der Naturstoffanalytik.

2 Isolierung der Inhaltsstoffe aus *Ancistrocladus congolensis* (Ancistrocladaceae)

2.1 *Ancistrocladus congolensis* J. Léonard (Ancistrocladaceae)

Ancistrocladus congolensis J. Léonard ist eine der bislang ca. 20 bekannten Arten^[41-43] der monogenerischen Familie der Ancistrocladaceen und wurde erstmals 1949 beschrieben.^[44] Diese Spezies ist zusammen mit *A. ealaensis* und *A. likoko* in den flussnahen, zeitweise überschwemmten tropischen Waldgebieten des Kongo-Beckens (Demokratischen Republik Kongo) beheimatet. Die Liane wird 5-6 m hoch und der Stamm misst im Durchmesser durchschnittlich 2-5 cm. Ihre Blätter sind 7-27 cm lang und 3-9 cm breit. Wie alle anderen Ancistrocladaceae-Arten bildet auch *A. congolensis* die typischen zu Ranken umgeformten Sprossenden, mit denen sie sich emporhangelt (s. Abb. 4E, unten).

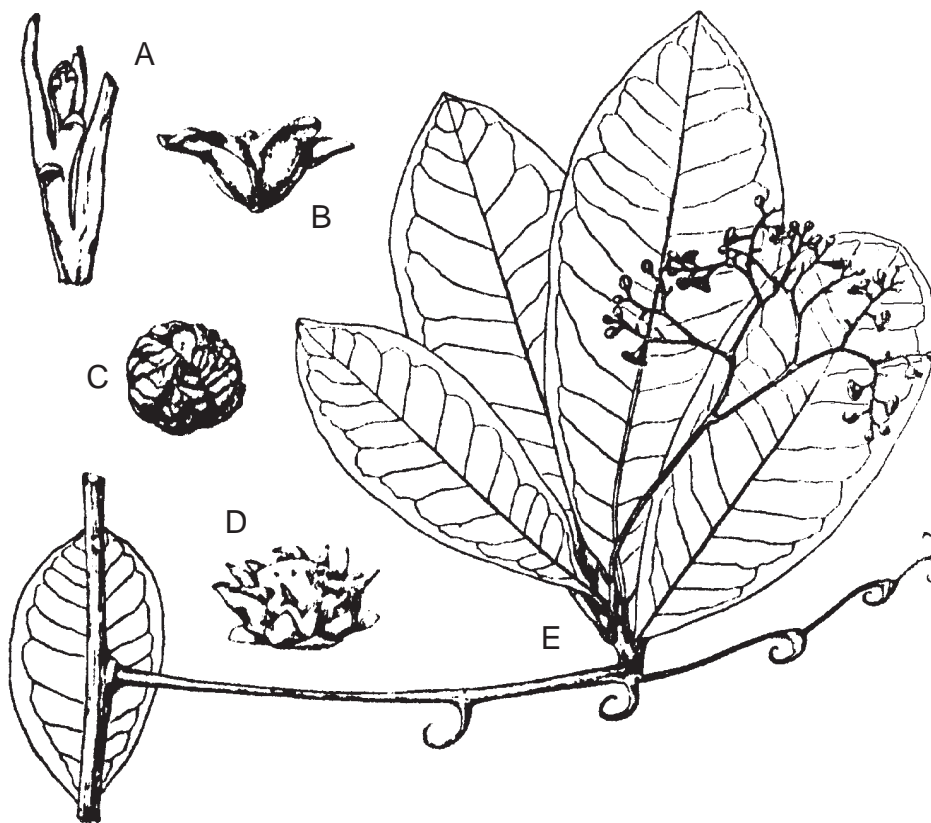


Abb. 4. *Ancistrocladus congolensis* (Ancistrocladaceae): junges Blatt und Stipeln (A); Frucht (B); Samenkorn (C); Galle (D); Stamm mit Blatt und Hakenast mit Blättern und Blüte (E) (Abb. nach M. Boutique)^[44]

Die Morphologie der Samen ist, im Gegensatz zu anderen afrikanischen *Ancistrocladus*-Spezies, dem Habitat angepasst auf eine Verbreitung durch Wasser ausgelegt. Bei anderen Ancistrocladaceen sind die Sepalen zu Flügeln ausgedehnt, die um ein vielfaches länger als

der Fruchtkörper und somit für die Windverbreitung optimiert sind. Bei den drei oben genannten Arten sind diese kürzer als der Fruchtkörper, da die Samen in diesem Gebiet durch das periodisch überschwemmende Wasser verteilt werden.^[43]

2.2 Kenntnisstand der Inhaltsstoffe

A. congolensis wurde phytochemisch erstmals 1975 von der Arbeitsgruppe um Cavé untersucht.^[45] Hierbei fand man neben dem aus *A. heyneanus*^[15,16] bereits bekannten Naphthylisochinolin-Alkaloid (-)-Ancistrocladin (**8**) vier neue Verbindungen dieser Substanzklasse: „(+)-Ancistrocladin (**10**)“, *O*-Methylancistrocladin (**11**), „Ancistrocongolensin (**12**)“ und „Ancistrocongin (**13**)“ (s. Abb. 5, unten).^[46]

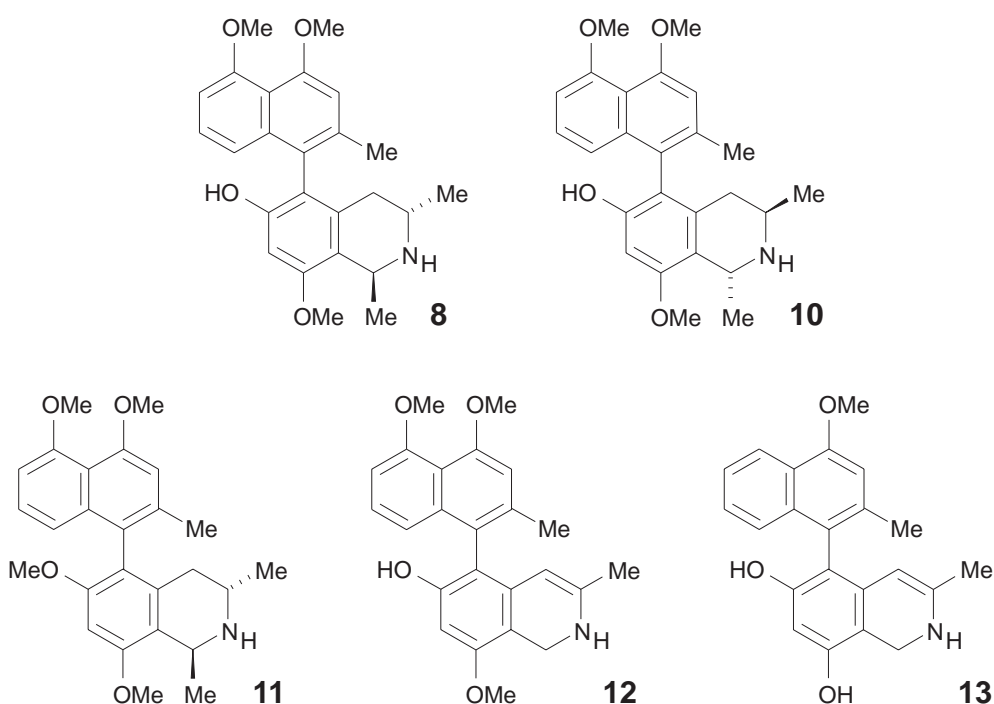


Abb. 5. Von Cavé *et al.*^[45] isolierte Inhaltsstoffe aus *A. congolensis*: (-)-Ancistrocladin (**8**), „(+)-Ancistrocladin (**10**)“, *O*-Methylancistrocladin (**11**), „Ancistrocongolensin (**12**)“ und „Ancistrocongin (**13**)“

Einer der Kritikpunkte bei den publizierten^[45] Strukturen (**8, 10-13**) ist die fehlende Aufklärung der absoluten Konfiguration an der Biarylachse. Bei keiner Verbindung wurde dieses wichtige stereogene Element trotz der zitierten Vorarbeiten von Govindachari *et al.*^[15,47] bezüglich der Achse beschrieben. Die Aufklärung der Struktur sowie der absoluten Konfiguration von (-)-Ancistrocladin (**8**) durch Govindachari *et al.*^[15,16,47] wurde durch eine Reihe von chemischen und spektroskopischen Methoden und durch die Analyse der Röntgenstruktur durchgeführt und kann als zuverlässig bezeichnet werden, so dass, bei Übereinstimmung der physikalischen Daten, davon ausgegangen werden kann, dass es sich

bei der von Cavé^[45] isolierten Verbindung tatsächlich um (-)-Ancistrocladin (**8**) (vollständig mit einer *1S,3S,5P*-Konfiguration) handelte. Auch kann im Falle von *O*-Methylancistrocladin (**11**) anhand der Angaben von der Richtigkeit der Strukturzuordnung ausgegangen werden. Die postulierte Struktur der als „(+)-Ancistrocladin (**10**)“ bezeichneten Substanz mit einer *1R,3R,5P*-Anordnung ist jedoch sehr vage. Die publizierte Zuordnung erfolgte aufgrund des sehr schwachen CD-Effektes ($\Delta\epsilon \sim 1$) im Bereich von 250-350 nm (s. Abb. 6, Seite 10) (CD: Circular Dichroism). Der entgegengesetzte Verlauf des Spektrums von **10** im Vergleich zu **8** wurde hauptsächlich der 1-Methylgruppe zugewiesen und somit, mit der aus NMR-Daten bekannten relativen *trans*-Stellung der beiden Methylgruppen, auf die absolute Konfiguration geschlossen. Das CD-Spektrum dieser Verbindungsklasse wird jedoch im wesentlichen von der Stellung der beiden aromatischen Chromophoren, d.h. der Konfiguration der Biarylachse, beeinflusst; ein direkter, nachvollziehbarer Einfluss der 1-Methylgruppe konnte bislang in unserem Arbeitskreis nicht beobachtet werden. Dies ist auch deutlich aus den in Abb. 6 (Seite 10) gezeigten Spektren der beiden Atropisomere Ancistrocladin (**8**) (*1S,3S,5P*) und Hamatin (**14**) (*1S,3S,5M*) ersichtlich. Deren spiegelbildlicher Verlauf tritt trotz gleicher Konfiguration der Stereozentren an C-1 und C-3 auf und weist sogar einen, denen von Cavé *et al.*^[45] publizierten, ähnlichen Verlauf in dem Bereich > 250 nm auf. Tatsächlich deutet sich in den (von Cavé *et al.* leider nur bis 250 nm bzw. 262 nm gezeigten) Spektren, gerade in dem dort erst beginnenden signifikanten Bereich des Spektrum, bei den beiden gezeigten CD-Verläufen ein starker Anstieg (bei **8** positiv, bei **10** negativ) ab, welcher deutlich auf eine unterschiedliche Achsenkonfiguration hinweist, wie man im direkten Vergleich mit den vollständigen Spektren von Ancistrocladin (**8**) und Hamatin (**14**) erkennt.³ Da es sich aufgrund des beschriebenen Isolationsverfahren an achiraler Phase keinesfalls um das Enantiomer mit einer *1R,3R,5M*-Konfiguration handeln konnte (diese wären ja nur an chiraler Phase trennbar), legt dies den Schluss nahe, dass es sich bei der als „(+)-Ancistrocladin (**10**)“ bezeichneten Verbindung um Hamatin (**14**) mit einer *1S,3S,5M*-Konfiguration handeln könnte, doch stimmen hierfür die physikalischen Daten nicht mit denen für die gefundene Verbindung **10** überein. Es bleibt somit unklar, ob es sich bei der isolierten Verbindung tatsächlich um die als letzte verbleibende Möglichkeit einer *1R,3R,5P*-Konfiguration handelt, doch widerspricht das publizierte CD-Spektrum dieser Achsenkonfiguration und lässt berechtigte Zweifel an der Strukturzuordnung aufkommen.

³ Man beachte die unterschiedliche Skalierung der gezeigten CD-Verläufe. Die von Cavé *et al.*^[45] gezeigten Spektren sind in Relation zu den Gesamtverläufen von Ancistrocladin **8** und Hamatin **14** ca. 100fach vergrößert.

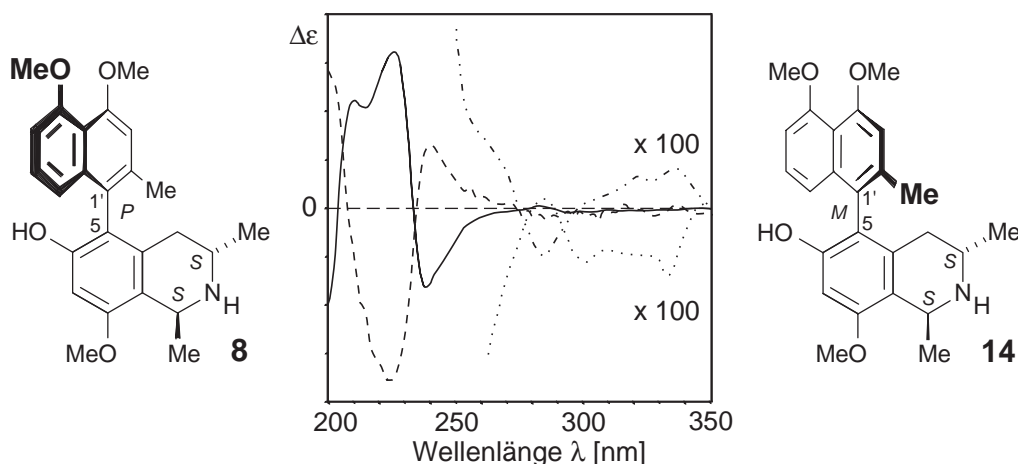


Abb. 6. CD-Spektren der Atropisomere Ancistrocladin (**8**) (---) und Hamatin (**14**) (—) im Vergleich zu den von Cave^[45] publizierten (in Relation um einen Faktor von ca. 100 vergrößert) Spektren von (-)-Ancistrocladin (**8**) (····) und „(+)-Ancistrocladin (**10**)“ (·-·-·)

Die Strukturen der Verbindungen **12** und **13** können anhand der Angaben weder verifiziert noch kann ihnen begründet widersprochen werden. Allerdings erscheint die chemische Verschiebung der 2'-Methylgruppe zu relativ tiefem Feld mit 2.46 und 2.43 ppm eher als ein Hinweis auf ein 8'- als auf ein 1'-gekuppeltes Naphthylisochinolin-Alkaloid, doch konnte diese Frage mangels Substanz nicht geklärt werden. Ohnehin wurde, wie bereits erwähnt, keine Achsenkonfiguration angegeben, jedoch ist bei diesem angegebenen 5,1'-Kupplungstyp die Rotation der Achse bei Raumtemperatur stark eingeschränkt und somit sollten die Atropisomere isolierbar sein.

Zusammenfassend können daher nur zwei Verbindungen, **8** und **11**, für *A. congolensis* als bekannt und gesichert angesehen werden, der Untersuchungsbedarf dieser somit kaum untersuchten Art ist damit in jeder Hinsicht gegeben.

2.3 Isolierung und Strukturaufklärung der Ancistrocongoline

2.3.1 Extraktion und Aufreinigung

Das Stammmaterial von *A. congolensis* wurde in einer Schlagmühle zerkleinert und drei Soxhlet-Extraktionen mit ansteigender Polarität des Lösungsmittels unterzogen (Petrolether, Dichlormethan, Methanol). Eine mit einer kleinen Menge parallel hierzu durchgeführte Kaltextraktion mit den entsprechenden Solventien ergab identische Extrakte mit Ausnahme der verhältnismäßig geringeren Extraktausbeute. Eine offensichtliche Zersetzung der Inhaltsstoffe wurde somit ausgeschlossen. Die Extrakte der unpolaren Petrolether- und der Dichlormethan-Extraktion waren mengenmäßig sehr wenig und wiesen nur geringe Mengen

an Alkaloiden auf. Der Hauptanteil dieser Dragendorff-aktiven Verbindungen fand sich in dem, auch bezüglich der Menge ergiebigsten, methanolischen Extrakt.

Die weitere Aufreinigung des Extraktes erfolgte mit Hilfe der Hochleistungsgegenstrom Chromatographie (HSCCC).^[48,49] Dieses chromatographische Verfahren beruht auf dem Prinzip der Flüssig-Flüssig-Verteilungschromatographie, d.h. der Verteilung einer Substanz zwischen zwei nicht miteinander mischbaren Phasen, und erfolgt ohne ein festes Trägermaterial. Aufgrund dessen kann es zu keiner etwaigen irreversiblen Adsorption einer Substanz einhergehend mit dem Verlust oder der Zersetzung kommen; nicht eluiertes Material wird am Ende der Trennung zusammen mit der stationären Phase von der Säule gepumpt und kann verlustfrei zurückgewonnen werden. Die Trennsäule besteht aus einem Kunststoffschlauch, der in mehreren Lagen auf einen Halter aufgewickelt ist (s. Abb. 7, unten). Durch die planetenförmige Rotation dieses System während des Trennlaufs erreicht man ein Verbleiben der flüssigen stationären Phase in der Säule, während die mobile Phase durch diese hindurchgepumpt wird. Durch die Verwendung geeigneter Lösungsmittelgemische lässt sich der gesamte zur Verfügung stehende Polaritätsbereich ausnutzen, somit können auch z.B. hochpolare Moleküle wie die Michellamine (s. Abb. 3, Seite 4) mit diesem Verfahren getrennt werden.

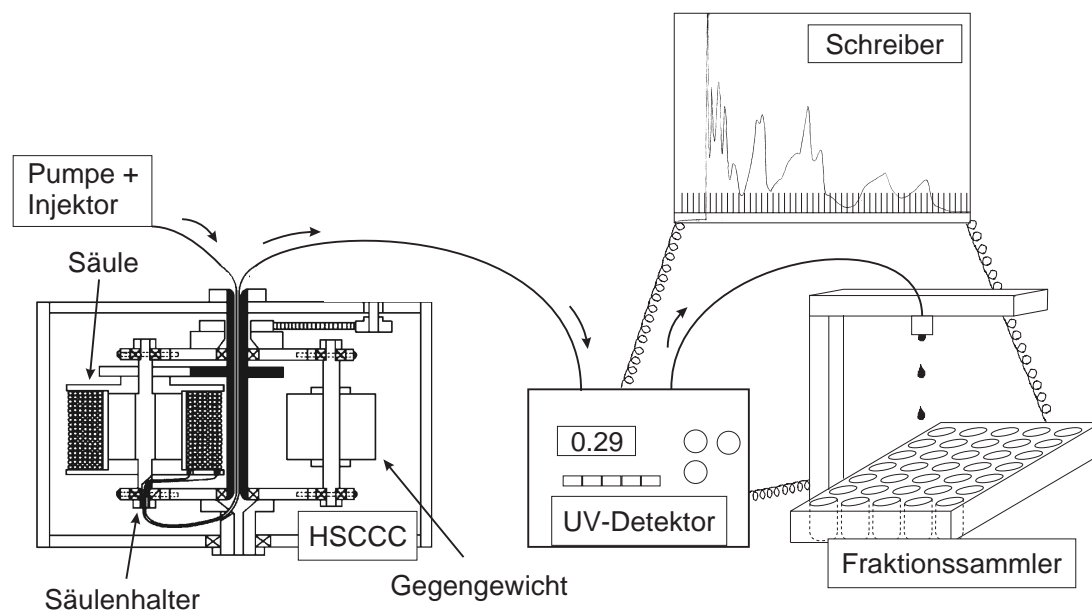


Abb. 7. Schematischer Aufbau der realisierten HSCCC-Anlage

Ein kritischer Vorgang bei diesem System ist der Wechsel des Lösungsmittels beim Konditionieren der Säule: Nach dem Befüllen der HSCCC-Säule mit der stationären Phase ist beim Wechsel zur mobilen Phase auf strikten Ausschluss von Luftblasen zu achten. Eine

Luftblase kann in dem dünnen Schlauch wie ein Pfropf wirken und die komplette stationäre Phase beim Aufpumpen der mobilen Phase wieder von der Säule schieben. Durch die Installation eines Lösungsmittelwahlventils (Niederdruck-6-Wege-Ventil) mit Ansaugung des Eluenten mittels Spritzen zur Entfernung von Luft im System ließ sich dieses Problem einfach lösen (s. Abb. 8, unten). Die Form der eigens konzipierten Vorratsbehälter garantiert durch die Entnahme am Behälterboden eine Lösungsmittel-blasenfreie Eluentenzufuhr auch im Falle niedrig siedender Lösungsmittel speziell bei geringem Füllstand im Behälter. Dieses Problem trat typischerweise bei dem ruckartigen Ansaugvorgang der Pumpe mit Lösungsmitteln wie z.B. Dichlormethan auf.

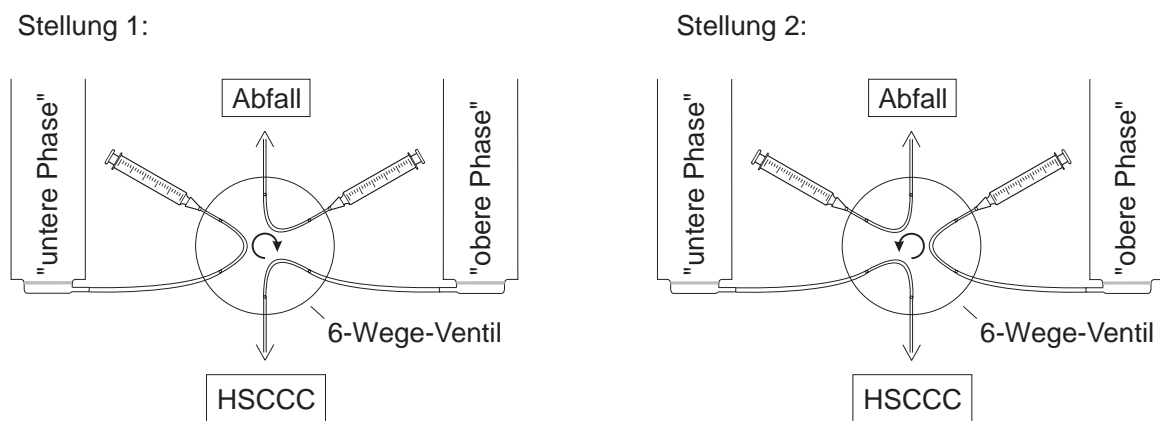


Abb. 8. Neu implementierte Lösungsmittelwahl und -behälter an der HSCCC

Mit der im Arbeitskreis neuen Realisierung der HSCCC-UV-Kopplung und der abschließenden Implementierung der UV-Peak-detektierten Fraktionierung wurde eine erheblich verkürzte Aufarbeitungszeit der gewonnenen Proben erreicht. Mit diesen methodischen Verbesserungen präsentierte sich die HSCCC dann als wertvolles und im Bereich der präparativen Reinigung der HPLC nahezu ebenbürtiges, aber eben komplementäres Verfahren.

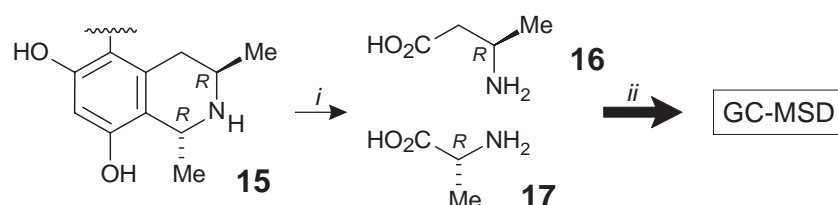
Da das Vorkommen dimerer Naphthylisochinolin-Alkaloide bei *A. congolensis* nicht ausgeschlossen werden konnte, diese jedoch bei der sonst verwendeten Aufreinigung an normaler Kieselgel-Phase nur mit sehr polaren Laufmittelgemischen wie z.B. Butanol/Eisessig/Wasser eluierbar sind, welche gleichzeitig das Trennmateriale auflösen, wurde diese HSCCC-Aufreinigungsmethodik angewandt. Des Weiteren erhoffte man sich eine leichtere weitere Aufreinigung der Extrakte durch die komplementäre Anwendung zweier physikalisch unterschiedlicher Trennprinzipien in Folge: Die erste Trennung basierend auf dem Löslichkeitskoeffizienten einer Substanz, die zweite durch die Adsorption an einem

Trägermaterial. Die so erhaltenen Fraktionen des Methanol-Extraktes wurden an einer Amino-Phase unter reversed-phase-Bedingungen weiter auf- und endgereinigt.

2.3.2 Isolierung von Korupensamin A (15)

Nach mehreren Aufreinigungsschritten isolierte man einen leicht bräunlichen, amorphen Feststoff. Erste dünnschichtchromatographische Untersuchungen deuteten vom Lauf- und Anfärbeverhalten auf Korupensamin A (15) hin, ein aus *A. korupensis*^[50] bekanntes und durch Totalsynthese^[51] zugängliches Alkaloid. Die aus der hochauflösenden Masse erhaltene Summenformel von C₂₃H₂₄NO₄ stimmte mit dieser Beobachtung überein. Die NMR-spektroskopische Untersuchung zeigte ein 5,8'-gekoppeltes Alkaloid mit einer relativen *trans*-Anordnung der beiden Methylgruppen im Isochinolinteil des Moleküls.

Die Aufklärung der absoluten Konfiguration an C-1 und C-3 war mit Hilfe eines in unserem Arbeitskreis entwickelten^[52,53] chemischen Abbauprozesses möglich. Hierbei wird Ruthenium-katalysiert der aromatische Ring des Isochinolinteils unter Erhalt der Stereozentren oxidativ zu den Fragmenten 3-Aminobuttersäure (16) und Alanin (17) gespalten (s. Schema 1, unten). Die entstehenden Säuren werden nach methanolischer Veresterung und anschließender Derivatisierung mit *R*-Mosher-Chlorid gaschromatographisch-massenspektrometrisch analysiert. Durch Vergleich mit enantiomerenreinen bekannten Referenzsubstanzen ließ sich die absolute Konfiguration beider Stereozentren an C-1 und C-3 zu *R* bestimmen.^[54]



Schema 1. Oxidativer Abbau zur Bestimmung der absoluten Konfiguration von Naphthylisochinolin-Alkaloiden nach Veresterung und Derivatisierung; (i) RuCl₃, NaIO₄ (ii) MeOH, SOCl₂ (MSD: Massen-sensitive Detektion)

Die weiteren Übereinstimmungen der spektroskopischen (NMR, IR und CD) und physikalischen Daten (Schmelzpunkt und Drehwert) mit denen der Literatur^[50] sowie der chromatographische Vergleich mit authentischem, totalsynthetisch^[51] hergestelltem Material erlaubten eine eindeutige Identifikation der gefundenen Verbindung als Korupensamin A (15).

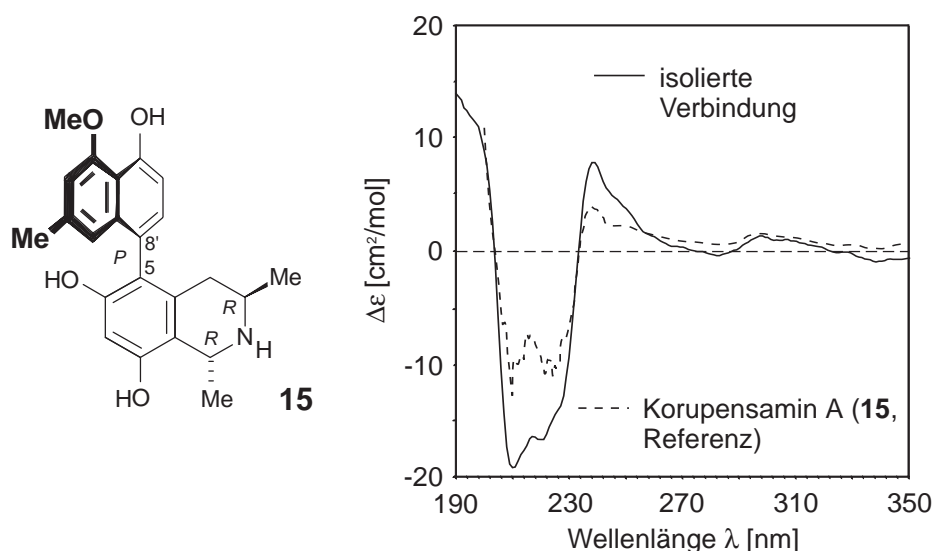


Abb. 9. Struktur und CD-Spektrum von Korupensamin A (**15**), übereinstimmend mit der aus *A. congolensis* isolierten Verbindung

2.3.3 Strukturaufklärung von *Ancistrocongolins* A (**18**)

2.3.3.1 Spektroskopische Charakterisierung von **18**

Im weiteren gelang es, eine im Vergleich zu Korupensamin A (**15**) etwas unpolare Verbindung zu isolieren. Bereits das typische UV-Spektrum und das Massenfragmentierungsmuster mit einem M^+ -Peak von 393 u und dem M^+ -CH₃-Peak deuteten auf ein Naphthylisochinolin-Alkaloid hin. Die Summenformel ergab sich mittels hochauflösender Massenspektrometrie zu C₂₄H₂₇NO₄. Auch das ¹H-NMR-Spektrum zeigte das bekannte Erscheinungsbild eines Naphthyl-1,3-dimethyltetrahydroisochinolins mit einer Methoxyfunktion (4.07 ppm) und einer *N*-Methylgruppe bei 2.35 ppm (s. Abb. 10, Seite 15). Der aromatische Signalbereich bestand aus drei Singulett-Signalen von jeweils einem Proton und zwei Dubletts zweier *ortho*-ständiger Protonen (6.88 & 7.23 ppm), deutlich erkennbar an deren Kopplungskonstanten und an H,H-COSY-Wechselwirkungen. Bei Naphthylisochinolin-Alkaloiden mit vier Sauerstoffsubstituenten am Aromaten waren diese aufgrund der außergewöhnlichen, kürzlich bewiesenen acetogenen Biosynthese^[12] bislang immer an den Positionen C-6, C-8, C-4' und C-5' lokalisiert. Somit ist dieses ¹H-NMR-Signalmuster mit nur zwei benachbarten aromatischen Protonen ein erster Hinweis auf ein im Naphthalin-Teil des Moleküls 6'- oder 8'-gekuppeltes Alkaloid im Einklang mit der beobachteten chemischen Verschiebung der 2'-Methylgruppe von 2.27 ppm. Diese Methylgruppe ist bei einer 1'- oder 3'-Kupplung durch den Einfluss des dann benachbarten Aromaten zu höherem Feld verschoben.^[9]

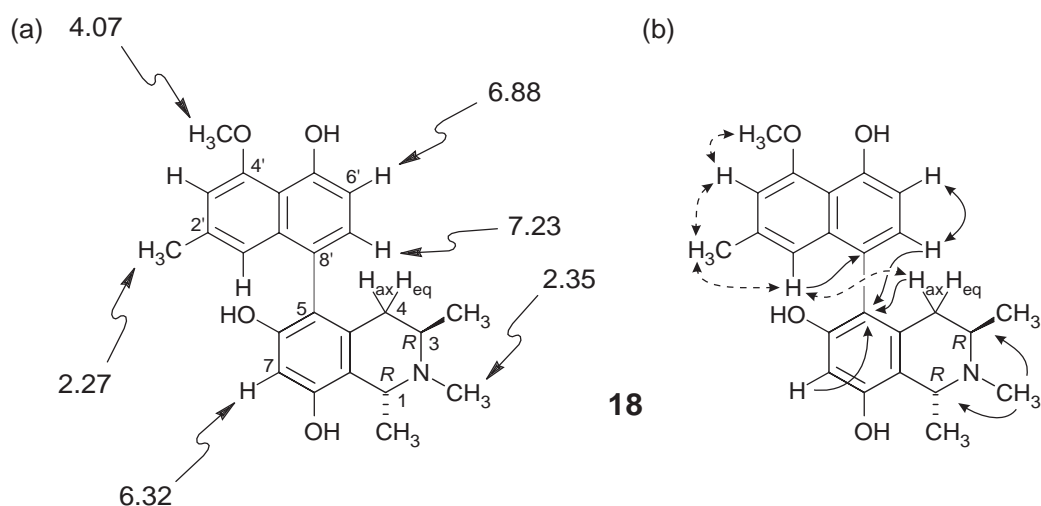


Abb. 10. Strukturaufklärung von Ancistrocongolins A (**18**) (a) durch chemische Verschiebung [ppm] und (b) H,H-COSY- (Doppelpfeile), HMBC- (einfache Pfeile) und ROESY-Wechselwirkungen (gestrichelte Doppelpfeile)

Die eindeutige Zuordnung des Verknüpfungspunktes zu C-8' gelang durch die HMBC-Korrelation von 1'-H zu dem quartären C-8'. Die Position von 1'-H konnte zum einen durch die ROESY-Wechselwirkung mit H-4_{ax} sowie durch die Wechselwirkungs-Kette von 1'-H zu 2'-CH₃ über 3'-H zu 4'-OCH₃ bestimmt werden (s. Abb. 10b, oben). Für die Kupplungsposition in der Isochinolinhälfte ergaben sich die zwei möglichen Positionen C-5 oder C-7. Der Anknüpfungspunkt konnte durch die HMBC-Beziehungen von 4-H_{ax}, 7-H (6.32 ppm) und 7'-H (7.23 ppm) mit dem quartären C-5 an dieser Position zweifelsfrei lokalisiert werden. Die Zuordnung der N-Substitution mit der bei 2.35 ppm auftretenden Methylgruppe war wiederum durch die long-range-C-H-Korrelation mit C-1 und C-3 sicher möglich. Die vollständige Festlegung der ¹³C-Signale der neuen Verbindung **18** erfolgte durch die Kombination der HMQC- und HMBC-Signale.

2.3.3.2 Die absolute Konfiguration von Ancistrocongolins A (**18**)

Bei der NMR-spektroskopischen Untersuchung der räumlichen Dipol-Dipol-Wechselwirkungen (ROESY) zeigte sich ein Signal zwischen der 1-CH₃-Gruppe und dem Proton an C-3 (3-H). Dies ist bei Tetrahydroisochinolin nur bei *trans*-ständigen Methylgruppen an C-1 und C-3 möglich, erlaubt jedoch keine Aussage über die absolute Konfiguration der beiden Stereozentren.

Mit Hilfe des oxidativen Ruthenium-katalysierten chemischen Abbaus^[52,53] von **18** (s. Schema 1, Seite 13), welcher auch für *N*-methylierte Verbindungen ohne Probleme anwendbar ist und in diesem Fall ausschließlich 2*R*-*N*-Methylalanin und 3*R*-(*N*-

Methylamino)buttersäure ergab, gelang schließlich die Zuordnung der absoluten Konfiguration zu $1R,3R$ in Übereinstimmung mit der gefundenen relativen *trans*-Konfiguration.^[54]

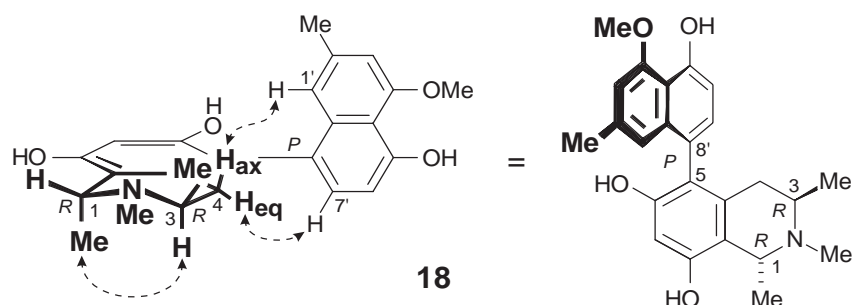


Abb. 11. Bestimmung der absoluten Achsenkonfiguration von Ancistrocongolins A (**18**) durch weitreichende ROESY-Wechselwirkungen.

Aufbauend auf der nun bekannten absoluten Konfiguration des heterocyclischen Ringes ließ sich ebenfalls durch weitreichende ROESY-Experimente die Stellung der Biarylachse eindeutig bestimmen. So ergab eine Wechselwirkung des „oberhalb“ der Ringebene liegenden 4-H_{ax} mit $1'\text{-H}$ verbunden mit der des „unterhalb“ liegenden äquatorialen 4-H_{eq} mit $7'\text{-H}$ eine *P*-Konfiguration der Achse (Abb. 11, oben).

Die zweite Methode zur Aufklärung der Stellung der Achse ist, unter anderem, der Vergleich der CD-Spektren mit bereits bekannten, strukturell ähnlichen Verbindungen. Bei **18** handelt es sich um das *N*-Methylderivat von Korupensamin A (**15**), doch sollte dieser strukturelle Unterschied keinen signifikanten Einfluss auf das CD-Verhalten haben.^[55] Wie in Abb. 12 (s. Seite 17) gezeigt, ist der Verlauf der beiden Spektren nahezu identisch und bestätigt die bereits aus den NMR-Daten hervorgegangene Zuordnung der *P*-Konfiguration der Achse.

Diese Verbindung **18** wurde in der Literatur bislang nicht beschrieben und deshalb in Anlehnung an die Pflanzenart *Ancistrocladus congolensis* Ancistrocongolins A genannt.

Zur letzten Absicherung der Struktur von Ancistrocongolins A (**18**) wurde ausgehend von authentischem Korupensamin A (**15**) dieses im Milligramm-Maßstab unter Eschweiler-Clarke Bedingungen einer *N*-Methylierung unterzogen. Das erhaltene 1:5-Gemisch aus **15** und **18** wurde mittels HPLC-MS/MS-Kopplung untersucht. Die selektive *N*-Methylierung wurde durch die typische Fragmentierung einer retro-Diels-Alder-Reaktion im Tetrahydroisochinolinring bewiesen.^[56] Hierdurch kommt es zu einem Neutralverlust von

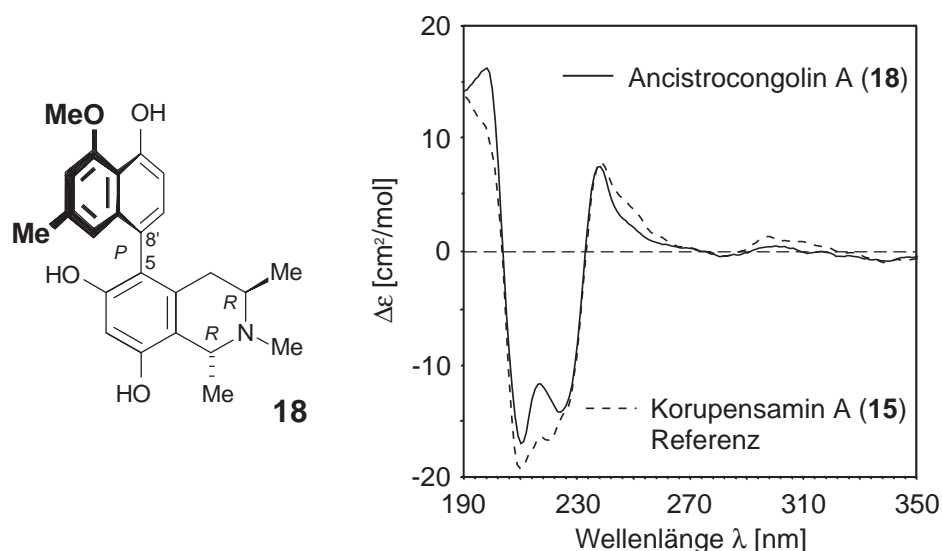


Abb. 12. Vergleich der CD-Spektren von Ancistrocongolins A (**18**) und Korupensamin A (**15**)

57 u (C_3H_7N) anstelle von 43 u (C_2H_6N) im Falle der nicht methylierten Spezies. Gleichzeitige Analyse der synthetischen Mischung und des Naturstoffes Ancistrocongolins A (**18**) resultierte in einer perfekten Koelution und lieferte somit einen zusätzlichen Beweis der Richtigkeit der Strukturzuordnung.

2.3.4 Strukturaufklärung von Ancistrocongolins B (**19**)

2.3.4.1 Isolierung von **19**

Die in einer Schlagmühle zerkleinerte Wurzelrinde von *A. congolensis* wurde zur direkten Alkaloidgewinnung einer wässrig-sauren (pH = 2, HCl) Extraktion bei Raumtemperatur für 24 Stunden unterzogen. Der Extrakt wurde mehrfach säulenchromatographisch an Kieselgel vorgereinigt und mittels HPLC in Reinsubstanzen aufgeschlüsselt.

2.3.4.2 Spektroskopische Charakterisierung von **19**

Nach wiederholter Reinigung an reversed-phase-Material (C_{18}) gelang die Isolation eines farblosen Feststoffes. Die im Vergleich zu Korupensamin A (**15**) unpolare Verbindung ähnelte bei einer ersten Betrachtung der 1H -spektroskopischen Daten den beiden bereits gefundenen Strukturen **15** und **18**. Das Muster der aromatischen Protonen mit zwei Dubletts zweier *ortho*-ständiger Protonen und drei Singulets von jeweils einem Proton stammend zeigte wieder ein im Naphthalinteil 6'- oder 8'-gekoppeltes Naphthylisoquinolin-Alkaloid an. Die exakte Kupplungsposition ließ sich durch HMBC-Wechselwirkungen zwischen H-1' und dem quartären C-8' an diese Position zuweisen (s. Abb. 13, Seite 18). Die Lage der Achsenverknüpfung an C-5 im Isochinolinteil des Moleküls wurde aufgrund der HMBC-

Signale zwischen den Protonen an C-4 (4-H's) und C-7' (7'-H) zu dem quartären Kohlenstoff in 5-Stellung lokalisiert. Anhand der chemischen Verschiebung der Methylgruppe (2.69 ppm) und der HMBC-Beziehung zu C-1 und C-3 war es eindeutig, dass die neue Verbindung **19** wie **18** *N*-methyliert war, im Gegensatz aber drei Methoxyfunktionen (3.66, 3.98 und 4.01 ppm) aufwies. Ihre Zuordnung erfolgte anhand ihrer long-range-Wechselwirkungen zu C-6, C-4' und C-5', in Übereinstimmung mit den ROESY-Verstärkungen zwischen 4'-OCH₃ und 3'-H, 5'-OCH₃ und 6'-H sowie 6-OCH₃ und 7-H. Die Unterscheidung, ob die Methoxyfunktion im Isochinolinteil an C-6 oder C-8 geknüpft ist, war zum einen anhand der bei hohem Feld auftretenden chemischen Verschiebung von 3.66 ppm möglich, was typisch für eine *ortho*-Position bezüglich der Achse ist. Zum anderen war dies aufgrund der HMBC-Wechselwirkung von 1-H mit dem Hydroxy-substituierten C-8 eindeutig möglich. Ebenso war das beobachtbare Signal zwischen 1'-H und der Methoxyfunktion in den ROESY-Spektren nur mit einer Position an C-6 vereinbar. Ein Alkaloid mit dieser Konstitution war bislang nicht bekannt, die Verbindung wurde deshalb Ancistrocongolins B (**19**) genannt.

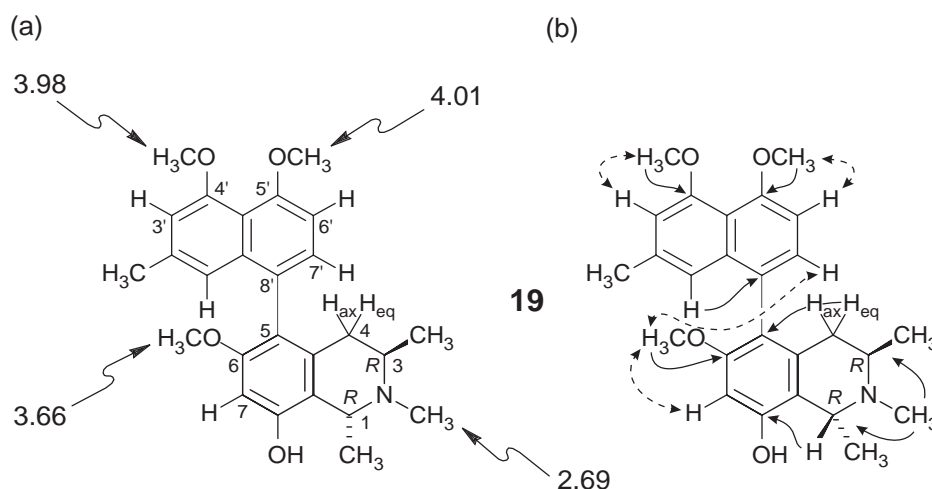


Abb. 13. Strukturaufklärung von Ancistrocongolins B (**19**) durch chemische Verschiebung [ppm] (a) und HMBC- (einfache Pfeile) und ROESY-Wechselwirkungen (gestrichelte Doppelpfeile) (b)

2.3.4.3 Die absolute Konfiguration von Ancistrocongolins B (**19**)

Eine ROESY-Verstärkung zwischen 1-CH₃ und 3-H zeigte deutlich eine *trans*-Anordnung der beiden Methylgruppen im Isochinolinteil des Moleküls an. Diese wurde durch das eindeutige Ergebnis des oxidativen Abbaus (s. Schema 1, Seite 13) bestätigt, welcher für beide Stereozentren *R*-Konfiguration ergab. Auch bei dieser Verbindung war es möglich, ausgehend von der bekannten Stereostruktur der chiralen Zentren die absolute Konfiguration der Biarylachse durch weitreichende ROESY-Experimente aufzuklären. Durch die Verstärkungen

zwischen den Protonen 4-H_{ax} und 1'-H „oberhalb“ der Isochinolin-Ebene liegend sowie zwischen 4-H_{eq} und 7'-H „unterhalb“ der Ebene ergab sich eindeutig eine *P*-Konfiguration der Achse (s. Abb. 14, unten).

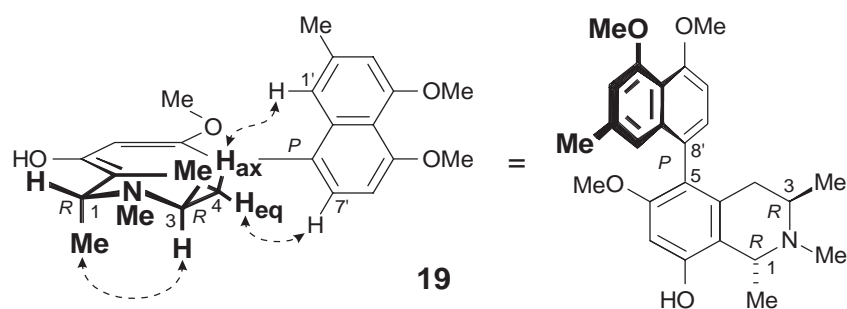


Abb. 14. Bestimmung der absoluten Achsenkonfiguration von Ancistrocongolins B (**19**) durch ROESY-Wechselwirkungen

In Übereinstimmung mit den durch NMR-Spektroskopie gewonnenen Daten gelang die Zuordnung der Achsenkonfiguration auch durch empirischen Vergleich der CD-Spektren. So weist Ancistrocongolins B **19** einen im signifikanten Bereich von 220 nm sehr ähnlichen Verlauf wie die Referenzverbindung Korupensamin A (**15**) (s. Kap. 2.3.2, Seite 13) auf und erlaubt eine Zuordnung der absoluten Konfiguration der Achse zu *P* (Abb. 15, unten).

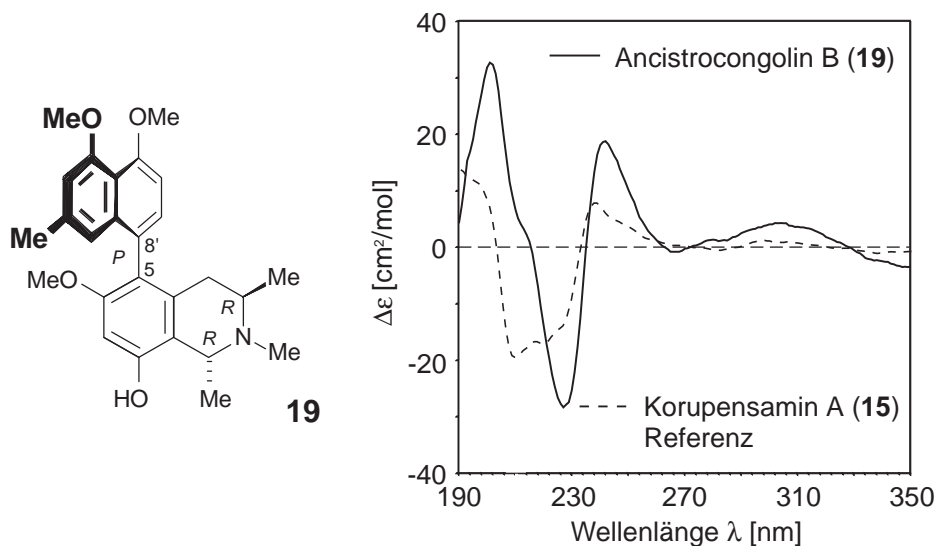


Abb. 15. Vergleich der CD-Spektren von Ancistrocongolins B (**19**) und Korupensamin A (**15**)

Bei Ancistrocongolins B (**19**) handelt es sich um das bislang einzige 5,8'-gekoppelte Naphthylisochinolin mit diesem Methylierungsmuster. Die in **19** gefundene *N*-Methylierung in Kombination mit der freien OH-Funktion an C-8 und der Methoxygruppe an C-6 bei gleichzeitig vollständig methyliertem Naphthalinring wurde bisher bei keinem der inzwischen

17 weiteren Alkaloiden diesen Kupplungstyps beobachtet. Die einzige Verbindung mit diesem Muster im Isochinolinteil ist Ancistrolikokin A,^[57] so dass Ancistrocongolins B (**19**) auch als 5'-O-Methylancistrolikokin A bezeichnet werden könnte.

2.3.5 Strukturaufklärung von Ancistrocongolins C (**20**)

2.3.5.1 Spektroskopische Charakterisierung von **20**

Nach mehrfacher HPLC-Chromatographie an reversed-phase-Material (C₁₈) gelang die Isolierung eines beige-weißen mikrokristallinen Feststoffs (**20**). Die Summenformel der Verbindung ergab sich nach dem Massenpeak von 421 u und der exakten Masse des [M-CH₃]⁺-Peaks zu C₂₆H₃₁NO₄ und ähnelte im ¹H-NMR auf den ersten Blick mit drei Methoxyfunktionen (3.89, 3.99, 4.02 ppm) und einer N-Methyl-Funktionalisierung (2.63 ppm) dem zuvor isolierten Ancistrocongolins B (**19**) (s. Abb. 16, Seite 21). Das Muster der aromatischen Protonen bestehend aus drei Singulets und zwei Dubletts zweier miteinander koppelnder Protonen sprach auch in diesem Fall für ein 6'- oder 8'-gekoppeltes Naphthylisochinolin-Alkaloid, das durch die HMBC-Beziehung von 1'-H zu dem quartären C-8' dieser Position sicher zugewiesen werden konnte. Die Zuordnung der Kupplungsposition zu C-5 im Isochinolinteil des Moleküls erfolgte durch HMBC-Wechselwirkungen {7'-H → C-5} und den nur in diesem Kupplungstyp möglichen ROESY-Verstärkungen zwischen 1'-H, 2'-CH₃ und 7'-H (6.69, 2.37 und 7.17 ppm) zu den Protonen an C-4 (2.26 & 2.29 ppm). Die erste Abweichung von Ancistrocongolins B (**19**) trat bei der chemischen Verschiebung bei der im Isochinolinring lokalisierten Methoxyfunktion auf. Das Auftreten bei tiefem Feld, in Relation zu **19** gesehen (3.89 ppm im Vergleich zu 3.66 ppm), deutete auf eine Substitution des C-8-Sauerstoff hin, was durch die HMBC-Signale zwischen 1-H (4.72 ppm) und 8-OCH₃ zu C-8 bestätigt wurde. Die beiden weiteren Methoxygruppierungen konnten durch HMBC- und ROESY-Beziehungen eindeutig an C-4' und C-5' im Naphthalinteil lokalisiert werden (3.99 & 4.02 ppm), wie es auch von der annähernd identischen chemischen Verschiebung im Vergleich zu **19** zu erwarten war. Ein weiterer Unterschied lag in der chemischen Verschiebung der beiden diastereotopen Protonen an C-4. Diese traten bei sehr ähnlicher Verschiebung auf und ließen die gewohnte Aufspaltung (Dublett eines Dubletts) vermissen. Eine detaillierte Analyse des Musters zeigte jedoch, dass durch die Angleichung der chemischen Verschiebung und die damit einhergehende Annäherung der Differenz der chemischen Verschiebung an die Kopplungskonstanten es zu einer gegenseitigen Beeinflussung und somit zu Spektren höherer Ordnung kam (ABX-System).^[58]

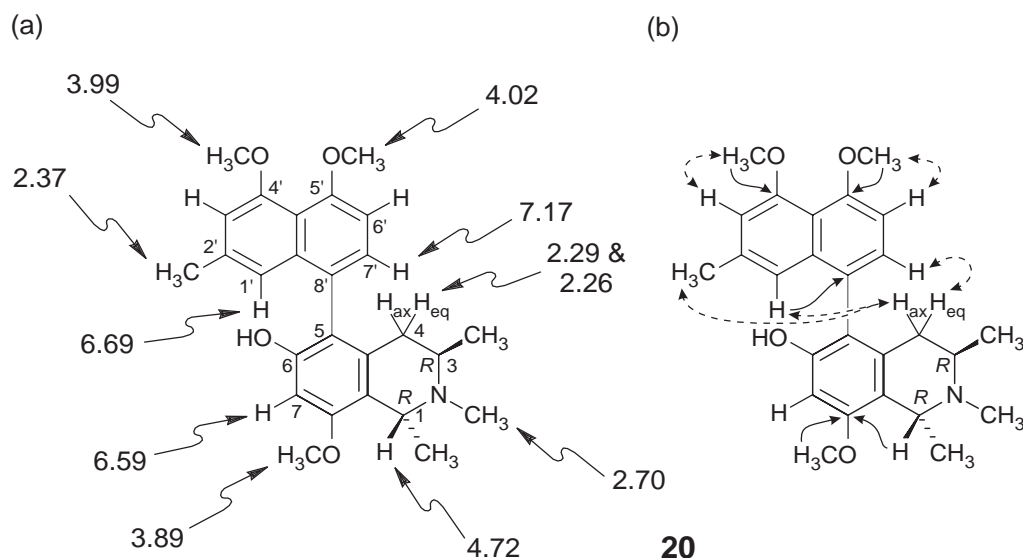


Abb. 16. Signifikante $^1\text{H-NMR}$ spektroskopische Verschiebungen von Ancistrocongolins C (**20**) [ppm] (a) und entscheidende HMBC- (einfacher Pfeil) und ROESY-Wechselwirkungen (gestrichelter Doppelpfeil) für die strukturelle Zuordnung (b)

In diesem Spektrum trat 4-H_{ax} (2.29 ppm) bei tieferem Feld als 4-H_{eq} (2.26 ppm) auf, so dass es sich somit höchstwahrscheinlich um ein an der Achse *M*-konfiguriertes Naphthylisochinolin handelte. Dieser empirische Befund^[59] wurde bisher bei allen 5,8'-gekuppelten *trans*-3*R*-konfigurierten Naphthylisochinolin-Alkaloiden sowie deren Syntheseintermediaten beobachtet und dient als erster Hinweis, keinesfalls als Beweis der Achsstellung.

2.3.5.2 Die absolute Konfiguration von Ancistrocongolins C (**20**)

Die einzigen noch fehlenden strukturellen Informationen waren die relative und die absolute Konfiguration der beiden Methylgruppen an C-1 und C-3 und die konfigurative Stellung der Biarylachse. Die oberhalb von 3 ppm auftretende magnetische Resonanz des 3-H deutete bereits auf eine relative *trans*-Konfiguration der beiden Substituenten hin^[9] und wurde durch die ROESY-Wechselwirkung zwischen 1-CH₃ und 3-H zweifelsfrei bestätigt (vgl. Abb. 14, Seite 19). Die Bestimmung der absoluten Konfiguration durch oxidativen Abbau von **20** (vgl. Schema 1, Seite 13) ergab in Übereinstimmung mit der relativen Konfiguration eine 1*R*,3*R*-Konfiguration des Isochinolinrings.

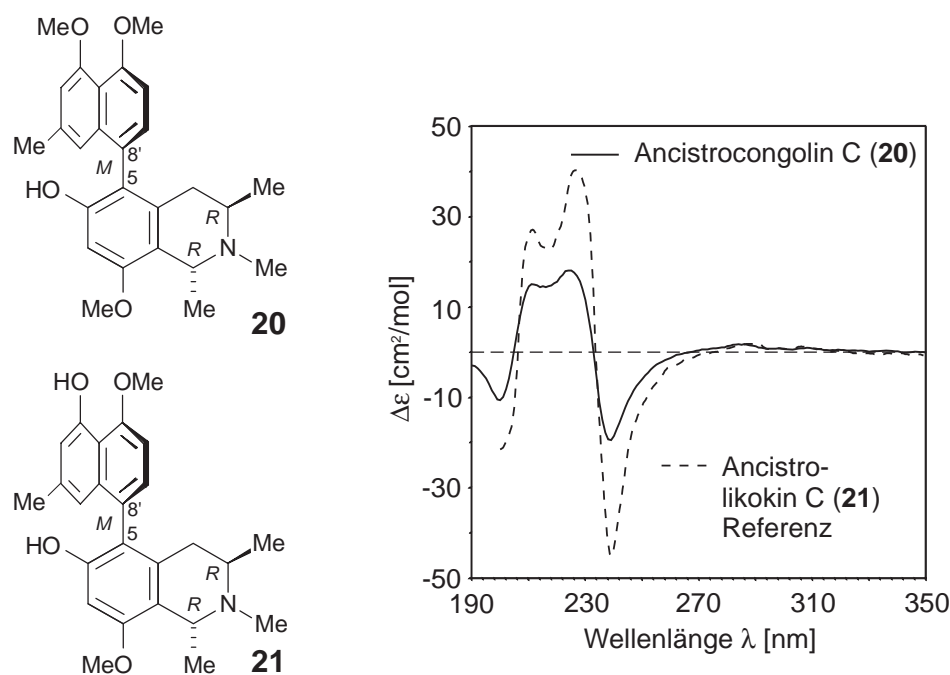


Abb. 17. Vergleich der CD-Spektren des neuen Alkaloids Ancistrocongolins C (**20**) und des konfiguratv bekannten Ancistrolikokins C^[57] (**21**)

Die sichere Zuordnung der axialen Anordnung anhand von räumlichen Dipol-Dipol-Wechselwirkungen zwischen z.B. 4-H_{ax} und 1'-H zu einer *P*-Konfiguration war aufgrund der engen chemischen Verschiebung der beiden Protonen an C-4 (2.26 und 2.29 ppm) nicht möglich, doch konnte durch den Vergleich der CD-Spektren mit dem konfiguratv bekannten und eng verwandten Ancistrolikokins C (**21**)^[57] eine *M*-Konfiguration, wie sie sich bereits durch die Anordnung der 4-H-Protonen andeutete (2.3.5.1, Seite 20), ohne Zweifel belegt werden (s. Abb. 17, oben). Ein Naphthylisochinolin-Alkaloid mit diesem Methylierungsmuster war bislang noch nicht bekannt und wurde deshalb in Fortführung der Reihe Ancistrocongolins C (**20**) genannt. Es ist strukturell eng mit den Ancistrolikokinen^[57] verwandt und kann auch als ein 4'-*O*-Methylancistrolikokins C angesehen werden.

2.3.6 Strukturaufklärung von Ancistrocongolins D (**22**)

2.3.6.1 Spektroskopische Charakterisierung von **22**

Bei der unter Kap. 2.3.4.1 (Seite 17) beschriebenen Isolation erhielt man nach mehrfacher chromatographischer Aufreinigung an reversed-phase-Material (C₁₈) einen pulvrigen, leicht braunen Feststoff. Die molekulare Zusammensetzung wurde mittels EIMS und hochauflösender Massenspektrometrie (HRMS) zu C₂₅H₂₉NO₄ bestimmt. Das ¹H-NMR-Spektrum zeigte das typische Erscheinungsbild eines Naphthylisochinolins mit drei Methoxysubstituenten, doch bereits das Muster der fünf Protonen im aromatischen Bereich

ließ erkennen, dass es sich bei dieser Verbindung um kein 5,8'-gekoppeltes Alkaloid handelte. Durch die Kopplungskonstanten und H,H-COSY-Signale konnten drei der Protonen, zwei Dubletts (6.85 & 6.96 ppm) und ein pseudo-Triplett (7.20 ppm), deutlich als direkt benachbart erkannt werden (s. Abb. 18, unten). Die einzige Möglichkeit für eine solche Anordnung bietet der nicht Methylgruppen-substituierte Ring des Naphthalinteils und somit ergab sich nur die Option eines 1'- oder eines 3'-gekoppelten Systems. Die endgültige Zuordnung erfolgte anhand der HMBC-Beziehung zwischen 8'-H und C-1', welche C-1' als quartäres C-Atom und damit als Anknüpfungspunkt der Achse offenbarte, unterstützt von der sicheren Positionierung von 3'-H (3.87 ppm) durch ROESY-Wechselwirkungen mit 2'-CH₃ (2.15 ppm) und der 4'-OCH₃-Gruppierung (3.96 ppm). Die Bestimmung der Kupplungsposition im Isochinolinteil, entweder an C-5 oder C-7, konnte durch die Zuweisung des letzten noch „verbleibenden“ aromatischen Protonensignals als 5-H, mittels der HMBC-Korrelation von 5-H zu C-4 im Einklang mit der ROESY-Verstärkung 4-H ↔ 5-H, auf C-7 festgelegt werden. Dieser somit bestimmte 7,1'-Kupplungstyp ist auch die einzige Anordnung, für welche sich die räumliche Nähe von 8'-H und 2'-CH₃ zu 8-OCH₃, deren Signale sich im ROESY-Spektrum beobachten ließen, erklären lässt. Die Zuweisung der OCH₃-Gruppe zu C-8, und nicht etwa zu C-6, erfolgt zum einen aufgrund der bei sehr hohem Feld auftretenden für 7,1'-gekoppelte Alkaloide typischen^[60,61] chemischen Verschiebung von 3.07 ppm, zum anderen durch die Wechselwirkung von 1-H zu C-8 in weitreichenden C-H-Korrelationen.

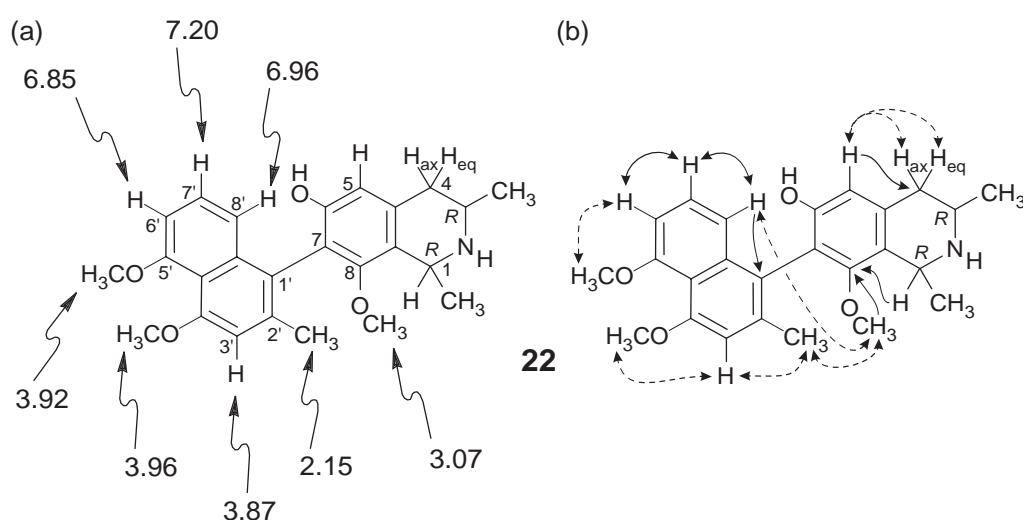


Abb. 18. Strukturaufklärung von Ancistrocongolins D (**22**) durch chemische Verschiebung [ppm] (a) und H,H-COSY- (Doppelpfeile), HMBC- (einfache Pfeile) und ROESY-Wechselwirkungen (gestrichelte Doppelpfeile) (b)

2.3.6.2 Absolute Konfiguration von Ancistrocongol D (**22**)

Auch bei Verbindung **22** konnte durch eine ROESY-Wechselwirkung zwischen der 1-CH₃-Gruppe und dem 3-H eine relative *trans*-Anordnung der beiden Methylgruppen an C-1 und C-3 festgestellt werden, wie dies bereits aus der chemischen Verschiebung des Protons an C-3 vermutet werden konnte. Der oxidative Abbau von **22** ergab ausschließlich 3*R*-Aminobuttersäure und *R*-Alanin und bestimmte somit die absolute Konfiguration der Stereozentren zu 1*R*,3*R* (s. Schema 1, Seite 13). Mit der bekannten absoluten Konfiguration an C-1 und der damit verbundenen „unterhalb“ der Isochinolinring-Ebene liegenden 1-CH₃-Gruppe ließ sich der Biarylachse aufgrund einer ROESY-Verstärkung zwischen 2'-CH₃ und 1-CH₃ eine *P*-Konfiguration zuordnen (s. Abb. 19, unten).

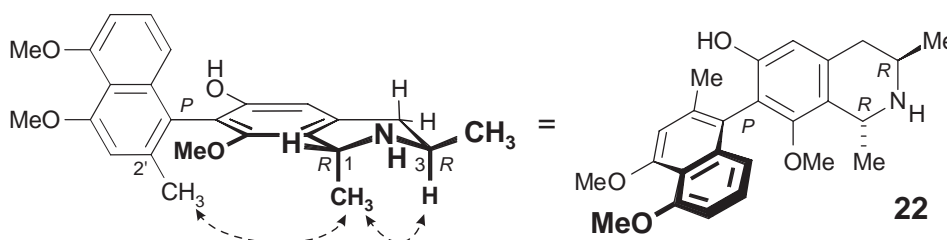


Abb. 19. Bestimmung der absoluten Achsenkonfiguration von Ancistrocongol D (**22**) durch ROESY-Wechselwirkungen

Diese Verbindung wurde bislang nicht in der Literatur beschrieben und deshalb Ancistrocongol D (**22**) genannt.

Die zweite Möglichkeit zur Bestimmung der Achsenkonfiguration ist der Vergleich der CD-Spektren mit strukturell vergleichbaren Verbindungen, deren Stellung der Molekülhälften zueinander bekannt ist. Im Falle von Ancistrocongol D (**22**) bot sich der Vergleich mit 1,2-Dihydroancistrocladisin (**23**), einem ebenfalls 7,1'-gekuppelten, 6-OH-, 8-OMe-funktionalisiertem Alkaloid, an, dessen signifikantes CD-Signal bei ca. 210 nm aussagekräftig⁴ für die Zuordnung der absoluten Konfiguration ist. Der über den gesamten Bereich sehr ähnliche Verlauf der CD-Spuren (s. Abb. 20, Seite 25), insbesondere das bei beiden bei 211 nm auftretende negative Maximum, erlaubt die Zuordnung der gleichen Achsenkonfiguration in Ancistrocongol D (**22**) wie in **23**, d.h. einer *P*-Konfiguration in Übereinstimmung mit den Befunden der NMR-Zuweisung.

⁴ Das CD-Spektrum von **23** stimmt in dem signifikanten Bereich von 210 nm sehr gut mit denen der bezüglich der Achse identisch konfigurierten Alkaloiden Ancistrocladisin,^[62,63] Anistrobrevin C^[64] und Ancistrobertsonin D^[61] überein und ist somit ein geeigneter Repräsentant für Vergleichszwecke.

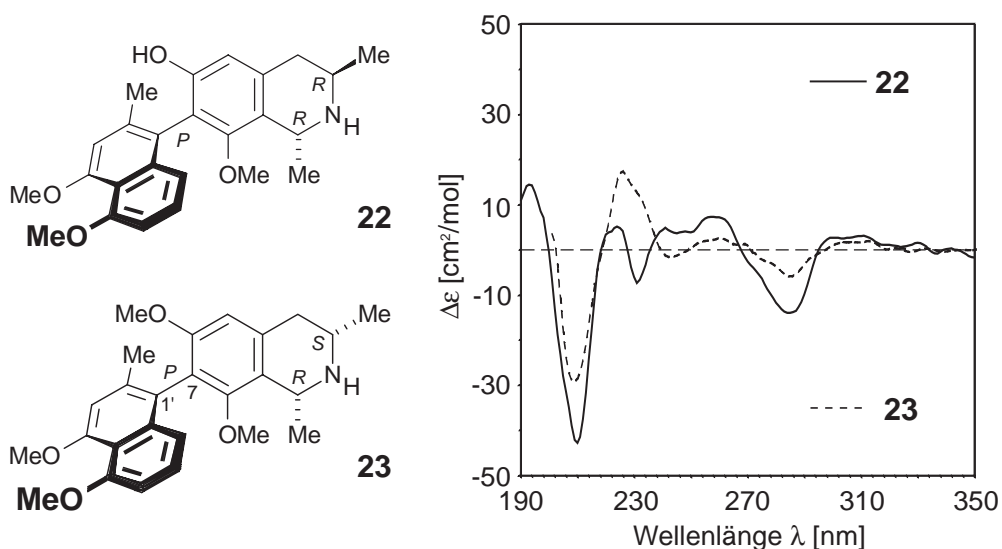


Abb. 20. Bestimmung der Achsenkonfiguration von Ancistrocongolins D (**22**) durch CD-Vergleich mit 1,2-Dihydroancistrocladisin (**23**)

Mit der 6-*O*-Funktionalisierung als typischem Merkmal des Ancistrocladaceae-Typs und der 3*R*-Konfiguration als einem Merkmal des Dioncophyllaceae-Typs zählt **22** zur Gruppe des dazwischen liegenden Hybrid-Typs^[9] der Naphthylisochinolin-Alkaloide. Bei Ancistrocongolins D (**22**) handelt es sich um das erste 7-gekuppelte Alkaloid mit *trans*-ständigen Methylgruppen und einer 3*R*-Konfiguration, d.h. einer 1*R*,3*R*-Konfiguration im Isochinolinteil des Moleküls. Die vier bislang isolierten Alkaloide des 7-gekuppelten Hybrid-Typs Ancistrobarterin A,^[65] Ancistrobrevin C^[64] und die Yaoundamine A und B^[66,67] wurden ausschließlich als 1,2-Didehydro-Verbindungen aufgefunden.

2.3.7 Versuchte Isolierung dimerer Naphthylisochinolin-Alkaloide

Die in Kap. 2.3.1 (Seite 10) erläuterte schonende Isolierung von *A. congolensis* sollte neben der Vermeidung von Artefaktbildungen in erster Linie die Gewinnung und Strukturaufklärung dimerer Naphthylisochinolin-Alkaloide ermöglichen. Trotz mehrfacher chromatographischer Trennungsversuche auf verschiedenen Amino-, RP- und Chiral-Phasen gelang eine Aufreinigung bis zur Reinsubstanz nicht, da das chromatographische Verhalten der verschiedenen Dimere zu ähnlich war. Es befinden sich jedoch per Massenspektrometrie nachweislich *N*-methylierte Dimere in *A. congolensis*, welche durch die signifikante retro-Diels-Alder-Fragmentierung deutlich erkennbar waren (vgl. Kap. 2.3.3.2, Seite 15). Das Vorhandensein von dimeren Naphthylisochinolinen wurde auch durch eine neue in unserem Arbeitskreis entwickelte photometrische Screening-Methode^[68] bestätigt. Das sichere Wissen um das Vorkommen dieser biologisch hochaktiven Verbindungsklasse stellt für zukünftige

Isolationsarbeiten mit größerem Pflanzenmaterialeinsatz ein lohnendes, wenn auch aufgrund der hohen Komplexität der Extrakte sehr herausforderndes Ziel dar.

2.4 Einordnung und Bioaktivität der Alkaloide

Im Gegensatz zu den bisher publizierten^[45] 5,1'-gekuppelten Naphthylisochinolin-Alkaloiden aus *A. congolensis* (s. Abb. 5, Seite 8) wurde bei dieser Untersuchung hauptsächlich der 5,8'-Kupplungstyp (**15, 18-20**) sowie der 7,1'-Typ (**22**) gefunden. Die physikalischen und spektroskopischen Eigenschaften der Ancistrocongoline A - D ähnelten keinen der oben veröffentlichten Daten. Alle neuen entdeckten Naphthylisochinolin-Alkaloide sowie das bekannte Korupensamin A (**15**) gehören mit ihrer Sauerstofffunktion in 6-Position und der absoluten 3*R*-Konfiguration dem sogenannten Hybrid-Typ^[9] an. Dieser liegt zwischen dem reinen Ancistrocladaceae-Typ (6-*O*-Substitution, 3*S*-Konfiguration), der bislang in allen asiatischen Ancistrocladaceae-Arten und der Ostafrikanischen Art *A. robertsoniorum* gefunden wurde,^[61] und dem Dioncophyllaceae-Typ (keine 6-Funktionalisierung, 3*R*), der hauptsächlich von der Westafrikanischen Art *A. abbreviatus* gebildet wird.^[69] *A. congolensis* gleicht damit in seinen phytochemischen Eigenschaften *A. likoko*, der einzigen anderen Zentralafrikanischen Art, die die 3*R*-Konfiguration produziert, im Gegensatz zu der räumlich sehr nahe stehenden Art *A. ealaensis* (ebenfalls im Kongo-Becken beheimatet), in der bislang nur die 3*S*-Konfiguration gefunden wurde.^[70]

Die Untersuchung des methanolischen Extraktes (s. Kap. 2.3.1, Seite 10) von *A. congolensis* zeigte bei einem von der BASF AG durchgeführten Wirksamkeitsscreening im Pharma- und Pflanzenschutzbereich im Rahmen eines vom BMBF (Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie) geförderten Verbundprojektes^[71] keine auffällige Aktivität. Eine Testung auf Anti-HIV-Wirkung^[72] zeigte eine moderate Aktivität, was im Einklang mit der bekannten biologischen Wirksamkeit der gefundenen dimeren Naphthylisochinoline ist.

Die biologische Wirksamkeit der Ancistrocongoline A - D (**18-20, 22**) liegt bei allen untersuchten Pathogenen im Bereich einer schwachen bis mittleren Aktivität (s. Tab. 1, Seite 27) mit ca. fünfzig- bis hundertfach schwächerer Wirkung als die verwendeten Standards. Somit reichen die neu isolierten Alkaloide zwar nicht an die sehr guten Werte anderer Naphthylisochinoline heran, doch liefern auch sie einen wichtigen Beitrag zu unseren QSAR-Untersuchungen (QSAR = Quantitative Structure-Activity Relationships).^[73,74]

Tab. 1. Biologische Aktivität in IC₅₀-Werten der Ancistrocongolone [$\mu\text{g ml}^{-1}$; *P. falciparum*: ng ml^{-1}]

	<i>P. falciparum</i> K1 ^a	<i>L. donovani</i> ^a	<i>T. cruzi</i> ^a	<i>T. brucei</i> <i>rhodesiense</i> ^a	Zytotoxizität L-6 ^b
18	214		39.9	2.97	90
St. ^c	1.1	n.m. ^d	0.59	0.00488	
19	158	18.8	17.4	2.54	33.4
St. ^c	1.8	47.2	0.38	0.00354	
20	3002	19.3	> 90	15.9	> 90
St. ^c		54.9	0.53	0.000461	
22	1983	> 30	30.1	5.86	27.4
St. ^c	1.8	47.2	0.38	0.00354	

^a IC₅₀-Werte ^b MIC-Werte ^c jeweiliger Standard des Testsystems (*P. falciparum*: Artemisin; *L. donovani*: Pentostam; *T. cruzi*: Benznidazol; *T. b. rhodesiense*: Melarsoprol). ^d Messung wegen zu hoher Zytotoxizität nicht möglich.

3 Isolierung von Habropetalin A aus *Triphyophyllum peltatum*

3.1 *Triphyophyllum peltatum* (Hutch et Dalz.) Airy Shaw

Triphyophyllum peltatum (Hutch. et Dalz.) ist neben *Habropetalum dawei* (Hutch. et Dalz.) Airy Shaw und *Dioncophyllum thollonii* Baillon (vgl. Kap. 4, Seite 35) eine der drei bekannten monotypischen Arten aus der Familie der Dioncophyllaceen.^[75,76] Die Besonderheit von *T. peltatum* liegt in der, je nach Lebensabschnitt, Ausgestaltung trimorpher Blätter, welche deshalb auch namensgebend für die Pflanze war (Triphyophyllum = griech. für „Blätter von dreifacher Gestalt“).^[75,77,78] In der ersten Entwicklungsphase handelt es sich um einfache Laubblätter, welche eine elliptische, kurz gestielte Form mit stumpfer Spitze aufweisen und rosettenartig, dicht gedrängt um ein kurzes Stämmchen stehen.^[78] Ab einem bestimmten Alter und einer Größe (25-40 cm,^[78] 20-90 cm^[76]) bilden sich Fangblätter aus, die, nahezu nur aus der Mittelrippe bestehend, dicht mit Schleimdrüsen, die ein klebriges Sekret ausscheiden, besetzt sind.^[77,79] Nach dieser karnivoren Phase, welche erst kürzlich vollständig durch die Aufnahme von L-Alanin bewiesen wurde,^[80] beginnt diese Liane, sich schnell mit Hilfe der dritten Blattform in die Wipfel der Bäume empor zu hangeln (bis 40 m^[75]). Bei dieser Blattform ist die Mittelrippe an der Blattspitze in zwei seitlich gekrümmte Haken aufgespalten. Diese eigentümliche Form tritt bei allen Arten dieser Familie auf und gab ihr den Namen Dioncophyllaceae (griech. „Blätter mit zwei Widerhaken“) (s. auch Kap. 4.1, Seite 35). Diese „Teilzeit-fleischfressende“ Pflanze *T. peltatum*, deren enge phylogenetische Verwandtschaft zu anderen karnivoren Familien durch Genstudien belegt wurde,^[13] ist in den tropischen Regenwäldern von Sierra Leone, Liberia und der Elfenbeinküste beheimatet.^[75,76]

3.2 Kenntnisstand

In der Familie der Dioncophyllaceen ist *T. peltatum* die phytochemisch bei weitem am besten untersuchte Art. Erste Ergebnisse^[81-83] berichteten über die Isolierung von insgesamt sechs Naphthylisochinolin-Alkaloiden aus dieser Pflanze, allerdings war die einzige nachvollziehbare isolierte Struktur die des „Triphyophyllins“^[81] (**24**), jetzt Dioncophyllin A^[84] (**4a**) (s. Kap. 4.2, Seite 36). Generell wurden bei allen publizierten^[81-83] Strukturen die absolute Konfiguration der Stereozentren an C-1 und C-3 wenn überhaupt dann nur anhand einer biosynthetischen Vermutung zugewiesen, die rotationsgehinderte Biarylachse wurde bei keiner Verbindung als stereogenes Element erkannt.

Aufgrund dieser strukturell hochinteressanten Inhaltsstoffe und der teilweise ganz offensichtlich falschen bzw. fehlenden Strukturzuordnung wurde diese Pflanze mit ihrer Verfügbarkeit in unserem Arbeitskreis erneut untersucht. Hierbei erwies sich *T. peltatum* als eine ergiebige Quelle mit bislang 15 isolierten Vertretern strukturell verschiedenartigster, durchweg neuer Naphthylisochinolin-Alkaloide.^[10,85] So findet sich neben dem „A-Typ“ (d.h. 7,1'-gekuppelt, wie das Dioncophyllin A^[84,86] [**4a**]) auch der „B-Typ“ (7,6') mit Dioncophyllin B^[87] (**6**) und der „C-Typ“ (5,1') (s. Abb. 2, Seite 3) mit dem antiplasmodialen^[88] Dioncophyllin C^[89] (**7**) als prominenten Strukturbeispiel (vgl. Kap. 1, Seite 1). Aufgrund der vielversprechenden biologischen Aktivitäten dieser Verbindungsklasse und nicht zuletzt der Fülle an interessanten Strukturen wurde das alkaloidreiche Wurzelmaterial einer neuerlichen Untersuchung unter Anwendung des „nichtklassischen“ Separationsprinzip der HSCCC, d.h. der Flüssig-Flüssig-Chromatographie, unterzogen.

3.3 Extraktion und Aufreinigung^[90]

Das luftgetrocknete und mit einer Schlagmühle zerkleinerte Wurzelmaterial von *T. peltatum* wurde einer Soxhlet-Extraktion mit Methanol unterzogen. Der methanolische Extrakt wurde nacheinander erschöpfend mit *n*-Hexan und Chloroform perforiert. Der Chloroform-Extrakt wurde nach Entfernen des Lösungsmittels einer groben Vorfraktionierung durch Chromatographie an einer kurzen Kieselgelsäule unterworfen. Die so erhaltene alkaloidhaltige Hauptfraktionen wurde direkt einer semipräparativen HSCCC-Trennung zugeführt (s. Kap. 2.3.1, Seite 10). Aufgrund der andersartigen Trenneigenschaften dieses Verfahrens gelang hiermit die schnelle und einfache Isolation eines bisher unbekanntes reinen Feststoffes, der seinem Elutionsverhalten entsprechend nur wenig unpolarer als Dioncopeltin A^[91] (**5**) war.

3.4 Strukturaufklärung von Habropetalin A (**25**)

3.4.1 Spektroskopische Charakterisierung von **25**

Das ¹H-NMR-Spektrum ähnelte sehr stark dem des 7,1'-gekuppelten Dioncopeltins A (**5**) (s. Abb. 2, Seite 3 und Abb. 23, Seite 32) mit seiner typischen CH₂OH-Funktion an Stelle der sonst auftretenden 2'-CH₃-Gruppe, deutlich sichtbar durch das zu zwei (diastereotopen) Protonen integrierende Signal bei 4.43 ppm (s. Abb. 21, Seite 31). Der einzige Unterschied zu **5** war das Fehlen des 5'-OH-Protons (normalerweise zwischen 8-10 ppm) verbunden mit einem zusätzlichen *O*-Methylsignal bei 3.92 ppm, was auf ein 5'-*O*-methyliertes-Dioncopeltin A Derivat hindeutete. Diese *O*-Methylierung war im Einklang mit der durch hochauflösende Masse bestimmten Molekülsummenformel von C₂₄H₂₇NO₄ des [M]⁺-

Massenpeaks. Die eindeutige Zuordnung zu 5'-OCH₃ gelang durch HMBC-Wechselwirkungen von 7'-H (7.20 ppm) und der „neuen“ Methoxygruppe (3.92 ppm) zu C-5' bei 158.53 ppm und der ROESY-Verstärkung zwischen 5'-OCH₃ und 6'-H (6.90 ppm).

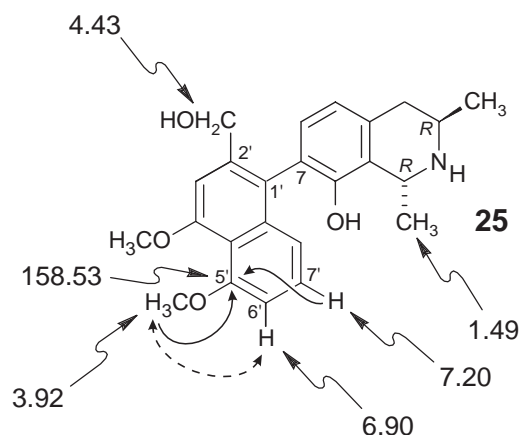


Abb. 21. Entscheidende ¹H-NMR-Signale sowie HMBC- (einfacher Pfeil) und ROESY-Wechselwirkungen (gestrichelter Doppelpfeil) für die Strukturzuordnung von Habropetalin A (**25**)

3.4.2 Absolute Konfiguration von **25**

Die Aufklärung der absoluten Konfiguration der beiden Stereozentren an C-1 und C-3 gelang auch in diesem Fall durch den Ruthenium-katalysierten oxidativen Abbau (s. Schema 1, Seite 13). Man erhielt ausschließlich *R*-Alanin und *3R*-Aminobuttersäure, einer *1R,3R*-Konfiguration der Tetrahydroisochinolinhälfte entsprechend. Dieses Ergebnis stimmte mit der durch ROESY-Verstärkung zwischen 1-CH₃ und 3-H und der durch das zu tiefem Feld verschobene 3-H (3.40 ppm) bekannten *trans*-Anordnung überein. Basierend auf dieser Festlegung des heterocyclischen Ringes wurde der Biarylachse durch ROESY-Wechselwirkungen zwischen der 1-CH₃-Gruppe (1.49 ppm) und der 2'-CH₂-Funktion (4.43 ppm) und der damit bedingten gleichen Lage „unterhalb“ der Isochinolin-Ebene eine *M*-Konfiguration zugewiesen (s. Abb. 22, Seite 32).

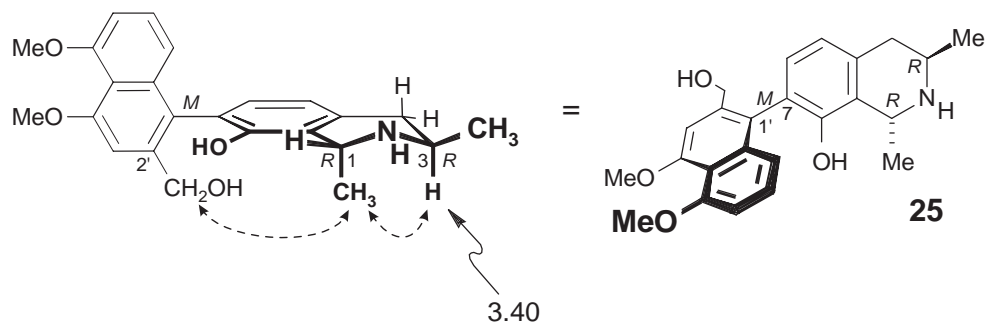


Abb. 22. Zuordnung der absoluten Achsenkonfiguration von Habropetalin A (**25**) durch ROESY-Verstärkungen

Die Richtigkeit dieser NMR-spektroskopischen Zuordnung wurde durch den Vergleich der nahezu deckungsgleichen CD-Spektren von **25** und Dioncopeltin A (**5**), dessen absolute Konfiguration durch Totalsynthese bewiesen worden war,^[92] eindrucksvoll belegt.

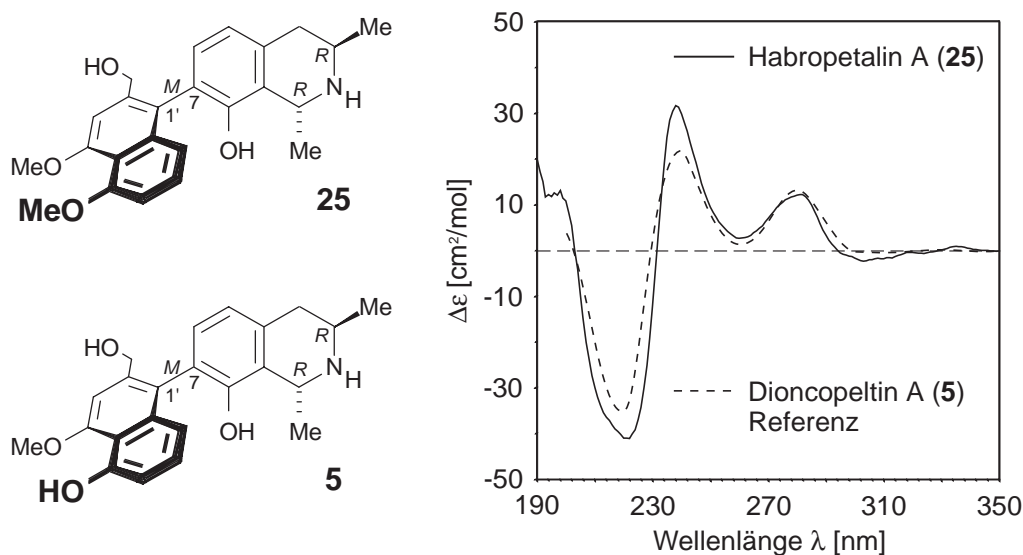


Abb. 23. Vergleich des CD-Spektrums von Dioncopeltin A^[91] (**5**) mit dem des Alkaloids Habropetalin A (**25**)

Die somit vollständig identifizierte Verbindung **25** war bereits zuvor auf rein analytischem Weg durch die Anwendung der „Kopplungstriade“ HPLC-MS/MS, HPLC-NMR und HPLC-CD in *Habropetalum dawei* (Dioncophyllaceae) direkt in dem pflanzlichen Rohextrakt entdeckt und strukturell komplett, d.h. inklusive der absoluten Konfiguration, aufgeklärt worden (s. Kap. 7.2.3, Seite 89).^[93] Mit dieser Untersuchung von *T. peltatum* gelang nun erstmals die präparative Isolation dieser Verbindung und ermöglichte so, neben der vollständigen Bestimmung der physikalischen Daten und der damit verbundenen endgültigen strukturellen Charakterisierung, die Testung der durch QSAR-Studien^[74] erwarteten hohen antiplasmodialen Wirksamkeit (s. Kap. 3.4.3, Seite 33). In Anlehnung an die Pflanze der

Erstentdeckung wurde dieses Alkaloid Habropetalin A genannt.⁵ Lavault *et al.*^[97] berichten bei ihrer Untersuchung von *D. thollonii* von einem Molekül mit gleicher Konstitution (s. Kap. 4.2, Seite 36), doch konnte aufgrund der dort publizierten mangelnden Strukturaufklärung und mangels Vergleichssubstanz nicht entschieden werden, ob es sich dabei um ein und dieselbe Verbindung handelt; ein Vergleich der verfügbaren Daten findet sich im Experimentalteil Kap. 3.3 (Seite 147). Die hier gefundene Verbindung muss deshalb als neu angesehen werden. Strukturell handelt es sich bei **25**, wie bei seinem eng verwandten Derivat Dioncopeltin A (**5**), um ein typisches Dioncophyllaceae-Alkaloid mit einer 3*R*-Konfiguration und keiner Sauerstofffunktionalisierung an C-6; es gliedert sich damit nahtlos in die Reihe der aus *T. peltatum* bekannten Naphthylisochinolin-Alkaloide ein.

3.4.3 Biologische Aktivität von Habropetalin A (**25**)

Wie Dioncopeltin A (**5**) zeigt auch **25** eine sehr gute Wirkung gegen *Plasmodium falciparum*, den Erreger der Malaria tropica, ohne ein Anzeichen für eine zytotoxische Aktivität. Mit IC₅₀-Werten von 2.3 ng ml⁻¹ bei dem Chloroquin-sensitiven Stamm NF54 und 5.0 ng ml⁻¹ bei K1, der Chloroquin- und Pyrimethamin-resistenten Zelllinie, ist Habropetalin A (**25**) nahezu genauso aktiv wie der verwendete Standard Artemisin (NF54: 1.2 ng ml⁻¹; K1: 1.2 ng ml⁻¹), einer der potentesten Wirkstoffe gegen diese Krankheit, und liegt damit im Bereich der hochwirksamen Verbindungen (vgl. Kap. 4.6, Seite 56). Weiterhin scheint diese Aktivität sehr selektiv zu sein, da sich bei Testungen gegen andere protozoale Erreger tropischer Krankheiten wie *Trypanosoma brucei rhodesiense*, *T. cruzi* und *Leishmania donovani* keine Wirkung zeigte.

⁵ Der einmalig in der älteren Literatur^[94] auftretende Name "Habropetalin" wurde dort fälschlicherweise der bereits damals bekannten Struktur Isoshinanolon (**26**)^[95] (s. Abb. 25, Seite 37) zugewiesen. Der unterlaufene Fehler wurde vom Autor selbst später korrigiert.^[96]

4 Isolierung und Strukturaufklärung von Dioncophyllin E aus *Dioncophyllum thollonii* (Dioncophyllaceae)

4.1 *Dioncophyllum thollonii* Baillon

Dioncophyllum thollonii Baillon ist - neben *Habropetalum dawei* (Hutch. et Dalz.) Airy Shaw und *Triphyophyllum peltatum* (Hutch. et Dalz.) Airy Shaw (vgl. Kap. 3, Seite 29) - eine der drei Arten aus der Familie der Dioncophyllaceen. Die drei Gattungen bestehen, soweit bis heute bekannt, nur aus jeweils einer Art. Bei *D. thollonii* handelt es sich um eine in den tropischen Regenwäldern heimische Lianenart, welche bisher nur in den Republiken Kongo und Gabun gefunden wurde.^[75,76] Die Volksmedizin nutzt die Blätter als Mittel gegen Altersschwäche oder als Aphrodisiakum ebenso wie zur Linderung der Folgen übermäßigen Alkoholgenusses. Das frische Wurzelmark wird zur Behandlung von Lepraflücken eingesetzt.^[97,98] Der Gattungsname leitet sich von der typischen Blattform (s. Abb. 24A, unten) dieser Familie ab, Di-onco-phyllum bedeutet Zwei-Krallen-Blatt; der Artname ist auf Thollon zurückzuführen, der diese Pflanze 1888 erstmalig beschrieb.^[75]

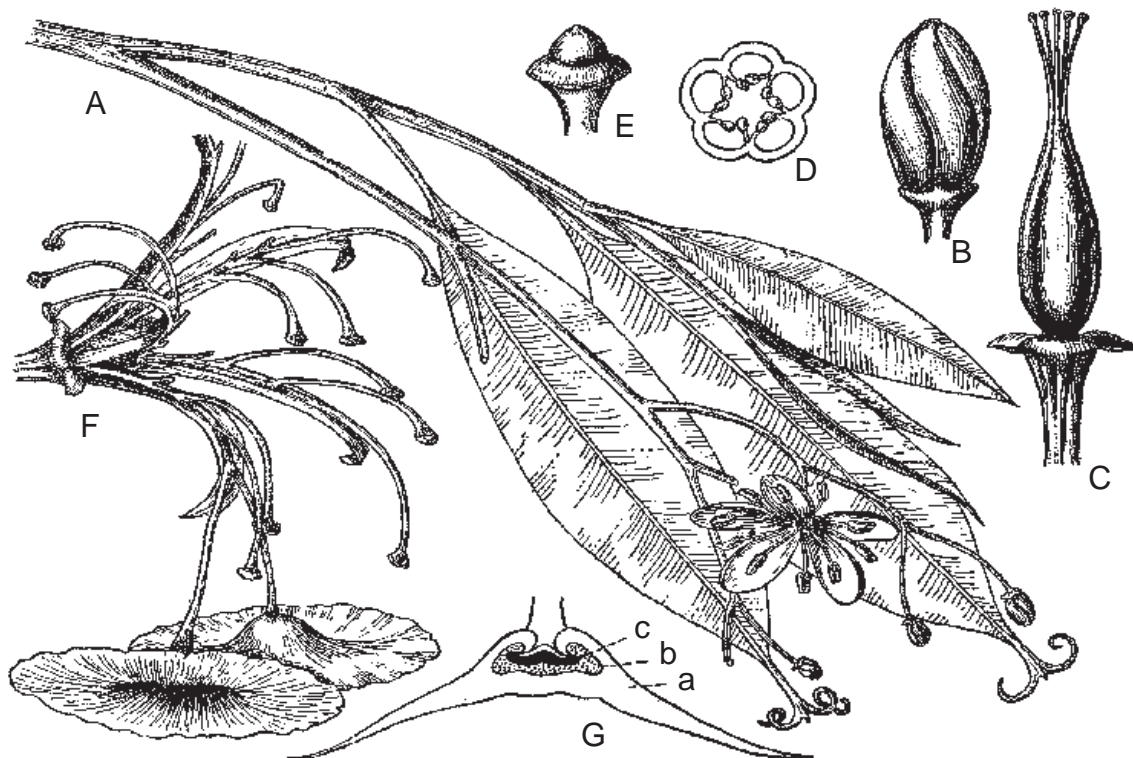


Abb. 24. *Dioncophyllum thollonii* Baillon (Dioncophyllaceae): blühender Zweig (A); Blütenknospe (B); Gynoeceum (C); Ovarquerschnitt (D); Samenanlage (E); reife Frucht mit den fünf spreizenden Klappen, jede mit zahlreichen Samenträgern, zwei Samen noch ansitzend (F); Samen Längsschnitt (G); Samenschale (a); Endosperm (b); Embryo (c) (Abb. nach Airy Shaw)^[77]

Die Liane wird 30-40 m hoch und entfaltet ihre Blüten auch in dieser Höhe. Die Blätter sind kahl, glänzend und ganzrandig. Der Fortsatz der Mittelrippe teilt sich in zwei Uhrfederranken oder Haken, mit deren Hilfe die Pflanze in die Baumkronen emporklettert. Die charakteristischen Samen (s. Abb. 24G, Seite 35) erreichen einen Durchmesser von bis zu 10 cm^[75,76] und ermöglichen somit eine erleichterte Verbreitung durch den Wind.

4.2 Kenntnisstand der Inhaltsstoffe

Die erste chemische Untersuchung von *D. thollonii* wurde von Lavault^[97,98] durchgeführt und resultierte in dem Tetralon Isoshinanolon (**26**),⁶ dem Naphthochinon Plumbagin (**27**) sowie β -Sitosterol (**28**) und in sechs Naphthylisochinolin-Alkaloiden (**24, 29-33**) (s. Abb. 25, Seite 37). Während die Strukturen von Plumbagin (**27**), *cis*-Isoshinanolon (*cis*-**26**) und β -Sitosterol (**28**) als richtig und gesichert angesehen werden können (im Falle von *cis*-**26** zumindest bezüglich der relativen Konfiguration), ist dies bei den gefundenen Alkaloiden (**24-33**) leider nicht der Fall.^[9,99] In keiner der genannten Verbindungen wurde die Biarylachse, welche den Isochinolin- mit dem Naphthalin-Teil verbindet, als stereogene Einheit erkannt und versucht, deren absolute Konfiguration zu bestimmen. Teilweise wurde auch weder über die relative noch über die absolute Konfiguration der Stereozentren an C-1 und C-3 eine Aussage gemacht (**32** und **33**). In Fällen mit gegebener Stereochemie ist diese erwiesenermaßen leider falsch oder aufgrund von fehlendem authentischem Material nicht mehr nachvollziehbar.

Bei der „Triphyophyllin“ genannten Verbindung **24** konnte durch Totalsynthese,^[86] NMR-Untersuchungen,^[84] CD-Spektroskopie und Berechnung von CD-Spektren^[100] sowie durch den in unserem Arbeitskreis entwickelten oxidativen Ruthenium-katalysierten Abbau^[52,53] (s. Schema 1, Seite 13) die vollständige Struktur aufgeklärt werden. Im Gegensatz zu der publizierten Verbindung **24** sind die Stereozentren an C-1 und C-3 jeweils *R*-konfiguriert und die Verbindung wurde auch wegen einer Reihe weiterer Unklarheiten konsequenterweise in Dioncophyllin A (**4a**) umbenannt, um einen einfachen nomenklaturischen Neuanfang zu ermöglichen (s. Abb. 26, Seite 37).⁷

⁶ Zur Aufklärung der absoluten Konfiguration von Isoshinanolon s. Kap. 6, Seite 69.

⁷ Eine detaillierte Beschreibung dieser Strukturzuordnungen findet sich in Lit.^[9]

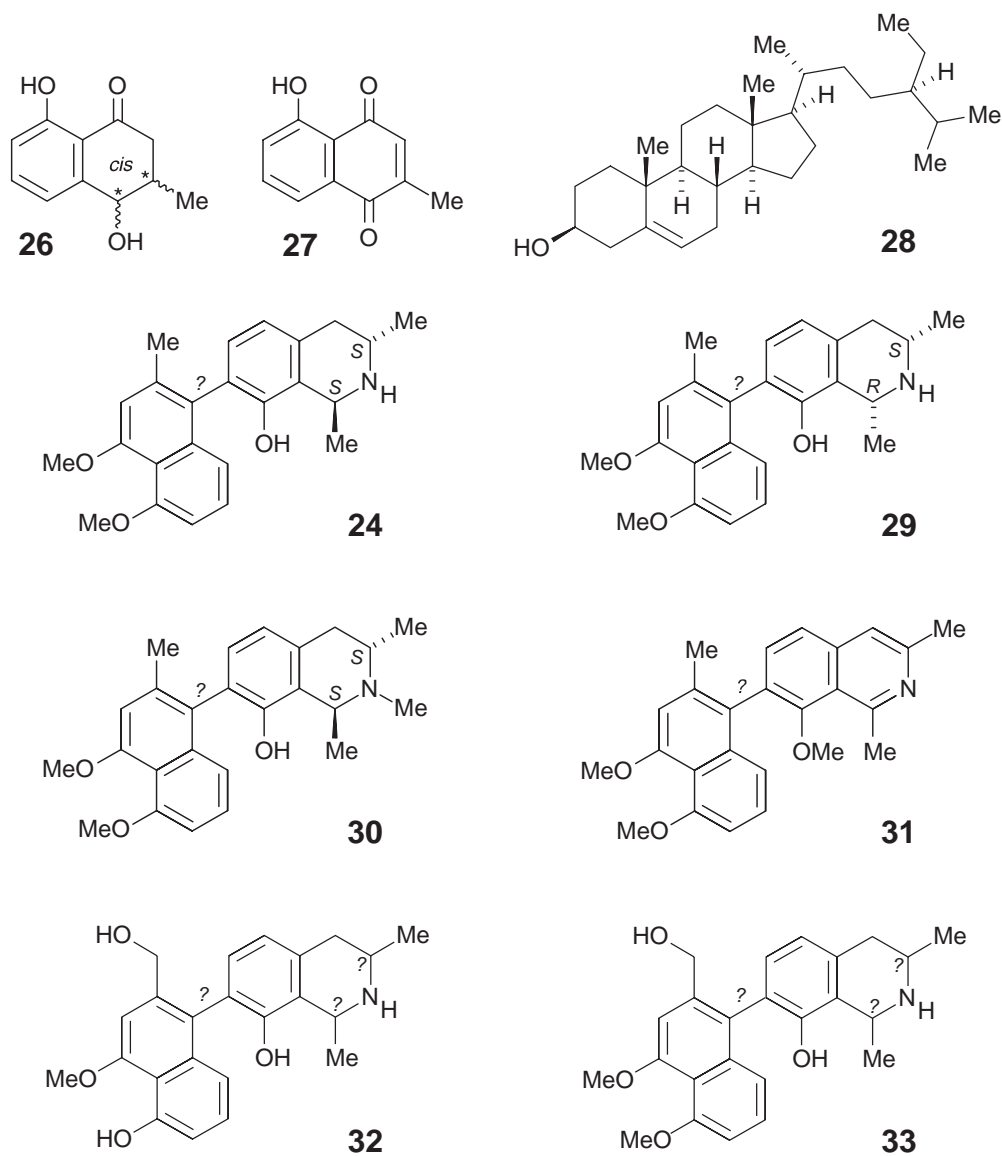


Abb. 25. Von Lavault isolierte Inhaltsstoffe aus *D. thollonii*:^[9,99] *cis*-Isoshinanolon (*cis*-**26**, ohne Angabe der absoluten Konfiguration), Plumbagin (**27**), β -Sitosterol (**28**), „Triphyophyllin“ (**24**), „Isotriphyophyllin“ (**29**), „*N*-Methyltriptyophyllin“ (**30**), „8-*O*-Methyl-1,2,3,4-tetrahydrotriptyophyllin“ (**31**), „Triphyopeltin“ (**32**), „5'-*O*-Methyltriptyophyllin“ (**33**)^[46]

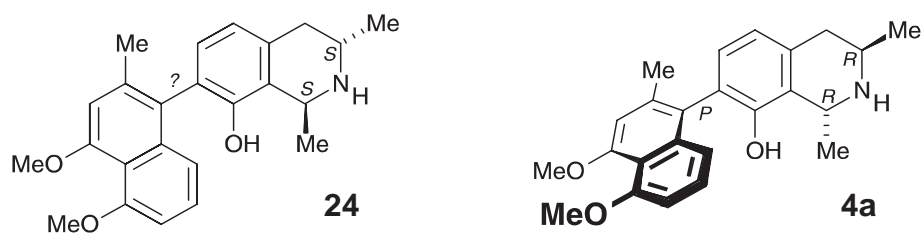


Abb. 26. Postulierte (**24**)^[81,97] und tatsächliche (**4a**) Struktur von „Triptyophyllin“, jetzt Dioncophyllin A (**4a**)

Ebenso konnte durch Totalsynthese gezeigt werden,^[101] dass es sich bei der veröffentlichten Verbindung „Isotriphyophyllin“ (**29**) um keines der beiden möglichen Atropisomeren handelt; welche Verbindung isoliert wurde, bleibt somit leider unklar. Auch bei Verbindung **30** bestehen Fragen bezüglich der Struktur. Die strukturelle Aufklärung wurde ursprünglich durch Vergleich der isolierten Verbindung mit partialsynthetischem *N*-Methyltriphyophyllin aus „Triphyophyllin“ (**24**) bestimmt. Da es sich bei **24** um Dioncophyllin A (**4a**) handelt, synthetisch hergestelltes *N*-methyliertes Dioncophyllin A aber nicht in den physikalischen Daten mit Verbindung **30** übereinstimmt, bleibt ungeklärt, welche Substanz tatsächlich isoliert wurde. Aufgrund dieser Ungereimtheiten und teilweise offensichtlichen Versäumnissen konnten nur die Verbindungen **27**, *cis*-**26** und **28** als strukturell aufgeklärt betrachtet werden. Nicht nur aufgrund des nun nachgewiesenen Anteils an Naphthylisochinolin und der damit verbundenen möglichen biologischen Aktivität, sondern auch aus chemotaxonomischer Sicht zur Einordnung der Pflanze in der Familie galt *D. thollonii* als lohnendes Untersuchungsobjekt.

Im Rahmen der Diplomarbeit^[102] wurde in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. O. Schupp aus *D. thollonii* eine Reihe von Inhaltsstoffen isoliert und strukturell charakterisiert (s. Abb. 27, Seite 39). Hierbei handelt es sich im einzelnen um die bekannten Naphthochinone^[103] Plumbagin (**27**) und Droseron (**34**),^[104] die beiden diastereomeren Tetralone *cis*- und *trans*-Isoshinanolon (*cis*-**26** und *trans*-**26**)⁸ sowie um vier Naphthylisochinolin-Alkaloide (**4a**, **35**, **36a**, **36b**).^[105] Bei den Alkaloiden handelt es sich um das bereits aus *D. thollonii*^[97] und *T. peltatum*^[84] bekannte „Triphyophyllin“ (**24**), jetzt Dioncophyllin A (**4a**),^[86] sein aus *T. peltatum* bekanntes 5'-*O*-Desmethyl-Derivat (**35**)^[106] und um die beiden Atropisomere *N*-Methyldioncophyllin A (**36a**) und *N*-Methyl-7-*epi*-dioncophyllin A (**36b**), beide bereits aus *Ancistrocladus abbreviatus* isoliert.^[107] Die Untersuchung von *D. thollonii* wurde im Rahmen dieser Doktorarbeit fortgesetzt.

⁸ Zur Struktur und Aufklärung der absoluten Konfiguration von Isoshinanolon s. Kap. 6, Seite 69.

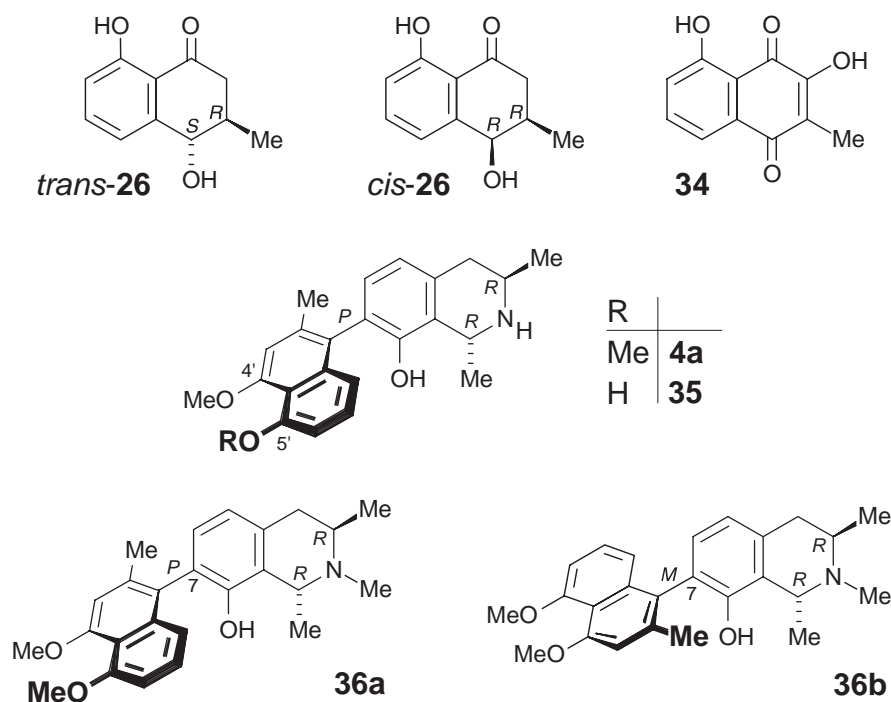


Abb. 27. Isolierte Verbindungen aus *D. thollonii*: *cis*- und *trans*-Isoshinanolon (*cis*- & *trans*-26), Droseron (34), Dioncophyllin A (4a), 5-*O*-Desmethyldioncophyllin A (35), *N*-Methyldioncophyllin A (36a) und *N*-Methyl-7-*epi*-dioncophyllin A (36b)

4.3 Isolierung und Strukturaufklärung von Dioncophyllin E (37)

4.3.1 Extraktion und Aufreinigung

Das luftgetrocknete und in einer Schlagmühle zerkleinerte Wurzelmaterial von *D. thollonii* wurde sukzessiv in einer Soxhlet-Apparatur mit *n*-Hexan und Methanol erschöpfend extrahiert. Die methanolische Phase wurde mit *n*-Hexan und Chloroform perforiert und der so erhaltene Chloroform-Extrakt wurde mittels mehrfacher Säulenchromatographie an desaktiviertem Kieselgel aufgereinigt. Die Dragendorff-aktive Hauptfraktion enthielt die bereits erwähnten Inhaltsstoffe 4a und 35 sowie im unpolaren Bereich die Atropisomere 36a und 36b.^[102,105] Eine polarere Fraktion im Vergleich zu 4a erschien auf dem DC als reine Verbindung, zeigte sich im ¹H-NMR aber deutlich als ein Gemisch zweier typischer Naphthylisochinolin-Alkaloide.

4.3.2 Strukturaufklärung von Dioncophyllin E (37)

Eine analytischer HPLC-Lauf bestätigte diese Einschätzung und offenbarte zwei zeitlich weit voneinander getrennte Substanzen mit einem für diese Substanzklasse unverkennbaren UV-Spektrum. Die sehr gute analytische Auflösung konnte auch auf den semipräparativen Bereich übertragen werden und ermöglichte eine einfache Trennung der beiden Substanzen. Die

darauffolgende NMR-spektroskopische Untersuchung der beiden getrennten Verbindungen zeigte jedoch absolut identische Spektren für beide Proben, die denen vor der Trennung entsprachen. Auch eine erneute analytische HPLC-Untersuchung der beiden Proben zeigte identische Chromatogramme, wiederum bestehend aus den beiden Peaks der Ausgangsmischung. Dieses Resultat lässt sich zum einen durch ein komplettes Versagen der semipräparativen Trennung erklären wie z.B. durch das Vertauschen der Vorlagen in den angesammelten Trennläufe, was jedoch durch die absolut gleichen Anteile beider Verbindungen in beiden Proben als eher unwahrscheinlich anzusehen war. Die zweite mögliche Erklärung wäre die gegenseitige Umwandlung der beiden Verbindungen ineinander. Zur Überprüfung dieser Vermutung wurden die beiden Peaks in einem analytischen HPLC-Lauf erneut getrennt und die Zusammensetzung der beiden Fraktionen unter identischen chromatographischen Bedingungen in verschiedenen Zeitabständen überprüft (s. Abb. 28, Seite 41).

Hierbei konnte eindeutig eine Bildung des Peaks 2 aus dem reinen ($t = 0$), abgetrennten Peak 1 beobachtet werden, komplementär zur Bildung von Peak 1 aus reinem Peak 2. Somit konnte eindeutig bewiesen werden, dass sich beide Peaks ineinander umwandeln und es sich folglich vermutlich um zwei Isomere (z.B. Konformationsisomere, Rotationsisomere oder chemische Isomere) einer einzigen Verbindung handelt. Versuche, die beiden Isomere nach der Trennung in reiner Form ^1H -spektroskopisch zu analysieren, scheiterten an der zu schnellen Umwandlung der Isomeren ineinander beim Versuch, die für die NMR-Spektroskopie ungeeigneten Lösungsmittel zu entfernen, so dass nur Gemischspektren von beiden Isomeren zugänglich waren. Abhilfe erhoffte man sich in diesem Fall von der HPLC-NMR-Kopplungstechnik,^[108] welche die Vermessung der Peaks durch die Verwendung deuterierter Lösungsmittel bzw. geeigneter Lösungsmittelunterdrückungen direkt nach der chromatographischen Trennung ermöglicht. Durch die Anwendung gleicher Trennmaterialien gelang es, die Chromatographie auf das gekoppelte System zu übertragen und die Trennung der beiden Peaks zu reproduzieren. Somit erreichte man es, die reinen Isomere 1 und 2 im stop-flow-Modus im Probenkopf „einzusperren“ und zu vermessen.

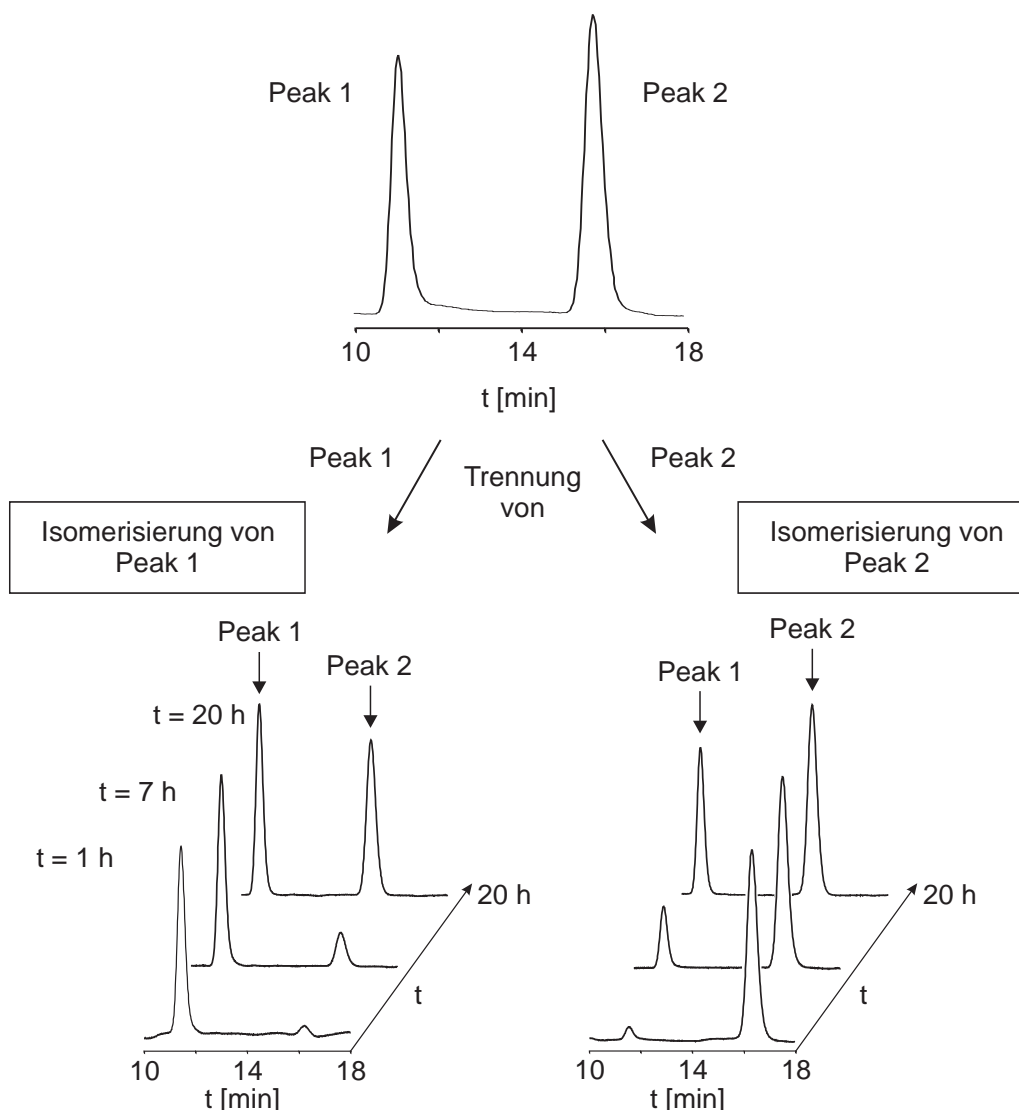


Abb. 28. Analytische HPLC-Analyse der Umwandlung von Peak 1 und Peak 2 von Dioncophyllin E (**37**)

Wie in Abb. 29 (Seite 42) gezeigt, gelang am Beispiel der charakteristischen 1- und 3-Methylgruppen der Naphthylisochinoline die Verfolgung der Isomerisierung der beiden Peaks. Aufgrund der geringen Analytkonzentration und der damit verbundenen langen Messzeit mit der einhergehenden Isomerisierung war auch mit dieser Technik kein eindeutiges Spektrum, speziell des Aromatenbereichs, zur vollständigen Charakterisierung der Verbindung erhältlich. Allerdings konnte durch die starke Ähnlichkeit der beiden Signalsätze eine chemische Isomerisierung (z.B. Tautomerie) ausgeschlossen werden. Mit Hilfe der HPLC-MS/MS-Kopplung unter identischen chromatographischen Bedingungen ließ sich zeigen, dass beide Peaks die identische Masse sowie ein nahezu identisches Fragmentierungsmuster aufwiesen. Die Summe dieser Befunde deutete darauf hin, dass es

sich bei den beiden Isomeren um reine Konformationsisomere handelte, vermutlich um Rotationsisomere um die Biarylachse.

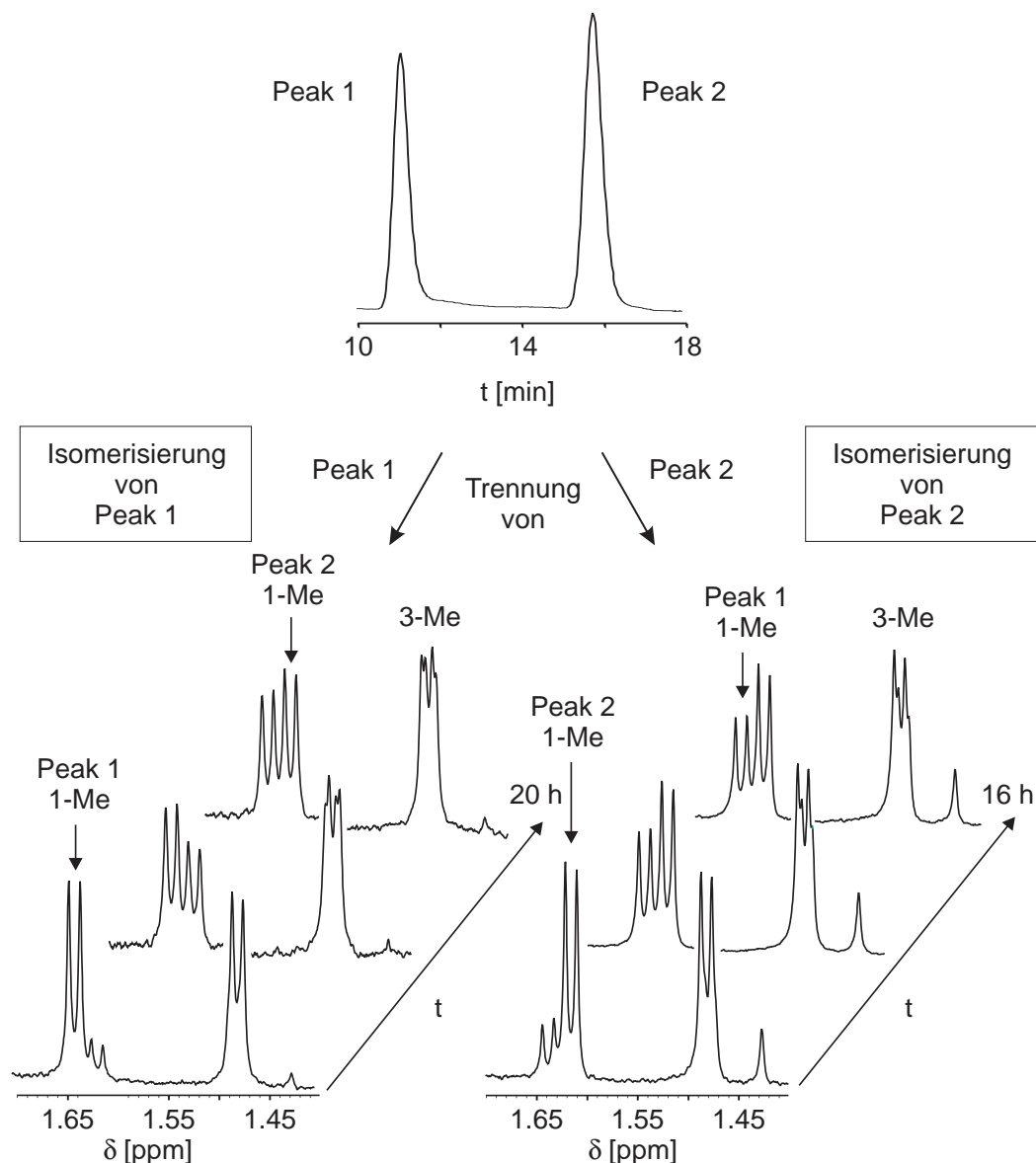


Abb. 29. HPLC-NMR-Analyse der abgetrennten Peaks 1 und 2 von Dioncophyllin E (37): Isomerisierung am Beispiel der 1- und 3-Methylgruppen

Diese Atropisomerie tritt in der Verbindungsklasse der natürlichen Naphthylisochinoline bei Raumtemperatur bislang in zwei Formen auf: Zum einen existieren die bei Raumtemperatur absolut stabilen Atropisomere wie z.B. das Dioncophyllin A (4a)^[84,86] und sein Atropisomer 7-*epi*-Dioncophyllin A (4b)^[9] (s. Abb. 30, Seite 43) oder die bereits oben erwähnten auch aus *D. thollonii* bekannten Alkaloide *N*-Methyldioncophyllin A (36a) und *N*-Methyl-7-*epi*-dioncophyllin A (36b)^[107] (s. Abb. 27, Seite 39). Die Stabilität dieser hier 7,1'-gekuppelten Moleküle begründet sich durch die drei zum Teil relativ großen Substituenten *ortho*-ständig bezüglich der Achse, nämlich durch eine Hydroxyfunktion an C-8 im Isochinolinteil der

Verbindung, durch die Methylgruppe und durch den *peri*-ständigen Kohlenstoff des Naphthalingerüsts. Zum anderen sind die bei Raumtemperatur bezüglich der NMR-Zeitskala schnell drehenden 7,6'-gekuppelten Vertreter wie das Dioncophyllin B^[87] (**6**) (s. Abb. 30, unten) und seine Derivate mit nur zwei Hydroxy- oder einer Hydroxy- und einer Methoxyfunktion *ortho* zur Achse bekannt.

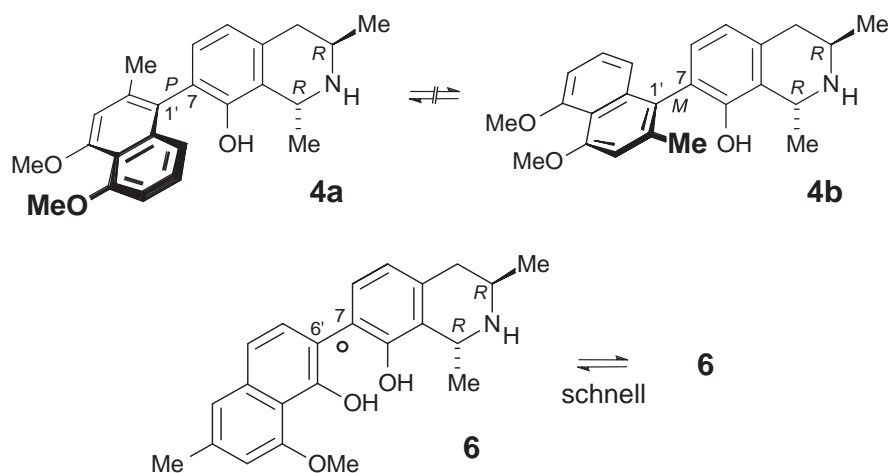


Abb. 30. Das bei Raumtemperatur rotationsgehinderte Dioncophyllin A (**4a**) und sein 7-Epimer (**4b**) sowie das frei um die Achse drehende Dioncophyllin B (**6**) (o: konfiguratv labile Achse)

Als bester Beweis, dass es sich bei diesen hier gefundenen Isomeren um zwei Atropisomere handelt, diente die CD-Spektroskopie. Durch die direkt an die stereogene Achse gebundenen Chromophore weisen rotationsgehinderte, optisch aktive Biarylverbindungen einen starken, dominierenden, direkt mit der Stellung der Achse verbundenen CD-Effekt auf. Aus diesem Grund müssen die CD-Kurven zweier enantiomerer Atropisomere exakt spiegelbildlichen Verlauf zeigen. Der bei den Naphthylisochinolin-Alkaloiden mit einem Stereozentrum an C-1 zu erwartende weitere Einfluss auf das CD-Spektrum ist, wenn überhaupt, kaum sichtbar und übt keinen definierten Einfluss aus. Allerdings kann es dadurch jedoch zu leichten Abweichungen vom idealen spiegelbildlichen Verhalten kommen, die allerdings nicht signifikant sind. Die schnelle Isomerisierung der beiden Konformere ineinander erlaubte auch bei der CD-Spektroskopie keine „normale“ stand-alone-Messung d.h. reguläre Küvetten-Messung der abgetrennten Isomere, doch gelang es mit Hilfe der HPLC-CD-Kopplung als konsequente Fortsetzung der Kopplungstechnik (s. Kap. 7, Seite 83) in diesem Fall, CD-Spektren von beiden chromatographischen Peaks in sehr guter Qualität zu erhalten (s. Abb. 31, Seite 44). Deutlich ist der geforderte, nahezu perfekt spiegelbildliche Verlauf der beiden Kurven zu erkennen. Damit wurde die Hypothese, dass es sich bei den beiden Isomeren um Atropisomere handelt, bestätigt. Die beobachtbaren Intensitätsunterschiede der beiden LC-

CD-Spektren haben hier keinerlei Aussagekraft, da die Analytkonzentration in der Messzelle aus messtechnischen Gründen willkürlich gewählt wurde und nicht definiert einstellbar ist.

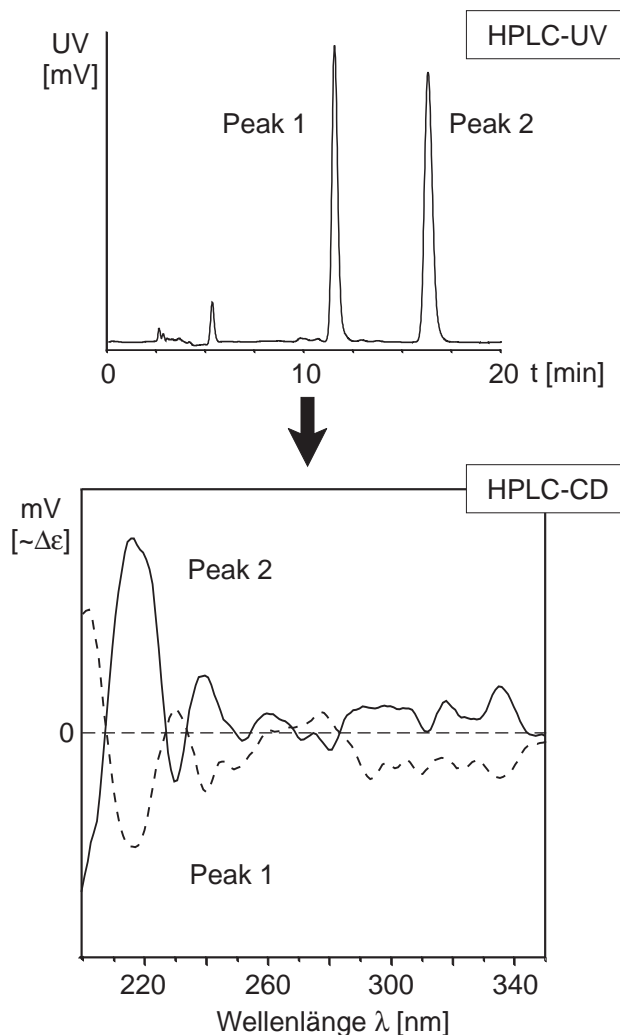


Abb. 31. LC-CD-Spektren der beiden Atropisomere von Dioncophyllin E (**37**)

Das ^1H -Spektrum^[109] zeigte, wie bereits erwähnt, die charakteristischen Signale für ein Naphthylisochinolin-Alkaloid mit einer 1- und 3-Methylsubstitution (1.71 / 1.74 ppm, 1-CH₃ bzw. 1.58 / 1.59 ppm, 3-CH₃) (Abb. 32, Seite 45) im Tetrahydroisochinolinenteil, einer 2'-Methylgruppe (2.14 / 2.15 ppm) und einem Methoxysubstituenten (4.00 / 4.04 ppm) im Naphthalenteil. Anhand der exakten Masse ergab sich eine Summenformel von C₂₃H₂₅NO₃, was für zwei Hydroxyfunktionen im Molekül sprach, was im Einklang mit der Anzahl der aromatischen Protonen war. Letztere spalteten sich in drei Gruppen zu einmal drei (6.74 / 6.77 & 7.29-7.37 ppm) und zu einmal zwei benachbarten Protonen (6.81 & 7.05 / 7.06 ppm) auf, deutlich durch die Kopplungskonstanten und Wechselwirkungen im H,H-COSY-Spektrum erkennbar, und zu einer einzelständigen aromatischen CH-Funktionalität (7.24 / 7.27 ppm).

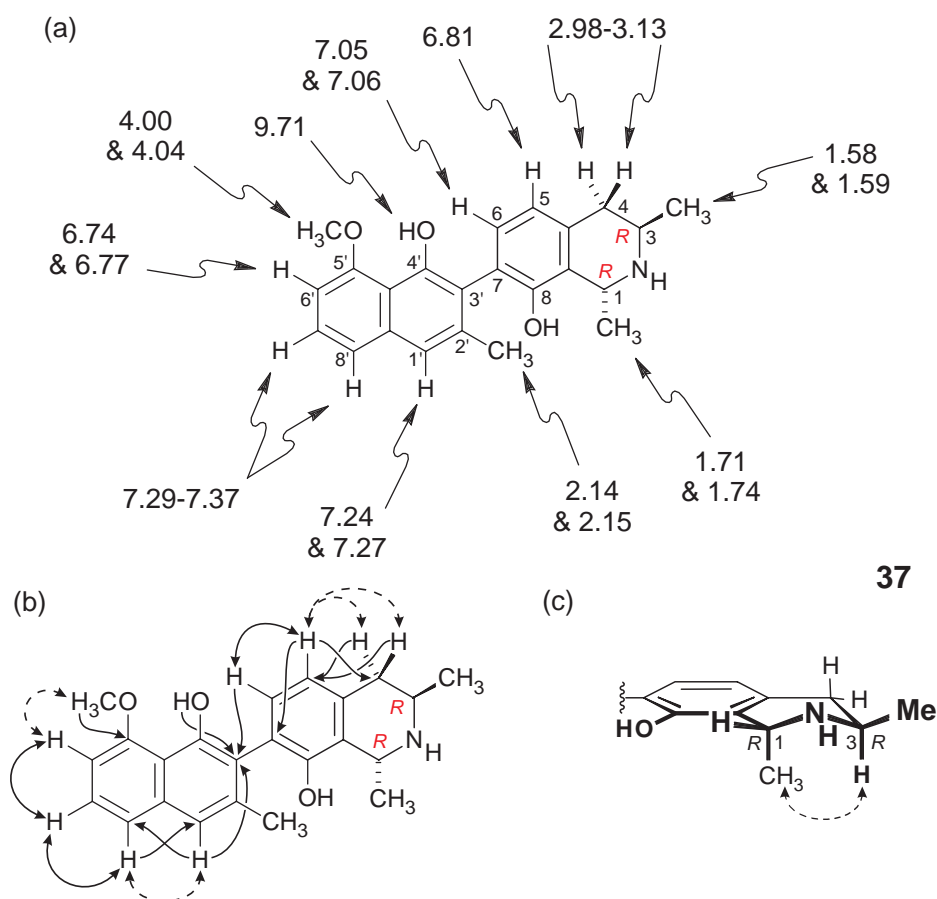


Abb. 32. Ausgesuchte NMR-Daten von Dioncophyllin E (**37**): ^1H -Daten der beiden Atropisomere (a), H,H-COSY- (Doppelpfeil), HMBC- (einfacher Pfeil) und ROESY-Wechselwirkungen (gestrichelt)

In der Verbindungsklasse der Naphthylisochinoline mit ihrem klassischen Substitutionsmuster eines 2'-Kohlenstoff- und 4'- und 5'-Sauerstoff-funktionalisierten Naphthalinringes ist das Auftreten dreier benachbarter aromatischer Protonen ein erster wesentlicher struktureller Hinweis auf die Kupplung in 1'- oder 3'-Position dieser Molekülhälfte, da ja eine 6'-, 7'- oder 8'-Kupplung durch die nachbarschaftliche Lage der Protonen ausgeschlossen ist. Das hochfeldverschobene, die entschirmende Wirkung eines nahen aromatischen Ringsystems anzeigende Signal bei 2.14 / 2.15 ppm der 2'-Methylgruppe unterstützte diesen Befund. Ausgehend von dem charakteristischen und leicht zuzuordnenden nicht-aromatischen Teil des Tetrahydroisochinolins ließ sich die Gruppe von zwei benachbarten Protonen (6.81 & 7.05 / 7.06 ppm) durch HMBC- und ROESY-Wechselwirkungen mit den Protonen in 4-Position als H-5 und H-6 lokalisieren (Abb. 32b, oben). HMBC-Korrelationen von H-6 zu dem quarternären C-3' im Naphthalinteil sowie von H-5 zu C-7 wiesen dem Isochinolinteil der Verbindung eindeutig eine Kupplungsposition an C-7 zu. Der Anknüpfungspunkt im Naphthalinring konnte sich, wie bereits oben erwähnt, nur an C-1' oder C-3' befinden. Die

endgültige Zuordnung zu C-3' gelang durch die Positionsbestimmung des einzelnen verbleibenden aromatischen Protons bei 7.24 / 7.27 ppm als H-1', eindeutig gekennzeichnet durch die gegenseitige HMBC-Beziehungen zwischen H-8' und C-1' und von H-1' mit C-8', abgesichert durch die ROESY-Wechselwirkung zwischen den beiden Protonen. Die Kupplungsposition wurde durch weitere verschiedene HMBC-Signale zu dem quartären C-3', ausgehend von HO-4', H-1' und H-6, untermauert. Die Zuordnung der Methoxyfunktion an C-5' gelang durch die HMBC-Verknüpfung mit C-5' und die ROESY-Verstärkung zwischen H-6' und OCH₃-5'. Das am Anfang der Strukturaufklärung für Unsicherheit sorgende ungewöhnliche Erscheinungsbild der Gruppe von drei aromatischen Protonen (6.74 / 6.77 & 7.29-7.37 ppm) (s. Abb. 33, Seite 47) entpuppte sich bei genauerer Betrachtung als ein Spektrum höherer Ordnung.^[58] Diese Spektren treten bei einer Annäherung der Differenz der chemischen Verschiebung ($\delta_{AB} = \delta_A - \delta_B$) an die Differenz der Kopplungskonstante ($J_{AB} = J_A - J_B$) auf. Hieraus resultieren Spektren, welche nicht mehr ohne weiteres mit der einfachen Näherung erster Ordnung beschrieben werden können. Zusätzlich trat in diesem Fall erschwerend die Überlappung der Spektren der beiden Atropisomere auf. Mit Hilfe des NMR-Spektrensimulations-Programmes Win-Daisy konnte M. Grüne^[110] jedoch zeigen, dass es sich bei dem auftretenden Signalsatz eindeutig um zwei ABX-Anordnungen der jeweils drei Protonen handelt. Diese Vorgehensweise ermöglichte die Errechnung der nicht offensichtlich aus den Spektren zugänglichen Kopplungskonstanten wie in Abb. 33 oben (Seite 47) gezeigt. Mit dieser Methodik gelang die vollständige Zuordnung der ¹H-NMR-spektroskopischen Daten in dem unumgänglichen Gemischspektrum beider Atropisomere. Eine direkte Zuordnung eines Signalsatzes zu einer definierten Achsenkonfiguration war jedoch leider nicht möglich. Zwar konnte mit Hilfe der HPLC-CD-Kopplung die Achsenkonfiguration der beiden chromatographisch trennbaren Rotamere aufgeklärt und zugewiesen werden (s. Kap. 4.3.2, Seite 39), doch es war durch die zu starke Überlagerung der Protonenresonanzen der beiden Verbindungen in der HPLC-NMR-Kopplung und dem dabei benötigten Lösungsmittelsystem unmöglich, die Signalsätze zu trennen und somit eine Korrelation zwischen Achsenkonfiguration und einfachem Spektrensatz herzustellen. Die Überlagerung der beiden berechneten Einzelsignalsätze der drei Protonen (Abb. 33, Seite 47) zeigt eine vollständige Übereinstimmung mit dem darunter gezeigten experimentellen Spektrum und untermauert somit den Strukturvorschlag für dieses Naphthylisochinolin-Alkaloid. Das Auftreten eines ABX-Musters dieser Protonen konnte auch bei der Synthese des Naphthalinringes beobachtet werden (s. Kap. 5.3.4, Seite 64).

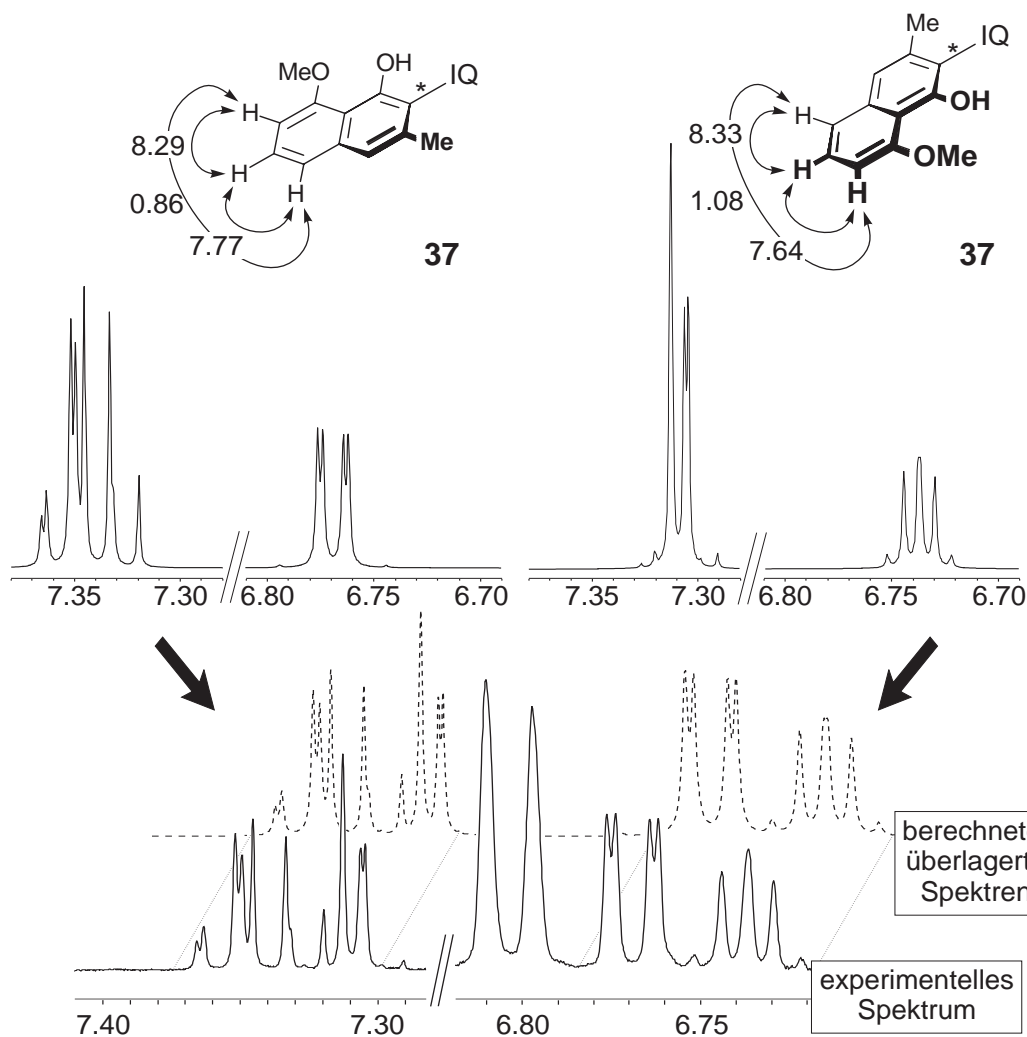


Abb. 33. Win-Daisy-Simulation der benachbarten aromatischen drei Protonen im Naphthalenteil von beiden Atropisomeren von Dioncophyllin E, deren Überlagerung und experimentelles Spektrum (*: die Achsenkonfiguration ist willkürlich gewählt; IQ: Isochinolinrest)

Die relative Konfiguration der beiden Methylgruppen an C-1 und C-3 im Isochinolinteil des Moleküls ließ sich durch eine ROESY-Wechselwirkung zwischen CH₃-1 und H-3 als *trans*-ständig zuordnen (s. Abb. 32c, Seite 45), in Übereinstimmung mit dem Auftreten des typischen tieffeldverschobenen H-3 bei 3.75 ppm.^[9,84]

Mit Hilfe des oxidativen Ruthenium-katalysierten chemischen Abbaus^[52] von **37** (s. Schema 1, Seite 13) gelang schließlich die Zuordnung der absoluten Konfiguration zu 1*R*,3*R*^[54] in Einklang mit der durch NMR-Experimente gefundenen relativen *trans*-Anordnung der beiden Methylgruppen.

Eine Verbindung mit diesem Substitutionsmuster und diesem 7,3'-Verknüpfungstyp wurde bislang noch nicht isoliert oder synthetisiert und wurde deshalb in Fortführung der Nomenklatur der Dioncophyllaceae-Alkaloide^[9,10,85] Dioncophyllin E (**37**) genannt.

Die Aufklärung der absoluten Konfiguration der Biarylachse gelingt bei den meisten rotationsgehinderten Naphthylisochinolininen durch Untersuchungen von NOE- oder ROESY-Wechselwirkungen von dem Naphthalinring in den durch den oxidativen Abbau konfiguratив bekannten Isochinolinteil des Moleküls (Schema 1, Seite 13). Im Falle der hier vorliegenden Verbindung konnten durch die nur schwach rotationsgehinderte Achse keine signifikanten Wechselwirkungen z.B. der CH₃-2'-Gruppe zu CH₃-1 oder H-1, wie es bei anderen 7-gekuppelten Vertretern möglich ist (z.B. Kap. 2, Seite 7), beobachtet werden. Ein in unserem Arbeitskreis mit entwickeltes und etabliertes Verfahren^[55,111] zur Bestimmung der absoluten Konfiguration ist die Berechnung von CD-Spektren und der anschließende Vergleich von experimentellem und theoretisch berechnetem Spektrum. Abhängig von der strukturellen Flexibilität des Moleküls gibt es zwei mögliche Verfahrensweisen. Zum einen werden die Spektren für die verschiedenen bei Raumtemperatur energetisch möglichen Konformere der Verbindung semiempirisch berechnet und anschließend nach dem Energieinhalt der zugrunde liegenden Konformation Boltzmann-gewichtet zu einem theoretischen Gesamtspektrum summiert. Zum anderen wird, was meist für flexiblere Moleküle Anwendung findet, eine sogenannte Molekular-Dynamische Simulation der Molekülbewegung als Basis der CD-Berechnung durchgeführt. Bei diesem Verfahren lässt man bildlich gesprochen das Molekül sich seinen Schwingungs-Freiheitsgraden entsprechend für 500 ps frei bewegen und nimmt, einem Stroboskop vergleichbar, alle 500 fs eine Momentaufnahme der Geometrie heraus, für die ein CD-Spektrum berechnet wird. Die so gesammelten 1000 Spektren werden für das Gesamtspektrum arithmetisch gemittelt. Für die Berechnung^[105,112,113] der beiden Isomere von Dioncophyllin E wurde aufgrund der hohen Flexibilität der Achse bei Raumtemperatur eine MD-Simulation verwendet, deren Parameter bereits bei anderen Anwendungsbeispielen erfolgreich ermittelt wurden.^[111,114] Aus dieser von J. Mühlbacher durchgeführten Rechnung ergaben sich die in Abb. 34 (Seite 49) gezeigten Spektren für die beiden Rotamere, welche durch die gute Übereinstimmung mit dem experimentellem Spektrum besonders im signifikanten Bereich von 200-230 nm eine eindeutige Zuordnung der absoluten Konfiguration der Biarylachse erlaubten. Somit handelt es sich bei dem auf RP-Material chromatographisch schnelleren Peak 1 um das *P*-Isomer, bei dem langsameren Peak 2 um das *M*-Isomer von Dioncophyllin E (**37**).

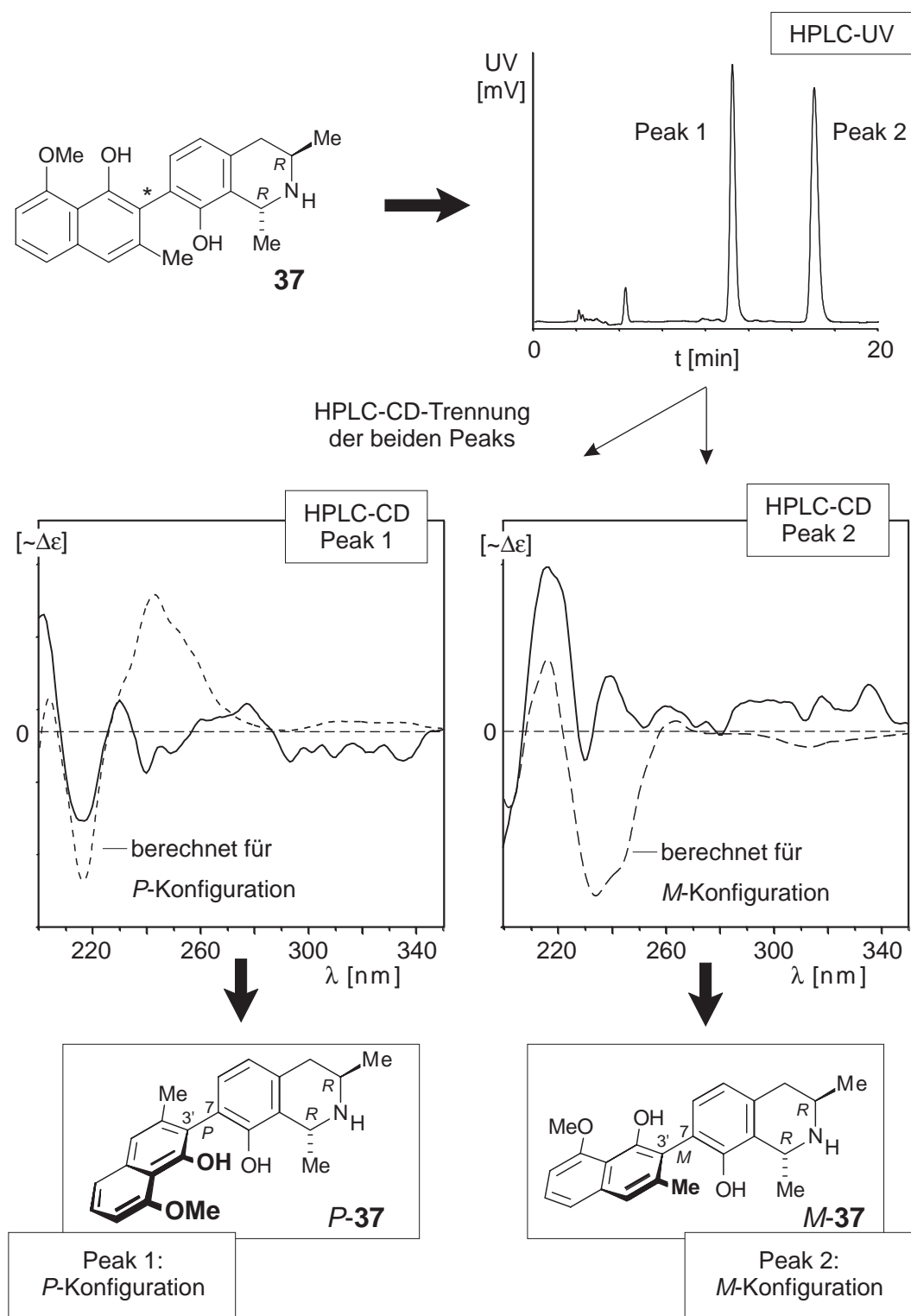


Abb. 34. Zuordnung der absoluten Achsenkonfiguration von Dioncophyllin E (37) durch Vergleich der HPLC-CD-Spektren der beiden Atropisomere mit den berechneten Spektren^[112]

4.4 Bestimmung der Rotationsbarriere von Dioncophyllin E (37)

4.4.1 Theoretische Berechnung mit AM1

Die seltenen Struktureigenschaften von Dioncophyllin E (**37**) sowie die damit verbundenen anfänglichen Probleme bei der Strukturaufklärung durch das Auftreten zweier im NMR-Spektrum nicht voneinander zu trennenden Atropisomere legten eine Berechnung der Rotationsbarriere zur Überprüfung des postulierten Strukturtyps nahe. Die für diese Fragestellung in unserem Arbeitskreis bereits erfolgreich angewandte^[115] AM1-Methodik^[116] wurde auch hier von K. Wolf^[117] verwendet. Mit diesem Verfahren berechneten sich die in Tab. 2 gezeigten Werte, was eine Rotationsbarriere für **37** von $\Delta H^\ddagger = 107 \text{ kJ mol}^{-1}$ ergab.

Tab. 2. Mit AM1-Parametrisierung berechnete Energiewerte für Dioncophyllin E (**37**)

	Energie [kJ mol ⁻¹]
absolutes Minimum	-303
Übergangszustand	-196
Rotationsbarriere	107

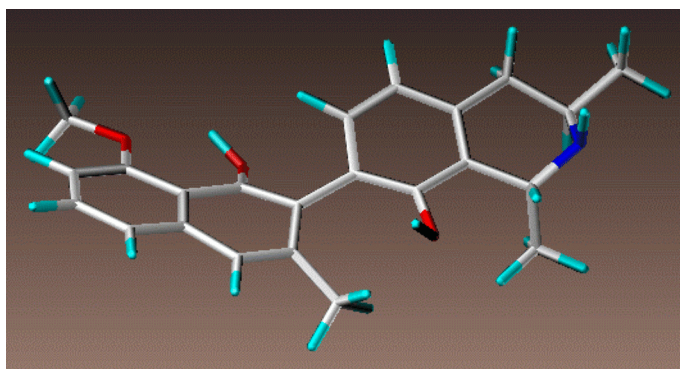


Abb. 35. Berechneter Übergangszustand der Achsenrotation von Dioncophyllin E (**37**) (nach K. Wolf)^[117]

4.4.2 Experimentelle Bestimmung der Rotationsbarriere

Die bei Raumtemperatur langsam verlaufende Umwandlung von *P*- und *M*-**37** ineinander bot eine Verfolgung der Atropisomerisierung mittels HPLC bei verschiedenen Temperaturen und eine Berechnung der Rotationsbarriere der hieraus resultierenden Ergebnisse an.^[118] Durch die Bestimmung der Flächenverhältnisse der beiden chromatographischer Peaks in Abhängigkeit von der Zeit, ausgehend von einer mit dem *P*-Diastereomer hoch angereicherten Probe, erhielt man für vier unterschiedliche Temperaturen jeweils eine Zeit-Zusammensetzungs-Kurve (s. Abb. 36a, Seite 52, vgl. Abb. 28, Seite 41) mit einem exponentiell verlaufenden Abfall der *P*-

37-Konzentration, signifikant für eine reversible Reaktion erster Ordnung ($P_1 = P\text{-37}$ und $P_2 = M\text{-37}$, k_A und k_B = Geschwindigkeitskonstanten von Hin- und Rückreaktion).^[119]



Zur Berechnung der Geschwindigkeitskonstanten der Isomerisierung wurde Gl. 2^[118,119] verwendet, worin P_0 die Konzentration des Isomers zum Zeitpunkt $t = 0$, P_t zum beliebigen Zeitpunkt t und P_∞ die Konzentration in der Gleichgewichtslage bedeutet.

$$\ln [(P_0 - P_\infty)/(P_t - P_\infty)] = (k_A + k_B) t \quad (\text{Gl. 2})$$

Aus der Steigung ($k_A + k_B$) aus der aus Gl. 2 resultierenden Ursprungsgeraden (s. Abb. 36b, Seite 52) lässt sich mit Hilfe der Gleichgewichtsbeziehung Gl. 3

$$\frac{P_2}{P_1} = \frac{k_A}{k_B} \quad (\text{Gl. 3})$$

nach den einzelnen Geschwindigkeitskonstanten auflösen (s. Tab. 3, Seite 53). Die so für die verschiedenen Temperaturen erhaltenen Geschwindigkeitskonstanten ergeben durch Einsetzen und Umformen der Eyring-Gleichung (Gl. 4)⁹ die freie Aktivierungsenthalpie ΔG^\ddagger der Isomerisierung (s. Tab. 3, Seite 53).

$$k = \frac{k_b \cdot T}{h} \cdot e^{-\frac{\Delta G^\ddagger}{R \cdot T}} \quad (\text{Gl. 4})$$

Durch Einsetzen der Gibbs-Helmholtz-Beziehung (Gl. 5) in Gl. 4 erhält man Gl. 6, deren Logarithmierung und Umformung in Geradengleichung (Gl. 7) resultiert.

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T \cdot \Delta S^\ddagger \quad (\text{Gl. 5})$$

$$k = \frac{k_b \cdot T}{h} \cdot e^{-\frac{\Delta H^\ddagger}{R \cdot T}} \cdot e^{\frac{\Delta S^\ddagger}{R}} \quad (\text{Gl. 6})$$

$$\underbrace{\ln \frac{k}{T}} = - \underbrace{\frac{\Delta H^\ddagger}{R}} \cdot \underbrace{\frac{1}{T}} + \underbrace{\ln \frac{k_b}{h} + \frac{\Delta S^\ddagger}{R}} \quad (\text{Gl. 7})$$

$$y = m \cdot x + a$$

⁹ k_b : Boltzmann-Konstante

h : Plancksches Wirkungsquantum

R : Gaskonstante

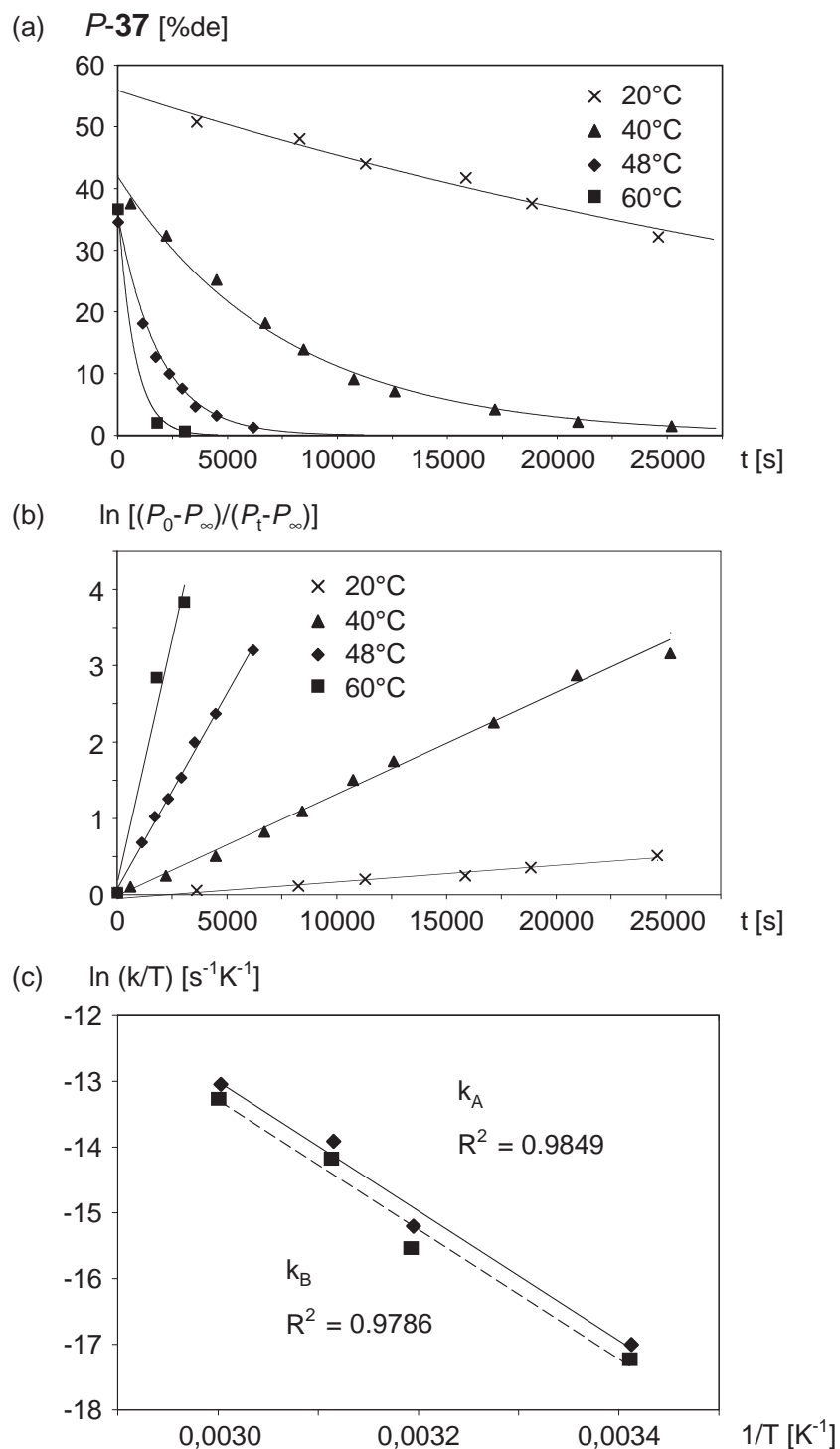


Abb. 36. Bestimmung der Rotationsbarriere von Dioncophyllin E (**37**): (a) Abnahme des Diastereomerenüberschusses des *P*-Isomers mit der Zeit, (b) Bestimmung der Geschwindigkeitskonstante bei verschiedenen Temperaturen, (c) Enthalpie- und Entropie-Bestimmung durch Steigung und y-Achsenabschnitt der Geraden

Durch Auftragung (s. Abb. 36c, oben) von $y = \ln (k/T)$ gegen $x = 1/T$ ergibt sich eine Gerade mit der Steigung $m = -\Delta H^\ddagger/R$ und dem y-Achsenabschnitt $a = \ln (k_b/h) + \Delta S^\ddagger/R$, aus denen

sich die Aktivierungsenthalpie sowie die Aktivierungsentropie der Reaktion ablesen lassen. Die Werte sind in Tab. 3 (unten) zusammengefasst.

Tab. 3. Aktivierungsparameter der Atropisomerisierung von Dioncophyllin E
P-37 ⇌ *M-37*

T [°C]	k _A [s ⁻¹]	k _B [s ⁻¹]	ΔG [‡] _A [kJ mol ⁻¹]	ΔG [‡] _B [kJ mol ⁻¹]	t _{1/2} [min]
20	1.21·10 ⁻⁵	9.52·10 ⁻⁶	99.5	100.1	534
40	7.84·10 ⁻⁵	5.45·10 ⁻⁵	100.7	101.4	87
48	2.92·10 ⁻⁴	2.19·10 ⁻⁴	101.2	101.9	23
60	7.17·10 ⁻⁴	5.58·10 ⁻⁴	101.9	102.7	9

$$\Delta H^{\ddagger} = 81.9 \text{ kJ mol}^{-1}$$

$$\Delta S^{\ddagger} = -60.0 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$$

Das Ergebnis einer freien Aktivierungsenthalpie von 100.1 kJ mol⁻¹ ergibt eine Halbwertszeit bei 20 °C von knapp neun Stunden, was die oben beschriebene experimentelle Schwierigkeit bei der Strukturaufklärung eines einzelnen Atropisomers verständlich macht.

4.4.3 Einschätzung der Ergebnisse

Der bei der theoretischen Berechnung gefundene Wert von $\Delta H^{\ddagger} = 107 \text{ kJ mol}^{-1}$ lässt den Schluss zu, dass eine Rotation bei Raumtemperatur prinzipiell möglich ist, diese jedoch nicht mit der beobachtbaren Geschwindigkeit, sondern wesentlich langsamer ablaufen sollte. Die Diskrepanz der beiden Werte von über 25 kJ mol⁻¹ lässt sich jedoch durch einen Lösungsmiteleinfluss der unterschiedlichen Mess-/Berechnungsumgebung erklären. So erfolgte die theoretische Berechnung der Rotationsbarriere unter Ausschluss etwaiger Lösungsmittelleffekte und ist vergleichbar mit einer Rotation im Vakuum. Das für die chromatographische Trennung unabdingbare Lösungsmittelsystem Methanol/Wasser (60:40) mit 0.1 % Trifluoressigsäure ist bezüglich der Polarität und den protischen Eigenschaften das extreme Gegenteil. Versuche, die Trennung auf andere Säulenmaterialien wie normal-phase-Material oder auf chirale Phasen zu transferieren und damit auf ein aprotisches unpolares Lösungsmittelgemisch zu wechseln, schlugen leider fehl. Dies hätte nicht nur eine Angleichung an die Berechnung erlaubt, sondern hätte auch vermutlich eine höhere Rotationsbarriere nach sich gezogen, welche isomerenreinere Proben für die Spektroskopie ermöglicht hätte, doch konnte auf keiner der genannten Phasen auch nur eine Antrennung

erzielt werden. Gerade die beiden zur Biarylachse *ortho*-ständigen Hydroxyfunktionen sollten aufgrund ihrer räumlichen Nähe bei der Rotation von der protischen Umgebung des verwendeten Systems erheblich beeinflusst werden. Der Effekt des pH-Wertes und des protischen Lösungsmittels auf die Rotationsbarriere konnte durch Messung der Isomerisierungsgeschwindigkeit bei unterschiedlichen Konzentrationen der zur Pufferung eingesetzten Trifluoressigsäure (TFA) bewiesen werden. So zeigte sich deutlich, dass die Rotation um die Achse mit zunehmender Konzentration erleichtert wird, d.h. die Geschwindigkeit nimmt zu.

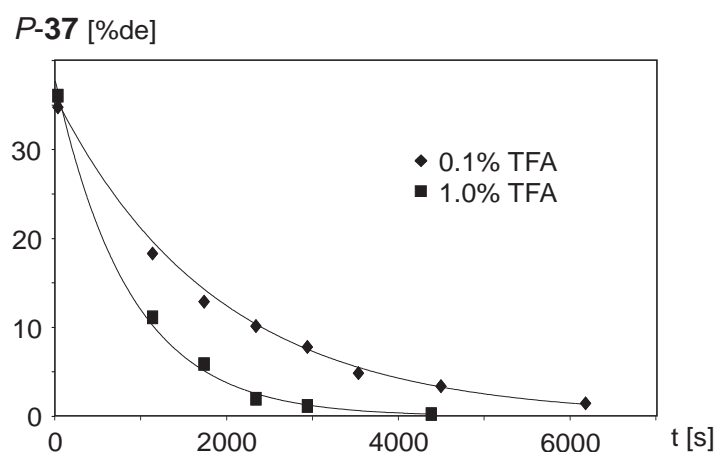


Abb. 37. Isomerisierungsgeschwindigkeit von Dioncophyllin E (**37**) bei 48 °C in Abhängigkeit vom Gehalt des Lösungsmittels an Trifluoressigsäure (TFA)

So verringerte sich die Halbwertszeit bei einer Erhöhung des TFA-Gehaltes von 0.1 % auf 1 % bei 48 °C um mehr als die Hälfte, genauer von 23 Minuten auf 10 Minuten. Eine weitere Steigerung des TFA-Gehaltes auf 5 % hatte keinen zusätzlich beschleunigenden Effekt (nicht gezeigt). Bei einer Verringerung des TFA-Gehaltes ließ die Trennleistung stark nach, so dass eine Bestimmung in diesem Bereich nicht möglich war. Doch zeigte dieser Effekt deutlich, warum auch eine noch so schnelle und schonende Entfernung des Lösungsmittelgemisches zwangsläufig schon zu einem hohen Anteil an Isomerisierungsprodukt der beiden Atropisomere führte: Bei der Entfernung des Lösungsmittels nahm die Säurekonzentration in der abnehmenden Lösungsmittelmenge zu, die Rotationsbarriere sank ab und eine Reinsolierung war somit unmöglich.

Aus den gefundenen Daten zur Isomerisierung zeigte sich, dass Dioncophyllin E (**37**) im Gleichgewicht ungefähr in einem Verhältnis von 43:57 zu Gunsten des *M*-Isomers vorliegt, was einem Energieunterschied von 0.8 kJ mol^{-1} entspricht. Dieser Befund stimmt mit den

AM1-berechneten Konformationen überein, in denen auch die *M*-Konfiguration als absolute Minimumanordnung hervortritt.

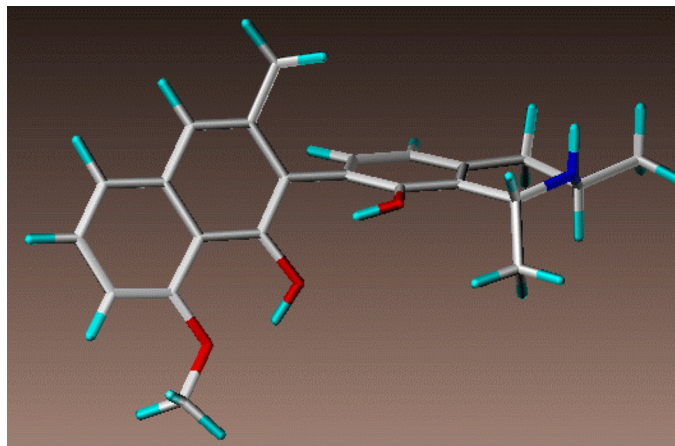


Abb. 38. Absolute Minimumkonfiguration der AM1-Berechnung in Übereinstimmung mit den experimentellen Befunden: *M*-Dioncophyllin E (*M*-**37**) (nach K. Wolf)^[117]

4.5 Einordnung von Dioncophyllin E (**37**)

Dioncophyllin E (**37**) ist das bislang einzig bekannte 7,3'-gekuppelte Naphthylisochinolin-Alkaloid vom Dioncophyllaceae-Typ,^[9] d.h. ohne Sauerstoff-Funktionalisierung in 6-Position und mit *R*-Konfiguration an C-3. Von diesem Kupplungstyp existieren bisher nur zwei Vertreter aus der Familie der Ancistrocladaceen: Ancistrosectorin (**38**) aus *Ancistrocladus tectorius*^[120] und *A. guineënsis*^[121] sowie Ancistrocladidin (**39**) aus *A. heyneanus*^[122-124] und *A. tectorius*.^[125]

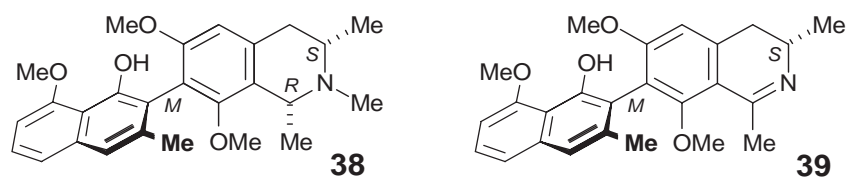


Abb. 39. Die bisher einzigen bekannten 7,3'-gekuppelten Naphthylisochinolin-Alkaloide Ancistrosectorin (**38**) und Ancistrocladidin (**39**)

Beide Verbindungen entsprechen dem typischen Ancistrocladaceae-Typ^[9] mit einer 6-Methoxy-Gruppe und mit 3*S*-Konfiguration. Aufgrund der vier zur Achse *ortho*-ständigen Substituenten ist die Rotation bei **38** und **39** bei Raumtemperatur stark gehindert und es bilden sich stabile Atropisomere. Dioncophyllin E (**37**) hingegen scheint erstmals ein Grenzfall bezüglich der Rotation um diese Bindung zu sein. Trotz seiner drei *ortho*-Substituenten, wie sie z.B. auch bei Dioncophyllin A (**4a**) mit einem Methyl-, einem Hydroxy- und einem *peri*-Kohlenstoff-Substituenten auftreten, ist diese Bewegung vermutlich aufgrund der höheren

Flexibilität von zwei Hydroxyfunktionen möglich und erlaubt eine bei Raumtemperatur eingeschränkte Rotation um die Biarylachse.

4.6 Biologische Aktivität von Dioncophyllin E (37)

Bei der bei uns im Arbeitskreis aufgrund der hohen biologischen Aktivität der Naphthylisochinolin-Alkaloide standardmäßig durchgeführten Testung auf antitrypanosomale Aktivität zeigte Dioncophyllin E (**37**) gegen *Trypanosoma cruzi* (Chagas-Krankheit) und *T. brucei rhodesiense* (Afrikanische Schlafkrankheit) schwache bis moderate Aktivität (18.4 und $0.73 \mu\text{g ml}^{-1}$) im Vergleich mit den entsprechenden Standards Benznidazol ($0.68 \mu\text{g ml}^{-1}$) und Melarsoprol ($0.002 \mu\text{g ml}^{-1}$). Auffallend waren jedoch die guten Werte gegen den Erreger der Malaria tropica, *Plasmodium falciparum*. Die IC_{50} -Werte von 22 ng ml^{-1} gegen die Chloroquin-sensitive Zell-Linie NF54, besonders aber von 21 ng ml^{-1} gegen den Chloroquin-resistenten Stamm K1, liegen nur um einen Faktor von acht bis neunzehn höher als das zur Zeit wirksamste Medikament gegen diesen Pathogen, der Standard Qinghaosu (Artemisin) mit 2.8 bzw. 1.1 ng ml^{-1} . Mit diesen hohen Aktivitäten zählt es neben den noch aktiveren Wirkstoffen Dioncophyllin C^[21,73,88,89] (**7**) (NF54: 6.2 ng ml^{-1} , K1: 6.3 ng ml^{-1}), Dioncopeltin A^[91,92] (**5**) (NF54: 3.3 ng ml^{-1} , K1: 4.8 ng ml^{-1})^[126] und Habropetalin A (**25**)^[126] (NF54: 2.3 ng ml^{-1} , K1: 5.0 ng ml^{-1} ; s. Kap. 3, Seite 29) mit zu den aktivsten monomeren Naphthylisochinolin-Alkaloiden.

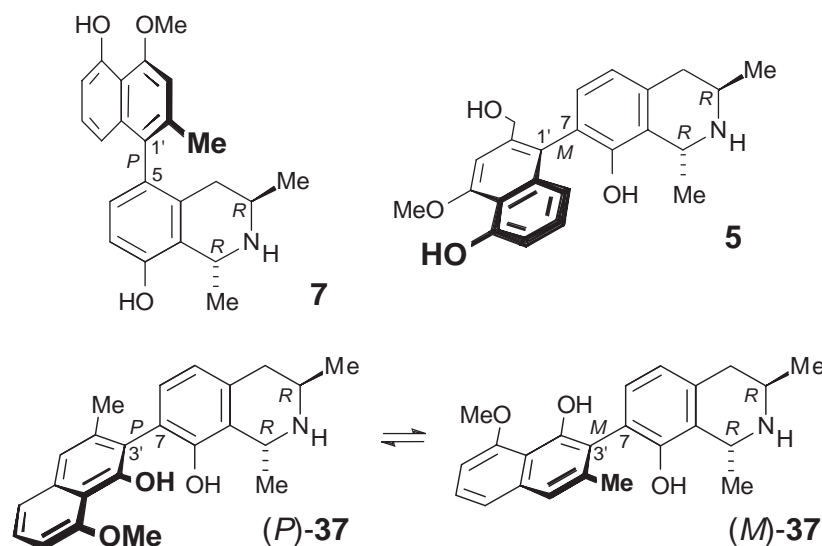


Abb. 40. Stark antiplasmodial wirksame Naphthylisochinoline: Dioncophyllin C (**7**), Dioncopeltin A (**5**) und Dioncophyllin E (**37**)

5 Beiträge zur Synthese von Dioncophyllin E (37)

5.1 Zielsetzung

Mit der Isolation und Strukturaufklärung von Dioncophyllin E (37) gelang die Entdeckung eines weiteren Naphthylisochinolin-Alkaloids, das eine starke Aktivität gegen den Erreger der Malaria tropica, *Plasmodium falciparum*, besitzt (s. Kap. 4.6, Seite 56). Der strukturelle Aufbau ähnelt sehr stark dem des Dioncophyllin B (6) (Abb. 41, unten), das ebenfalls eine hohe Aktivität gegen die Malaria-Erreger *P. falciparum*,^[20,127] *P. berghei*^[128] und *P. chabaudi chabaudi*^[129] aufweist und darüber hinaus eine gute fungizide Wirkung zeigt.^[19] Der einzige Unterschied besteht in der Position des Methylsubstituenten im Naphthalinring, der im Dioncophyllin E (37) direkt der Achse benachbart ist und somit die freie Rotation der Biarylachse, anders als im Dioncophyllin B (6), bedingt einschränkt (s. Kap 4.4, Seite 50).

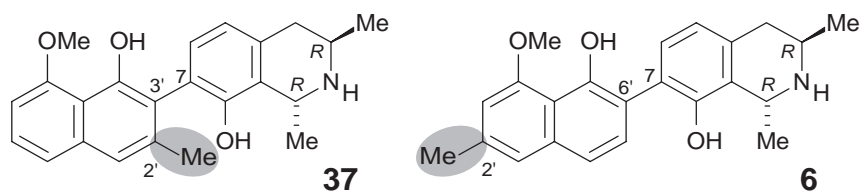


Abb. 41. Die beiden strukturell sehr ähnlichen Dioncophylline E (37) und B (6)

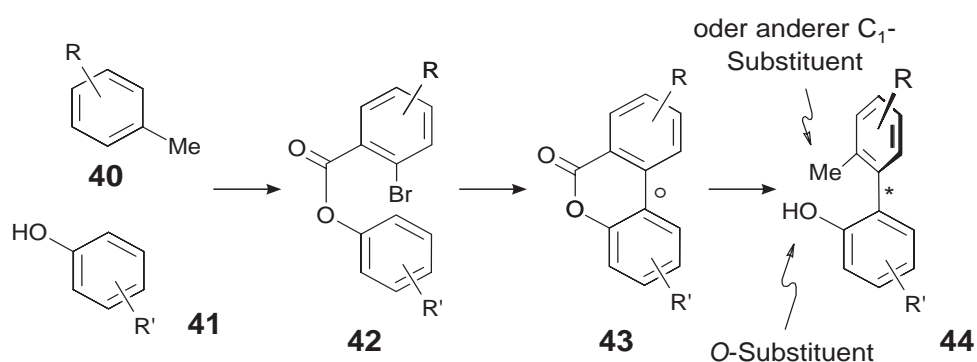
Dioncophyllin E (37) stellte somit nicht nur aufgrund seiner biologischen Aktivität, welche bedingt durch die bei der Isolation erhaltenen geringen Menge noch lange nicht erschöpfend untersucht werden konnte, ein interessantes Synthesziel dar, sondern würde auch einen Zugang zu den synthetisch bis zu diesem Zeitpunkt noch nicht erschlossenen 7,3'-gekuppelten Naphthylisochinolin-Alkaloiden schaffen. Die Bereitstellung einer größeren Menge dieses Naturstoffs und auch der damit verbundenen Derivate und Synthesestufen erschien deshalb als aussichtsreiches und lohnendes Ziel. Nach Abschluss der hier vorgestellten Versuche gelang es Morris *et al.*^[130] in einer nicht stereoselektiven, linearen Synthese das 7,3'-gekuppelte Ancistrocladidin (39) (s. Abb. 39, Seite 55) herzustellen. Beginnend mit der Bildung der Biarylachse wurde dann der 3,4-Dihydroisochinolinanteil nach der etablierten Synthese von Bringmann *et al.*^[131] (vgl. Schema 6, Seite 61) aufgebaut.

5.2 Analyse der Synthesestrategie

Grundlegend sollte die Synthese von Dioncophyllin E (37) auf konvergentem Weg erfolgen. Gemeint ist hiermit die getrennte Synthese der beiden Molekülhälften, die erst in einem der letzten Syntheseschritte miteinander verknüpft werden. Der Vorteil dieser Methode besteht nicht zuletzt in der Nutzung der bekannten und bei uns im Arbeitskreis etablierten

Herstellung^[131] der Isochinolinhälfte, sondern erlaubt meist auch eine flexiblere Lösung bei Syntheseproblemen der einzelnen Bausteine durch die reduzierte Größe des Reaktionssystems.

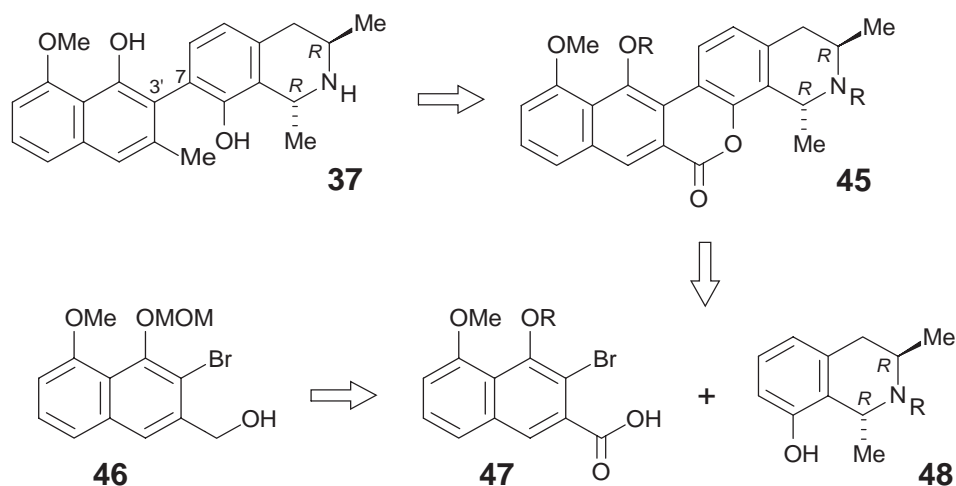
Für den Aufbau von Verbindungen mit einer Biarylachse durch Kupplung zweier Molekülhälften wurde in der Vergangenheit eine Anzahl von Methoden entwickelt, unter denen die Lacton-Methodik^[132] (Schema 2, unten) sicherlich zu den elegantesten und effizientesten zählt. Dem Konzept liegt eine Vorfixierung der beiden Teilbausteine **40** und **41** über eine Esterbrücke wie in **42** zugrunde, die eine anschließende *intramolekulare* Palladium-katalysierte Kupplung zu einem Sechsring-Lacton **43** erlaubt, das dann mit einem Nucleophil zum Biaryl **44** geöffnet werden kann. Der erste wichtige Vorteil dieser Methodik besteht in der Möglichkeit, durch die konformativ flexible Vorfixierung auch sterisch anspruchsvolle Molekülbausteine miteinander zu verknüpfen,^[133] bei denen *intermolekulare* Kupplungsmethoden Probleme bereiten. Der zweite und entscheidende Punkt ist die Möglichkeit der gezielten stereoselektiven Öffnung des konfigurativen labilen Lactons **43** mit chiralen *H*-^[134] *O*-^[135] oder *N*-Nucleophilen^[136] und somit der planbare Aufbau von Biarylverbindungen mit definierter axialer Konfiguration.



Schema 2. Die Lacton-Methodik: Stereoselektive Synthese von Biarylverbindungen

Die nach der Lactonöffnung vorhandenen *ortho*-Substituenten in **44** können mit Standardreaktionen entweder entfernt werden,^[33,137] oder die C₁-Einheit kann in andere funktionelle Gruppen wie eine Methyl-^[138] oder Hydroxyfunktion^[137] umgewandelt oder auch z.B. in ein Naphthalinsystem integriert werden.^[51]

Auch Dioncophyllin E (**37**) ließe sich sicherlich über diese Verfahren elegant aufbauen. Durch die Verbrückung und Kupplung der Bausteine **47** und **48** zum geschützten Lacton **45** (s. Schema 3, Seite 59) und anschließende nicht atropselektive Öffnung, aufgrund der bei Raumtemperatur konfigurativen semi-stabilen Achse, erhielt man diesen Naturstoff.

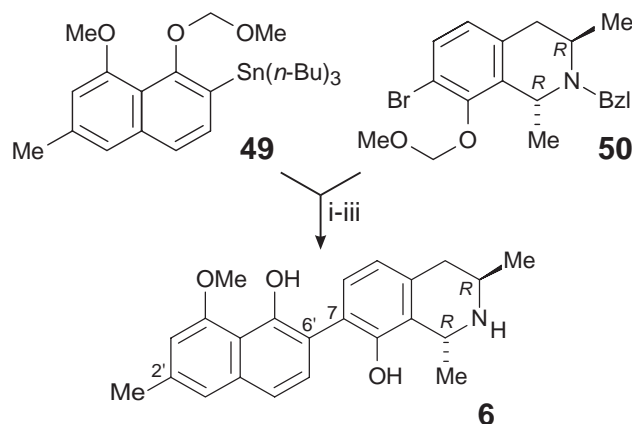


Schema 3. Denkbare Retrosynthese von Dioncophyllin E (**37**) durch Lacton-Methodik

Problematischer gestaltet sich hier allerdings die Synthese des Naphthalin-Bausteins **47**. Die direkte Vorstufe **46** wurde zwar bereits von Geisler^[139] bei der versuchten Totalsynthese von Ancistrocladidin (**39**, s. Abb. 39, Seite 55) in mehreren Stufen erfolgreich synthetisiert, doch lag bedingt durch die schlecht verlaufende Bromierung in diesem letzten Schritt die maximale Ausbeute bei 15 %, so dass hier ein anderer Weg gewählt werden sollte.

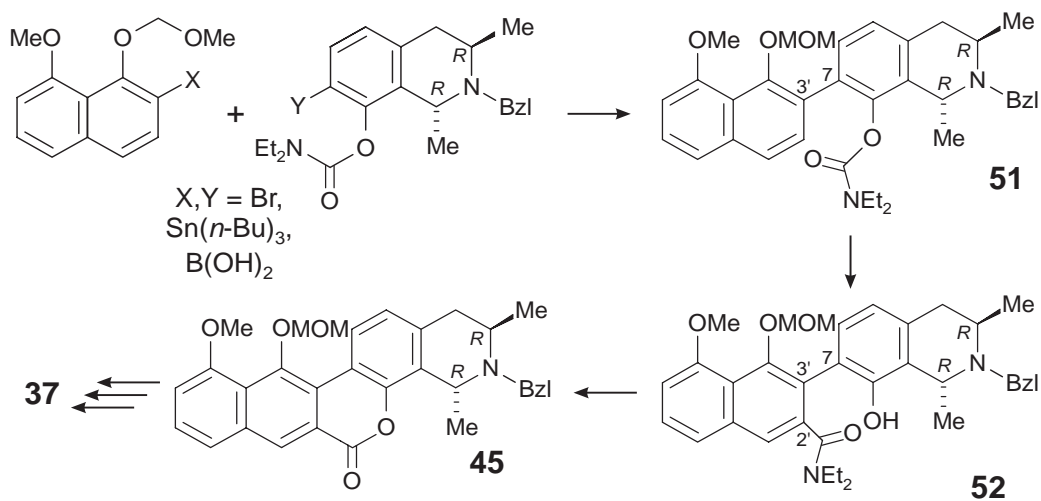
Wegen der konfigurativen Flexibilität der Biarylachse von **37** und des deshalb nicht benötigten stereoselektiven Kupplungsschrittes sowie der relativen geringen sterischen Hinderung mit maximal drei *ortho*-Substituenten zur Achse bot sich auch eine *intermolekulare* Kupplung als Alternative zur Lacton-Methodik an. Diese Möglichkeit war bei der Synthese des ebenfalls konfigurativ labilen Dioncophyllin B (**6**)^[140] demonstriert worden, bei der die Verknüpfung der beiden Bausteine **49** und **50** über eine Stille-Kupplung^[141-144] mit einer sehr guten Kupplungsausbeute von 56 % gelungen war (s. Schema 4, Seite 60).

Problematisch könnte bei einer Übertragung dieser *intermolekularen* oxidativen Kreuzkupplung auf Dioncophyllin E (**37**) der Einfluss des dritten Substituenten *ortho* zur Achse sein, der aufgrund seines sterischen Anspruches eine Reaktion verhindern oder erschweren könnte. Dieser Substituenteneinfluss ließe sich jedoch durch ein Einführen der Methylgruppe an C-2' erst *nach* dem Kupplungsschritt umgehen, wie dies bei diesem System durch eine DreM-Reaktion^[145] (DreM: Directed remote Metalation)^[146-151] gefolgt von der *intramolekularen* Substituentenübertragung einer Carbamat-Funktion (**51** → **52**) möglich



Schema 4. Synthese von Dioncophyllin B (**6**) nach Günther;^[140] i) Pd(PPh₃)₂Cl₂, PPh₃, CuBr, LiCl, DMF, 135 °C, 56 %; ii) HCl, *i*-PrOH, THF, Rückfluss, 91 %; iii) Pd⁰, HCOOH, MeOH, 40 °C, 68 %

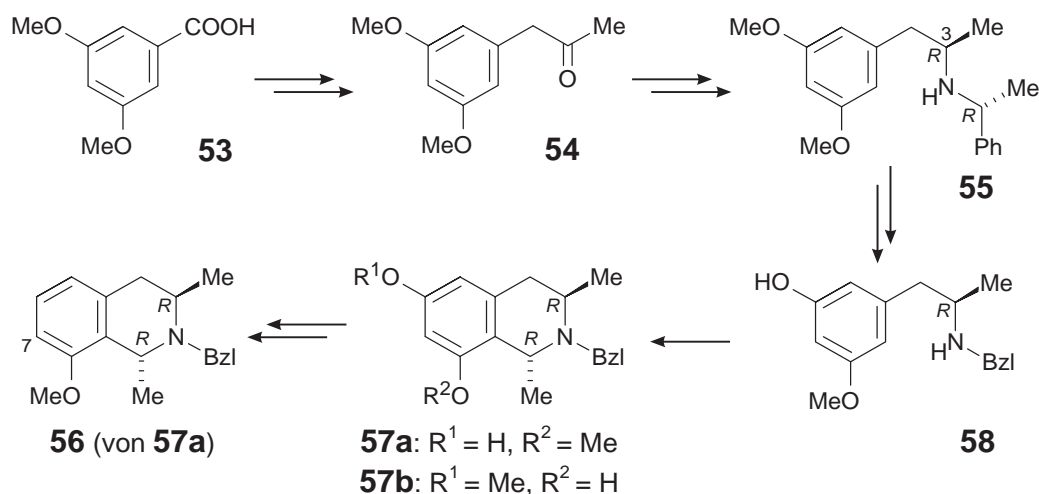
wäre (s. Schema 5, unten). Ein Ringschluss zum Lacton **45** gefolgt von einer reduktiven Aufarbeitung mit anschließender Umformung des entstehenden Alkohols (CH₂OH → CH₃) mit Standardmethoden in Analogie zu der Synthese durch Lacton-Methodik ergäbe das Produkt **37**.



Schema 5. Mögliche Synthese von Dioncophyllin E (**37**) durch Kreuzkupplung mit anschließender DreM-Reaktion zur Einführung des C-2'-Substituenten

Somit könnte die Synthese von Dioncophyllin E (**37**) und speziell der oftmals kritische Kupplungsschritt zu **51** in enger Anlehnung an die etablierte Synthese von Dioncophyllin B (**6**) erfolgen, dessen einziger Unterschied in der zusätzlichen Methylgruppe in dem am Kupplungsschritt unbeteiligten Naphthalinring liegt und somit keinen nennenswerten Einfluss ausüben sollte (aufgrund der üblichen Nomenklatur dieses 7,6'-Kupplungstyps ebenfalls an C-2'; s. Schema 4, oben).

Der benötigte Isochinolinbaustein **56** wird in den frühen Stufen in unserem Arbeitskreis im Verbund synthetisiert (s. Schema 6, unten) und folgt einer etablierten Syntheseroute,^[131] die jedoch erst kürzlich durch die Einführung einer Kristallisationsstufe an Stelle einer wiederholten säulenchromatographischen Trennung entscheidend verbessert wurde.^[140] Die Funktionalisierung an C-7, *ortho* zu dem Methoxysubstituenten in **56**, gelingt durch eine DoM-Reaktion^[145] (DoM: Directed *ortho* Metalation)^[152] analog der Synthese von **6**^[140] zu dem Baustein **50** (s. Schema 4, Seite 60).

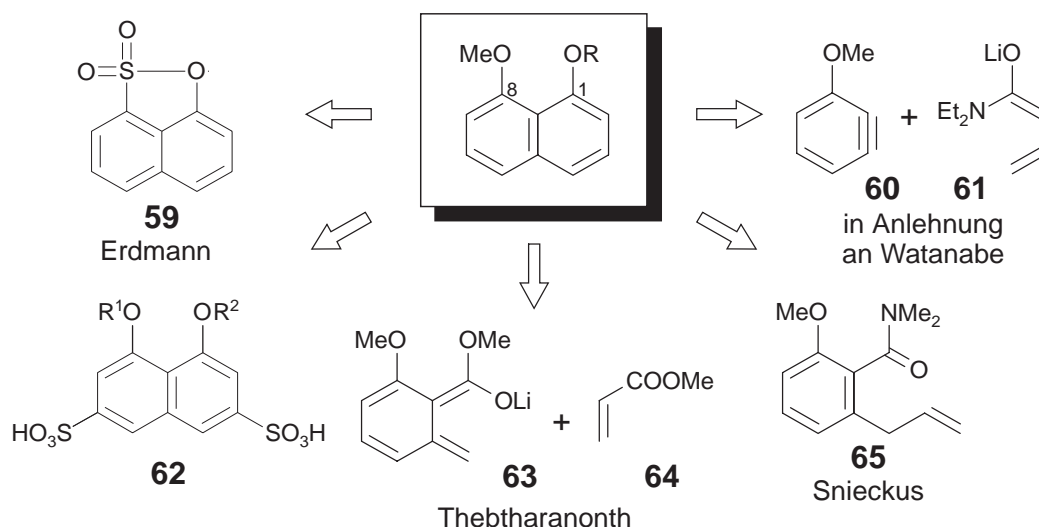


Schema 6. Synthese des Isochinolinbaustein **56** nach Lit.^[131]

Für den Aufbau des 1,8-dioxygenierten Naphthalin-Grundkörpers, der dann ebenfalls durch eine DoM-Reaktion^[152] *ortho* zu einem der Sauerstoffsubstituenten für die Kupplung funktionalisiert werden sollte, boten sich mehrere, teils literaturbekannte Varianten an (s. Schema 7, Seite 62). So lässt sich ausgehend von dem Sulton **59** in einer KOH-Schmelze die 1,8-Dihydroxy-Verbindung darstellen,^[153-155] welche dann entsprechend zum Produkt verethert wird. Aufgrund der drastischen Reaktionsbedingungen wurden andere Routen jedoch anfänglich vorgezogen. Eine Cycloaddition von **60** und **61** zum Naphthalin in Anlehnung an die Synthese von Watanabe^[156] erschien als einfach durchzuführende Alternative. Eine weitere Möglichkeit lag in der Desulfonierung der käuflichen Chromotropsäure (**62**, R¹, R² = H) oder eines seiner Derivate. Die prinzipiellen Zugänge durch Cycloaddition von **63** und **64**, wie von Thebtaranonth *et al.*^[157] beschrieben, sowie die Ringschlussreaktion der Verbindung **65**, wie von Snieckus *et al.*^[158] realisiert, wurden aufgrund der aufwendigen und umständlicheren Eduktsynthesen zurückgestellt.

Die Cycloaddition^[156] von **60** und **61** wurde trotz ihrer eher mittelmäßigen Ausbeuten (22-50 %)^[140,156] als einfache, wegen ihrer konvergenten Natur in einem Schritt durchzuführende

Reaktion erachtet und galt deshalb als am aussichtsreichsten. Die Umsetzung dieser Addition bei der Synthese von Dioncophyllin B (**6**)^[140] zeigten deren Durchführbarkeit und stellten wichtige Erfahrungswerte bezüglich der Reaktionsführung bereit.



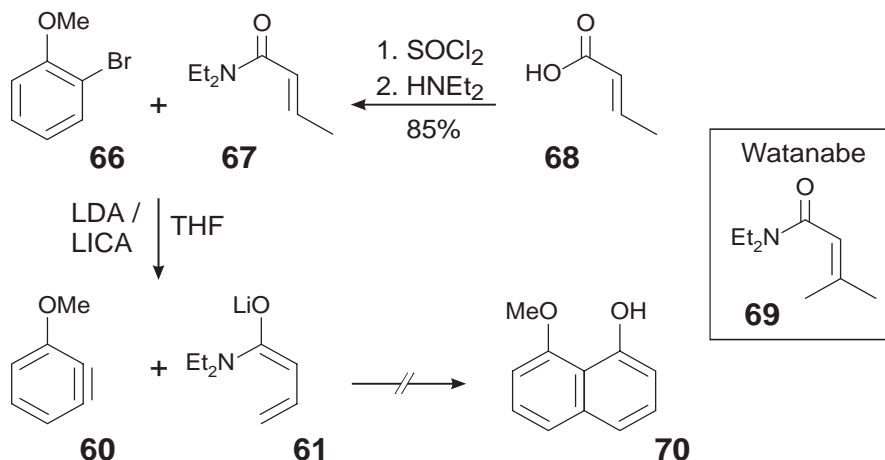
Schema 7. Mögliche retrosynthetische Ansätze für die Synthese von 1,8-dioxygenierten Naphthalinen (R = Schutzgruppen)

5.3 Synthese des Naphthalin-Bausteins

5.3.1 Synthese in Anlehnung an Watanabe *et al.*^[156]

Der Schlüsselschritt der Original-Synthese nach Watanabe *et al.*^[156] ist die Diels-Alder-Reaktion der ausgehend von *ortho*-Bromanisol (**66**) und Seneciosäure-*N,N*-diethylamid (**69**) *in situ* erzeugten Reaktionspartner (s. Schema 8, Seite 63). In Abwandlung hierzu wurde wegen der nicht benötigten Methylgruppe statt des Senecioamids **69** das Crotonsäureamid **67** verwendet. Bei der Umsetzung der beiden Edukte analog Lit.^[156,159] mit LDA (Lithium-Diisopropylamid) wie auch bei einem Versuch mit der stärkeren Base LICA (Lithium-Isopropyl-cyclohexylamid) zeigte sich allerdings keinerlei Produktbildung zu **70**. Lediglich das hydroxylierte Abfangprodukt des Arins **60** mit Wasser, 3-Methoxyphenol, konnte nachgewiesen werden, was entweder auf Probleme bei der Cycloaddition oder bei der Bildung des Lithiumenolats **61** schließen lässt. Möglicherweise liegt das Enolat **61** wegen der im Vergleich zum Senecioamid **69** fehlenden Methylgruppe überwiegend in einer transoiden Form vor und ermöglicht unter den thermischen Bedingungen somit keine Diels-Alder-Reaktion. Eine andere Hypothese wäre ein nucleophiler Angriff des LDA auf das α,β -ungesättigte Diethylamid **67**, wie dies von der Dimethylverbindung bekannt ist,^[160,161] doch konnten in dem Reaktionsgemisch keine Hinweise hierfür gefunden werden. Da

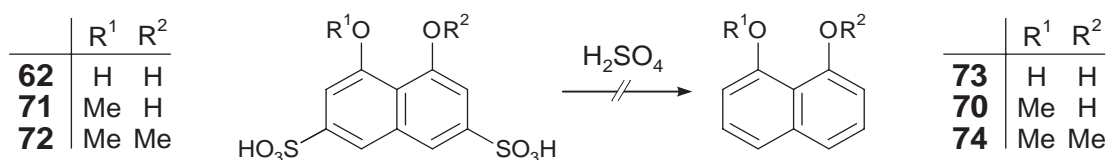
nachweislich^[162] keine Spur des Produkts gefunden wurde, gab man vor weiteren Versuchen und möglichen Optimierungsschritten anderen Reaktionssequenzen den Vorzug.



Schema 8. Synthese von 1-Hydroxy-8-methoxynaphthalin (70) in Anlehnung an Watanabe *et al.*^[156]

5.3.2 Desulfonierung von Chromotropsäure-Derivaten

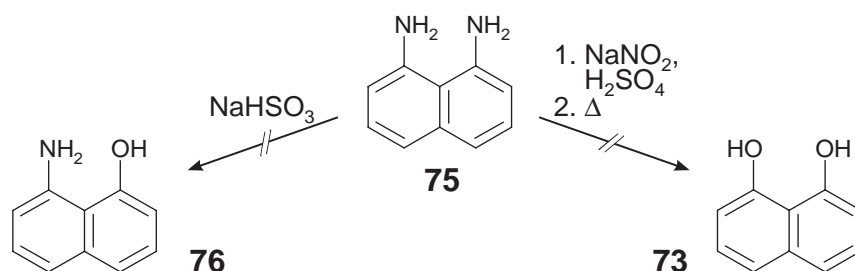
Ein weiterer Ansatz für die Synthese des Naphthalinbausteins bestand in der versuchten Desulfonierung der Chromotropsäure (62) oder eines seiner Methylether-Derivate 71 und 72 unter Standardreaktionsbedingungen mit verdünnter Schwefelsäure (H₂SO₄) in unterschiedlichen Konzentrationen (s. Schema 9, unten). Hierbei zeigte sich jedoch neben der langsamen Zersetzung keine Reaktion des jeweiligen Edukts zum gewünschten Produkt. Versuche, ein möglicherweise gebildetes Produkt direkt mittels einer Wasserdampfdestillation oder durch Überschichtung mit einer organischen Phase (Xylol) aus dem wässrigen Medium zu entziehen, erbrachten das gleiche Resultat. Dieses Ergebnis ist zwar erstaunlich, fügt sich jedoch in Reaktivitätsfolge der Naphthalinsulfonsäuren ein: Bereits bei der Desulfonierung des bezüglich dieser Umsetzung reaktiveren^[163] 1,8-Dihydroxy-4-sulfonsäurenaphthalins muss die Reaktion bei 150 °C im Autoklaven erfolgen.^[164] Derartig drastische Reaktionsführungen wurden hier nicht durchgeführt und die Versuche eingestellt.



Schema 9. Versuchte Hydro-Desulfonierung von Chromotropsäure-Derivaten

5.3.3 1,8-Diaminonaphthalin als Edukt

Ein älterer Bericht^[165] über die Synthese von 1-Amino-8-hydroxynaphthalin (**76**) ausgehend von 1,8-Diaminonaphthalin (**75**) auf dem Wege der Bucherer-Reaktion^[166] erschien als überprüfenswerte, mögliche Alternative. Bei dieser Reaktion war nach erfolgter Diazotierung und anschließender Phenolverkochung der gewünschte Naphthalin-Baustein erhalten worden (Schema 10, unten). Jedoch konnte die gewünschte Zielverbindung aufgrund des entstandenen komplexen Produktgemisches nicht identifiziert werden. Ebenso verlief der Versuch einer direkten Diazotierung^[167] beider Aminofunktionen mit anschließender Phenolverkochung ergebnislos. Die unter den gleichen Bedingungen ebenso beschriebene^[168] Bildung der Triazin-Verbindung wurde nicht beobachtet. Auf weitere Versuche wurde wegen der erhaltenen komplexen Produktgemische zu Gunsten der folgenden Synthesemöglichkeit verzichtet.

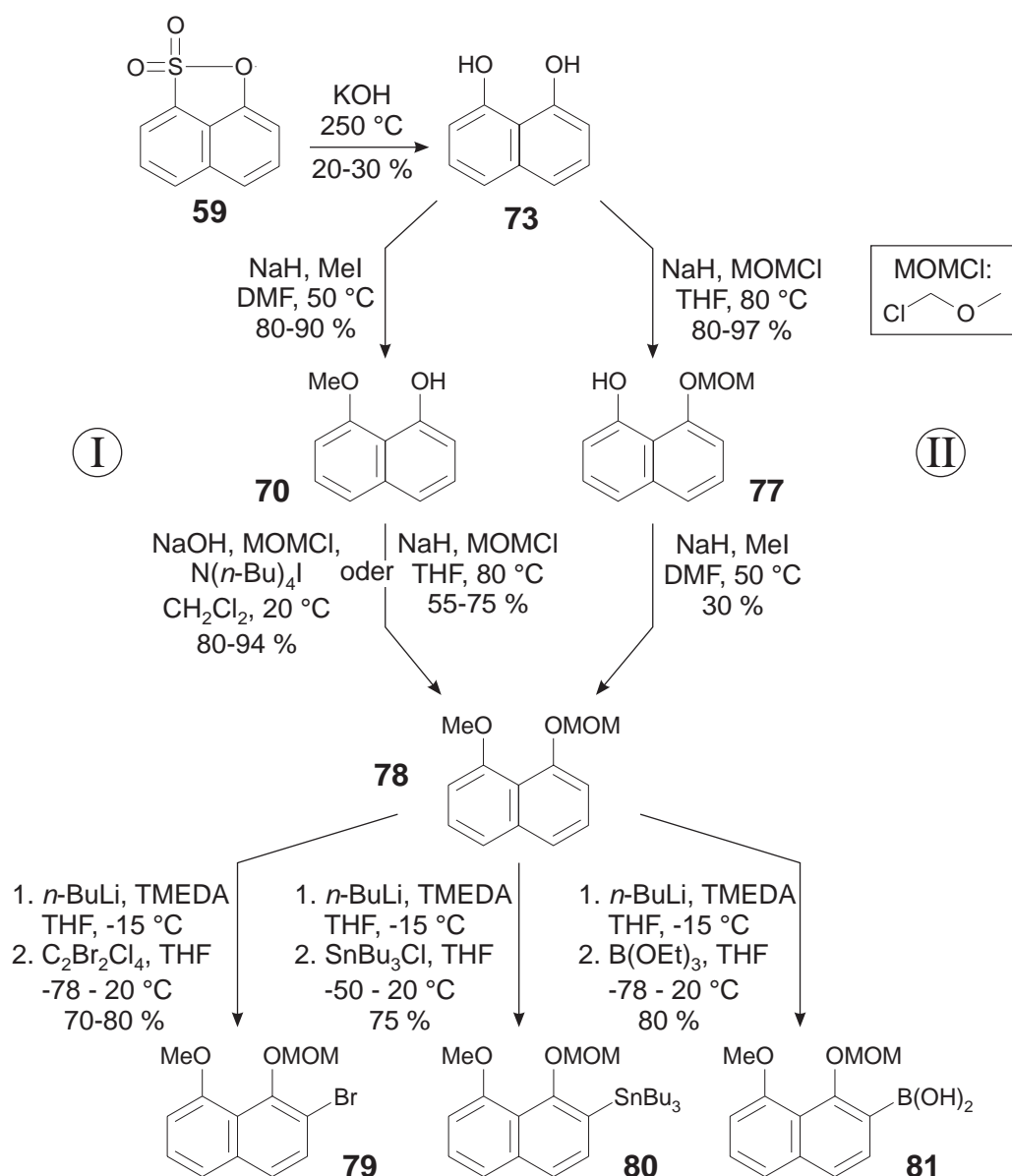


Schema 10. Versuchte Synthese des Naphthalin-Bausteins ausgehend von 1,8-Diaminonaphthalin (**75**)

5.3.4 Synthese nach Erdmann

Die Synthese von 1888 nach Erdmann^[153] ist das einzige einstufige Verfahren zur Synthese von 1,8-Dihydroxynaphthalin (**73**), das in der Literatur trotz der harschen Reaktionsbedingungen vermehrt zu finden ist. Andere einfache Zugangsmöglichkeiten scheint es, was auch die vorangegangenen Versuche zeigen, offensichtlich nicht zu geben. Die Umsetzung des käuflichen Sultons **59** (s. Schema 11, Seite 65) in einer KOH-Schmelze ergab das gewünschte Produkt 1,8-Dihydroxynaphthalin (**73**) in moderaten Ausbeuten von 20-30 %. Die teilweise in der Literatur publizierten^[155] Ausbeuten von 86 % nach säulenchromatographischer Reinigung konnten nicht nachvollzogen werden. Zwar bestätigte sich auch nicht die von einigen Autoren in diesem Maße beschriebene Empfindlichkeit^[169] der Substanz, doch führten auch unsere chromatographischen Aufreinigungsversuche bei einem hohen Prozentsatz des eingesetzten Materials zur Zersetzung und irreversiblen Adsorption an dem Trägermaterial. Die Reinigung erfolgte deshalb durch Kristallisation. Die Synthese des für die *ortho*-Funktionalisierung benötigten Bausteins **78** kann prinzipiell auf zwei Wegen

erfolgen. Variante I (s. Schema 11 links, unten) beginnt mit der Methylierung einer Sauerstofffunktion zu **70** und führt im anschließenden zweiten Schritt den für die DoM-Reaktion^[152] benötigten dirigierenden Substituenten an der zweiten Sauerstoff-Funktion ein. Bei Variante II (s. Schema 11 rechts, unten) wird bereits im ersten Schritt die dirigierende Gruppe angebracht und im zweiten Schritt die verbleibende freie OH-Funktion methyliert. Beide Varianten wurden wegen der positiven Erfahrung bei der Synthese von Dioncophyllin B^[140] (**6**) mit der sehr gut dirigierenden MOM-Gruppe (MOM: Methoxymethoxy) realisiert.



Schema 11. Synthese der Naphthalin-Bausteine ausgehend von Sulfolon **59**

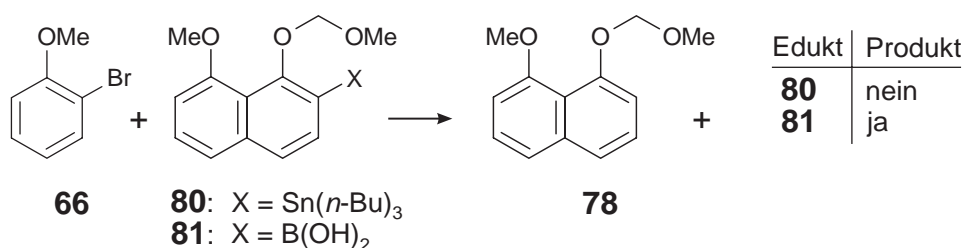
Die Synthese der methylierten Bausteine **70** und **78** wurde in ersten Versuchen mit dem weniger gefährlichen Methylierungsmittel *p*-Toluolsulfonsäuremethylester erprobt. Hierbei

zeigte sich jedoch keinerlei Reaktion zum Produkt, so dass nach Optimierung die in Schema 11 (Seite 65) gezeigten Reaktionsbedingungen den gewünschten Umsatz ergaben. Probleme bereitete die Reinigung der mono-funktionalisierten Produkte **70** und **77**, bei denen sich während der chromatographischen Reinigung ein hoher Anteil an irreversibler Adsorption auf dem Säulenmaterial ergab. Die Lösung erreichte man durch eine direkte weitere Umsetzung der Reaktionsgemische zum chromatographisch stabilen **78**, das jetzt problemlos zu reinigen war. Während bei beiden Varianten die Einführung des ersten Substituenten in sehr guten Ausbeuten mit teilweise deutlichen Verbesserungen gegenüber der Literatur erzielt werden konnte (Lit.^[170] 25 % für **77**), störte die MOM-Schutzgruppe in **77** offenbar teilweise die Methylierung der zweiten Sauerstofffunktion, was in Reaktionsausbeuten von 30 % resultierte. Variante I ist somit die deutlich bessere Alternative mit Ausbeuten von 50-75 % für die Umsetzung in THF oder mit bis zu 94 % unter Phasen-Transfer-Bedingungen, die jedoch nur bei kleineren Eduktmengen bis 100 mg problemlos verläuft. Die einzige bislang bekannte Synthese des Bausteins **78** von Tatsuta und Nakata *et al.*^[171] konnte leider nicht nachvollzogen werden. Mit dem jetzt zugänglichen Naphthalin-Baustein konnte nun mittels DoM-Reaktion^[152] die Einführung des Kupplungspartners *ortho* zur MOM-Gruppe erfolgen. Die Reaktion wurde zunächst mit Dibromtetrachlorethan (C₂Br₂Cl₄) als Elektrophil für den Abfang der *in situ* gebildeten *ortho*-lithiierten Spezies gewählt, zum einen um einen ebenfalls potenziellen Kupplungs-Baustein herzustellen, zum anderen um in der Evaluierungsphase auf die zur Kupplung benötigten giftigen Organo-Zinn-Reagentien^[144] verzichten zu können. Als essenziell erwies sich bei der Reaktion die Konzentration der Reaktionsmischung. So zeigte sich bei der zwar geringen, aber durchaus gängigen^[151] Konzentration von 0.02 mmol ml⁻¹ keinerlei Umsatz, während unter ansonsten unveränderten Reaktionsbedingungen bei 0.40 mmol ml⁻¹ die Reaktion mit guten Ausbeuten ablief. Durch den Austausch des H-Atoms gegen das Br-Atom trat bereits das aus Dioncophyllin E (**37**) bekannte ABX-Spektrum der drei benachbarten aromatischen Protonen im gegenüberliegenden aromatischen Ring des Naphthalinteils auf (s. Kap. 4.3.2, Seite 39). Die für die Bromierung zu **79** gefundenen Bedingungen konnten auch auf die Herstellung der Boronsäure **81** und nach leichter Abwandlung auch auf die Stannylierung zu **80** erfolgreich übertragen werden mit Ausbeuten im Bereich von 70-80 %.

5.4 Kupplung der Bausteine

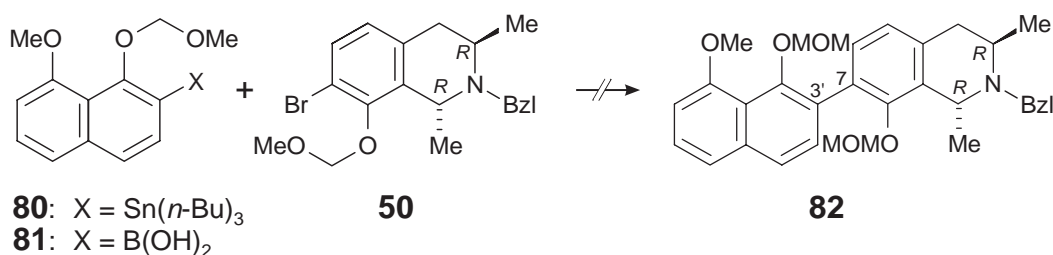
Die Kupplung wurde aufgrund der Komplexität dieser Reaktion und der wertvollen Bausteine zunächst an einem Modellsystem erprobt. Eine Umsetzung der stannylierten Verbindung **80** in Analogie zu der bei der Synthese von Dioncophyllin B^[140] durchgeführten Stille-Kupplung

mit *ortho*-Bromanisol (**66**) ergab jedoch nur das Hydrodestannylierungsprodukt **78** (s. Schema 12, unten). Dies zeigt zwar, dass der verwendete Katalysator Tetrakis-(triphenylphosphan)-palladium(0) in die Kohlenstoff-Zinn-Bindung insertiert, doch erfolgt der eigentliche Kupplungsschritt nicht. Aus diesem Grund versuchte man eine Suzuki-Kupplung mit dem borinierten Baustein **81** und *ortho*-Bromanisol (**66**). Hierbei beobachtete man neben der hauptsächlich ablaufenden Hydrodeboronierung auch die Bildung eines neuen Produktes (nach DC), doch war dessen Reinigung aufgrund seines sehr ähnlichen chromatographischen Verhaltens im Vergleich zu **78** nicht möglich. Aufgrund einer prinzipiell ablaufenden Reaktion zu einem Produkt mit den erwarteten chromatographischen Eigenschaften des Kupplungsproduktes und der ohnehin meist nicht direkt übertragbaren Reaktionsbedingungen auf das eigentliche Reaktionssystem wurde auf eine Optimierung dieser Umsetzung verzichtet und die Reaktion direkt mit den authentischen Komponenten **81** und **50** erprobt.



Schema 12. Erprobte Modellkupplung der Bausteine **80** und **81**

Die Umsetzung von **81** mit **50**^[172] unter den bei dem Modellsystem verwendeten Reaktionsbedingungen ergaben jedoch neben der Bildung des Hydrodeboronierungsproduktes und Zersetzungsartefakten kein gewünschtes Produkt (Schema 13, unten), auch zeigten veränderte Lösungsmittelsysteme sowie Variationen der Temperatur und der Konzentrationen keinen Einfluss auf dieses Ergebnis. Dieses Problem war auch bei der Synthese von Dioncophyllin B (**6**) beobachtet worden, doch wurde dort die Vermutung geäußert,^[159] dass



Schema 13. Versuchte Kupplung zu **82**

die geplante *in-situ*-Generierung der Boronsäure nicht erfolgt. Durch die hier gemachte Beobachtung, d.h. die schrittweise Reaktionsführung mit Isolation der Boronsäure **81**, scheint das Problem der Reaktion im eigentlichen Kupplungsschritt verankert zu liegen. Eine nähere Untersuchung wurde jedoch zu Gunsten weiterer Kupplungsvarianten nicht vorgenommen.

Die geplante Kupplung des stannylierten Bausteins **80** und des auch bei der Synthese des Dioncophyllins B (**6**)^[140] erfolgreich eingesetzten bromierten Isochinolins **50**^[172] nach dem Verfahren von Stille^[141,144] erwies sich jedoch auch als problematisch (Schema 13, Seite 67). So zeigte sich bei Verwendung von Bis-(triphenylphosphan)-palladium(II)-chlorid neben der langsamen Zersetzung nur die Bildung des Hydrodestannylierungsproduktes **78**. Diese unerwünschte Reaktion wurde auch beim Einsatz von Tetrakis-(triphenylphosphan)-palladium(0) leider nur beschleunigt, ebenso erbrachte der von Beller beschriebene binäre Palladium-Katalysator^[173] trotz der höheren Stabilität des Katalysatorsystems^[174] keinerlei Veränderung der Befunde. Unterschiedliche Lösungsmittel und Reaktionstemperaturen hatten keinen Einfluss auf dieses Ergebnis. Somit gelang es auf dieser Stufe nicht, die beiden Bausteine zu verknüpfen, was, trotz der oft demonstrierten hohen Anwendungsbreite^[144] dieser Methodiken, die Empfindlichkeit dieser C-C-Verknüpfungsreaktionen demonstriert. Das gleiche Resultat zeigte sich^[175] so z.B. auch bei dem sehr ähnlichen System eines 1,4,5-trioxygenierten Naphthalins. Dort zeigten sich bereits bei der Stannylierung in *ortho*-Position zur Sauerstofffunktion (C-6), was im Rahmen dieser Arbeit sehr gut verlief, große Probleme mit Ausbeuten im Bereich von 7-10 %. Die Palladium-katalysierte intramolekulare Kupplung dieses Bausteins mit verschiedenen Katalysator-Systemen und Reaktionsbedingungen konnte ebenfalls nicht realisiert werden. Hierfür wurden sterische Gründe durch den *ortho*-ständigen Methoxysubstituenten angeführt, was jedoch durch die erfolgreiche Verknüpfung zum Dioncophyllin B (**6**)^[140] widerlegt wurde. Diese offenbar widersprüchlichen Reaktionsverläufe an sehr ähnlichen Molekülen spiegeln deutlich die Empfindlichkeit des hier involvierten Systems wider. Eine andere Möglichkeit wäre die ebenfalls Palladium-katalysierte Negishi-Kupplung,^[144] bei der an Stelle des Stannans eine Organo-Zink-Verbindung verwendet wird, wie sie bei einer ebenfalls versagenden Stille-Kupplung im Falle des Michellamins B (**9**) erfolgreich durchgeführt wurde.^[176] Doch erscheint die Vorfixierung der beiden Kupplungsbausteine, wie sie im Rahmen der Lacton-Methodik^[132] (s. Kap. 5.2, Seite 57) erfolgt, als einfacher, gangbarer Weg und überlegene Alternative zu der hier eingesetzten intramolekularen Kupplung für die zukünftige Synthese des Dioncophyllin E (**37**).

6 Die absolute Konfiguration von Isoshinanolon

6.1 Kenntnisstand

Isoshinanolon^[95] (**26**), ein Vertreter der Substanzklasse der Tetralone, wurde bislang aus verschiedensten Pflanzenfamilien isoliert. So findet man **26** neben dem Auftreten in den Dioncophyllaceae^[94,96,97,177] (s. Kap. 4.2, Seite 36) und den eng verwandten Ancistrocladaceae^[9,178-180] auch in den Familien der Ebenaceae,^[95,181-183] Iridaceae,^[184] Plumbaginaceae^[185-188] und Nepenthaceae.^[189] Der von Tezuka *et al.*^[95] erstmals aus *Diospyros maritima* (Ebenaceae) isolierte Naturstoff bildet sich auch vermehrt bei chemischen, physikalischen oder biotischen Stress in Zellkulturen von *Ancistrocladus heyneanus*^[190,191] und *Triphyophyllum peltatum*.^[192] Unserem Arbeitskreis gelang kürzlich, durch die Verfütterung von ¹³C-markiertem Acetat an Zellkulturen von *A. heyneanus*, der Beweis der acetogenen Biosynthese des Naphthochinons Plumbagin (**27**) und seiner reduzierten Form, des Isoshinanolons (**26**) (s. Abb. 42, unten).^[190] Diese aus Acetateinheiten aufgebauten Moleküle durchlaufen bei ihrer Biosynthese eine polyketidische Zwischenstufe, welche auch bei der außergewöhnlichen Biosynthese der nahen verwandten Naphthylisochinolin-Alkaloide durchschritten wird und somit die enge Beziehung dieser Substanzklassen zueinander aufzeigt.^[12]

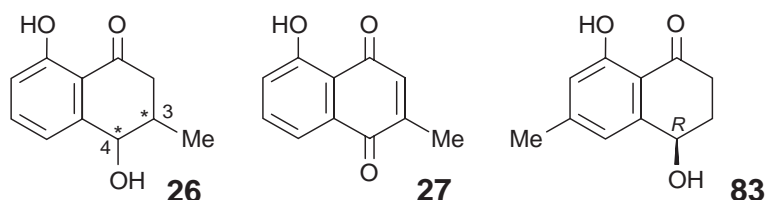


Abb. 42. Die Tetralone Isoshinanolon (**26**) und Shinanolon (**83**) sowie das Naphthochinon Plumbagin (**27**)

Trotz der zahlreichen Funde von *cis*- und *trans*-**26** im Pflanzenreich wurde doch erstaunlich wenig zur Bestimmung der absoluten Konfiguration der beiden Stereozentren an C-3 und C-4 unternommen. Die erste Zuordnung erfolgte vom Entdecker der Verbindung^[95] durch CD-Spektren-Vergleich der Dibenzolat-Derivate von Isoshinanolon (**26**) und dem strukturell eng verwandten Shinanolon (**83**). Aufgrund der mittels der Exciton-Chirality-Methode^[192] ermittelten *4R*-Konfiguration von Shinanolon wurde Isoshinanolon (**26**) ebenfalls eine *4R*-Konfiguration zugewiesen. Ausgehend von C-4 und der aus den NMR-Kopplungskonstanten des Protons an C-4 ersichtlichen relativen *cis*-Anordnung der beiden Substituenten ergab sich somit eine absolute Konfiguration von *3R,4R* für dieses aus *D. maritima* isolierte *cis*-Isoshinanolon (**26a**) (s. Abb. 43, Seite 70). Aufbauend auf dieser Untersuchung und dem

dabei gemessenen Drehwert von **26a** ($[\alpha]_D = -7^\circ$) erfolgten alle weiteren Konfigurationszuordnungen bezogen auf diesen Drehwert, trotz der bereits von Tezuka *et al.*^[95] selbst als unsicher eingestuften stereochemischen Bestimmung: Die Zuordnung durch CD-Vergleich solch unterschiedlicher Systeme mit dem zusätzlichen Stereozentrum an C-3 in direkter Nachbarschaft zum Chromophor im Falle von **26** ist sehr fraglich.

Aufgrund der publizierten Daten scheint die Mehrzahl der Pflanzen vornehmlich das *cis*-Isomer (**26a**) zu bilden (11 von 15), doch schwanken hierfür die berichteten Drehwerte zwischen -7° ^[95] und $+200^\circ$,^[97] so dass eine sichere Konfigurationszuweisung nur basierend auf diesem Wert teilweise nur eingeschränkt oder gar nicht möglich war (s. Tab. 4, Seite 71). Einige Autoren führten dies auf eine Verunreinigungen mit dem jeweiligen Enantiomer zurück,^[183,184] was mit zu den unterschiedlichen und verwirrenden Namensgebungen für die vier möglichen Stereoisomere führte. So nannte man *trans*-3*R*,4*S*-Isoshinanolon (**26b**) auch „*epi*-Isoshinanolon“,^[182] die Enantiomere (*cis*-3*S*,4*S*) (*ent*-**26a**) „*neo*-Isoshinanolon“^[184] und wieder „*epi*-Isoshinanolon“^[186] (*trans*-3*S*,4*R*) (*ent*-**26b**).

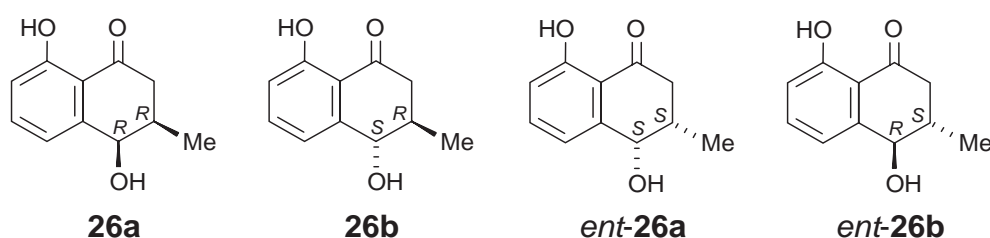


Abb. 43. Die vier möglichen Stereoisomere von Isoshinanolon (**26**)

Aufgrund der großen Schwierigkeiten bei der Zuordnung der absoluten Konfiguration durch Drehwertbestimmung und des häufigen Vorkommens dieses wichtigen Naturstoffes sollte im Rahmen dieser Arbeit eine sichere Analyse der vier stereoisomeren Formen von Isoshinanolon (**26**) etabliert werden.

Tab. 4. In der Literatur publizierte stark abweichende Drehwerte für Isoshinanolon (**26**) aus verschiedenen Pflanzenquellen

Pflanze	relative Konfiguration	absolute Konfiguration ^a	$[\alpha]_D$ (Bedingungen)
Ancistrocladaceae			
<i>Ancistrocladus barteri</i> ^[9,178]	<i>cis</i>	3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ^b [95]	+20 (CHCl ₃)
<i>Ancistrocladus cochinchinensis</i> ^[179]	<i>cis</i>	3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ^c [186]	+25.4 (25 °C; CHCl ₃ ; <i>c</i> = 0.78)
<i>Ancistrocladus cochinchinensis</i> ^[180]	<i>cis</i>	3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ^{c,d} [95,96]	positive ^e
Dioncophyllaceae			
<i>Dioncophyllum thollonii</i> ^[97]	<i>cis</i>	„Zuordnung nicht möglich“ ^[95]	+200 (CHCl ₃ ; <i>c</i> = 1)
<i>Habropetalum dawei</i> ^[94,96]	<i>cis</i>	3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ^b [95]	+33 (18 °C; CHCl ₃ ; <i>c</i> = 0.97)
Ebenaceae			
<i>Diospyros canaliculata</i> ^[182]	<i>cis/trans</i> ^f	3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> /3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ^[95] (1:1)	+16 (20 °C)
<i>Diospyros maritima</i> ^[95]	<i>cis</i>	3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ^{b,g}	-7 (18 °C; CHCl ₃ ; <i>c</i> = 0.078)
<i>Diospyros samoensis</i> ^[183]	<i>cis</i>	racemisch?	0 (CHCl ₃ ; <i>c</i> = 1)
<i>Diospyros siamang</i> ^[181]	<i>cis</i>	3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ^d	^e
<i>Diospyros wallichii</i> ^[181]	<i>cis</i>	3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ^d	^e
Iridaceae			
<i>Aristea ecklonii</i> ^[184]	<i>cis</i>	3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ^b (teilweise racemisch?) ^[95,185]	+24 (27 °C; CHCl ₃)
Nepenthaceae			
<i>Nepenthes thorelii</i> ^[189]	<i>cis</i>	3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ^{c,d} [95,186]	+20.2 (25 °C; CHCl ₃ ; <i>c</i> = 0.2)
Plumbaginaceae			
<i>Ceratostigma minus</i> ^[188]	<i>cis</i> und <i>trans</i>	3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> und 3 <i>S</i> ,4 <i>R</i> (1:8) ^d [186]	^e
<i>Ceratostigma willmottianum</i> ^[187]	<i>cis</i> und <i>trans</i>	3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> und 3 <i>S</i> ,4 <i>R</i> (1:15) ^d [186]	^e
<i>Plumbago scandens</i> ^[186]	<i>cis/trans</i> ^f	3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> /3 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ^c (4:1) ^[95,185]	+19.7 (CHCl ₃)
<i>Plumbago zeylanica</i> ^[185]	<i>cis</i>	3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ^g [95]	+24.17 ^e

^a Zuordnung durch Vergleich der Daten mit denen in der angegebenen Literatur publizierten.

^b Vorläufige oder unsichere Zuordnung (z.B. wegen widersprüchlicher oder uneinheitlicher α_D -Werte).

^c Keine weiteren Angaben.

^d Diastereomere nicht getrennt.

^e Konfiguration nicht beschrieben, nur grafisch wiedergegeben.

^f Zuordnung durch CD-Untersuchung des Dibenzoat-Derivats.

^g Entsprechende Daten oder Bedingungen nicht angegeben.

6.2 Die relative Konfiguration

Die relative Konfiguration der beiden Substituenten im aliphatischen Molekülteil von Isoshinanolon (**26**) lässt sich anhand der Kopplungskonstanten zwischen dem Proton an C-4 und dem an C-3 leicht feststellen.

Im Falle der *cis*-Verbindung (**26a**) besitzt 4-H eine Kopplungskonstante im Bereich von $J_{3,4} = 2.4\text{-}3.0\text{ Hz}$,^[95-97,177,179,181-186,193] was auf eine axial-äquatorial- oder äquatorial-axial-Stellung der beiden Protonen hinweist (s. Abb. 44 links, unten).^[194] Bei einer durchgeführten NOESY-Messung^[195] und der Berechnung^[195] der Protonen-Protonen-Abstände durch Volumenintegration zeigte sich, dass die beiden möglichen Halbsesselformen (äquatoriale oder axiale Stellung der 3-Methylgruppe, **26a** oder **26a'**) von *cis*-Isoshinanolon in einem Konformationsgleichgewicht von 85 % zu Gunsten der Anordnung mit äquatorial-ständiger Methylgruppe vorliegt. Eine Berechnung der Kopplungskonstanten für die beiden Grenzfälle der *gauche*-Anordnung (60°) und der antiperiplanaren Anordnung ergab Werte von $J_{3,4} = 1.7\text{ Hz}$ und $J_{3,4} = 10.4\text{ Hz}$. Mit der in deuteriertem Methanol tatsächlich beobachtbaren Kopplungskonstante von $J_{3,4} = 2.9\text{ Hz}$ lässt sich auch auf diesem Weg ein Gleichgewicht zwischen Hauptkonformer mit äquatorialer Methylgruppe und Nebenkonformer von 85:15 berechnen.

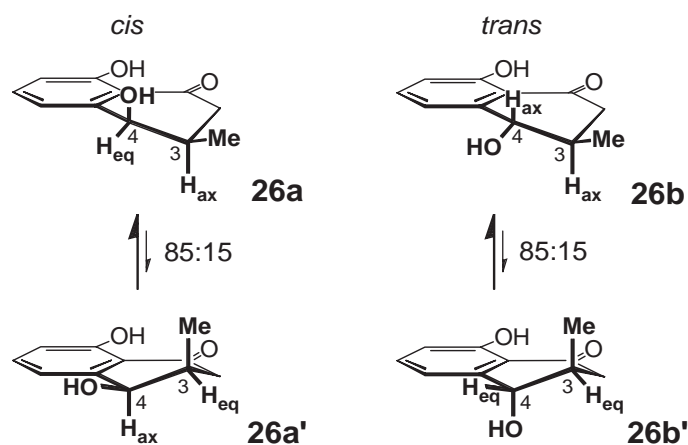


Abb. 44. Vorzugsform von *cis*- (**26a**) und *trans*-Isoshinanolon (**26b**) am Beispiel der 3*R*-Verbindungen

Die *trans*-Verbindung (**26b**) weist eine Kopplungskonstante zwischen 3-H und 4-H in der Größenordnung von $J_{3,4} = 7.5\text{-}8.9\text{ Hz}$ ^[95,177,182,186,193] auf, was einer diaxialen Anordnung der Protonen entspricht. Auch in diesem Fall ergab die Kalkulation der Protonen-Abstände und die Berechnung der Grenzkopplungskonstanten ($J_{3,4\text{ gauche}} = 3.4\text{ Hz}$, $J_{3,4\text{ antiperiplanar}} = 10.4\text{ Hz}$)

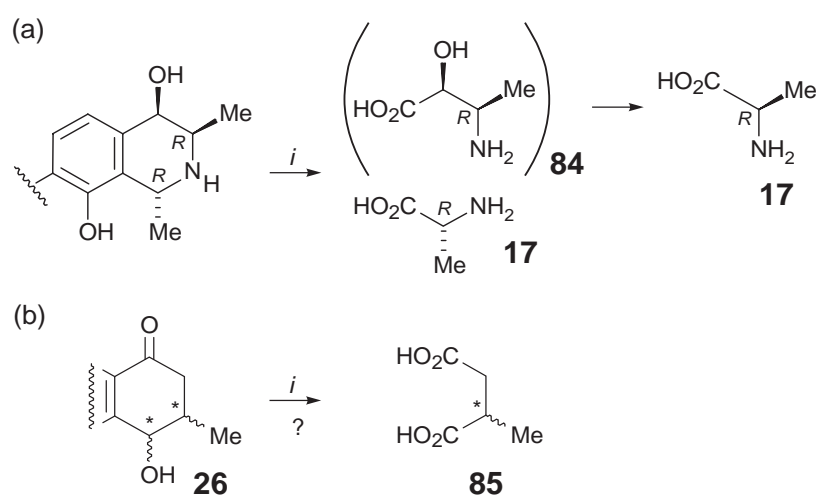
eine Hauptkonformeranteil (**26b**) von 85 % zu Gunsten der äquatorial-ständigen Methylgruppe (Abb. 44 rechts, Seite 72).

Diese Messungen wurden mit enantiomerenreinem Material sowie racemischen Gemischen bekannter absoluter Konfiguration beider Stereozentren (s. Kap. 6.3, unten) durchgeführt und belegen somit deutlich die Richtigkeit der Zuordnung der relativen Konfiguration anhand der Kopplungskonstanten. Außerdem bestätigen sie die schon vorher oft getroffene Annahme einer äquatorial-ständigen Methylgruppe an C-3 als Hauptkonformer sowohl in der *cis*- als auch in der *trans*-Konfiguration.

6.3 Die absolute Konfiguration von Isoshinanolon (26)

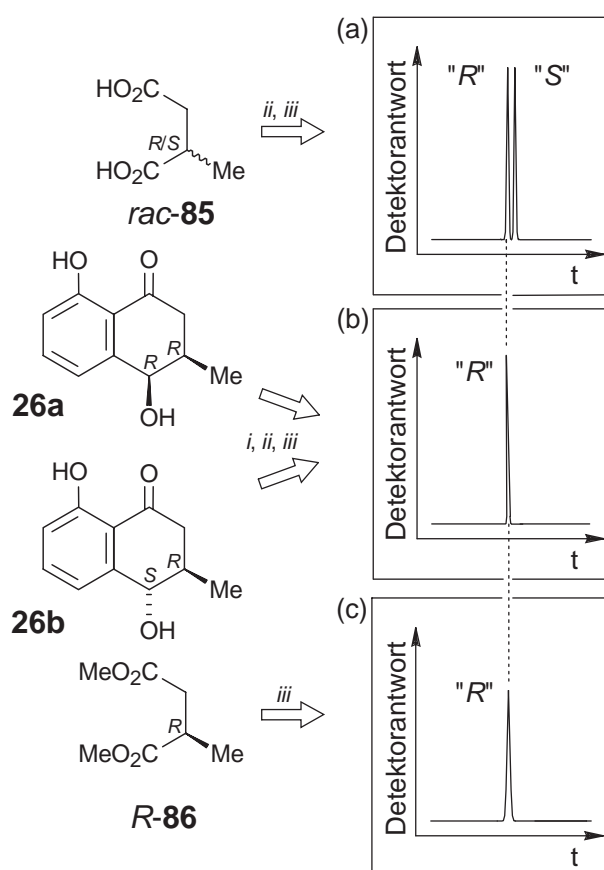
6.3.1 Der chemische Abbau

Wie bereits in Kap. 2.3.2 (Seite 13) beschrieben, wurde in unserem Arbeitskreis eine Methodik zur Bestimmung der absoluten Konfiguration von 1,3-dimethylierten Tetrahydroisochinolininen durch Ruthenium-katalysierten oxidativen Abbau entwickelt^[53] und bis zur Anwendbarkeit im Submilligramm-Maßstab verbessert.^[52] Bei der Analyse des Naphthylisochinolin-Alkaloids Dioncophyllinol B,^[85,115] welches einen 4-Hydroxysubstituenten aufweist, zeigte sich, dass wie erwartet^[196,197] nicht 2-Hydroxy-3*R/S*-aminobuttersäure (**84**) als Abbauprodukt auftrat, sondern die um eine C₁-Einheit verkürzte Säure, das Alanin (**17**) (s. Schema 14a, unten). Daher war auch beim Abbau von Isoshinanolon (**26**) damit zu rechnen, dass aus dem Tetralon die leicht zu analysierende 2-Methylbernsteinsäure (**85**) gebildet wird (s. Schema 14b).



Schema 14. Oxidativer Ruthenium-katalysierter Abbau bei 4-*O*-substituierten Verbindungen (a) und der mögliche Abbauweg von Isoshinanolon (b)

Abbauversuche^[198] von M. Michel und M. Münchbach mit partialsynthetisch^[102,193] hergestelltem racemischem *trans*-Isoshinanolon (**26b**) bestätigten diese Vermutung und ergaben nach Veresterung zwei an chiraler GC-Phase gut trennbare Peaks, deren absolute Konfiguration durch Vergleich mit käuflichem authentischem Material eindeutig als 2*R*- und 2*S*-Methylbernsteinsäuredimethylester (**86**) zuordenbar waren. Diesem oxidativen Abbauverfahren unterzog man die aus *D. thollonii* isolierten (s. Kap. 4.2, Seite 36) *cis*- und *trans*-Isoshinanolone. Mittels GC-MS-Analyse wurde das veresterte Abbauprodukt Methylbernsteinsäuredimethylester von beiden Diastereomeren ausschließlich in *R*-Konfiguration (*R*-**86**) detektiert. Daraus ließ sich schließen, dass das in *D. thollonii* gebildete Isoshinanolon (**26**) in jeweils enantiomerenreiner 3*R*-Konformation vorliegt, entsprechend einem *cis*-3*R*,4*R*- (**26a**) und *trans*-3*R*,4*S*-Isoshinanolon (**26b**).



Schema 15. Oxidativer Abbau von Isoshinanolon (**26**) und Vergleich mit Referenzverbindungen; (i) RuCl_3 , H_2O , NaIO_4 (ii) MeOH , SOCl_2 (iii) GC-MS-Analyse an chiraler Phase

Mit diesem oxidativen Abbauverfahren^[198] gelang es, erstmals zweifelsfrei die absolute Konfiguration von Isoshinanolon (**26**) zu bestimmen.

6.3.2 Die HPLC-Analytik

Aufgrund des häufigen Vorkommens von Isoshinanolon in der Natur und des sicherlich nicht jedermann zugänglichen oxidativen Abbaus bot sich mit der nun bekannten absoluten Konfiguration die einmalige Möglichkeit, ein schnelles und einfaches Analyseverfahren auf Grundlage der HPLC zu etablieren. Das Ziel war es dabei, auf einer kommerziell erhältlichen und damit reproduzierbaren und leicht verfügbaren chiralen Phase eine definierte Zuordnung der Elutionsreihenfolge der vier Stereoisomere zu erhalten, die jederzeit leicht nachvollziehbar ist.

Dies gelang an der chiralen Phase „Chiralcel OD-H“ (Fa. *Daicel*) mit *n*-Hexan/*i*-Propanol (98:2) als Eluent. Im ersten Lauf wurden die beiden aus *D. thollonii* isolierten und durch den Abbau bekanntermaßen jeweils enantiomerenreinen Verbindungen *cis*-3*R*- und *trans*-3*R*-Isoshinanolon erst einzeln und dann gemeinsam injiziert (s. Abb. 45a, Seite 76). Im zweiten Lauf wurden die aus Plumbagin (**27**) partialsynthetisch^[102,193] hergestellten und an achiraler Phase getrennten, jeweils racemischen Diastereomerenpaare von Isoshinanolon erst einzeln und dann ebenfalls gemeinsam, d.h. alle vier möglichen Stereoisomere, chromatographiert (s. Abb. 45b). Im entscheidenden dritten Lauf wurden die beiden Gemische (Abb. 45a und b) gleichzeitig auf die Säule aufgegeben. Durch die perfekte Koelution, d.h. durch die Erhöhung des zweiten und des vierten Peaks (s. Abb. 45c), gelang nun die eindeutige Zuordnung der absoluten Konfiguration zu dem jeweiligen Peak und durch die vorherige getrennte Injektion der Diastereomeren die zweifelsfreie Zuweisung aller vier Stereoisomeren zu den entsprechenden Signalen. Die Elutionsreihenfolge der vier Naturstoffe an dieser Phase ergab sich somit zu *cis*-3*S*-, *cis*-3*R*-, *trans*-3*R*- und *trans*-3*S*-Isoshinanolon (*ent*-**26a**, **26a**, **26b** und *ent*-**26b**).

Mit Hilfe des leicht verfügbaren Referenzgemisches der vier Isoshinanolone, das durch eine kurze und simple Reduktion aus dem käuflichen Plumbagin (**27**) herstellbar ist, und der bekannten Elutionsreihenfolge an der weit verbreiteten und bekannten Phase ist es nun möglich, eine schnelle Zuordnung der absoluten Konfiguration eines unbekanntes Isoshinanolons (**26**) oder einer Mischung zu treffen. Das erstellte HPLC-Verfahren umgeht damit den zeitaufwendigen chemischen Abbau mit anschließender GC-Analytik und gibt eine praktikable und einfache Analysenmöglichkeit an die Hand.

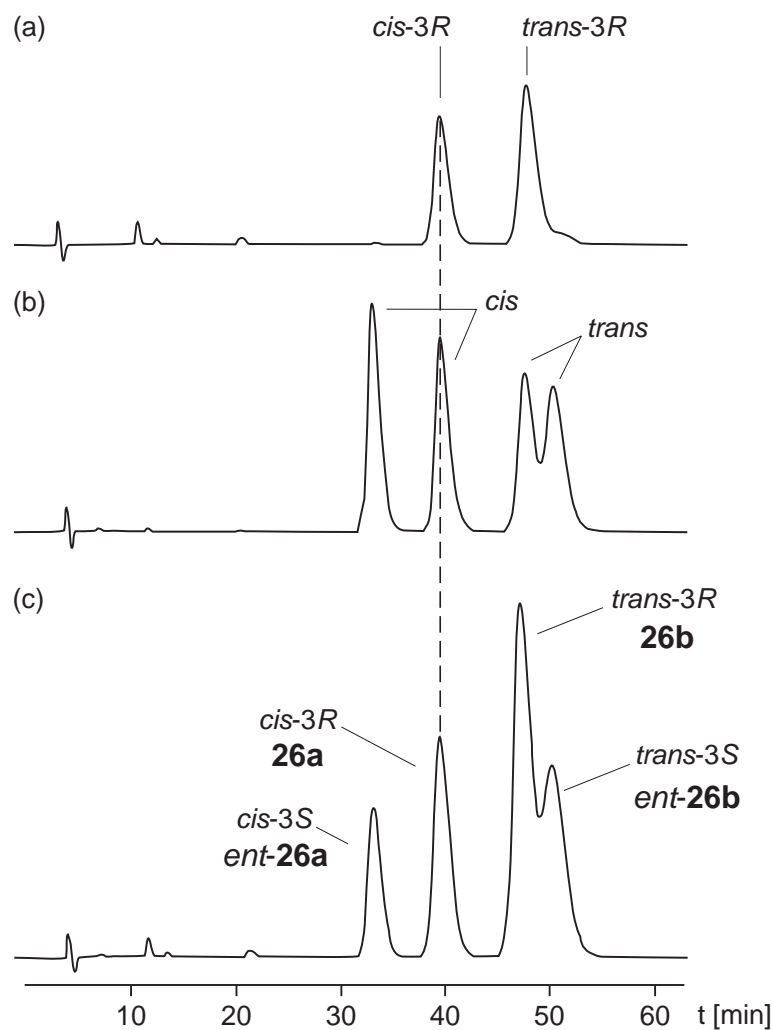


Abb. 45. HPLC-Chromatogramme der aus *D. thollonii* isolierten enantiomerenreinen Isoshinanolone (a), der partialsynthetisch hergestellten Diastereomeren-gemische (b) und des Zuordnungslaufes zu *ent-26a*, **26a**, **26b** und *ent-26b* durch Koelution an chiraler Phase

6.3.3 CD-Spektroskopie von Isoshinanolon (**26**)

Die erfolgreiche Trennung und die Bestimmung der absoluten Konfiguration aller vier Isoshinanolone erlaubte nun auch die Messung und vor allem die erstmalige Zuordnung von CD-Spektren zu diesen Verbindungen. Dies ermöglichte nicht nur die Abrundung der strukturellen Charakterisierung, sondern gab auch ein wichtiges Hilfsmittel zur Aufklärung der absoluten Stereo-Struktur an die Hand, was im speziellen Fall ohne jegliche chirale Trennung möglich ist.

Für die Vermessung von CD-Spektren werden naturgemäß die enantiomerenreinen Analyten benötigt. Die etablierte chromatographische Trennung an chiraler Phase war zwar für eine analytische Charakterisierung ausreichend, stellte jedoch für die „präparative“ Isolierung der

Verbindungen ein großes Problem dar. Aufgrund des sehr ähnlichen Elutionsverhalten der beiden *trans*-Isoshinanolone wäre eine Isolation auf dieser analytischen Säule nur mit sehr geringen Mengen pro Lauf und mit der daraus folgenden hohen Anzahl von Trennläufen zu bewerkstelligen gewesen. Eine Separation an einer präparativen Phase wurde aus zwei Gründen nicht durchgeführt. Zum einen kann eine analytische Trennung nur im günstigsten Fall mit der gleichen Auflösung auf eine präparative Säule übertragen werden, normalerweise ist jedoch mit einem Verlust der Trennleistung zu rechnen, was gerade im vorliegenden Fall mangels kommerziell verfügbarer Säulen in dieser Qualität sicher feststand. Zum anderen sind diese Säulen in der Anschaffung mit einem enormen finanzielle Aufwand (> 10,000 €) verbunden. Somit hätten die reinen Enantiomeren nur mit einem hohen zeitlichen Aufwand erhalten werden können.

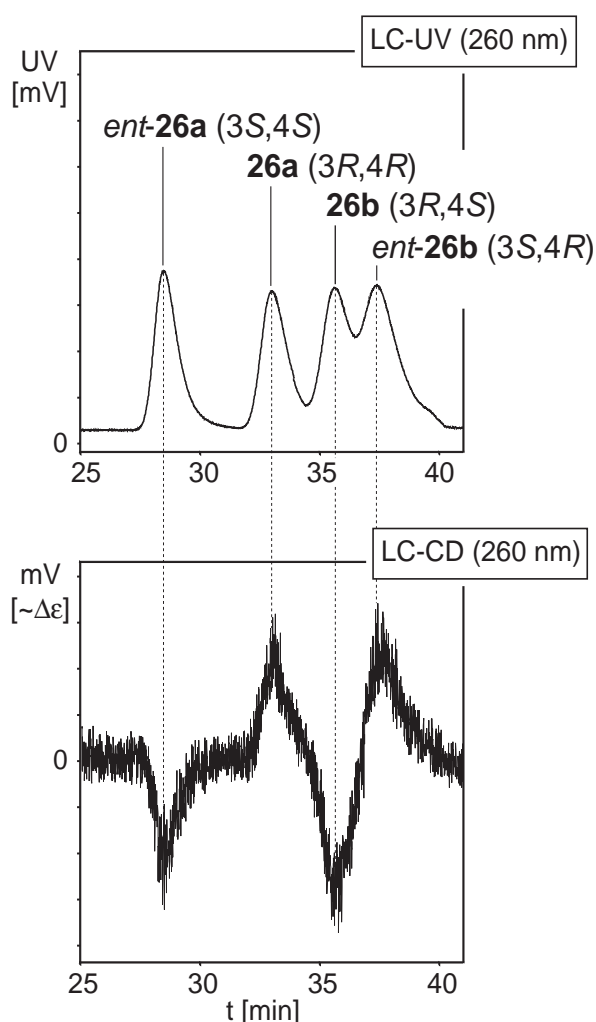


Abb. 46. LC-UV- und LC-CD-Chromatogramme aller vier Stereoisomere von **26** bei 260 nm auf chiraler Phase (Chiralcel OD-H)

Aus diesem Grund bot sich das für solche Problemstellungen hervorragend geeignete Verfahren der HPLC-CD-Kopplung direkt an der analytischen chiralen Phase an (s. Kap. 7, Seite 83). Bereits im HPLC-CD-Lauf unter gleichzeitiger Aufzeichnung des UV- und des CD-Signals bei 260 nm zeigten sich sehr deutlich die umgekehrten Vorzeichen der jeweils zueinander enantiomeren *cis*- und *trans*-Verbindungen (s. Abb. 46, Seite 77). Die jeweils an den Peakspitzen des Chromatogramms im stop-flow-Modus aufgenommenen CD-Spektren der einzelnen Stereoisomeren sind in Abb. 47 (unten) gezeigt. Wie man den Spektren entnehmen kann, wird das CD-Verhalten durch das C-4-Stereozentrum in benzylicher Position des aromatischen Chromophors dominiert. Unabhängig von der relativen *cis*- oder *trans*-Konfiguration, d.h. von der absoluten Konfiguration an C-3, weisen die Spektren im Falle beider 4*R*-konfigurierten Verbindungen einen ersten positiven Cotton-Effekt bei 255 nm und einen stärkeren zweiten negativen bei 214 nm auf (**26a** und *ent*-**26b**). Die beiden dazu enantiomeren Isoshinanolone zeigen das erwartete spiegelbildliche Verhalten (*ent*-**26a** und **26b**).

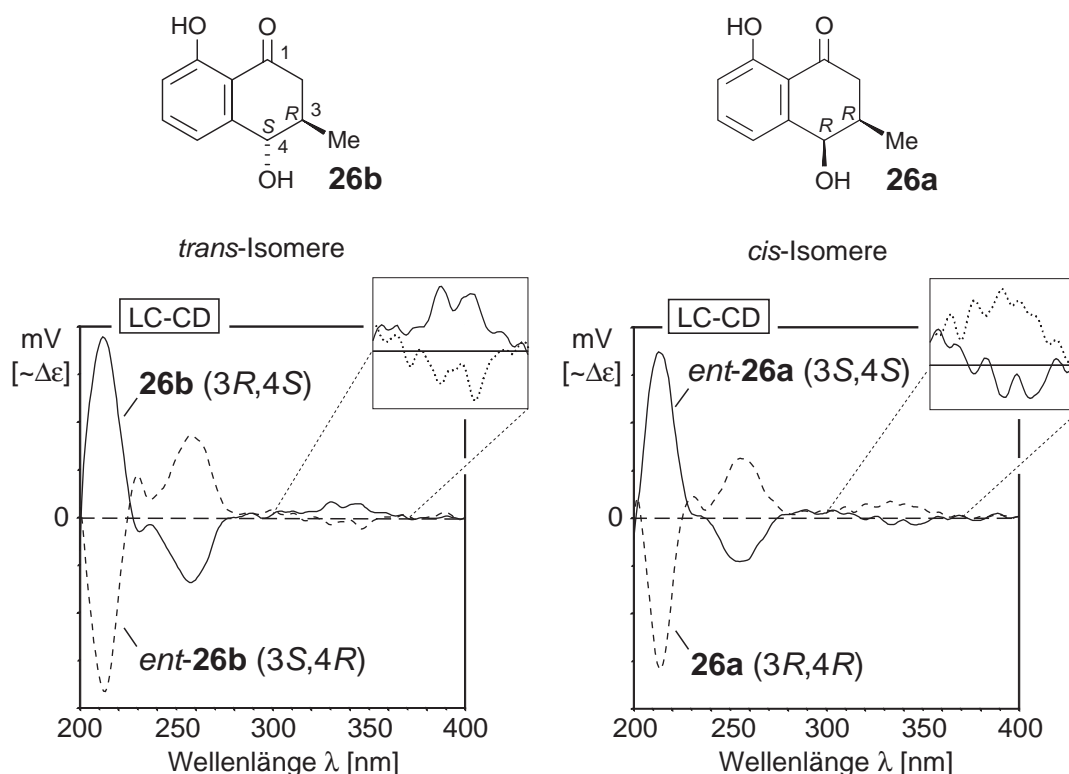


Abb. 47. Stop-flow-LC-CD-Spektren aller vier Stereoisomere von Isoshinanolon (**26**)

Der Einfluss des Stereozentrums an C-3 ist, vermutlich bedingt durch den größeren Abstand zum aromatischen Chromophor, nur sehr gering. Dennoch zeigt sich seine absolute Konfiguration unabhängig von der relativen Anordnung in dem Bereich um 333 nm durch einen positiven Cotton-Effekt für die 3*R*-Konfiguration, einen negativen Verlauf für das 3*S*

Isomer (s. Abb. 47 vergrößerter Ausschnitt, Seite 78), so dass sich aus guten Spektren in genügender Konzentration neben der absoluten Konfiguration des C-4-Stereozentrums auch die Stellung an C-3 und damit die gesamte Stereoinformation der Verbindung ablesen lässt. Bei geringer Konzentration des Analyten ist diese Information (*3R/S*) durch die aus den NMR-Spektren ableitbare relative Konfiguration (*cis/trans*) zugänglich. Mit Hilfe eines einfachen CD-Spektren-Vergleichs lässt sich nun die absolute Konfiguration jedes isomerenreinen Isoshinanolons (**26**) zweifelsfrei zuweisen. Hiermit ergibt sich erstmalig die Möglichkeit, die Enantiomerenreinheit auf jeder beliebigen geeigneten chiralen Phase zu überprüfen und somit unabhängig von der von uns etablierten chromatographischen Trennung auf einer „Chiralcel OD-H“-Säule die vollständige Stereostruktur aufzuklären.

Die bekannte^[193] Möglichkeit der Diastereomeren-trennung von Isoshinanolon (**26**) an achiraler Phase eröffnet in Kombination mit der HPLC-CD-Kopplung das Feld der chiralen on-line-Analytik. Mit den nun bekannten CD-Spektren aller vier reinen Isomeren lässt sich das jeweilige Hauptenantiomer aus *cis*- und *trans*-Isoshinanolongemischen durch HPLC-CD-Kopplung selbst an z.B. achiraler C₁₈-Phase aufklären.

Wie exemplarisch am Beispiel eines Chloroform-Rohextraktes von *D. thollonii* gezeigt, ergibt sich für das bei $t_R = 11.4$ min eluierende *trans*-Isomer (**26b**) ein positiver CD-Effekt bei 214 nm (s. Abb. 48, Seite 80). Dies zeigt deutlich, dass zumindest der überwiegende Bestandteil des *trans*-Isomers eine *4S*-Konfiguration aufweist (vgl. Abb. 47, Seite 78). Das als Hauptbestandteil bei $t_R = 11.6$ min auftretende *cis*-Isoshinanolon (**26a**) besteht hauptsächlich aus dem *3R,4R*-Konformer, das sehr gut an dem negativen CD-Ausschlag bei dieser Wellenlänge zu erkennen ist. Die Richtigkeit wird in diesem speziellen Fall durch die Isolation und den chemischen Abbau der isolierten Isoshinanolone (**26**) bestätigt (s. Kap. 4.2, Seite 36 und Kap. 6.3.1, Seite 73).

Dieses Verfahren erlaubt somit eine schnelle „Hauptenantiomer-Analytik“ direkt in Gemischen, z.B. in pflanzlichen Rohextrakten. In Verbindung mit der HPLC-NMR-Kopplungstechnik ergibt sich somit die Möglichkeit einer *in-situ*-Analytik mit direkter Zuordnung der absoluten Konfiguration ohne isolative Aufarbeitung und ohne Trennung an chiraler Phase, die bei der Untersuchung von Rohextrakten in Verbindung mit der Empfindlichkeit derartiger Phasen normalerweise ein Problem darstellt und vorgeschaltete reinigende Schritte bedingt.

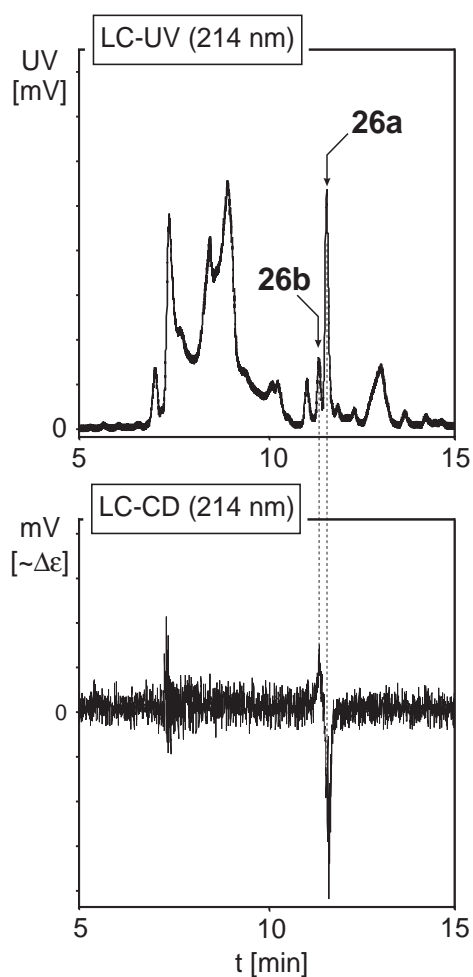


Abb. 48. LC-UV- und LC-CD-Chromatogramme des Pflanzenextrakts von *D. thollonii* bei 214 nm auf achiraler Phase (C_{18}): *trans*-Isoshinanolon (**26b**) $t_R = 11.4$ min, *cis*-Isoshinanolon (**26a**) $t_R = 11.6$ min

6.3.4 Röntgenbeugungsanalyse von Isoshinanolon (**26**)

Isoshinanolon (**26**) wird in der Literatur in den weit überwiegenden Fällen als amorphe oder halb feste Substanz oder auch als Öl ohne jegliche Kristallisationsneigung beschrieben. Dieser Beschreibung schließt sich auch unsere Beobachtung mit den von uns aus *D. thollonii* isolierten und nachweislich chemisch reinen, zudem enantiomerenreinen *cis*-3*R*,4*R*- und *trans*-3*R*,4*S*-Isoshinanolonen (**26a** bzw. **26b**) an.^[193] Nur in zwei „Ausnahmefällen“ wird von der Isolation als Nadeln^[181] oder als mikrokristalliner Feststoff^[95] berichtet, doch lagen die Kristalle offensichtlich nicht in ausreichender Qualität für eine Röntgenanalyse vor, da hierzu keinerlei Daten publiziert wurden.

Interessanterweise zeigte sich bei der im Rahmen dieser Arbeit mehrfach durchgeführten partialsynthetischen Herstellung von Isoshinanolon (**26**) aus Plumbagin (**27**) eine relativ hohe Kristallisationsneigung des - aufgrund der nicht enantioselektiven durchgeführten Reduktion -

racemischen *trans*-Isoshinanolons (**26b**). Die schnell nach bereits 2-3 Tagen erhältlichen weißen Kristalle erwiesen sich jedoch für eine Strukturanalyse aufgrund von Verwachsungen als ungeeignet. Durch vorsichtiges und sehr langsames Umkristallisieren (mehrere Monate) aus Wasser/Methanol gelang jedoch schließlich die Züchtung von Kristallen mit für die Röntgenanalyse ausreichender Qualität. Wie in Abb. 49 (unten) zu sehen, liegt die *trans*-Verbindung in der erwarteten, energetisch günstigsten Halbsesselform mit diäquatorialer Anordnung der Substituenten vor. Die absolute Konfiguration ist, da sich in dem Molekül keinen geeigneten Atome für die Konfigurationsbestimmung nach der Schwer-Atom-Methode^[199] oder bekannte, eindeutig zuordenbare Stereozentren befinden, bei dieser Strukturanalyse leider nicht bestimmbar.

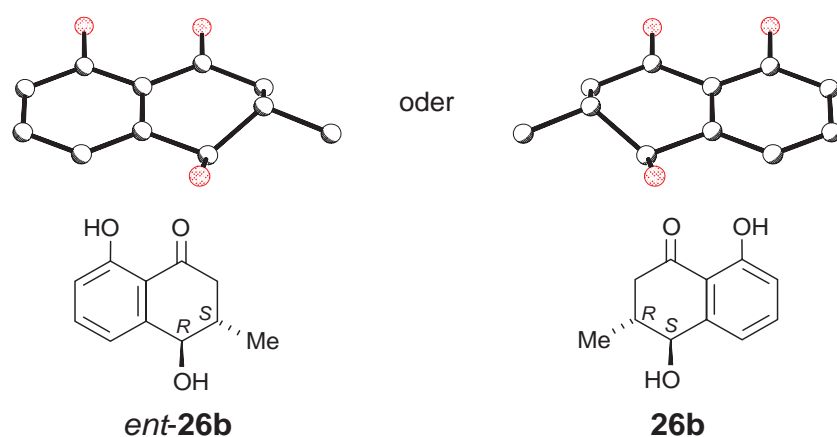


Abb. 49. Röntgenstruktur von *trans*-Isoshinanolon (**26b** oder *ent-26b*, absolute Konfiguration hieraus nicht bestimmbar)

Bereits das Auskristallisieren eines exakt racemischen *trans*-Gemisches (analysiert per HPLC-Untersuchung der Kristalle) aus einer nur Enantiomer-angereicherten, aber eben auch *cis*-Isoshinanolon (**26a** & *ent-26a*) enthaltenden Lösung legte die Vermutung einer energetisch besonders günstigen Struktur des Kristalls nahe. Die kleinste Grundeinheit des Kristalls ist die flache, etwas versetzte Anordnung zweier übereinander gelegter enantiomerer Isoshinanolone (Abb. 50a und b links, Seite 82). Diese „Überlagerung“ erfolgt der Art, dass sich der jeweilige aromatische Ring des einen Enantiomers über dem nicht-aromatischen des anderen befindet. Den beiden Molekülen stehen, wiederum leicht bezüglich der Molekülebene versetzt, ihre Homologen gegenüber (Abb. 50b rechts). Hierbei finden sich die jeweils gleichen Substituenten entgegengesetzt, d.h. der 4-Hydroxygruppe steht die gleiche Gruppe des anderen gegenüber. Die in Abb. 50b gezeigte Anordnung dieser dann vier Moleküle bildet die große Grundeinheit des Kristalls. Die in Richtung einer gedachten Linie durch die beiden

Molekülmittelpunkte der kleinen Grundeinheit (Abb. 50c rechts) übereinander angeordneten Grundeinheiten bilden eine Art lange Röhre durch den Kristall.

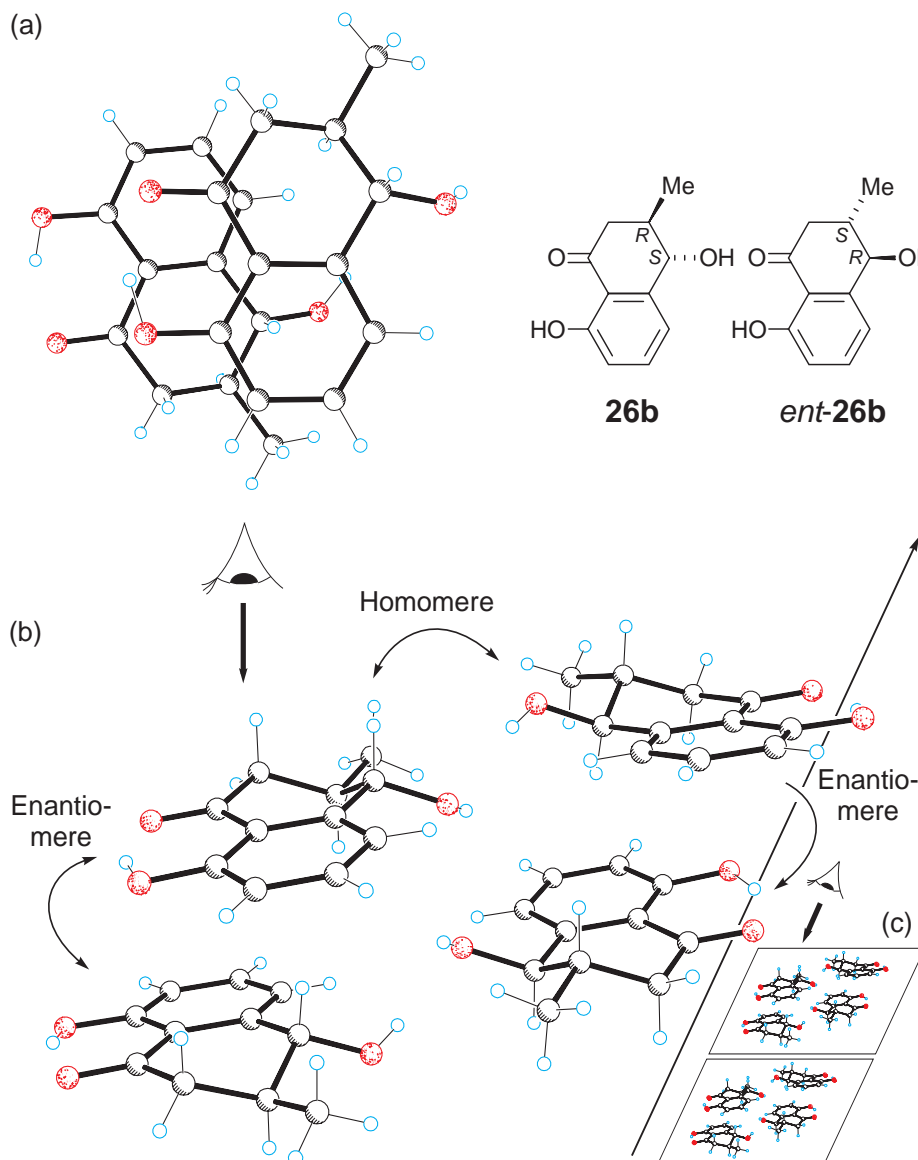


Abb. 50. Struktur von racemischem *trans*-Isoshinanolon im Kristall: Blick auf die Überlagerung der Enantiomere (a), Ausschnitt aus der Anordnung im Kristall (b) und schematische Stapelung der Grundeinheiten (c)

Die Kristallisationsneigung von racemischem, nicht aber enantiomerenreinem *trans*-Isoshinanolon (**26b** + **ent-26b**) muss wohl in der günstigen Anordnungsmöglichkeit der beiden Enantiomere begründet sein, obwohl z.B. keine signifikanten H-Brücken zwischen den Molekülen beobachtbar sind, die diese These unterstützen. Versuche, aus nicht racemischen d.h. mit einem Enantiomer angereicherten Lösungen, eine Kristallisation einzuleiten um somit einen Kristall in einer möglichen anderen oder aber wieder racemischen Zusammensetzung zu erhalten, sind derzeit im Gange.^[200]

7 Die HPLC-CD-Kopplung in der Naturstoffanalytik

7.1 Die HPLC-CD-Kopplung

Chiralität ist eine dominierende Eigenschaft der Moleküle lebender Organismen. So zeigen zueinander enantiomere Verbindungen in einer achiralen Umgebung absolut identische Eigenschaften und sind nicht zu unterscheiden. In einer chiralen Umwelt allerdings, wie z.B. in biologischen Systemen, tritt die Verschiedenartigkeit der Stereostrukturen hervor, die Moleküle verhalten sich gegenüber ihrer chiralen Umgebung wie Diastereomere und können nun völlig unterschiedliche biologische Eigenschaften aufweisen. Die Unterscheidung und Charakterisierung chiraler Verbindungen mittels einer zuverlässigen Analytik ist somit eine notwendige und interessante Herausforderung. So genannte chiroptische Verfahren, welche für die Enantiomeren einer chiralen Verbindung Messwerte mit entgegengesetzten Vorzeichen ergeben, wie die CD-Spektroskopie, werden heute oftmals neben der weit verbreiteten Drehwertbestimmung eingesetzt. Diese Methoden liefern, wie alle anderen verwendeten Verfahren zur Strukturaufklärung auch, naturgemäß nur bei reinen Verbindungen zuverlässige und aussagekräftige Werte, was somit den heute in der Naturstoffchemie noch weit verbreiteten „klassischen“ Ansatz der meist mühevollen und zeitintensiven Isolierung einer Substanz bedingt. Erst nach der Verfügbarkeit der sauberen Verbindung ist deren Strukturaufklärung möglich, mit der großen, sich leider oft bewahrheitenden Gefahr, eine bereits bekannte und somit z.B. für die Wirkstoffsuche uninteressante Struktur zu erhalten. Doch gerade bei der Suche nach neuen Strukturtypen für die pharmazeutische Testung zeigt sich die Natur auch in Zeiten kombinatorischer Substanzbibliotheken als ein wertvoller Lieferant für innovativen Formen. Deshalb wurde die Notwendigkeit der Verfügbarkeit schneller Analyseverfahren zur Untersuchung auch ungereinigter Extraktgemische, zur Dereplikation (d.h. zum Aussortieren bekannter Verbindungen) bereits auf einer frühen Stufe, immer dringlicher.

Die Fortschritte der letzten Jahre im Bereich der instrumentellen Analytik und der damit einhergehenden Neuentwicklung von speziellen Probenzellen /-köpfen ermöglichte einen Durchbruch auf dem Gebiet der on-line-Kopplung verschiedener Detektionsmethoden wie der NMR-Spektroskopie oder der Massenspektrometrie (MS) mit leistungsfähigen Trennmethoden wie der Hochleistungs-Flüssig-Chromatographie (HPLC). Gerade im Bereich der HPLC-MS wird bereits eine Vielzahl von Geräten kommerziell angeboten, und auch die HPLC-NMR-Technologie kommt durch die mittlerweile ebenfalls kommerzielle Verfügbarkeit stark vermehrt zur Anwendung, was durch die steigende Zahl von

Veröffentlichungen zu diesen Verfahren eindrucksvoll belegt wird.^[108,201] Bereits der nächste logische Schritt, d.h. die Kombination der beiden Techniken zur HPLC-NMR-MS-Kopplung, wurde 1995 erstmals verwirklicht und wird seitdem in verschiedenen Anwendungsbereichen erprobt, ist jedoch noch nicht in einem Stadium der allgemeinen Routineverfügbarkeit.^[202,203] Dennoch wurde auch bereits in diesem Sektor der nächste Schritt zur erweiterten on-line-Kopplung mit FTIR (Fourier-Transformations Infrarotspektroskopie) zum HPLC-FTIR-NMR-MS-Kopplungsprototyp erfolgreich erprobt, hierbei zeigen sich allerdings noch praktische Probleme bei der Realisierung und beweisen nur eine prinzipielle Machbarkeit.^[202,204] Die einfachen, direkten Kopplungsmethoden erlauben somit potenziell eine schnelle, analytische Strukturaufklärung von Inhaltsstoffen direkt aus Substanzgemischen, z.B. von Naturstoffen, ohne deren präparative Isolation,^[205] wie dies auch kürzlich in unserem Arbeitskreis an pflanzlichen Rohextrakten erfolgreich etabliert wurde.^[177,206] Doch aufgrund der achiralen Messprinzipien sind mit diesen Verfahren nur Aussagen über die Konstitution und die *relative* Konfiguration einer Verbindung möglich. Die einzige Möglichkeit, Aufschluss über die absolute Konfiguration zu erhalten, besteht in der Verwendung chiraler Phasen, doch schränken diese die allgemeine Anwendbarkeit aufgrund der nicht vorhersagbaren, jeweils auf das Trennproblem zu optimierenden Phase und nicht zuletzt der höheren Empfindlichkeit der Phase stark ein. Zudem benötigt man beide Enantiomere bekannter Konfiguration für eine sichere Zuordnung. Ein ebenso schnelles Verfahren wie die HPLC-NMR /-MS zur Aufklärung der absoluten Konfiguration würde diesen Methodensatz zur Strukturaufklärung komplementieren, wofür sich die CD-Spektroskopie anbietet. Durch den Vergleich mit strukturell ähnlichen Verbindungen oder durch die Anwendung empirischer Regeln (z.B. Oktanten-Regel für Ketoverbindungen) lässt sich hiermit eine absolute Konfiguration zuordnen. Eine weitere sehr effektive Methode ist der Vergleich mit quantenchemisch berechneten CD-Spektren,^[55,111,207] welche in Kooperation mit J. Kraus und J. Mühlbacher auch im Rahmen dieser Arbeit erfolgreich zum Einsatz kamen (vgl. Kap. 4.3.2, Seite 39). Das Messprinzip der CD-Spektroskopie, d.h. die Messung des Absorptionsunterschieds zwischen links- und rechtszirkular polarisiertem Licht, bietet gegenüber dem der ORD (optische Rotationsdispersion), welche den Brechungsindex-Unterschied zwischen links- und rechtszirkular polarisiertem Licht bestimmt als zweitem anwendbarem Messverfahren für chirale Verbindungen, den Vorteil der Anwendbarkeit in der Gradienten-HPLC. Während für eine Detektion nach dem ORD-Prinzip der Analyt als einzige Bedingung Chiralität aufweisen muss, ist für die Beobachtung eines CD-Effektes zusätzlich ein Chromophor in elektronischem Kontakt zum chiralen Element nötig, da dieser Effekt nur

im Absorptionsbereich der Verbindung auftritt. Somit ergibt sich für die CD-Spektroskopie eine höhere Sensitivität und Selektivität und ermöglicht einen Einsatz in der HPLC unter Gradientenbedingungen. Die CD-Spektroskopie erfüllt also grundlegend die Anforderungen für eine universell anwendbare on-line-Analytik vergleichbar zu HPLC-NMR und HPLC-MS. Zwar ist die Kopplung des CD-Spektrometers an die HPLC nicht neu,^[208] doch erfolgt ihr Einsatz bis heute noch sehr spärlich. Dies ist vermutlich auf die hohen Anschaffungskosten eines CD-Spektrometers ohne Verfügbarkeit einer käuflichen on-line Flusszellen-Einheit zurückzuführen, dem sich erst 1999 mit der Markteinführung eines HPLC-CD-Detektors (Fa. *Jasco*) eine kostengünstigere Alternative bot. Die HPLC-CD-Kopplung findet ihre Hauptanwendungsgebiete bei der Bestimmung der Elutionsreihenfolge von Enantiomeren (vgl. Kap. 6.3.3, Seite 76), bei der Beobachtung von Racemisierungsprozessen (vgl. Kap. 4.3.2, Seite 39), in der Aufnahme von CD-Spektren direkt aus Gemischen (Kap. 6.3.3, Seite 76) oder bei der Aufklärung von Enantiomerenüberschüssen.^[209] Anwendungen im Bereich der phytochemischen Analyse erfolgten trotz der als eines der ersten Anwendungsbeispiele gezeigten Möglichkeit^[210] erst verstärkt im jüngsten Zeitraum ab 1999.^[201] Die HPLC-CD-Kopplung bietet also eine schnelle, unter nahezu allen HPLC-Bedingungen (normal- oder reversed-phase) gängige Möglichkeit zur Analyse von chiralen Verbindungen, deren Anwendungsspielraum in den folgenden Kapiteln demonstriert werden soll.

7.2 Die LC-CD-Analytik im Verbund der analytischen Triade^[211]

7.2.1 Voruntersuchungen

Mit der ersten kommerziellen Verfügbarkeit eines HPLC-CD-Detektors, welcher uns freundlicherweise von der Fa. *Jasco* zu Testzwecken zur Verfügung gestellt wurde, lag die Frage nach der Leistungsfähigkeit und der damit verbundenen Einsatzfähigkeit auf der Hand. Nicht nur die generelle Anwendbarkeit im Bezug auf die unterschiedlichen chromatographischen Bedingungen, sondern auch der Einsatz eines limitierten Wellenlängenbereichs (220-420 nm) waren zu überprüfende Faktoren. Diese Limitation ergab sich aus der Anforderung an ein bezüglich der Größe handhabbares Detektorsystem und der daraus resultierenden Einschränkung des optischen Bereiches. Gerade durch die intensive Forschung unseres Arbeitskreises auf dem Gebiet der Naphthylisochinolin-Alkaloide war letztere Frage von besonderem Interesse, da nahezu alle Verbindungen dieser Naturstoffklasse ihre maximale Absorption im Bereich von 210-230 nm aufweisen und meist auch dort die höchste CD-Signalintensität zeigen, d.h. die Frage, ob die Signalintensität in Bereichen schwächerer CD-Aktivität > 220 nm ausreicht, um eine selektive Detektion zu gewährleisten,

war vorrangig. Die erste Untersuchung galt demnach der Sensitivität durch einen Vergleich der CD-Spektren gemessen zum einen an dem neuen Detektor und zum anderen an einem konventionellen CD-Spektrometer (CD6 Dichrograph, Fa. *Jobin Yvon*). Zu diesem Zweck wurde eine Referenzlösung von 1 µg Dioncophyllin A (**4a**) am HPLC-CD-System injiziert und der Peak durch einfaches manuelles Öffnen des Spülventils der Pumpe im stop-flow-Modus vermessen. Damit konnten Intensitätsschwankungen des CD-Signals durch Konzentrationsänderungen des Analyten im Falle einer on-flow-Detektion und der hiermit verbundenen Verfälschung des Spektrums vermieden werden, zumal eine direkte on-flow-Aufnahme aufgrund der Messdauer nur bei sehr breiten Peaks (> 15 s) möglich ist. Um die Spektren auch später als Vergleich verwenden zu können und gleichzeitig die Eignung des Lösungsmittelsystems zu überprüfen, wurde das Spektrum der Referenzverbindung zwar im isokratischen Modus vermessen, allerdings die theoretische Zusammensetzung des für Pflanzenextrakte bereits im Vorfeld^[212] optimierten reversed-phase-Gradienten an der für **4a** typischen Retentionszeit gewählt. Ein Vergleich der beiden Spektren zeigte eine sehr gute Übereinstimmung mit einem negativen CD-Effekt bei ca. 302 nm, gefolgt von den beiden positiven bei 279 und 243 nm (s. Abb. 51, Seite 87).

Lediglich im Bereich < 230 nm wurde der negative Ausschlag, der deutlich in Abb. 51b sichtbar ist, nicht nachempfunden. Dies lässt sich möglicherweise durch den gleichzeitigen starken Anstieg der UV-Absorption erklären (nicht gezeigt). Bei einer zu starken Absorption ist die Strahlungsintensität, die an der Detektoreinheit ankommt, zu gering, und das CD-Signal kann nicht mehr korrekt wiedergegeben werden. Die leichte Verschiebung (~3 nm) der Maxima ist zum einen durch die unterschiedlichen verwendeten Lösungsmittel (Acetonitril/Wasser 1:1 und Ethanol), zum anderen durch die systemimmanente Unschärfe des Detektors mit einer Bandbreite von 20 nm zu erklären. Als Fazit zeigt sich also, dass die erreichte Qualität und Sensitivität der mit dem CD-Detektor erhaltenen CD-Spektren immer noch gut geeignet ist für qualitative Vergleiche. Auch zeigte sich bei einem getrennten Versuch der auf Pflanzenextrakte optimierte Lösungsmittelgradient als voll CD- und UV-gängig.

7.2.2 Untersuchung von *Triphyophyllum peltatum*

Als erstes Anwendungsbeispiel zur Etablierung dieser Technik an Pflanzenextrakten sollte die bekannte (vgl. Kap. 3.2, Seite 29) und auch in der HPLC-Kopplungstechnik (MS, NMR)

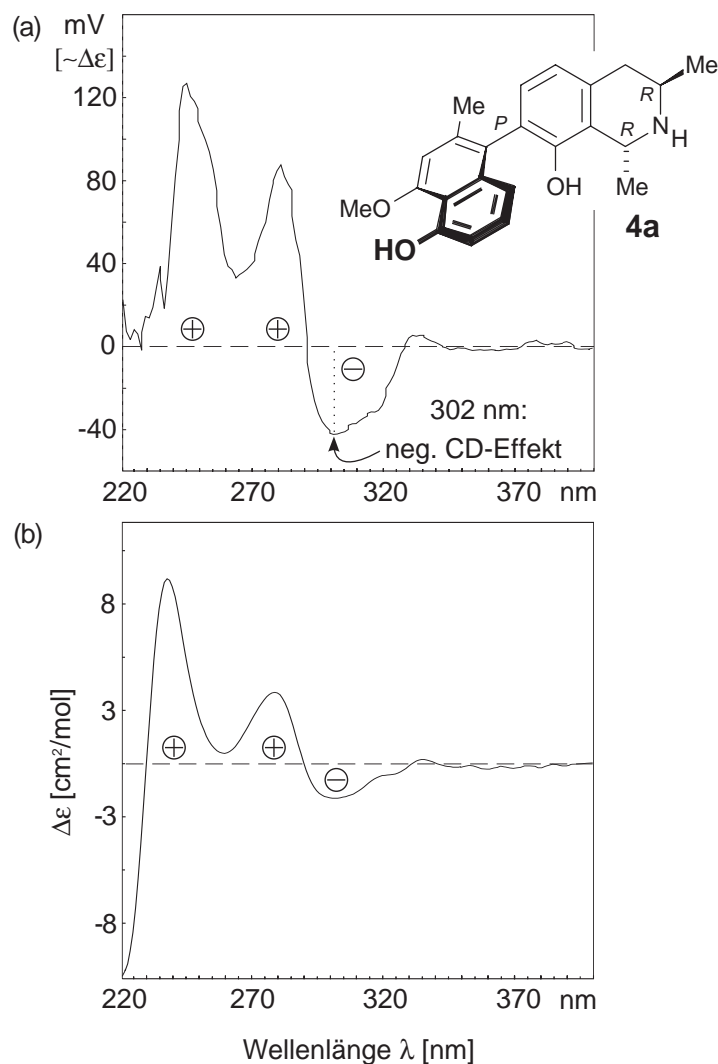


Abb. 51. CD-Spektren von Dioncophyllin A (**4a**): (a) Aufgenommen mit HPLC-CD-Detektor im stop-flow-Modus in Acetonitril/Wasser 1:1 und (b) mit konventionellem CD-Spektrometer in Ethanol

bereits untersuchte Pflanze *Triphyophyllum peltatum* dienen.^[212-214] Der erste zu untersuchende Metabolit war, aufgrund des bekannten Vorkommens und der bekannten Retentionszeit von $t_R = 28.2$ min in dem optimierten^[212] HPLC-Gradienten, Dioncophyllin A (**4a**). Für die selektive Detektion wurde der negative Ausschlag bei 302 nm ausgewählt, da hier mit der höchsten CD-Signalintensität im Vergleich zur UV-Absorption zu rechnen war (vgl. Abb. 51, oben). Wie in Abb. 52 (Seite 88) deutlich zu sehen ist, zeigt sich bei der erwarteten Retentionszeit im Bereich von 28 min ein deutlicher UV-Signalausschlag (Abb. 52 oben). Die parallel hierzu gemessene CD-Spur bei 302 nm weist bei $t_R = 28.2$ min ein stark negatives Signal auf und belegt somit die *P*-Konfiguration von Dioncophyllin A (**4a**) direkt im rohen Pflanzenextrakt. Bereits aus früheren Isolationsarbeiten^[91] sowie aus neueren HPLC-NMR-Untersuchungen^[213] war das Vorkommen von Dioncopeltin A (**5**) in *T. peltatum*

bei einer Retentionszeit von ca. $t_R = 23.5$ min bekannt. Der negative CD-Effekt von **5** bei einer Wellenlänge von 302 nm (vgl. Abb. 23, Seite 32) konnte auch hier eindeutig beobachtet werden und zeigte als Ergebnis die bereits bekannte *M*-Konfiguration, hier direkt im Rohextrakt. Bemerkenswert ist die aufgrund des Messprinzips höhere Auflösung der CD-Detektion; während der UV-Peak bei 28 min als *ein* Peak auftritt, lassen sich in der CD-Spur mindestens drei Verbindungen erkennen, die die umhüllende UV-Form ergeben. Dem ersten schwach positiven CD-Ausschlag folgen zwei negative Kurvenverläufe, wobei der letztere durch Koelution zweifelsfrei dem Dioncophyllin A (**4a**) zuzuordnen war (vgl. Abb. 52, unten, vergrößerte Ausschnitte). Dieser Lauf belegt eindrucksvoll die Möglichkeiten, direkt aus einer komplexen Pflanzenextraktmatrix die Achsenkonfiguration bekannter Verbindungen zu bestimmen und somit ohne aufwendige Isolation zwischen atropisomeren Verbindungen zu unterscheiden.

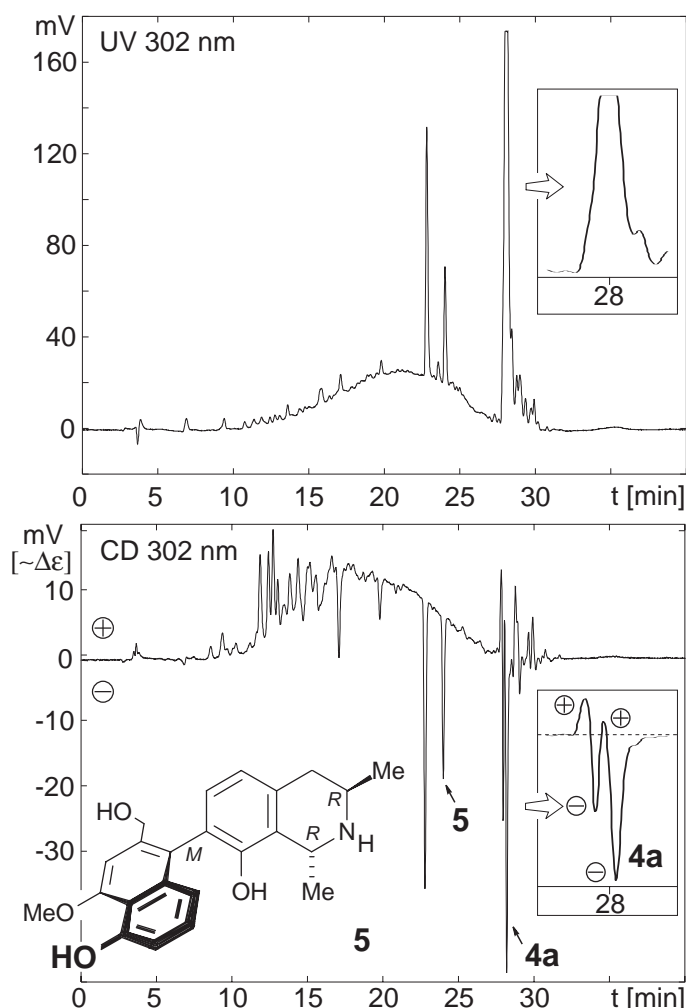


Abb. 52. Simultane Aufnahme der UV- (oben) und der CD-Spur (unten) bei 302 nm eines durch HPLC getrennten Wurzelextraktes von *T. peltatum*

7.2.3 Untersuchung von *Habropetalum dawei*

Die Übertragung der Methodik auf einen anderen, unbekanntem Extrakt wurde am Beispiel von *Habropetalum dawei* erprobt. Diese neben *D. thollonii* und *T. peltatum* dritte bekannte Dioncophyllaceen-Art stand uns nur in Gramm-Mengen (Pflanzenmaterial) zur Verfügung und war somit einer „konventionellen“ isolativen Untersuchung der Inhaltsstoffe nicht zugänglich. Erste HPLC-NMR- und HPLC-MS-Untersuchungen zeigten neben dem bereits bekannten^[96] Tetralon Isoshinanolon (**26**) (vgl. Kap. 6.1, Seite 69) das Vorhandensein von *N*-Methyldioncophyllin A (**36a**) und seinem Atrop-Diastereomeren *N*-Methyl-7-*epi*-dioncophyllin A (**36b**) (s. Kap. 4.2, Seite 36) sowie von Dioncophyllin A (**4a**). Mit Hilfe dieser beiden Kopplungsmethoden gelang die Aufklärung der Konstitution der Verbindungen und durch Retentionszeitenvergleich und genaue Analyse der NMR-Verschiebungen im Vergleich mit Referenzverbindungen auch die sichere Identifizierung der zueinander diastereomeren Naphthylisochinolin-Alkaloide **36a** und **36b**. Eine Bestimmung der absoluten Konfiguration ist aufgrund des achiralen Charakters der Untersuchungsmethoden nur mit diesen Mitteln nicht möglich. Die sichere Zuordnung der axialen Konfiguration von Dioncophyllin A (**4a**) gelang aber auch hier durch die analog zu den anderen on-line-Kopplungen durchgeführten HPLC-CD-Analysen. Die Anwendung der stop-flow-Technik auf den Peak bei 28.2 min zeigte einen zu Abb. 51a (Seite 87) nahezu deckungsgleichen CD-Verlauf (nicht gezeigt) und erlaubte somit eine zweifelsfreie Zuweisung der *P*-Konfiguration zu dem in *H. dawei* gefundenen Dioncophyllin A (**4a**). Die vollständige Aufklärung der absoluten Konfiguration der Stereozentren an C-1 und C-3 war in diesem Fall durch den auch auf Rohextrakte direkt anwendbaren Ruthenium-katalysierten, oxidativen Abbau (vgl. Schema 1, Seite 13) möglich, der eine reine (> 99:1) 3*R*-Konfiguration der vorhandenen Tetrahydroisochinolin-Teilstrukturen ergab und somit die komplette Bestimmung der absoluten Stereostruktur direkt aus dem Extraktgemisch erlaubte.

Besonderes Interesse bei der kombinierten HPLC-NMR und -MS-Untersuchung weckten zwei bislang nicht bekannte, konstitutionell neue Strukturen bei der Analyse dieses pflanzlichen Rohextraktes. Der als Peak **A** (s. Abb. 53, Seite 90) bezeichnete, bei *ca.* $t_R = 14.2$ min auftretende Peak, zeigte wie der unbekannte Peak **B** ($t_R = 22.6$ min) das für Tetrahydroisochinoline typische Massenfragmentierungsmuster mit einer retro-Diels-Alder Fragmentierung und dem damit verbundenen Neutralverlust von 43 u $[M+H-C_2H_5N]^+$,^[56] doch deutete bereits die molekulare Masse von 177 u an, dass es sich bei Peak **A** um ein „Naphthalin-freies“ Isochinolin handeln musste. Eingehende on-line-NMR-Untersuchungen offenbarten ein 1,3-Dimethyl-8-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (**87**) mit einer relativen

trans-Konfiguration der beiden Methylsubstituenten, die durch die bekannte chemische Verschiebung der aliphatischen Protonen zuordenbar war. Ein direkter Vergleich durch Koelution mit einer Referenzverbindung, die bei der Synthese der Naphthylisochinoline als Zwischenstufe auftritt, bestätigten anhand der spektrometrischen und spektroskopischen Daten und einer perfekten Koelution die Richtigkeit der Zuordnung. Somit konnten die Konstitution und die relative Konfiguration eindeutig bestimmt werden; eine Unterscheidung zwischen den beiden möglichen Enantiomeren (1*R*,3*R* [**87**] oder 1*S*,3*S* [*ent*-**87**]) war allerdings mit diesen Mitteln nicht möglich.

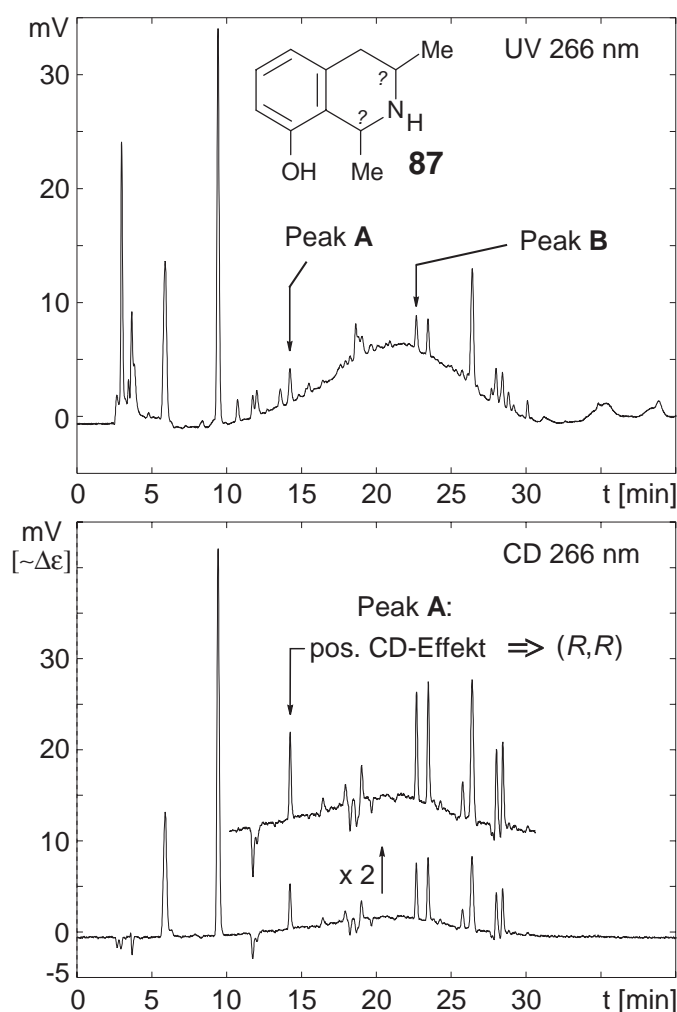


Abb. 53. Gleichzeitige Aufnahme der UV- (oben) und der CD-Spur (unten) bei 266 nm eines durch HPLC getrennten Wurzelextraktes von *H. dawei*

Aufgrund der geringen Konzentration von Peak **A** im Extrakt von *H. dawei* konnte jedoch kein vollständiges CD-Spektrum im stop-flow-Modus erhalten werden, so dass hier ein anderer Lösungsansatz gewählt werden musste. Zu diesem Zweck wurden bei der momentanen Eluentenzusammensetzung, wie sie bei Peak **A** im verwendeten Gradienten auftritt, Referenzverbindungen mit bekannter absoluter Konfiguration im CD-Detektor

vermessen und ein charakteristischer CD-Effekt bei einer geeigneten Wellenlänge als Indikator für die absolute Konfigurationszuordnung gewählt. Als Referenzverbindung wurde die auch für die HPLC-MS und -NMR-Vergleiche verwendete synthetische Verbindung **87** verwendet. Die logische zweite Referenz, *ent*-**87**, war leider nicht verfügbar, so dass das 6-Methoxy-*N*-formyl-Derivat **88**, welches ebenfalls als Syntheseintermediat, jedoch in *beiden* enantiomeren Formen vorlag, als strukturell eng verwandte und damit vergleichbare Substanz verwendet wurde. Das hier nicht gezeigte CD-Spektrum von *ent*-**88** verhält sich spiegelbildlich zu dem in Abb. 54 unten gezeigten Verlauf von **88**, so dass auch dieses Verhalten für das zu **87** enantiomere *ent*-**87** gilt. Wie in Abb. 54 (unten) zu sehen ist, ist das Stereozentrum an C-1 aufgrund seiner räumlichen Nähe zum Chromophor wie erwartet ausschlaggebend für den Verlauf der Spektren und erlaubt z.B. bei 266 nm eine eindeutige Unterscheidung der beiden Enantiomeren mit einem positiven CD-Effekt für die *1R*-Konfiguration und einem negativen Ausschlag für die *1S*-Anordnung.

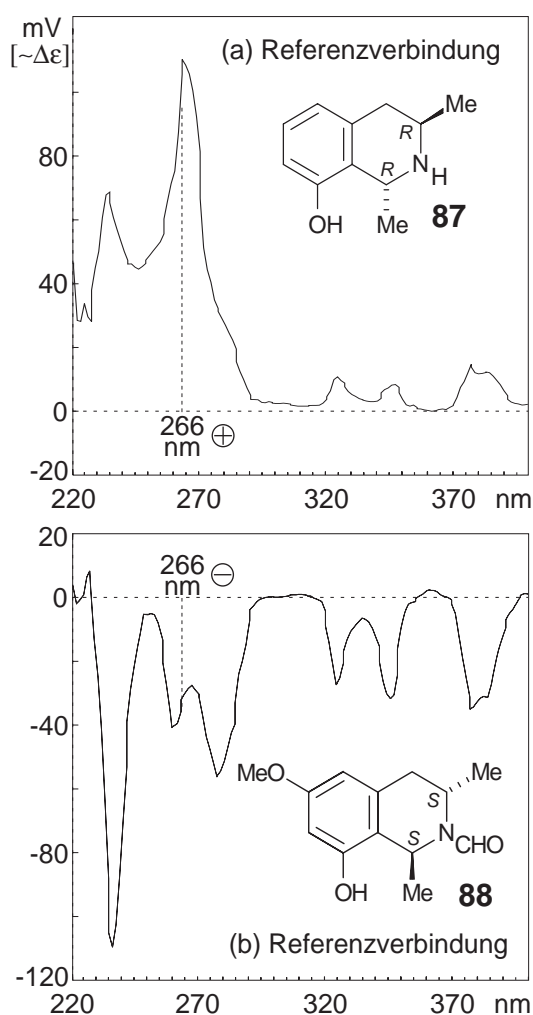


Abb. 54. Stop-flow-CD-Spektren der synthetischen Referenzverbindungen **87** (*1R,3R*, oben) und **88** (*1S,3S*, unten)

Somit ist der CD-Ausschlag bei 266 nm ein eindeutiger Indikator für die absolute Konfiguration des Stereozentrums an C-1 und erlaubt zusätzlich die empfindlichste Detektion, da diese im Bereich des CD-Maximums erfolgt. Der bei 266 nm durchgeführte Lauf (Abb. 53 unten, Seite 90) zeigte einen eindeutig positiven Ausschlag und ermöglichte damit die sichere Zuordnung einer 1*R*-Konfiguration. In Verbindung mit der bekannten *trans*-Anordnung der beiden Substituenten ergab sich für Peak **A**, zumindest als Hauptbestandteil, ein 1*R*,3*R*-Dimethyl-8-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (**87**). Zwar war **87** als Syntheseintermediat bereits bekannt, doch wurde diese Verbindung bislang niemals zuvor als Naturstoff identifiziert und wurde deshalb als „Isochinolinhälfte“ der bis zu diesem Zeitpunkt bekannten Dioncophylline A - D (**4a**, **6**, **7**, **89**)^[10] und vermutliche biosynthetische Vorstufe dieser Dioncophyllaceae-Alkaloide Phyllin (**87**) genannt.

Der bei einer Retentionszeit von $t_R = 22.6$ min auftretende Peak **B** erlaubte durch seine hohe Konzentration neben den standardmäßigen HPLC-MS- und HPLC-NMR-Untersuchungen auch zwei-dimensionale stop-flow-HPLC-NMR-Experimente. Hierbei konnte nicht nur die Konstitution, sondern auch die relative *trans*-Konfiguration der beiden Methylsubstituenten an C-1 und C-3 durch ROESY-Wechselwirkungen zwischen 1-CH₃ und 3-H aufgeklärt werden (vgl. Abb. 19, Seite 24). Konstitutionell war die Verbindung eng verwandt mit dem bekannten Dioncopeltin A (**5**) mit der einzigen Ausnahme einer zusätzlichen Methylfunktionalisierung an O-5' und wurde, da dieses Substitutionsmuster bis dato nicht bekannt war, in Anlehnung an den Pflanzennamen Habropetalin A (**25**) genannt (vgl. Kap. 3, Seite 29). Die Aufklärung der axialen Konfiguration, die aufgrund der direkt an die Achse gebundenen Chromophore den CD-Verlauf bestimmt, gelang auch in diesem Fall bereits online, mit Hilfe der HPLC-CD-Kopplung. Aufgrund der relativ hohen Konzentration von Peak **B** war eine Aufnahme des vollständigen CD-Spektrums (220-410 nm) im stop-flow-Modus möglich. Ein Vergleich des CD-Verlaufs mit denen des strukturell eng verwandten, *M*-konfigurierten Dioncopeltins A (**5**) und des „atropisomeren“, aber aufgrund der CIP-Prioritäten ebenfalls *M*-konfigurierten *N*-Methyl-7-*epi*-dioncophyllins A (**36b**) zeigte einen fast identischen Verlauf mit **5** und erlaubte somit eine eindeutige Zuordnung einer axialen *M*-Konfiguration (s. Abb. 55 links, Seite 93).

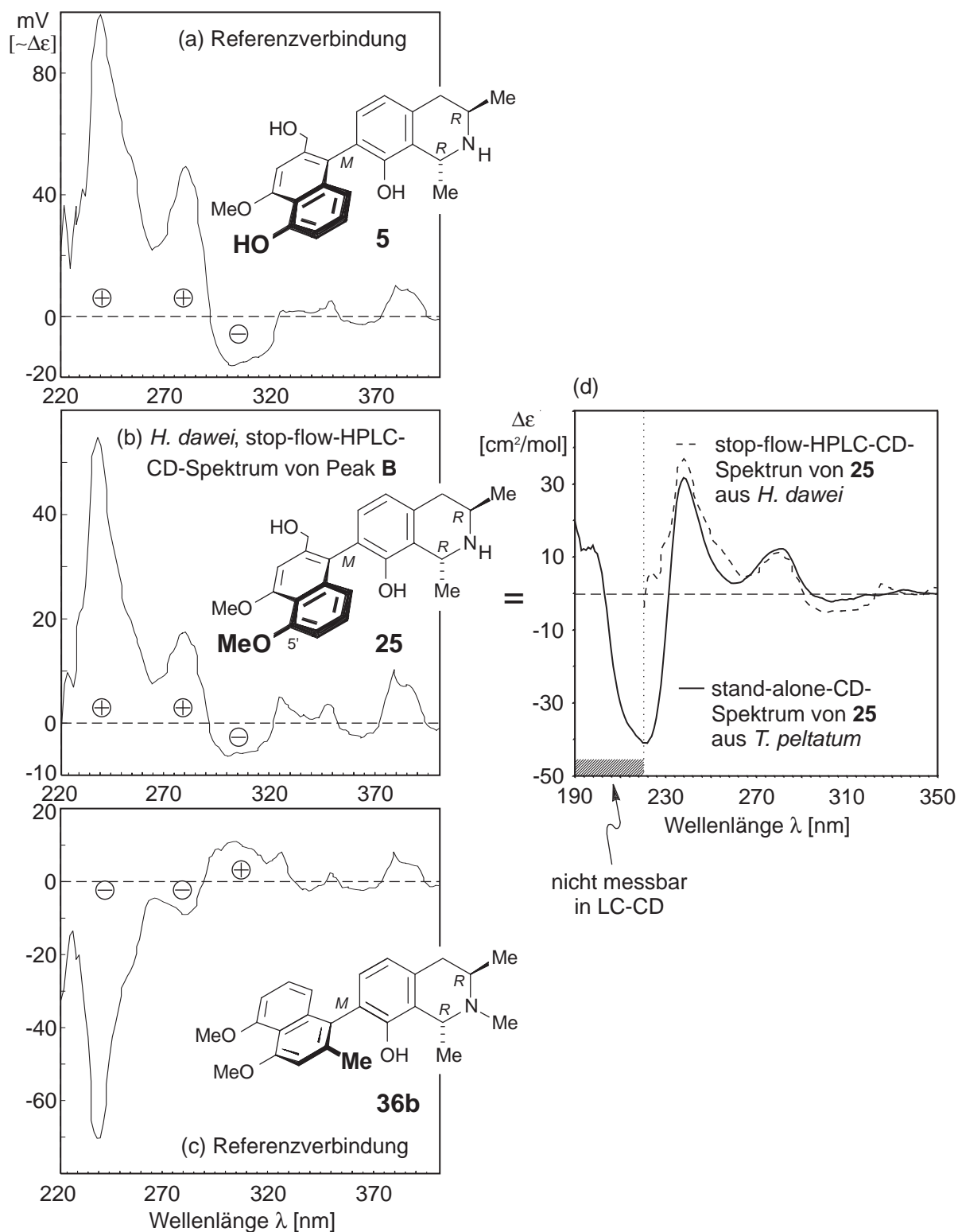


Abb. 55. Vergleich der CD-Spektren von (a) Dioncopeltin A (**5**), (b) Habropetalin A (**25**) und (c) *N*-Methyl-7-*epi*-dioncophyllin A (**36b**) sowie des stop-flow- und des stand-alone-CD-Spektrums von **25** aus *H. dawei* und *T. peltatum* (d)

Durch die aus dem oxidativen Abbau bekannte 3*R*-Konfiguration (s. oben) ließ sich somit das (1*R*,3*R*,7*M*)-Habropetalin A (**25**) als eine weitere, bislang unbekannte Struktur einschließlich der absoluten Konfiguration aller Stereozentren ohne jegliche präparative Isolation direkt aus

dem Extrakt der Pflanze heraus aufklären. Die Richtigkeit der getroffenen *M*-Zuordnung ergab sich nach Abschluss der Untersuchung durch die Isolation von Habropetalin A (**25**) aus *T. peltatum* (s. Kap. 3, Seite 29), dessen CD-Spektrum im stand-alone-Betrieb vermessen wurde. Die in Abb. 55d (Seite 93) gezeigten Spektren zeigen die gute Übereinstimmung der Spektrenverläufe.

Die HPLC-CD-Kopplung ermöglicht somit im Verbund der analytischen „Triade“ HPLC-MS/MS, HPLC-NMR und HPLC-CD die vollständige Aufklärung neuer Verbindungen aus komplexen Substanzgemischen wie hier am Beispiel eines rohen Pflanzenextraktes demonstriert wurde. Die Kombination dieser Methodiken erlaubt damit nicht nur z.B. eine schnelle Dereplikation bekannter Substanzen, sondern bietet sich als eine geeignete Screening-Methode für die schnelle Identifikation unbekannter Metabolite an, deren gezielte isolative Aufarbeitung z.B. für eine biologische Testung als wichtiges Ziel sich daran anschließen kann.

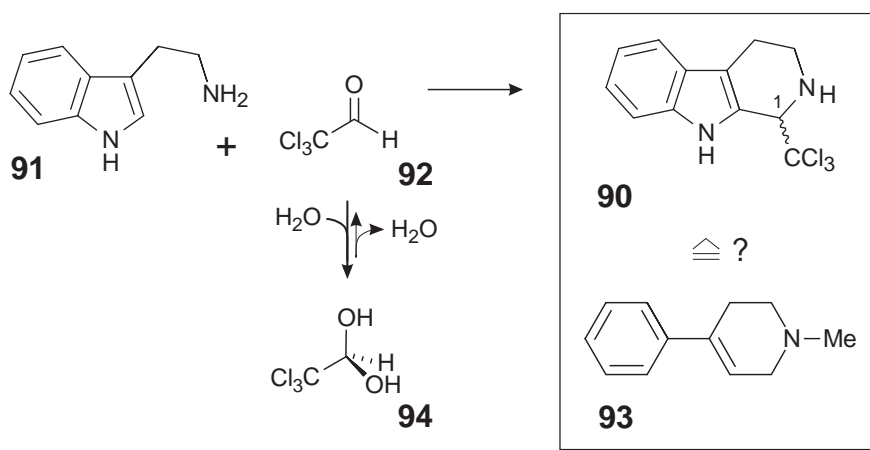
7.2.4 Beurteilung des HPLC-CD-Detektors

Der bei dieser Untersuchung verwendete CD-Detektor CD-995 der Fa. *Jasco* zeigte durch die einfache Handhabung eine gute Eignung und ausreichende Sensitivität für die untersuchten Bedingungen. Allerdings erweist sich der eingeschränkte optische Bereich von 220-420 nm sowie die systemimmanente Unschärfe durch die verwendete Bandbreite von 20 nm des optischen Systems für die Analytik von Naphthylisochinolin-Alkaloiden als nachteilig. Wie in Abb. 51 (Seite 87) und Abb. 55d (Seite 93) deutlich sichtbar ist, wird der in beiden Fällen weitere negative Verlauf (< 230 nm) nicht korrekt wiedergegeben. Gerade dieser Bereich ist bei den Naphthylisochinolininen durch die hier auftretenden maximalen CD-Ausschläge besonders interessant und die Sensitivität ließe sich mit einer Detektionswellenlänge < 230 nm in manchen Fällen sicherlich steigern. Ein weiterer wichtiger Aspekt ist die Vergleichbarkeit der experimentellen Spektren mit den aus quantenchemischer Berechnung zugänglichen Spektren. Die theoretischen Spektren liefern verlässliche Werte in einem Bereich von 180-250 nm, so dass der Überlappungsbereich von nur 20-30 nm oftmals zu gering für eindeutige Aussagen ist. Aus diesen Gründen und mit der Verfügbarkeit einer kommerziell erhältlichen HPLC-CD-Flusszelle für den Einsatz in einem konventionellen CD-Spektropolarimeter wurde diese Lösung als für unseren Arbeitskreis besser geeignet angesehen und daher käuflich zugänglich gemacht. Die folgenden Anwendungsbeispiele wurden an einem J-715-Spektropolarimeter (Fa. *Jasco*) mit Flusszelle durchgeführt, das nur limitiert durch die verwendeten Fließmittel standardmäßig einen Messbereich ab 200 nm im

Kopplungsbetrieb erlaubt. Durch die zusätzliche Ausstattung mit einem 6-Wege-Motorventil und einer abgewandelten Flussschaltung ist nun die Abfolge mehrerer stop-flow-Messungen ohne Verlust der chromatographischen Auflösung möglich.

7.3 HPLC-CD Analytik von TaClo

Die Verbindung TaClo (**90**), dessen Name sich aus seinen beiden Bausteinen Tryptamin („Ta“) (**91**) und Chloral („Clo“) (**92**) ableitet, steht aufgrund seiner leichten Blut-Hirn-Schranken-Gängigkeit,^[215,216] seiner Beeinflussung des striatalen Dopamin-^[217,218] und extrazellulären Serotonin-Metabolismus^[219] sowie der Auslösung einer langsam fortschreitenden Neurodegeneration in Ratten, die eine Parkinson-ähnliche Symptomatik bei den Tieren hervorruft,^[220] im Verdacht, ein potenzielles Neurotoxin zu sein.^[215,221-223] Aus diesen Gründen und wegen der engen strukturellen Verwandtschaft zu MPTP (1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin)^[224,225] (**93**), einem synthetischen dopaminergen Neurotoxin, muss TaClo (**90**) als einer der möglichen Auslöser neuronaler Degeneration beim Menschen in Betracht gezogen werden (s. Schema 16, unten). Der Nachweis von gebildetem TaClo (**90**) in Blutproben älterer Parkinson-Patienten nach der Verabreichung des gängigen^[226,227] Beruhigungsmittels Chloral-Hydrat (**94**)^[228] erhärtete diesen Verdacht. Durch eine einfache Pictet-Spengler-Cyclisierung des reaktiven Aldehyds Chloral (**92**) mit dem biogenen Amin Tryptamin (**91**) lässt sich die Bildung von TaClo (**90**) leicht erklären.^[215,221,229]



Schema 16. Bildung von TaClo (**90**) durch Pictet-Spengler-Cyclisierung von Tryptamin (**91**) und Chloral (**92**) sowie seine enge strukturelle Ähnlichkeit zu MPTP (**93**)

Eine bereits zuvor in unserem Arbeitskreis entwickelte GC-MS-Analytik^[216,222,228] erwies sich aufgrund der aufwendigeren Probenvorbereitung für die Untersuchung einer größeren Probenanzahl als ungeeignet. Aus diesem Grunde wurde eine HPLC-MS-Methodik entwickelt,^[230] die keinerlei Derivatisierung der Metabolite erforderte und eine

Nachweisgrenze bis in den Pikogramm-Bereich erlaubte. Um nicht nur den Nachweis von TaClo (**90**) zu ermöglichen, sondern auch nähere Aufschlüsse über die Bildung von TaClo (**90**) im Menschen zu erhalten, sollte dieses hochsensible Nachweisverfahren auf den Bereich der chiralen Analytik ausgeweitet werden. Fände die Bildung von TaClo (**90**) im Menschen auf enzymatischen Wege statt, so läge die Vermutung einer selektiven Bildungsreaktion zu Gunsten eines Enantiomeren auf der Hand, während eine unselektive 1:1-Bildung beider Formen für eine spontane, rein „chemische“, und damit nicht enantioselektive Cyclisierung der Bausteine Tryptamin (**91**) und Chloral (**92**) spräche. Diese Untersuchungen sollten mit der Hilfe der HPLC-CD-Kopplung ermöglicht werden.

Erste Versuche mit dem racemischen *N*-Methyl-Derivat **95** von TaClo ergaben die erwartete^[231] Trennung auf einer „Chiralcel OD-H“-Phase mit einem für die CD-Messung mehr als ausreichenden Retentionszeitenunterschied für die beiden Enantiomere (s. Abb. 56, Seite 97). Die Untersuchung der Peaks im stop-flow-Modus mit dem jetzt zugänglichen Bereich ab 200 nm ergaben nahezu spiegelbildliche Spektren für die beiden Enantiomere. Die hohe Leistungsfähigkeit der HPLC-CD-Kopplung mit dem regulären CD-Spektropolarimeter, bestückt mit einer HPLC-Flusszelle, demonstriert der direkte Vergleich mit enantiomerenreinem Material, das im stand-alone-Modus vermessen wurde. Der qualitativ identische Verlauf der beiden Spektren-Typen (on-line und stand-alone) über den gesamten Bereich und speziell im kürzerwelligen Teil des Spektrums zeigt deutlich die Überlegenheit dieser apparativen Anordnung im Vergleich zu dem im Vorfeld verwendeten HPLC-CD-Detektor (vgl. Kap. 7.2.4, Seite 94). Unter der Berücksichtigung der nicht direkt zugänglichen Quantifizierung^[232] des CD-Effekts aufgrund der unbekanntenen Stoffkonzentration präsentiert sich die HPLC-CD-Kopplung bei geringerem Substanzbedarf und angesichts des möglichen Einsatzes von Substanzgemischen der stand-alone-Messung als ebenbürtig. Der chromatographische Vergleich mit Material bekannter absoluter Konfiguration zeigte, dass es sich bei dem schneller eluierenden Peak ($t_R = 10.4$ min) um das *R*-Enantiomer *R*-**95** handelte, bei dem langsameren ($t_R = 13.6$ min) um das *S*-Enantiomer *S*-**95**.

Die Übertragung der Trennbedingungen auf racemisches TaClo (**90**) ergab eine Retentionszeitenerhöhung für beide Enantiomere auf $t_R = 21.4$ min und $t_R = 37.9$ min (s. Abb. 57 links, Seite 98). Vermessung der beiden Peaks im stop-flow-Modus ergab wiederum nahezu spiegelbildliche CD-Spektren in sehr guter Übereinstimmung mit stand-alone-Spektren von bereits früher aufgenommenen CD-Spektren der enantiomerenreinen Verbindungen (nicht gezeigt). Durch diesen Vergleich wurde die schneller eluierende Verbindung eindeutig als *R*-TaClo (*R*-**90**), die langsamere als *S*-TaClo (*S*-**90**) identifiziert.

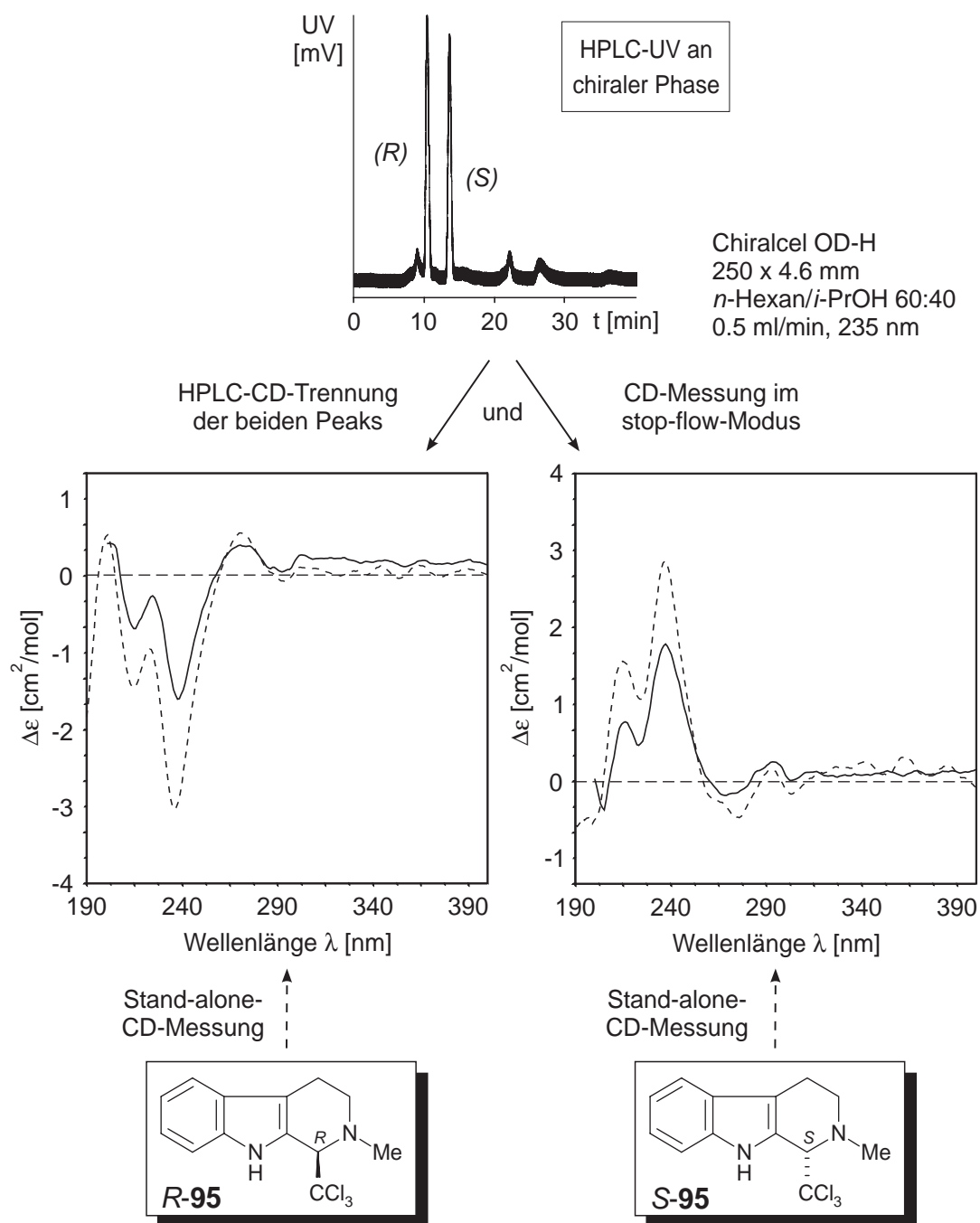


Abb. 56. Vergleich von LC-CD- (—) und stand-alone-Spektrum (- - -) der beiden Enantiomere von *N*-Methyl-TaClo (**95**)

Für die Anwendung in dem beabsichtigten Screeningverfahren, d.h. für die Übertragung der Trennbedingungen auf die HPLC-MS-Kopplung mit Elektrospray-Interface, sind die bei der Trennung auf einer „Chiralcel OD-H“-Phase verwendeten Lösungsmittel *n*-Hexan und *i*-Propanol nicht geeignet. Bei diesem Verfahren eignen sich besonders wässrige Eluenten für die Ionisation des Analyten beim Übergang von der HPLC in die MS-Einheit. Aus diesem Grund wurde versucht, die Trennung der beiden TaClo-Enantiomere auf chirales reversed-

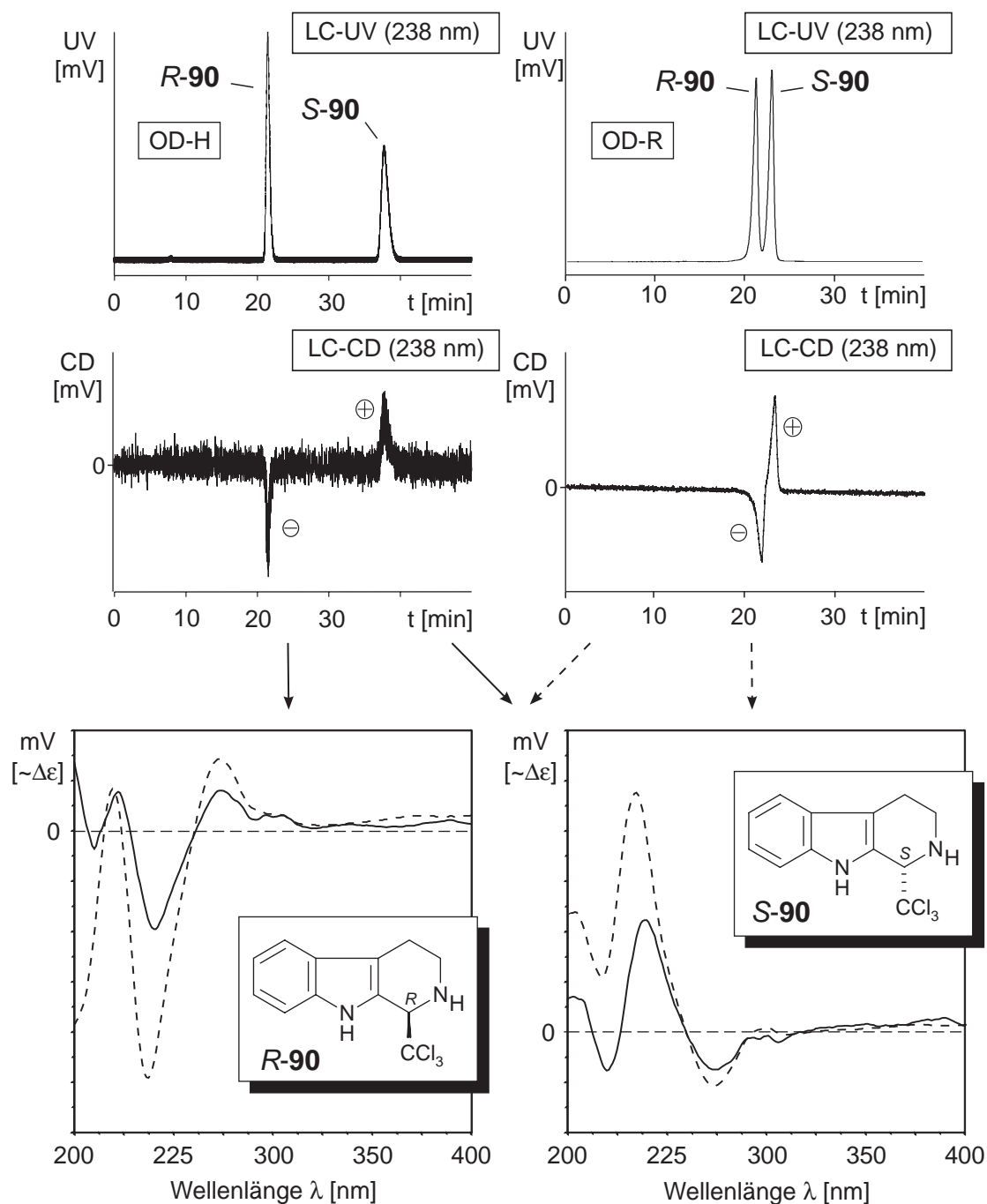


Abb. 57. Trennung und CD-Spektren der beiden TaClo-Enantiomeren auf Chiralcel OD-H (—) (*n*-Hexan/*i*-PrOH) und OD-R (- - -) (MeCN/H₂O)

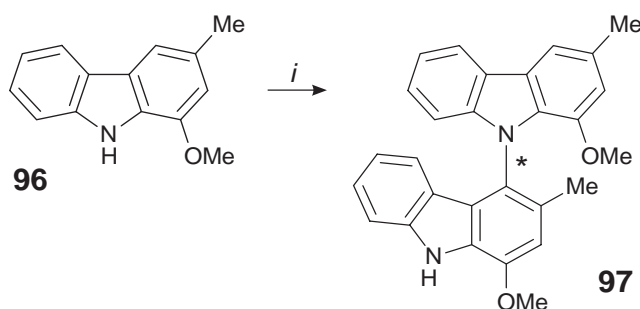
phase-Material zu übertragen, die standardmäßig mit Methanol- oder Acetonitril-Wasser-Gemischen betrieben werden. Nach kurzer Optimierung erwies sich eine Eluentenmischung von Acetonitril/Wasser/TFA (50:50:0.1) als ausreichend (s. Abb. 57 rechts, oben). Der Vergleich der CD-Spektren zeigt zwar einen qualitativ gleichen Verlauf, doch ist durch die unterschiedlichen Lösungsmittel eine deutliche Verschiebung der Maxima hin zu kleineren Wellenlängen bei Verwendung der polareren Laufmittel zu beobachten. Die beim Wechsel von normal-phase- auf reversed-phase-Bedingungen im Bereich der achiralen

Chromatographie oft zu beobachtende und erwartete Umkehr der Elutionsreihenfolge trat bei diesen chiralen Phasen nicht ein.

Mit der so gemachten eindeutigen Zuordnung der Elutionsreihenfolge der beiden TaClo-Enantiomeren gelang bei der HPLC-MS-Untersuchung von Blutproben von Patienten, die mit Chloraldurat[®] (aktiver Wirkstoff: Chloral-Hydrat) behandelten wurden, nicht nur der Nachweis von TaClo (**90**), sondern auch das Vorkommen in racemischer Form im Blut. Dieser Befund deutet auf die bereits eingangs erwähnte spontane, chemische Pictet-Spengler-Kondensation bei der Bildung von TaClo hin. Im Gegensatz hierzu scheinen bei der Metabolisierung von TaClo möglicherweise enzymatische Prozesse mit einer Enantiomerunterscheidung eine Rolle zu spielen. Bei der Analyse von Urinproben intraperitoneal mit racemischem TaClo behandelter Ratten zeigte sich eine Anreicherung des *S*-Enantiomeren (*S*-**90**) im ausgeschiedenen Urin und deutet somit entweder auf eine bevorzugt das *R*-Enantiomer (*R*-**90**) betreffende Metabolisierung oder eine bessere Absorption oder Verteilung von *R*-**90** hin.

7.4 Chirale on-line-Analytik am Beispiel von Murrastifolin-F

Durch die oxidative Kupplung mit Blei-Tetraacetat des Naturstoffes Murrayafolin-A (**96**), der allerdings totalsynthetisch im Rahmen der von Tasler durchgeführten Gesamtsynthese^[233] hergestellt worden war,^[234] gelang erstmals die Synthese des dimeren *N,C*-verbundenen Naturstoffes Murrastifolin-F (**97**) (s. Schema 17, unten).



Schema 17. Synthese des dimeren Carbazolalkaloids Murrastifolin-F (**97**) aus Murrayafolin-A (**96**) durch Tasler; *i*: Pb(OAc)₄, 60 %

Dieses aus *Murraya*-Arten (Rutaceae) bekannte Dimer^[235] sollte aufgrund der hohen sterischen Hinderung von vier *ortho*-Substituenten in Nachbarschaft zur Achse eine gehinderte Rotation um die Biarylachse aufweisen und deshalb in Form zweier stabiler Atropisomere vorkommen. Quantenchemische Berechnung der Rotationsbarriere mit der AM1-Methodik ergab übereinstimmend mit dieser Vermutung eine Isomerisierungsbarriere

von $\Delta H^\ddagger = 165 \text{ kJ mol}^{-1}$.^[233] Aufgrund des nicht enantioselektiven Kupplungsschrittes bei der Synthese sollte das synthetisierte Dimer in racemischer Form auftreten, doch führten mehrere Trennversuche der beiden Isomere auf chiraler Phase (Chiralcel OD-H, OF) zu keinem Erfolg und ergaben jeweils nur einen UV-Peak ohne Anzeichen einer Antrennung. Vor einer normalerweise in diesem Fall nötigen, meist langwierigen „trial-and-error“-Suche nach einer geeigneten Phase wurden diese Trennbedingungen unter HPLC-CD-on-line-Bedingungen erprobt, da sich bereits in vorausgegangen Beispielen die höhere Selektivität der CD-Detektion in dieser Kopplungsmethodik gezeigt hatte (vgl. Abb. 52, Seite 88). Tatsächlich trat in dem zur UV-Spur parallel aufgenommenen CD-Chromatogramm die deutliche Trennung der beiden Antipoden mit einem bei 254 nm erst negativen Ausschlag im ansteigenden Bereich des UV-Peaks gefolgt von dem positiven Verlauf des CD-Signals im abfallenden Tailbereich des UV-Peaks auf (s. Abb. 58, Seite 101). Die mit einem UV-Detektor nicht sichtbare, aber dennoch erfolgte Antrennung der beiden Atropisomere war sogar für die Aufnahme von CD-Spektren im stop-flow-Modus geeignet und ergab die für Atropisomere erwarteten spiegelbildlichen Spektren. Dies ermöglichte eine Zuordnung der absoluten Konfiguration der Biarylachse durch den Vergleich mit quantenchemisch^[55,236] berechneten CD-Spektren der beiden Verbindungen. Die Überlagerung der Spektren zeigt deutlich die Übereinstimmung im Bereich von 230-260 nm und erlaubt somit die Zuordnung des chromatographisch schnelleren Peaks zu einer *P*-Konfiguration, des langsameren zu einer *M*-Konfiguration der Achse (*P*-**97** bzw. *M*-**97**).

Nach der nun etablierten Analysetechnik für die beiden Enantiomere von Murrastifolin-F (**97**) lag die Frage auf der Hand, ob dieser Naturstoff in der Pflanze ebenfalls in racemischer Form, enantiomerenrein oder aber in einem angereicherten Verhältnis auftritt. Dieser Frage war bei der von Ito *et al.*^[235] durchgeführten Erstisolation nicht nachgegangen worden, so dass hierfür erneut ein Wurzelextrakt von *M. koenigii* untersucht wurde.

Der nach Optimierung des Gradienten auf achiraler Phase (Symmetry C₁₈) getrennte, vorgereinigte Extrakt zeigte bei $t_R = 17.2$ min einen positiven Ausschlag (254 nm) und deutete somit die *M*-Konfiguration von **97** als Hauptbestandteil an (s. Abb. 59 links, Seite 102, vgl. Abb. 58, Seite 101). Ein von S. Tasler durch eine aufwendige^[233] Reaktionssequenz gewonnener enantiomerenreiner Standard von *M*-**97** erlaubte die Quantifizierung des Enantiomerenverhältnisses in der Pflanze an achiraler Phase. Durch Vergleich der Quotienten

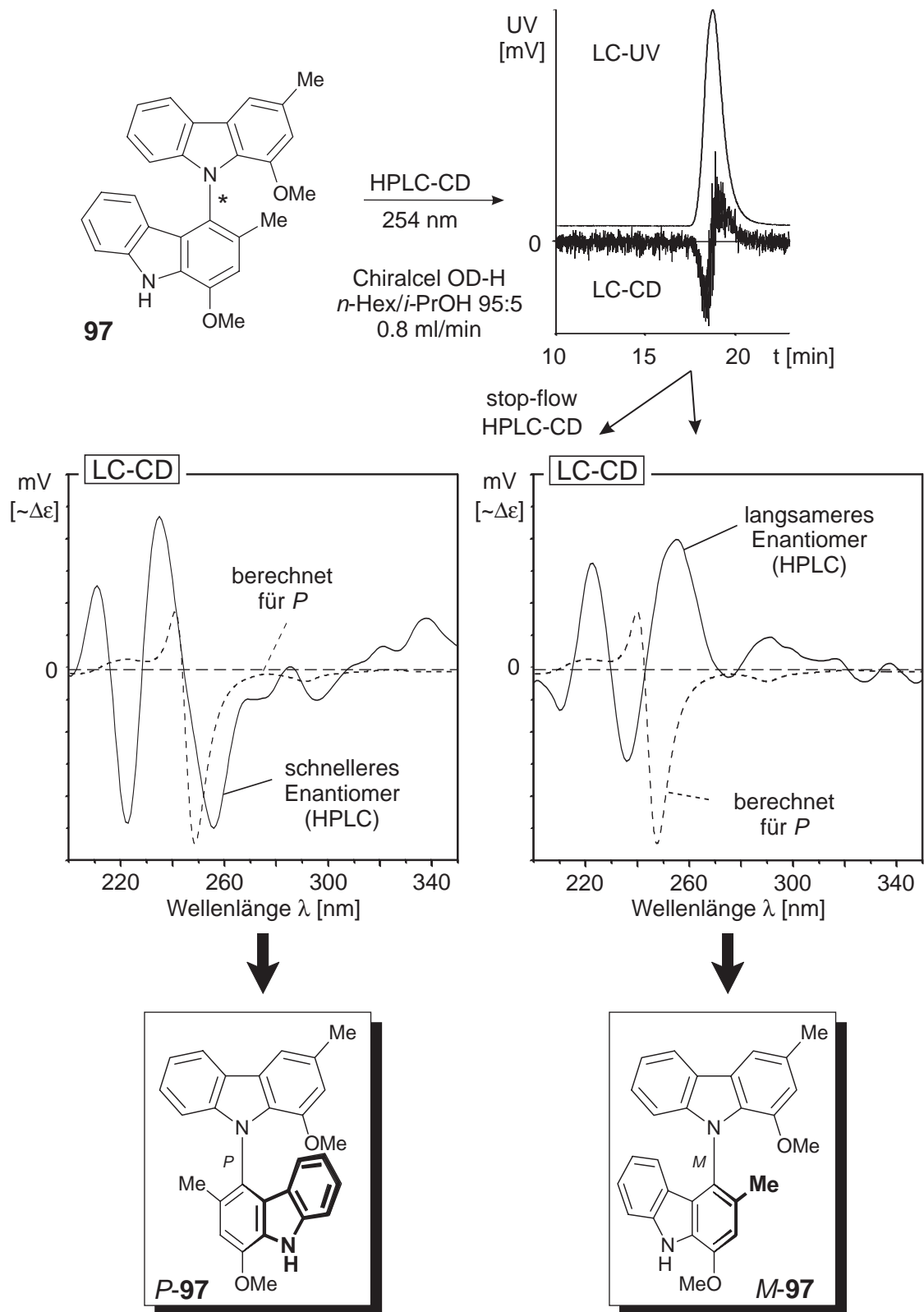


Abb. 58. HPLC-CD-Trennung und -Spektren der beiden Atropisomeren von Murrastifolin-F (*P*-97, *M*-97) und Vergleich mit quantenchemischer Berechnung

der Flächenintegrale der CD- und der UV-Peaks des Standards mit dem des Analytpeaks im Extrakt ließ sich mit der in Abb. 59 (unten) gegebenen Formel ein Enantiomerenüberschuss von 12 %, entsprechend einem Enantiomerenverhältnis von 56:44 zu Gunsten des *M*-Enantiomeren (*M*-**97**) berechnen.^[209] Die zur Absicherung des Ergebnisses ebenfalls auf chiraler Phase (Chiralcel OD-H) durchgeführte Untersuchung zeigte das bereits gewohnte Bild des schneller eluierenden *P*-Enantiomers mit negativem CD-Ausschlag gefolgt von dem positiven Ausschlag des *M*-Isomers (Abb. 59 rechts). Eine Integration und anschließende Subtraktion der beiden Flächen und Vergleich mit dem enantiomerenreinen Standard ergab einen Überschuss des *M*-Konformers von 16 % und somit einen Verhältnis von *M*-**97** zu *P*-**97** von 58:42. In Mittelung der beiden Ergebnisse ergibt sich ein Enantiomerenverhältnis von 57:43 als natürliches Verhältnis in dieser Probe von *M. koenigii*.

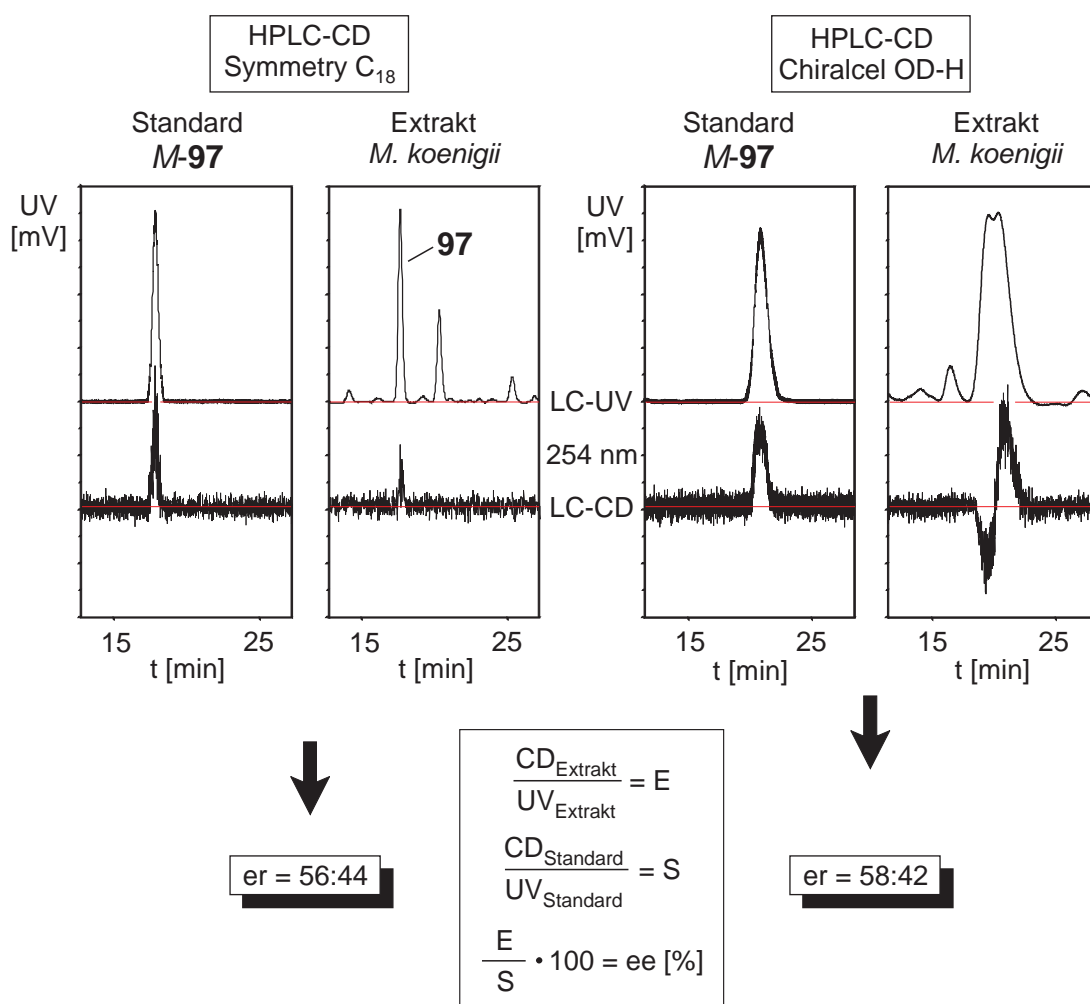


Abb. 59. Bestimmung des Enantiomerenverhältnisses von Murrastifolin-F (**97**) in *Murraya koenigii* an achiraler (Symmetry C₁₈) und chiraler Phase (Chiralcel OD-H)

Die Richtigkeit der Zuordnung der absoluten Konfiguration durch Vergleich mit den berechneten Spektren und somit der hier angegebenen Enantiomerenverhältnisse ergab sich bei der im Rahmen der Racematspaltung durchgeführten Reaktionssequenz^[233] zur Isolation des enantiomerenreinen Standards. Bei dem intermediär auftretenden Di-Mosher-Derivat konnte die axiale *M*-Konfiguration eindeutig durch ROESY-Wechselwirkungen belegt werden und das CD-Spektrum des daraus erhaltenen enantiomerenreinen Naturstoffs *M*-**97** stimmte ausgezeichnet mit dem für die Zuordnung verwendeten, on-line aufgezeichneten CD-Spektrum überein.

Mit Hilfe der HPLC-CD-Kopplung gelang in diesem Beispiel nicht nur der Nachweis einer chromatographischen Auflösung aufgrund der spezifischen Selektivität des CD-Detektors, die sonst bei normaler Vorgehensweise (reine UV-Detektion) einen vermutlich langwierigen Optimierungsprozess bedingt hätte, sondern auch die Aufklärung des natürlichen Enantiomerenverhältnisses von Murrastifolin-F (**97**) in *M. koenigii* mit einem Überschuss des *M*-Atropenantiomeren (*M*-**97**). Dieses ist bei Verfügbarkeit eines enantiomerenreinen Standards auch auf achiraler Phase möglich und erlaubt somit in Zukunft eine schnelle und einfache Analyse pflanzlicher Rohextrakte auf diesen bezüglich der Stabilität wesentlich unempfindlicheren Trennphasen.

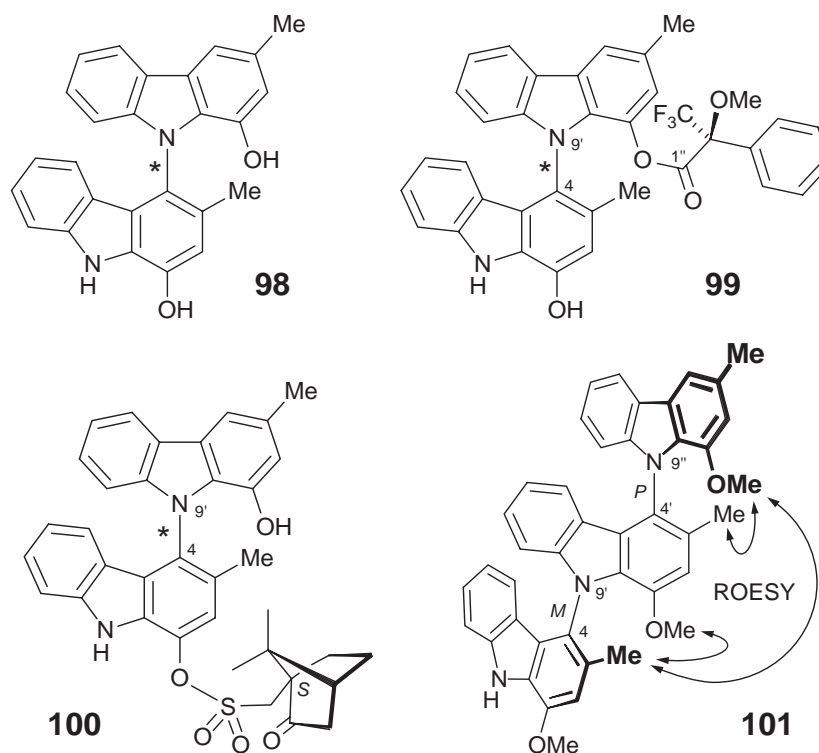


Abb. 60. Weitere mittels HPLC-CD-Kopplung untersuchte Murrastifolin-F-Derivate

Des Weiteren demonstrierte diese Kopplungstechnik ihre hohe Zuverlässigkeit bezüglich der Spektrenqualität auch bei einem weiteren on-line- /stand-alone-Vergleich durch die sehr gute Übereinstimmung der Spektren des bis-*O*-demethylierten Murrastifolin-F-Derivates **98** und ermöglichte durch die Methodik eine schnelle Aufnahme der CD-Spektren der Syntheseintermediate **99** und **100** sowie des Synthesenebenproduktes **101** (dessen *unlike*-Konfiguration dieses racemischen Gemisches durch ROESY-Wechselwirkungen gezeigt wurde)^[233] und erbrachte damit eine hohe Zeitersparnis (s. Abb. 60, Seite 103).

7.5 Cyclorocaglamid, eine Ausnahme der Regel?

Die sogenannten Rocaglamide^[237-246] sind eine auf einem Cyclopentatetrahydrobenzofuran-Grundgerüst aufbauende Naturstoffklasse, die bislang ausschließlich in der Gattung *Aglaia* (Meliaceae) gefunden wurde. Diese Inhaltsstoffe der in den tropischen Regenwäldern Südost-Asiens beheimateten Pflanze fallen durch ihre starke insektizide Wirkung^[240] sowie die zytostatische *in-vitro*-Aktivität gegen menschliche Krebszellen auf.^[247,248] Die Bestimmung der absoluten Konfiguration dieser chiralen Verbindungen fußen auf der durch enantioselektive Totalsynthese^[237,239,249] bekannten Konfiguration von Rocaglamid selbst, während die der weiteren Rocaglamid-Derivate in Analogie hierzu festgelegt wurden. Erst kürzlich^[246] konnte durch MD-basierte (MD: Molekulardynamik) CD-Spektren-Simulation eines Derivats gezeigt werden, dass nicht nur die Berechnung der Spektren dieser Substanzklasse möglich und somit eine einfache Bestimmung der Stereozentren realisierbar ist, sondern dass bei gleichem Chromophor, wie bei der Grundverbindung Rocaglamid, sich der CD-Verlauf gleich verhält und damit die bisherige Zuordnung durch Spektrenvergleich in Analogie zu Rocaglamid richtig war. Alle bislang bekannten Derivate dieser Substanzklasse weisen einen grundsätzlich negativen Verlauf mit zwei Maxima im Bereich von 210 und 225 nm auf, wie in Abb. 61 (Seite 105) am Beispiel des ebenfalls (1*R*,2*R*,3*S*,3*aR*,8*bS*)-konfigurierten Rocaglamids AE^[250] (**102**) gezeigt.

Bei dem jüngst isolierten Cyclorocaglamid^[250] (**103**) jedoch (s. Abb. 62, Seite 105), das schon strukturell aufgrund seiner überbrückten Form auffällig war, zeigte sich ein nahezu über den gesamten Wellenlängenbereich spiegelbildlicher Verlauf des CD-Spektrums und legte damit den Schluss nahe, dass es sich hierbei, zumindest zum größten Teil, um eine umgekehrte absolute Konfiguration handelt. Doch ist dieser einfache Rückschluss bei fünf verschiedenen Stereozentren mit unterschiedlichem Einfluss auf das CD-Verhalten sehr vage und kaum zulässig, zumal bei Rechnungen^[246] ein starker Einfluss der beiden aromatischen

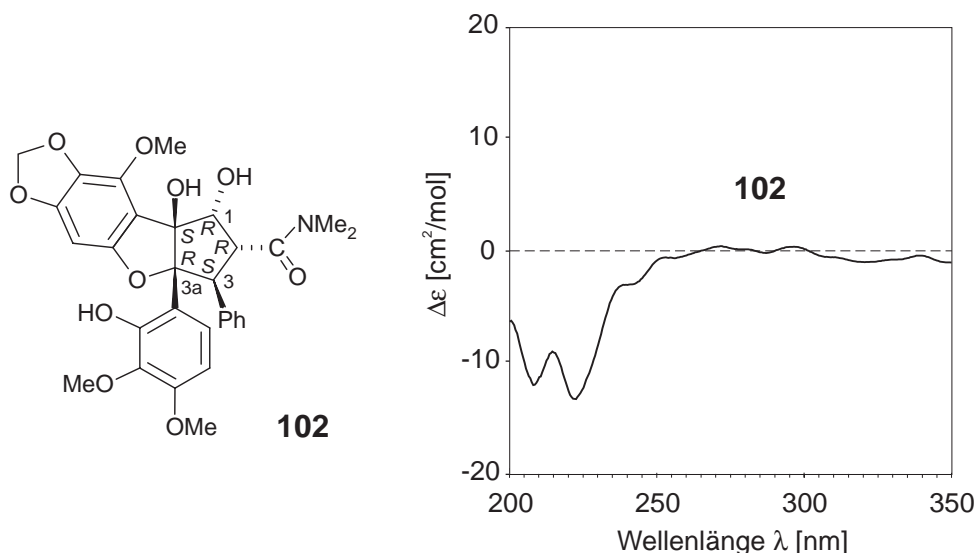


Abb. 61. Struktur und CD-Spektrum von Rocaglamid AE (**102**)

Substituenten an C-3 und C-3a gezeigt werden konnte und diese durch die überbrückte Form in ihrer sonst freieren Rotation stark eingeschränkt sind. Eine eigens hierzu von J. Mühlbacher durchgeführte MD-basierte CD-Simulation bestätigte diesen Zweifel, indem sich bei der Berechnung trotz des umgekehrten CD-Verhaltens eine absolute Konfiguration wie beim Rocaglamid ergab.^[250]

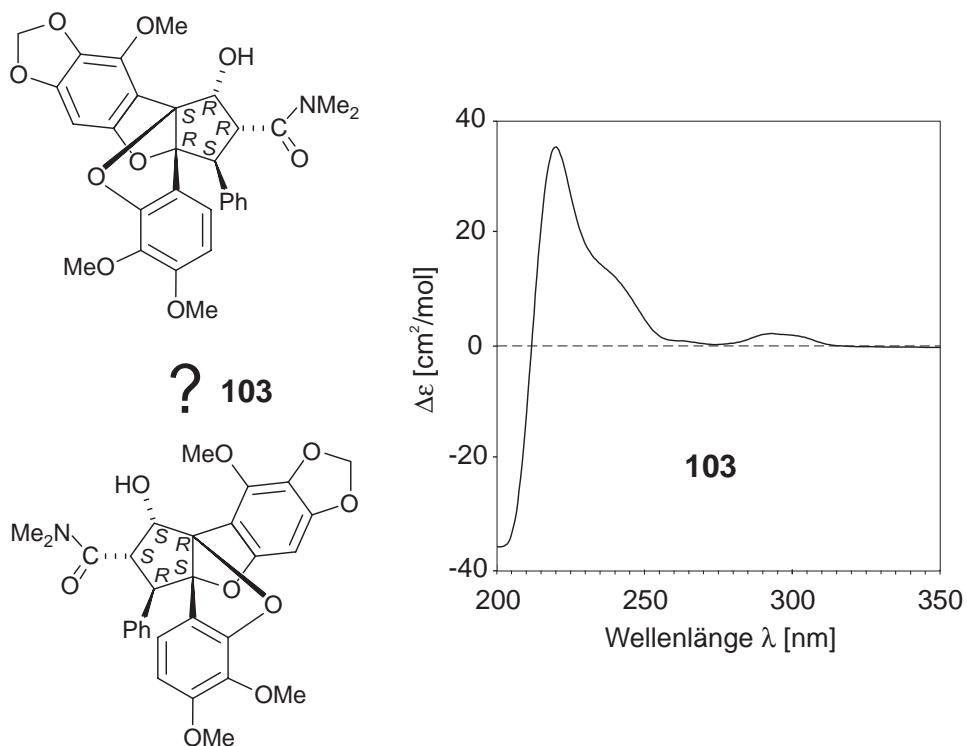
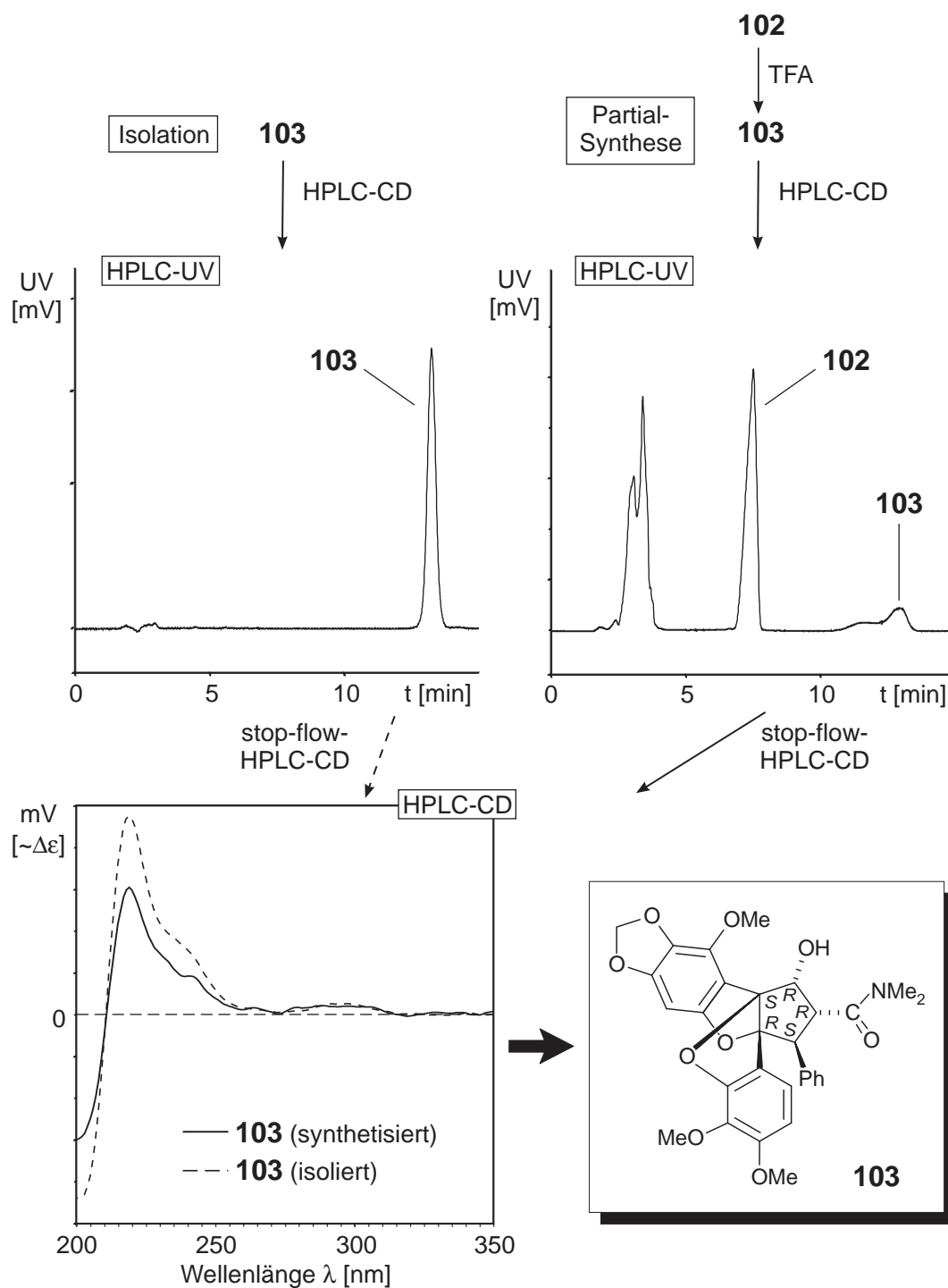


Abb. 62. Die beiden zunächst möglichen spiegelbildlichen Konfigurationen von Cyclorocaglamid (**103**) und dessen experimentelles CD-Spektrum

Aufgrund der bislang bewiesenen hohen Zuverlässigkeit der Rechnungen war in diesem Fall die Zuordnung der absoluten Konfiguration durch einen einfachen CD-Vergleich also nicht zulässig. Die Frage, ob es sich bei Cyclorocaglamid (**103**) nicht doch um das erste Enantiomer zu der sonst bekannten Konfiguration handelte oder die überbrückte Form für das CD-Verhalten verantwortlich war, konnte somit auf diesem Weg nicht eindeutig geklärt werden.

Die mögliche Lösung dieser Problematik brachte eine biomimetische Cyclisierung des Rocaglamid AE (**102**) mit Trifluoressigsäure zu Cyclorocaglamid (**103**). Zwar wurde die Umsetzung aufgrund des nur in sehr begrenzten Mengen verfügbaren **102** nur im Submilligramm-Maßstab durchgeführt, aber es erfolgte tatsächlich ein, wenn auch geringfügiger, Umsatz zum cyclisierten Produkt. Nur mit Hilfe der HPLC-CD-Kopplung gelang es in diesem Fall, ein CD-Spektrum im stop-flow-Modus des durch Koelution mit isoliertem Material nachgewiesenen Cyclisierungsprodukts zu erhalten (s. Schema 18, Seite 107). Die beiden so gewonnenen Spektren weisen einen nahezu identischen Verlauf auf und belegen so eindeutig die bereits auch bei allen anderen Rocaglamiden gefundene (1*R*,2*R*,3*S*,3*aR*,8*bS*)-Konfiguration dieses neuen Naturstoffs. Durch die Cyclisierung und die damit einhergehende Fixierung des aromatischen Chromophors an C-3a kommt es offensichtlich im Vergleich zu Rocaglamid zu einer anderen Ausrichtung der beiden Chromophoren und somit zu einer Beeinflussung dieses sensiblen^[246] elektronischen Systems, welche in einer Umkehr des CD-Verhaltens resultiert. Die hier erbrachte experimentelle Konfigurationszuordnung bestätigte eindrucksvoll die Richtigkeit der quantenchemischen Berechnung auf Basis einer MD-Simulation.

Die HPLC-CD-Kopplung ermöglichte in diesem Fall die Aufnahme eines CD-Spektrums von Cyclorocaglamid (**103**) und damit den Nachweis der absoluten Konfiguration direkt aus einem Reaktionsgemisch. Auf dem herkömmlichen Weg der stand-alone-Messung hätte das nicht nur einen präparativen Isolationsaufwand bedingt, sondern auch, wegen des geringen Reaktionsumsatzes, den Einsatz der gesamten isolierten Menge an Rocaglamid AE (**102**) nötig gemacht. Mit diesem on-line-Verfahren wurde das Risiko einer Zersetzung und der bei Isolationsarbeiten meist auftretende Teilverlust umgangen. Diese materialschonende Technik liefert die selben Ergebnisse ohne jeglichen Informationsverlust.



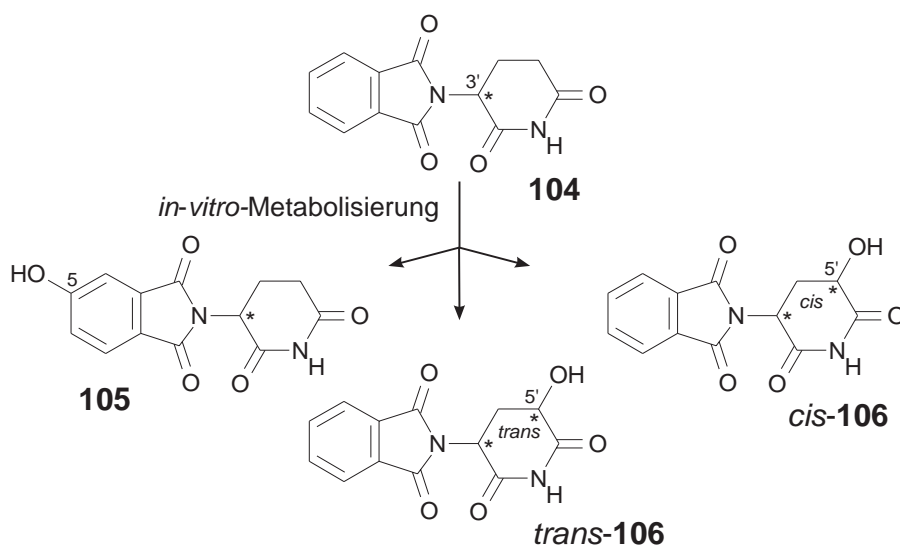
Schema 18. CD-Vergleich der durch Isolation bzw. durch Partialsynthese gewonnenen Proben von Cyclorocaglamid (**103**) zur Bestimmung der absoluten Konfiguration

7.6 Thalidomid und seine Metaboliten

Das Ende der Fünfziger Jahre auf den Markt gebrachte Sedativum Contergan[®] beinhaltete als Hauptwirkstoff in racemischer Form vorliegendes Thalidomid (**104**). Dessen schreckliche teratogenen Eigenschaften, welche sich bei Einnahme während der Schwangerschaft bei den Neugeborenen äußerten, wurden 1961, vier Jahre nach Markteinführung, erkannt^[251-253] und das Medikament zurückgezogen. Nach dieser Zeit wurden neben der beruhigenden Wirkung von Thalidomid seine starken immunomodulatorischen und entzündungshemmenden Eigenschaften entdeckt, die erfolgreich bei der Behandlung von Abstoßungsreaktionen bei Knochenmarktransplantationen, rheumatischer Arthritis und mehreren dermatologischen Erkrankungen eingesetzt wurden.^[254-256] Aus diesem Grund erhielt der Wirkstoff 1997 erneut eine Marktzulassung von der amerikanischen „Food and Drug Administration“ (FDA) für die Behandlung von *erythema nodosum leprosum*,^[257] einer akuten entzündlichen Äußerung von *lepromatous leprosy* (lepromatöse Lepra).^[258] Interessant ist die unterschiedliche Pharmakodynamik der beiden Enantiomeren. Während die Blutkonzentration des *R*-Enantiomeren (**3'R-104**) für die sedative Wirkung verantwortlich ist,^[259,260] bestimmt hauptsächlich das *S*-Enantiomer (**3'S-104**) die immunomodulatorischen Effekte,^[261] doch können die beiden Eigenschaften aufgrund der schnellen *in-vivo*-Isomerisierung der Enantiomere^[259] nicht unabhängig voneinander genutzt werden. Leider gelang es bis heute nicht, den teratogenen Mechanismus aufzuklären, so dass verschiedene Hypothesen diskutiert werden.^[262,263] Eine Untersuchung demonstrierte die Ungiftigkeit von Thalidomid (**104**) in einem *in-vitro*-Lymphozyten-Assay und zeigte die Notwendigkeit der Anwesenheit hepatischer Enzyme und eines NADPH-generierenden Systems für das Auftreten der toxischen Wirkung.^[264] Aus diesem Grund wurde die *in-vitro*-Biotransformation von Thalidomid (**104**) durch Leberzellenfraktionen untersucht. Die hierbei gefundenen Metabolite^[265] 5-Hydroxythalidomid (**105**), *trans*- und *cis*-5'-Hydroxythalidomid (*trans*- & *cis*-**106**) sind identisch mit denen, die auch in Blutplasmaproben oral mit Thalidomid (**104**) behandelte, männlicher Probanden gefunden wurden.^[266]

Bemerkenswert ist die stereoselektive Biotransformation von Thalidomid (**104**) bei dieser Untersuchung.^[265] Das *R*-Enantiomer (**3'R-104**) wird hauptsächlich im Glutarimid-Rest hydroxyliert, während die *S*-konfigurierte Verbindung (**3'S-104**) vorwiegend eine Hydroxylierung im Phthalimid-Teil erfährt (s. Schema 19, Seite 109). Aufgrund der hochgradig enantioselektiven Bildung jeweils nur eines Enantiomers von jedem der drei Produkte bei der Inkubation von *R*-Thalidomid (**3'R-104**) und der kaum beobachteten

Isomerisierung, d.h. der Inversion an C-3' zum *S*-Thalidomid (3'*S*-**104**), setzte man konfigurative Stabilität des chiralen Zentrums an C-3' voraus und wies den Produkten jeweils eine 3'*R*-Konfiguration zu. Die Produktbildungsselektivität war, wenn auch weniger ausgeprägt, bei der Inkubation des *S*-Enantiomeren ebenfalls angezeigt. Im Falle von 5-Hydroxythalidomid (**105**) und *trans*-5'-Hydroxythalidomid (*trans*-**106**) bildete sich das jeweils andere Enantiomer in 95 bzw. 92 %, so dass hier auf eine 3'*S*-Konfiguration geschlossen wurde. Beide Zuordnungen erfolgten aber unter deutlichem Vorbehalt aufgrund der getroffenen Annahme der Stabilität an C-3'. Eine Überprüfung der Ergebnisse mit Hilfe der CD-Spektroskopie sollte diese Befunde absichern.



Schema 19. Metabolisierungsprodukte von Thalidomid (**104**) bei der Inkubation mit Rattenleber-Mikrosomen^[265]

Eine vorherige Vermessung der reinen Edukte und Produkte mittels HPLC-CD-Kopplung¹⁰ ergab für alle Verbindungen einen signifikanten Ausschlag im Bereich von 255 nm, jeweils spiegelbildlich für die entsprechenden Enantiomeren.^[267] Aufgrund der bekannten absoluten Konfiguration des eingesetzten Thalidomids (**104**) konnte der *R*-Konfiguration ein positiver Ausschlag bei 255 nm zugeordnet werden, der negative Ausschlag entsprechend dem *S*-Konformer (s. Abb. 63, Seite 110). Eine Zuweisung der CD-Spektren der hydroxylierten Metaboliten konnte wegen derer unbekannter absoluter Konfiguration nicht erfolgen.

¹⁰ Diese Analysen wurde an dem bereits besprochenen CD-Detektor der Fa. *Jasco* (vgl. Kap. 7.2.4, Seite 94) im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. A. Mannschreck, Universität Regensburg, durchgeführt.

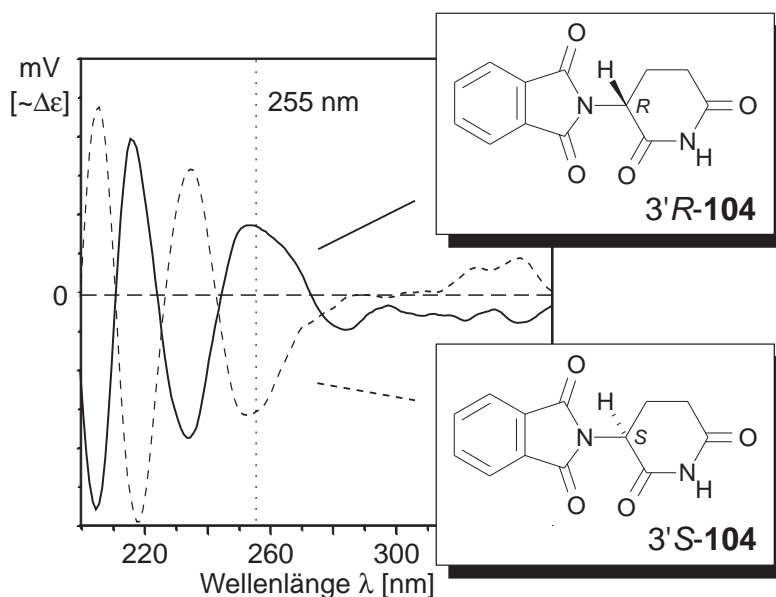
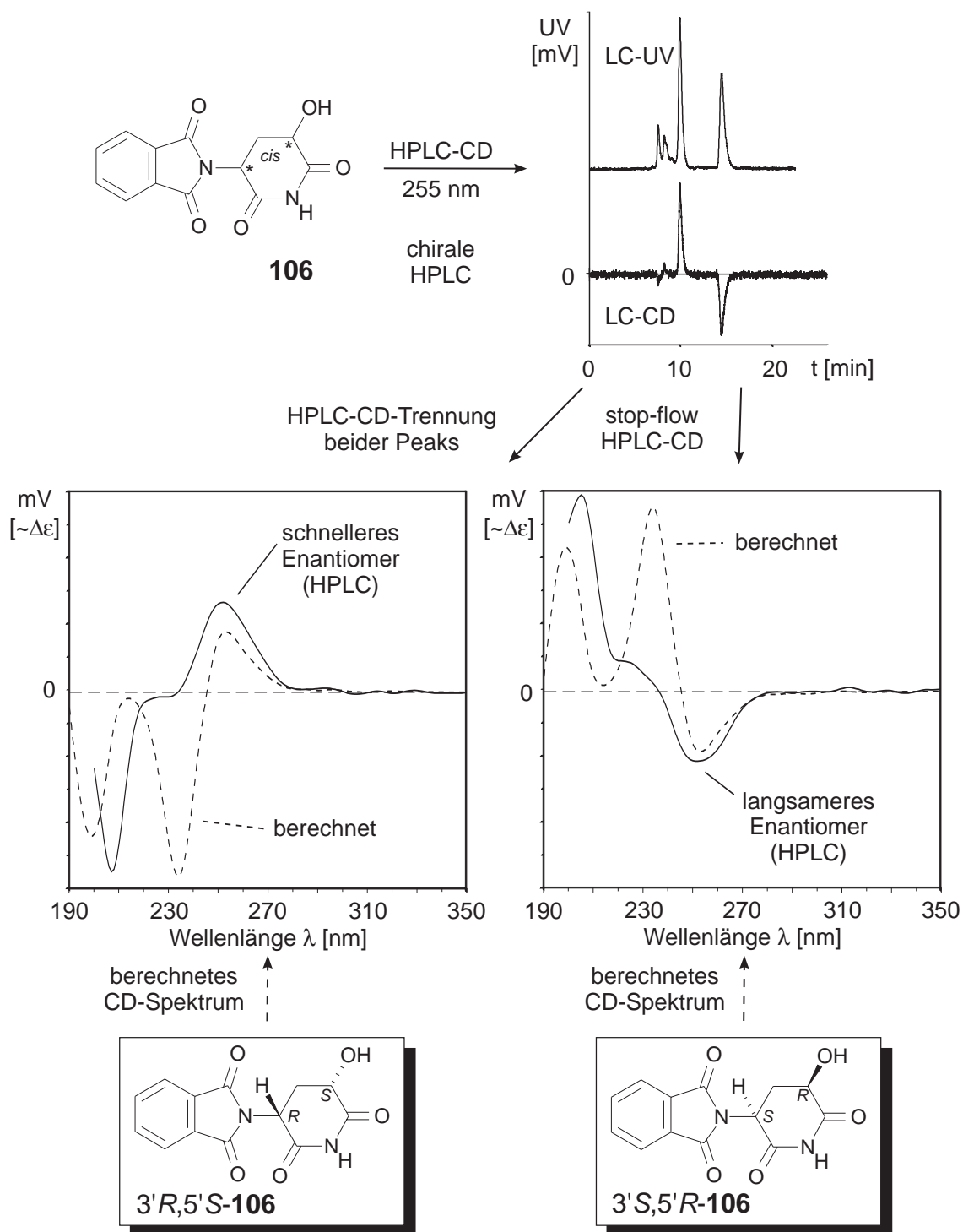


Abb. 63. Experimentelle CD-Spektren der beiden Enantiomere von Thalidomid (**104**)

Zur Zuordnung dieser CD-Spektren zu den jeweiligen Enantiomeren sollten die Spektren quantenchemisch berechnet und anschließend mit den experimentell erhaltenen Daten verglichen werden. Hierbei zeigte sich die Unzulänglichkeit des CD-Detektors in Regensburg, mit seinem eingeschränkten Wellenlängenbereich von 220-420 nm, der eine sichere Zuordnung der berechneten Spektren aufgrund des geringen, daher nicht signifikanten Überlappungsbereichs nicht erlaubte (s. Kap. 7.2.4, Seite 94). Eine erneute HPLC-CD-Analyse des racemischen *cis*-5'-Hydroxythalidomids (*cis*-**106**) und Messung der CD-Spektren im stop-flow-Modus bis 200 nm offenbarte weitere Banden im kürzerwelligen Bereich (Schema 20, Seite 111). Diese weiteren Maxima im Bereich von 205 nm erlaubten nun eine sichere Zuordnung der berechneten Kurvenverläufe und ergaben eine 3'R,5'S-Konfiguration für den chromatographisch schnelleren Peak (3'R,5'S-**106**) und eine 3'S,5'R-Anordnung für das später eluierende Enantiomer (3'S,5'R-**106**). Die CD-Effekte bei 255 nm sind mit einem positiven Ausschlag für die 3'R- und einem negativen für die 3'S-Konfiguration in Übereinstimmung mit den Spektren von Thalidomid (**104**).

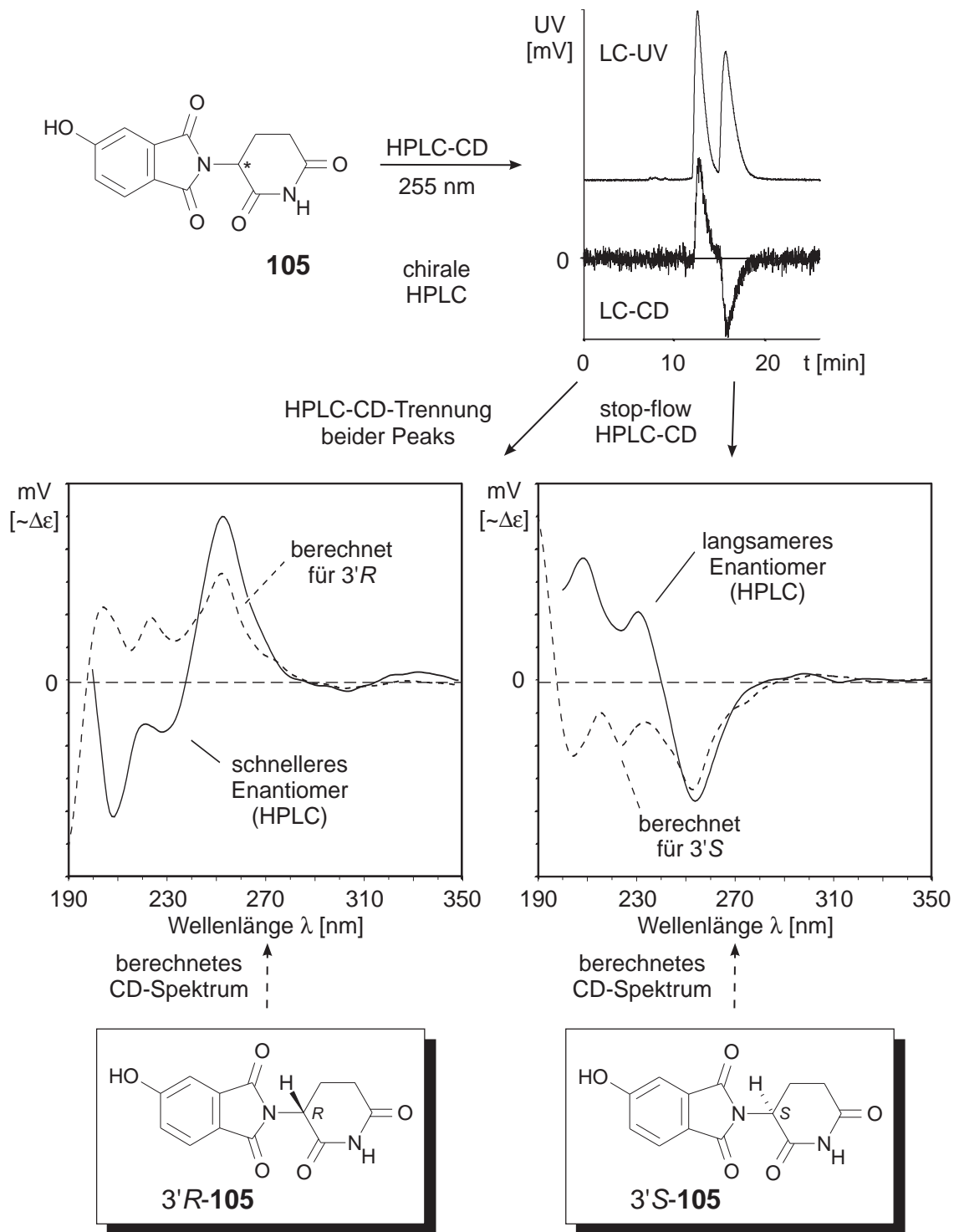
Die HPLC-CD-Untersuchungen der kernhydroxylierten Verbindungen (**105**) erlaubten auch in diesem Fall eine Zuordnung der berechneten zu den experimentellen Spektren und ergaben erneut eine 3'R-Konfiguration für den schnelleren Peak mit einem positiven CD-Effekt bei 255 nm (Schema 21, Seite 112). Das langsamere Enantiomer mit der 3'S-Konfiguration zeigte die entsprechenden spiegelbildlichen Spektren. Die in diesem Fall nicht wie gewohnt auf der selben Seite der Nulllinie verlaufenden Spektren (berechnet und experimentell) im



Schema 20. Vergleich der experimentellen und der von J. Mühlbacher berechneten Spektren von *cis*-5'-Hydroxythalidomid (*cis*-**106**)

kürzerwelligen Bereich sollten nicht über die gleiche Abfolge der Maxima hinwegtäuschen, die auch in diesem Fall die eindeutig Zuweisung erlaubten. Ein direkter Vergleich aller berechneter Spektren^[267] zeigte deutlich den ähnlichen Verlauf aller 3'*R*-konfigurierter Thalidomid-Grundstrukturen und erlaubte nun durch die Übereinstimmung mit den experimentellen Spektren die sichere Konfigurationszuordnung an C-3'. Hieraus ergibt sich

der direkte Zusammenhang der C-3'-Konfiguration und des CD-Effekts bei 255 nm, positiv im Fall einer 3'R-Konfiguration, negativ bei einer 3'S-Anordnung.



Schema 21. Vergleich der experimentellen und der von J. Mühlbacher berechneten Spektren von 5-Hydroxythalidomid (**105**)

Diese Aufklärung ermöglichte die Bestimmung der absoluten Konfiguration der Metaboliten bei der Biotransformation von Thalidomid (**104**). Die HPLC-CD-Analyse^[267] der

Metabolisierungsansätze¹⁰ von *R*-Thalidomid (**3'R-104**) an achiraler Phase bei 250 nm ergab für *trans*-5'-Hydroxythalidomid und 5-Hydroxythalidomid durch einen positiven CD-Ausschlag eine 3'*R*-Konfiguration (**3'R,5'R-106** und **3'R-105**), entsprechend einer direkten Hydroxylierung des Eduktes. Durch zeitabhängige Untersuchung der Konzentration von *trans*- und *cis*-5'-Hydroxythalidomid konnte bei dieser Untersuchung gezeigt werden, dass die bei der Metabolisierung gebildete *cis*-Verbindung (**cis-106**) durch Inversion an einem Stereozentrum (C-3' oder C-5') aus der *trans*-Verbindung gebildet wird und nicht direkt aus dem Edukt entsteht. Der negative Effekt des *cis*-5'-Hydroxythalidomids zeigte deutlich eine 3'*S*-Anordnung (**3'S,5'R-106**) und belegte somit die Inversion an C-3' bei der Bildung von *cis*-5'-Hydroxythalidomid (**3'S,5'R-106**) aus *trans*-5'-Hydroxythalidomid (**3'R,5'R-106**). Die HPLC-CD-Untersuchung der Metabolisierung von *S*-Thalidomid ergab das erwartete Bild eines 3'*S*-konfigurierten 5-Hydroxythalidomids (**3'S-105**).

Mit Hilfe der HPLC-CD-Kopplung gelang somit in Kombination mit quantenchemischer Berechnung die erstmalige Zuordnung der absoluten Konfiguration der hydroxylierten Metaboliten von Thalidomid (**104**), die aufgrund der geringen Konzentrationen der Metabolisierungsansätze einen immensen präparativen Aufwand für die Untersuchung im stand-alone-Verfahren bedingt hätte. Des weiteren bestätigte sich hier erneut die Überlegenheit der HPLC-CD-Kopplung mit einem vollwertigen CD-Spektropolarimeters im Vergleich zu dem CD-Detektor.

7.7 Abschließende Betrachtung

Die HPLC-CD-Kopplung zeigte sich in den angeführten Beispielen im Bereich der Sensitivität als der standardmäßigen stand-alone-Messung durchaus ebenbürtig. Der einzige direkt ersichtliche Nachteil ist die oft gegebene Einschränkung des Messbereiches bei den üblichen Eluenten (*n*-Hexan, *i*-Propanol) bis ca. 200 nm, doch könnte auch der Bereich von 190-200 nm nötigenfalls durch Adaption der Lösungsmittel erreicht werden, so dass dieser Punkt keinen unumgänglichen Nachteil darstellt. Die einzige Einschränkung erfährt die Kopplungstechnik dahingehend, dass im normalen Messbetrieb weder die Stoffkonzentration in der Messzelle noch der molare Extinktionskoeffizient des Analyten bekannt ist und somit eine Umrechnung des gemessenen CD-Effekts auf eine analytspezifische Größe nicht möglich ist. Dies lässt sich jedoch durch eine Eichung der Apparatur mit der zu untersuchenden Substanz umgehen und wird standardmäßig bei der Routineanalytik industrieller Prozesse, z.B. der Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse einer stereoselektiven Synthese, durchgeführt. Für die meisten Anwendungen, wie auch die hier gezeigten Beispiele

demonstrieren, sind die erhaltenen qualitativen Spektren jedoch bei weitem ausreichend und liefern die gewünschte Informationen. Betrachtet man die substanzschonende Anordnung und die extreme Einsparung an Zeit- und Materialaufwand im Vergleich zu einer präparativen Isolation der interessierenden Verbindungen, so liegen die Vorteile dieser Kopplungstechnik deutlich auf der Hand. Es bleibt zu wünschen, dass diese Ergebnisse zu einer weiteren Verbreitung und Nutzung dieser Technik in der Zukunft beitragen.

8 Zusammenfassung

Nicht nur die zunehmende Resistenz vieler Krankheitserreger und das damit verbundene Wiederaufflammen längst besiegt geglaubter Krankheiten, sondern auch neue Bedrohungen wie das HI-Virus machen die Suche nach neuen Wirkstoffen zu einem der dringlichsten Probleme der Menschheit. Die Natur bietet mit ihrer Vielfalt der Flora und Fauna eine schier unerschöpfliche Quelle für neue molekulare Leitstrukturen. Deren hohes biologisches Potenzial ist im Bereich der pharmakologischen Wirkstoffe durch die Vielzahl von den zu Medikamenten avancierten Naturstoffen eindrucksvoll belegt.^[1,2,5,6]

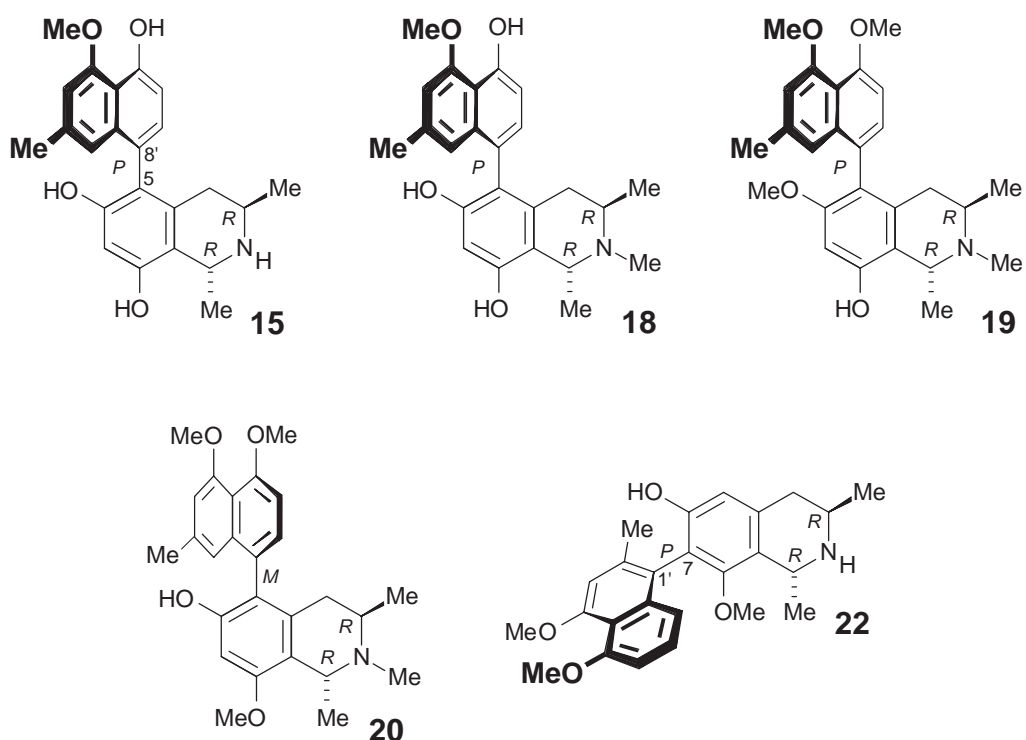
Eine relativ junge Naturstoffklasse bilden die sogenannten Naphthylisochinolin-Alkaloide,^[9,11] die bislang ausschließlich in den beiden tropischen Lianenarten der Pflanzenfamilien der Dioncophyllaceen und Ancistrocladaceen gefunden wurden.^[9] Diese besonderen Biarylverbindungen stellen aufgrund ihrer hohen strukturellen Variationsbreite und ihrer vielversprechenden biologischen Aktivitäten gegen verschiedenste Pathogene ein lohnendes Ziel zur Isolierung^[9,10,57,70,85] und Synthese^[51,92,132,140] dar.

Die bestehende Problematik bei der Naturstoffisolierung ist - neben dem benötigten hohen Materialeinsatz - vor allem der meist enorme zeitliche Aufwand. Ein Lösungsansatz ist die analytische Identifikation interessanter Metaboliten im Vorfeld der präparativen Arbeit für eine zielgerichtete Isolierung. In diesem Bereich haben sich in den letzten Jahren die sogenannten on-line-Kopplungstechniken wie die HPLC-NMR oder HPLC-MS als ein wertvolles Hilfsmittel erwiesen.^[201] Aufgrund der hier zum Einsatz kommenden Messprinzipien ist mit diesen Methoden jedoch nur eine Aussage über die Konstitution und die relative Konfiguration möglich, eine Bestimmung der absoluten Konfiguration chiraler Elemente erlauben diese Techniken jedoch nicht.

Neben der Isolierung und Strukturaufklärung eines bekannten und sechs bislang unbekannter Naphthylisochinolin-Alkaloide sowie der Evaluierung des synthetischen Zugangs zu einem hierbei neu isolierten seltenen Kupplungstyp wurde auch die vollständige Strukturzuordnung des seit mehr als 25 Jahren bekannten Tetralons Isoshinanolon erreicht. Alle neu isolierten Naturstoffe wurden einer breit angelegten biologischen Testung zugeführt. Des Weiteren gelang es, die sogenannte HPLC-CD-Kopplung an mehreren Beispielen erfolgreich sowohl im phytochemischen als auch im synthetischen Bereich als schnelle und praktikable chirale on-line-Analytik einzuführen und zu etablieren.

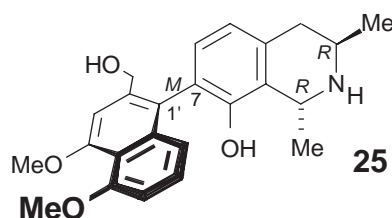
Im einzelnen wurden folgende Ergebnisse erzielt:

- Aus der im Kongobecken (Demokratische Republik Kongo) beheimateten Lianenart *Ancistrocladus congolensis* (Ancistrocladaceae) wurden neben dem bereits aus anderen Arten bekannten Korupensamin A (**15**)^[50] vier neue Alkaloide isoliert und hinsichtlich ihrer Struktur vollständig aufgeklärt. In Anlehnung an die Pflanzenart wurden diese neuen Naturstoffe Ancistrocongoline A - D (**18-20, 22**) genannt. Mit ihrer 3*R*-Konfiguration und der Sauerstoffsubstitution an C-6 stellen sie Beispiele für den sogenannten Hybrid-Typ, den Mischtyp zwischen reinem Dioncophyllaceae- und Ancistrocladaceae-Typ, dar, wie er im zentralafrikanischen Bereich typischerweise auftritt. Die Isolierung erfolgte unter anderem durch Anwendung der HSCCC-Methodik (High-Speed Countercurrent Chromatography), einer Flüssig-Flüssig-Verteilungschromatographie, die hierbei durch eine neuartige Verschaltung der speziell konzipierten Vorratsgefäße entscheidend verbessert wurde. Durch den Aufbau der HSCCC-UV-Kopplung, verbunden mit der Implementierung der UV-Peak-detektierten Fraktionierung, wurde eine erheblich verkürzte Aufarbeitungszeit der gewonnenen Proben erreicht.^[268]

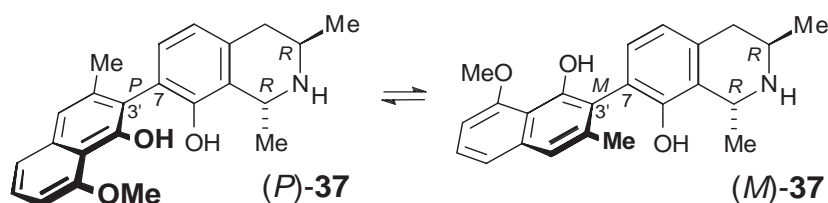


- Das neue Naphthylisochinolin-Alkaloid Habropetalin A (**25**) wurde durch die Anwendung der HSCCC-Methodik aus *Triphyophyllum peltatum* (Dioncophyllaceae) isoliert und strukturell vollständig charakterisiert. Bereits nach einer nur groben

Vorfraktionierung des Rohextrakts gelang die Reinsolation dieses Alkaloids, was deutlich den hohen Nutzen des komplementären Isolationsprinzips im Vergleich zu herkömmlichen chromatographischen Trennverfahren zeigt. Mit der Isolierung war es nun möglich, die in unserem Arbeitskreis durch QSAR-Studien vorhergesagte^[126] hohe antiplasmodiale Aktivität zu bestätigen.

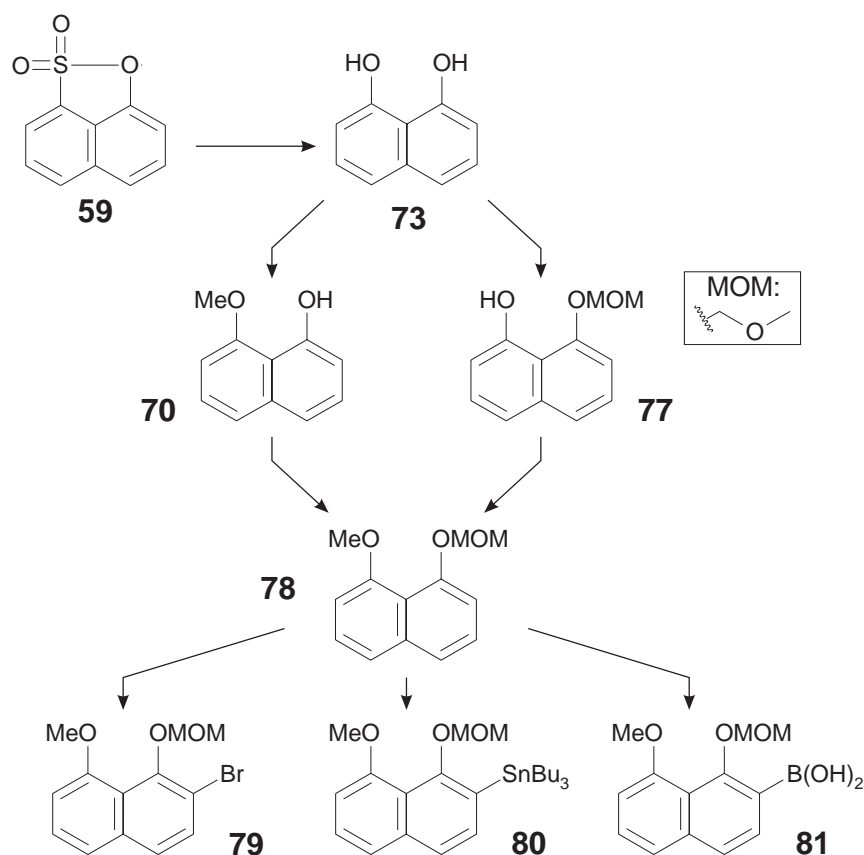


- Aus der westafrikanischen Lianenart *Dioncophyllum thollonii* (Dioncophyllaceae) wurde Dioncophyllin E (**37**), ein neuer Naturstoff aus der Klasse der Naphthylisochinolin-Alkaloide isoliert und strukturell aufgeklärt. Die Besonderheit dieses Sekundärmetaboliten liegt in seiner konfigurativen semi-stabilen Biarylachse, die bei Raumtemperatur binnen mehrerer Stunden eine Umwandlung der beiden Atropdiastereomere ineinander ermöglicht. Dennoch gelang nicht zuletzt durch die Anwendung der HPLC-CD-Kopplung und unterstützt durch theoretische Methoden wie ¹H-NMR-Spektrensimulation, CD-Spektren- und Rotationsbarrierenberechnungen die Strukturaufklärung und die experimentelle Bestimmung der Rotationsbarriere.^[105]



- Die hohe biologische Aktivität von Dioncophyllin E (**37**) und seine besonderen strukturellen Merkmale stellten die Frage nach einem möglichen synthetischen Zugang. Das generelle Synthesekonzept beruhte auf einer im Aufbau der Biarylachse konvergierenden Synthese des Isochinolin- und des Naphthalinteils. Während die Synthese der Isochinolinhälfte bekannt war,^[131,140] versuchte man, für die Naphthalinhälfte einen neuen Weg zu entwickeln. Nach der Erprobung mehrerer alternativer Ansätze gelang ausgehend von dem Sulton **59** die unter harschen Bedingungen erfolgende bekannte Herstellung des oxidationsempfindlichen 1,8-Naphthalindiols (**73**). Anschließende Methylierung und Anbringung der für Metallierungen stark dirigierenden MOM-Gruppe in **78** erlaubte mittels DoM-

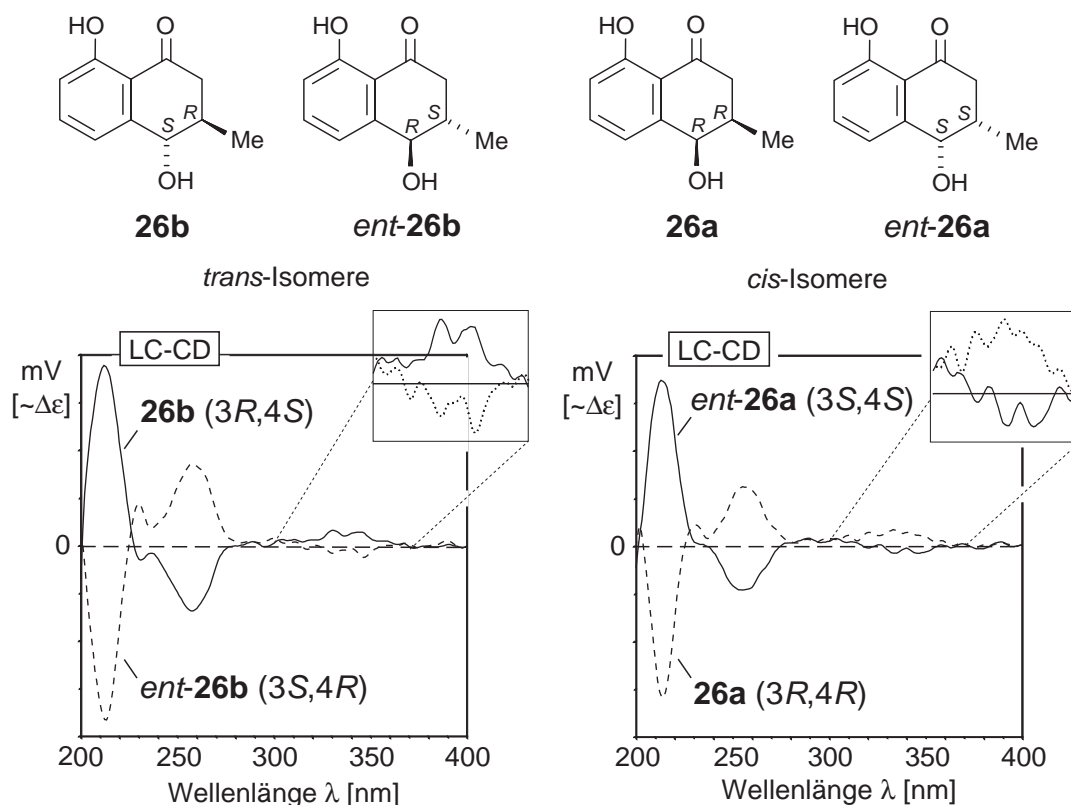
Reaktion die Einführung der zur Kupplung der beiden Molekülhälften benötigten funktionellen Gruppen in **79-81**.



Die Kupplung des Naphthalinbausteins mit der Isochinolinhälfte auf dem hier erprobten *intermolekularen* Verknüpfungsweg erwies sich als leider nicht gangbar, was für die Zukunft eine *intramolekulare* Variante, wie z.B. bei der Lacton-Methodik,^[132] als sicherlich aussichtsreicher erscheinen lässt.

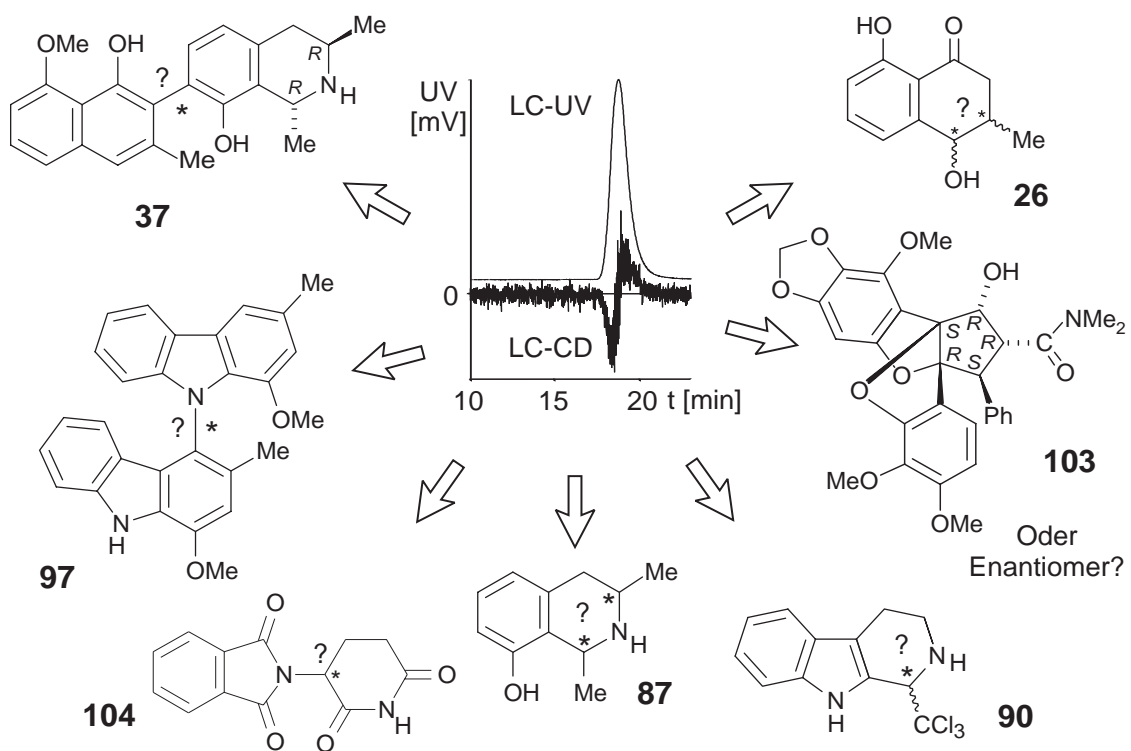
- Isoshinanolon (**26**) ist ein weitverbreiteter Naturstoff, dessen absolute Konfiguration seit seiner ersten Entdeckung 1974 bislang nicht abschließend geklärt werden konnte. Mit Hilfe des im Arbeitskreis entwickelten oxidativen Ruthenium-katalysierten chemischen Abbaus^[52,53] gelang erstmalig die Zuordnung der absoluten Konfiguration des Stereozentrums an C-3, was in Folge die Identifikation aller vier möglichen Stereoisomere erlaubte. Durch die Anwendung chiraler HPLC auf einer kommerziell leicht zugänglichen, weitverbreiteten Phase gelang die Trennung aller vier Isomere. Die daraus resultierende Bestimmung der Elutionsreihenfolge der Verbindungen, zusammen mit der leichten Herstellbarkeit des nötigen Referenzgemisches aller Stereoisomere, erbrachte ein einfaches Verfahren zur Konfigurationsbestimmung ohne chemischen Abbau. Die Etablierung der HPLC-CD-Kopplung ermöglichte erstmals

die Aufnahme von CD-Spektren aller vier Isomere und erlaubt zukünftig im Falle überschüssiger oder reiner Enantiomeren eine vollständige Konfigurationsbestimmung durch einfachen Spektrenvergleich. Des Weiteren gelang es, mit Hilfe der HPLC-CD- in Verbindung mit der HPLC-NMR-Kopplung eine schnelle „Hauptenantiomere-Analytik“ von Isoshinanolon (**26**) direkt z.B. aus pflanzlichen Rohextrakten zu etablieren.^[193,269] Erstmals wurde auch eine Röntgenbeugungsanalyse von racemischem *trans*-Isoshinanolon erhalten.



- Unter der HPLC-CD-Kopplung versteht man die erst jüngst erfolgte Verknüpfung der HPLC mit dem Detektionsprinzip der CD-Spektroskopie. Diese Methodik erlaubt eine chirale Analytik des von der chromatographischen Trennsäule eluierenden Analyten direkt, on-line, ohne dessen präparative Isolierung nach der erfolgten Trennung. Das Messprinzip des Detektors mit der gleichzeitigen Aufnahme eines UV- und eines CD-Signals erlaubt damit eine „chirale Aussage“ sogar im Fall einer Trennung der Analyten auf achiraler Phase. Dies ermöglichte es, das Feld der chiralen on-line-Analytik, die bislang meist mit empfindlichen chiralen HPLC-Phasen durchgeführt worden war, auf den robusten und vorhersagbaren *achiralen* HPLC-Bereich zu erweitern. Die so geschaffene Möglichkeit eröffnet einen wesentlich vergrößerten Anwendungsspielraum in der schnellen on-line-Analytik. An mehreren Beispielen

wurde das Verfahren erprobt und somit als einfaches und schnelles Mittel zur Aufklärung verschiedener Fragestellungen im Bereich der Chiralität sowohl im phytochemischen als auch synthetischen Bereich etabliert.^[93,105,230,233,250,267,269,270]



9 Summary

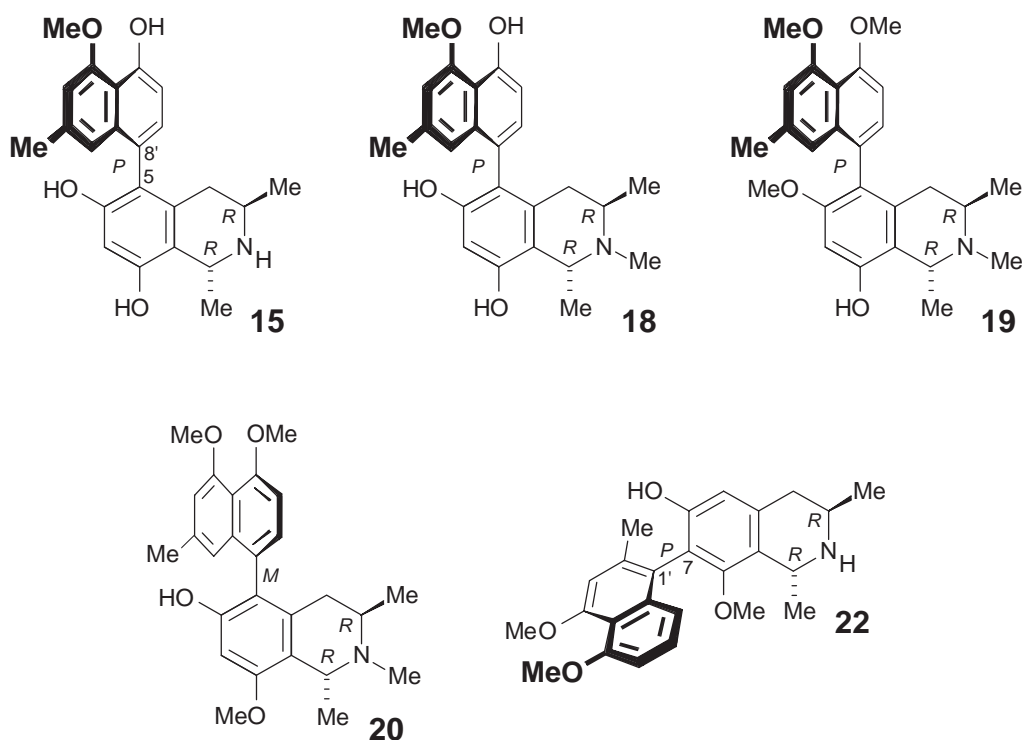
The increasing resistance of many pathogens, the associated return of diseases thought to be defeated, and the new threats like the HI-virus make the search for new active drugs one of the most urgent problems of mankind. Nature with its wide variety of flora and fauna offers an almost inexhaustible source of new molecular structures. Their high biological potential in the area of the pharmacologically active substances is impressively shown by the large number of the natural substances which were promoted to medicines.^[1,2,5,6] The naphthylisoquinoline alkaloids,^[9,11] which are so far exclusively found in the two plant families of the Dioncophyllaceae and Ancistrocladaceae,^[9] form a relatively new substance class. Their broad structural variation and their promising biological activities against different pathogens makes these exceptional biaryl products a worthwhile target for isolation^[9,10,57,70,85] and synthesis.^[51,92,132,140]

The existing problems of natural product isolation are the high amount of raw-material required and the usually enormous expenditure of time. One possibility to resolve these problems is the analytic identification of interesting metabolites prior to preparative work-up for a directed isolation. The on-line coupling techniques like HPLC-NMR or HPLC-MS have proved valuable tools within this area in the last years.^[201] Though, on account of the measuring principles which are used here, the only information available is about the constitution and the relative configuration of the analyte. The determination of an absolute configuration of chiral elements is not possible with these methods.

Apart from the isolation and structural elucidation of one known and six so far unknown naphthylisoquinoline alkaloids the synthetic access to a hereby isolated rare compound was evaluated. All isolated natural products were subjected to broad biological testing. Furthermore, the entire identification of the absolute configuration of the tetralone isoshinanolone, which is known for more than 25 years, was achieved. In addition, the HPLC-CD coupling was successfully introduced to phytochemical as well as chemical analysis. This was demonstrated with several examples, establishing this technique as a fast and practicable chiral on-line analytic device.

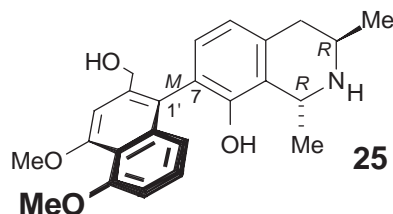
In detail, the following results were achieved:

- From the tropical liana *Ancistrocladus congolensis* (Ancistrocladaceae), resident in the Congo basin (Democratic Republic of Congo), the known alkaloid korupensamine A (**15**)^[50] together with four new alkaloids were isolated and their structures completely elucidated. Following the name of the plant species, these new natural products were named ancistrocongoline A - D (**18-20, 22**). With their 3*R*-configuration and the oxygen functionality at C-6, they represent examples of the so-called hybrid-type. This type bears both structural features of the pure Dioncophyllaceae- and Ancistrocladaceae-type alkaloids, typical within the Central African region. The isolation was partially done by application of the HSCCC methodology (high-speed countercurrent chromatography), a kind of liquid-liquid-distribution chromatography. The set-up of the machine was improved by a new interconnection of the particularly designed solvent vessels. By realizing the HSCCC-UV coupling together with the implementation of the UV peak detected fractionating, a clearly shortened work-up period of the collected samples was achieved.^[268]

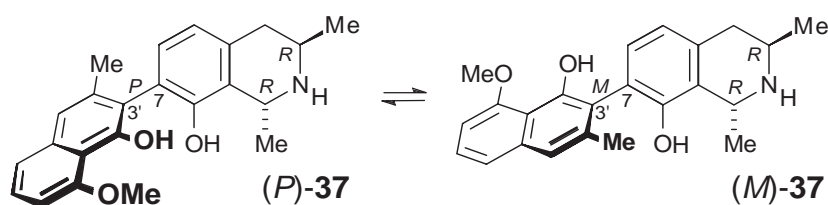


- The new naphthylisoquinoline alkaloid habropetaline A (**25**) was isolated from *Triphyophyllum peltatum* (Dioncophyllaceae) by the application of the HSCCC methodology and was structurally completely characterized. After only a short separation of the raw plant extract on silica, the isolation of the pure alkaloid

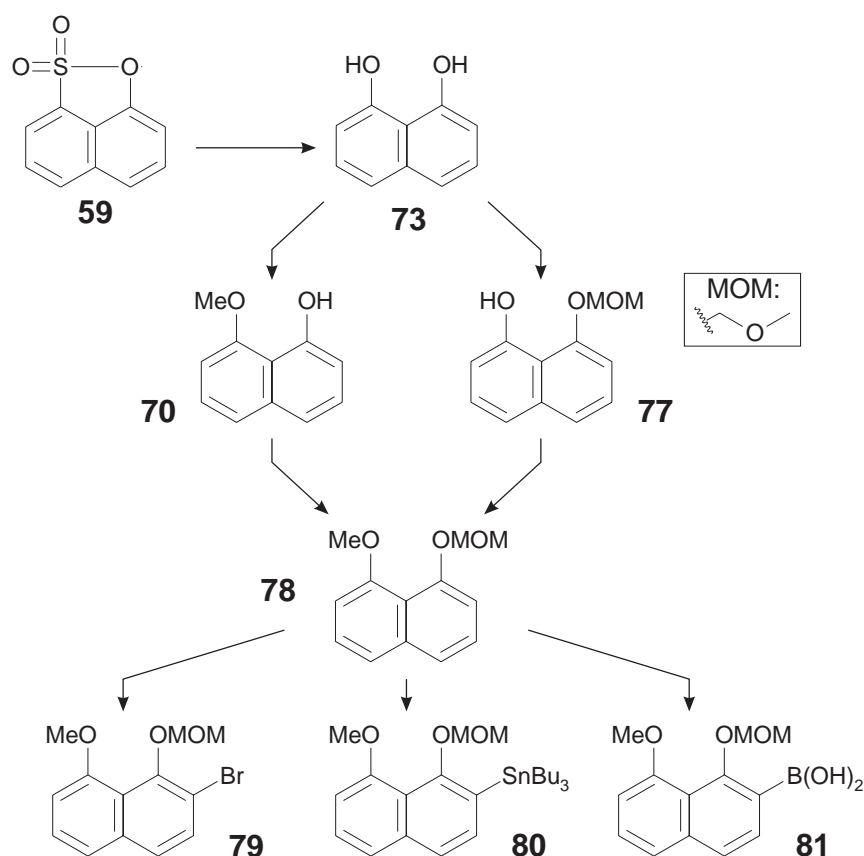
succeeded. This clearly demonstrates the high use of this complementary isolation principle, compared with the conventional chromatographic processes. With the substance in hands, it was now possible to confirm its high antiplasmodial activity already predicted by QSAR-studies of our working group.^[126]



- From the rare West African liana *Dioncophyllum thollonii* (Dioncophyllaceae) a new natural product, dioncophylline E (**37**), belonging to the naphthylisoquinoline alkaloids was isolated and structurally elucidated. The peculiarity of this secondary metabolite is situated in its configurationally semi-stable biaryl axis, which enables a transformation of the two atropo-diastereomers into one another within a couple of hours at ambient temperature. The structural assignment and the experimental determination of the rotation barrier succeeded due mainly to the application of the HPLC-CD coupling technique and support by theoretical methods like simulated ¹H NMR spectra, CD spectra and rotation barrier calculations.^[105]



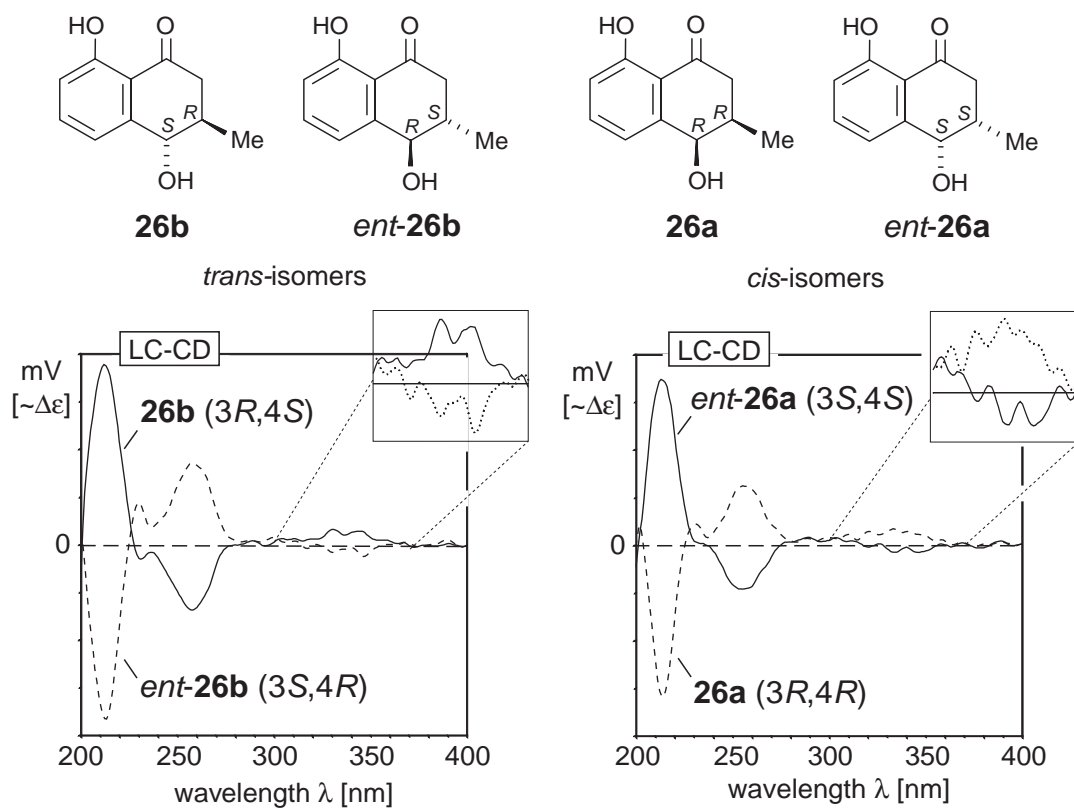
- The high biological activity of dioncophylline E (**37**) and its special structural features asked the question to a possible synthetic access. The general concept was based on a converging synthesis of the isoquinoline and the naphthalene moiety in establishing the central biaryl axis. While the synthesis of the isoquinoline part was already known,^[131,140] we wished to develop a new route for the naphthalene half. After testing several alternative approaches, the oxidation-sensitive 1,8-naphthalenediol (**73**) was synthesized under the known harsh conditions starting from the sulton **59**. Subsequent methylation and insertion of the MOM (methoxymethoxy) functionality yielded **78**. The strongly directing MOM group permitted the introduction of the functional groups necessary for the coupling step by a Dom (Directed *ortho*-metalation) sequence to give **79-81**.



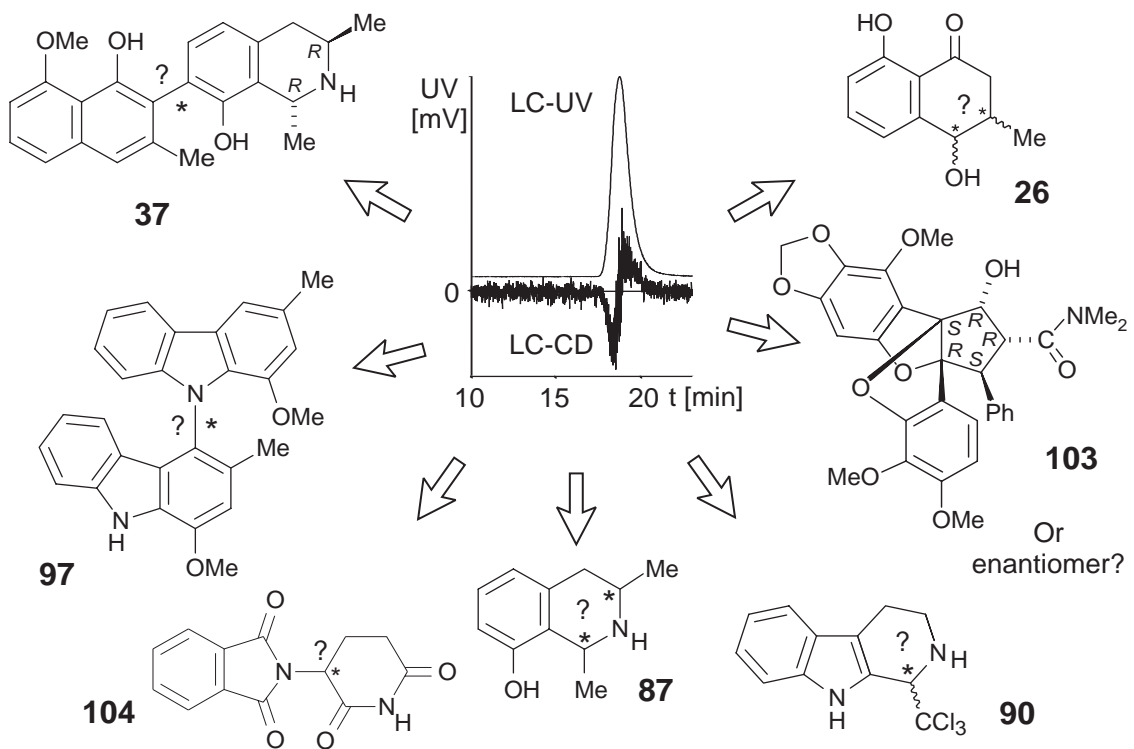
The coupling of the naphthalene to the isoquinoline moiety using this *intermolecular* route here unfortunately failed. Upcoming efforts should rely on the obviously more promising *intramolecular* coupling of the partners, *e.g.* as used in the ‘Lacton-method’.^[132]

- The absolute configuration of isoshinanolone (**26**), a widespread natural product, had not been fully determined since its first discovery in 1974. With the help of an oxidative ruthenium-catalyzed chemical degradation developed in our working group,^[52,53] the attribution of the absolute configuration of the stereocenter at C-3 succeeded. This in consequence allowed the identification of all four possible stereoisomers for the first time. By the application of chiral HPLC chromatography using a commercially available, widespread phase, the separation of all four isomers was achieved. The now known elution order of the compounds as well as the easy synthesis of the necessary reference mixture of all isomers provides a simple procedure for the deduction of the absolute configuration without any chemical degradation. The establishment of the HPLC-CD coupling enabled for the first time the measurement of CD spectra of all four forms. Therefore, in the case of excessive or pure enantiomers, it is now possible to determine the absolute configuration by

comparison of the obtained CD spectra.^[193,269] Furthermore, the first x-ray structure of racemic *trans*-isoshinanolone was obtained.



- The HPLC-CD coupling means the linkage of the HPLC chromatography to the detection principle of CD spectroscopy. This methodology permits a direct chiral on-line analysis of the substance eluting from the separation column without its preparative isolation after the separation. The measuring principle of the detector with the simultaneous recording of UV and CD signals gives chiral information even in the case of an achiral separation of the analyte. This extends the range of chiral on-line analytics, which was usually accessed with sensitive chiral HPLC columns so far, to the durable and predictable field of achiral HPLC phases. The increased possibilities permit a substantially expanded area of application in fast on-line analytics. The procedure was tested with several examples and thus established as a simple and fast tool for the elucidation of different chiral questions, both within the phytochemical and synthetic field.^[93,105,230,233,250,267,269,270]



EXPERIMENTELLER TEIL

1 Allgemeine Methoden

1.1 Verwendete Messgeräte und Apparaturen

Zerkleinerung des Pflanzenmaterials: Das luftgetrocknete Pflanzenmaterial wurde in einer Schlagmühle SM1 der Fa. *Retsch* mit einem Maschendrahteinsatz von 1 mm Lochweite gemahlen.

Extraktionen: Die Extraktionen des Pflanzenmaterials wurden an Soxhlet-Extraktoren mit ca. 1.3 l Volumen durchgeführt. Die Extraktionshülsen bestanden aus reiner Cellulose mit einem Nennvolumen von ca. 1 l.

Gefriertrocknung: Die wässrigen Proben wurden mit dem Gerät Alpha 1-4 der Fa. *Christ* angeschlossen an eine Pumpe DUO 008 B der Fa. *Pfeiffer* vom Lösungsmittel befreit.

Schmelzpunkte: Sämtliche Schmelzpunkte wurden an einem Kofler-Heiztisch-Mikroskop der Fa. *Reichert* bestimmt. Die angegebenen Werte sind nicht korrigiert.

Infrarotspektren (IR): Die Aufnahme der IR-Spektren erfolgte mit einem *Perkin-Elmer-1420*-Spektrometer oder einem FT/IR-410-Spektrometer der Fa. *Jasco*. $\tilde{\nu}$ bezeichnet die Wellenzahl. Die Intensitäten der Absorptionsbanden sind gekennzeichnet durch: s = stark, m = mittel, w = schwach und br. = breit.

Kernresonanzspektren ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$): $^1\text{H-NMR}$ - und $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren wurden bei Umgebungstemp. an den Spektrometern AC 250, Avance 400 und DMX 600 der Fa. *Bruker* aufgenommen. Die chemische Verschiebung der Signale ist in ppm angegeben. Als interner Standard dienten die Resonanzsignale der Restprotonen des verwendeten deuterierten Lösungsmittels bei $^1\text{H-NMR}$ -Spektren [$\delta(\text{CHCl}_3) = 7.26 \text{ ppm}$, $\delta(\text{MeOH}) = 3.31 \text{ ppm}$], bzw. ihre ^{13}C -Resonanzsignale bei $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren [$\delta(\text{CDCl}_3) = 77.01 \text{ ppm}$, $\delta(\text{MeOH-}d^4) = 49.01 \text{ ppm}$]. Die Multiplizität der Signale wird durch folgende Abkürzungen wiedergegeben: s = Singulett, d = Dublett, dd = Dublett von Dubletts, t = Triplett, q = Quartett, m = Multipllett und br. = breit, die Zuordnung der Kopplungen durch die Abkürzungen ax = axial, eq = äquatorial wiedergegeben. Die Kopplungskonstanten J sind in Hertz (Hz) angegeben. Alle benutzten Pulsprogramme wurden der *Bruker*-Standardbibliothek entnommen. Zur Strukturaufklärung isolierter neuer Alkaloide wurde neben eindimensionalen ^1H - und ^{13}C -Spektren auch zweidimensionale Experimente (COSY, ROESY, NOESY, HMQC, HMBC) durchgeführt. Die Auswertung der Spektren erfolgte mit der Software

WINNMR der Fa. *Bruker*. Das Lösungsmittel CDCl_3 wurde vor Gebrauch über Aluminiumoxid (Akt. 1) filtriert.

Massenspektren: Zur Aufnahme der EI-MS- und HR-EI-MS-Spektren wurden die Geräte MAT-CH 7 der Fa. *Varian* und MAT 2000 der Fa. *Finnigan* verwendet. Die Aufnahme von HR-EI-MS-Spektren erfolgte an einem FT-ICR-MS Apex III der Fa. *Bruker*. Die in Klammern gesetzten Zahlen geben die Intensität der Signale bezogen auf den Basispeak ($I = 100\%$) an.

Elementaranalysen: Die Bestimmung der gewichtsprozentualen Anteile an Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff und Schwefel wurden im Institut für Anorganische Chemie der Universität Würzburg mit Hilfe des Gerätes *Leco CHNS-932* durchgeführt.

Drehwerte: Zur Ermittlung der optischen Aktivitäten diente ein Polarimeter der Fa. *Perkin-Elmer*. Bei einer Spaltbreite von 1 mm wurden die spezifischen Drehwerte $[\alpha]_D$ bei den Wellenlängen $\lambda = 546\text{ nm}$ und $\lambda = 579\text{ nm}$ der Quecksilberdampfampe bestimmt. Dann wurde mit Hilfe der Drude-Gleichung auf die Natrium-D-Line ($\lambda = 589\text{ nm}$) extrapoliert:

$$\alpha_{589} = \frac{\alpha_{579} \cdot 3.199}{4.199 - \frac{\alpha_{579}}{\alpha_{546}}} \quad [\alpha] = \frac{\alpha \cdot 100}{c \cdot d} \quad (\text{Gl. 8, Gl. 9})$$

α : gemessener Drehwert [$^\circ$]

c : Konzentration [g/100 ml]

d : Schichtdicke [dm]

Circulardichroismus (CD): CD-Spektren wurden an einem *Jobin Yvon* Dichrograph CD 6 und einem *Jasco J-715* Spektropolarimeter bei Raumtemperatur aufgenommen und mit der dazugehörigen Software verarbeitet. Die differentiellen Absorptionskoeffizienten $\Delta\epsilon$ [$\text{cm}^2\text{ mol}^{-1}$] bei einer bestimmten Wellenlänge λ [nm] wurden in Ethanol als Lösungsmittel bestimmt. Die Länge der Messzelle wurde in Abhängigkeit von der Analytkonzentration gewählt. Die Scangeschwindigkeit betrug für stand-alone-Spektren 200 nm min^{-1} bei einer Bandbreite von 1 nm. Es wurde standardmäßig über 3 Akkumulationen gemittelt. In jedem Fall wurde ein Lösungsmittelspektrum unter identischen Bedingungen aufgenommen und vom Analytspektrum subtrahiert.

1.2 Chromatographische Methoden

Dünnschichtchromatographie (DC): Es wurden Kieselgel-DC-Aluminiumfolien 60 F₂₅₄ der Fa. *Merck* verwendet. Zur Detektion der Substanzen wurden die Fluoreszenzlöschung bei

254 nm, die Anregung der Eigenfluoreszenz bei 366 nm sowie das Färbeverhalten gegenüber Ioddampf und Dragendorff's-Reagenz verwendet. Sämtliche Versuche wurden dünnschichtchromatographisch verfolgt.

Säulenchromatographie (SC) und Säulenfiltration (SF): Als Säulenfüllmaterial wurde Kieselgel 60 (0.063-0.2 mm) der Fa. *Merck* benutzt. Die Säulen wurden nass befüllt.

Präparative Schichtchromatographie (PSC): Es wurden 20 x 20 cm Fertigplatten Kieselgel 60 F₂₅₄ der Fa. *Merck* mit Konzentrationszone und einer Schichtdicke von 1 oder 2 mm benutzt.

Desaktivierung („desakt.“): Das Kieselgel wurde im Bedarfsfall mit 7.5 % Ammoniak desaktiviert, bei DC-Folien oder PSC wurden diese mit konz. Ammoniak bedampft.

Mitteldruckflüssigkeitschromatographie (MPLC): System 1 bestand aus einer *Latek*-P700 Pumpe, einem Type 50 Teflon Rotary Valve der Fa. *Latek*, einem UV-Monitor III Model 1203 der Fa. *Latek* und einem Schreiber *BBC* Goertz Metrawatt SE120.

System 2 bestand aus einer *Latek*-P400-Pumpe, einem Type 50 Teflon Rotary Valve der Fa. *Latek*, einem UV-Detektor Typ VISI-6 der Fa. *Latek* und einem Schreiber der Fa. *Waters* Typ 745. Als chromatographische Phase wurde bei beiden Systemen eine Lobar[®]-Fertigsäule LiChroprep RP18 (40-63 µm) Größe B (25 x 300 mm) mit einem Fluss von 8.0 ml min⁻¹ verwendet.

Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC): Für die HPLC-Analytik oder die präparative Trennung wurden mehrere Systeme verwendet.

System 1: Das System der Fa. *Waters* bestand aus einer Pumpe 600 E mit *Rheodyne*-Probenaufgabeventil 7725i, einem Controller 600 und einem Photodiode Array Detector 996; die Steuerung der Geräte und Auswertung der Chromatogramme erfolgte mittels PC mit Millennium Software Version 2.15 der Fa. *Waters*.

System 2: Das System der Fa. *Jasco* bestand aus einem on-line-Entgaser DG-1580-53, einer ternären Niederdruckmischeinheit LG-1580-02, einer Pumpe PU-1580-20, einem *Rheodyne*-Ventil 7725i, einem voll temperierbaren Säulenkompartiment CO-1560 und einem Photodiodenarraydetektor MD-1510; die verwendete Software bestand aus dem Borwin-Programmpaket der Fa. *Jasco*.

System 3: Das System bestand aus einer HPLC-Pumpe 510 der Fa. *Waters*, einem *Rheodyne*-Probenaufgabeventil 7125 und einem UV-Detektor ERC 7215 der Fa. *Erma Cr. Inc.*; als Schreiber und Integrator diente ein Chromatopac C-R6A der Fa. *Shimadzu*.

System 4: Das Hochdruckgradienten-System bestand aus zwei HPLC-Pumpen 64 der Fa.

Knauer, einem *Knauer* HPLC Programmer 50, einem *Rheodyne*-Probenaufgabeventil 7125, und einem Lambda-Max Model 481 LC-Spectrophotometer der Fa. *Waters*; als Schreiber und Integrator diente ein Chromatopac C-R6A der Fa. *Shimadzu*.

Stationäre Phasen für HPLC: Für die HPLC-Analytik oder die semipräparative Trennung wurden mehrere Phasen verwendet:

Phase 1: a) *Waters* Kartuschensystem mit Vorsäule Guard-Pak C₁₈ (3.9 x 10 mm) und Trennsäule Nova-Pak C₁₈ (4 µm, 3.9 x 150 mm) bei 0.5 ml min⁻¹; b) *Waters* Kartuschensystem RCM 8 x 10 mit Erweiterungsmodul mit zwei Kartuschen Nova-Pak C₁₈ (8 µm, 7.8 x 100 mm) (Gesamtdimension der stationären Phase: 7.8 x 200 mm) und Vorsäule Guard-Pak C₁₈ (3.9 x 10 mm) mit einer Flussrate von 1.2 ml min⁻¹; c) *Waters* Kartuschensystem PrepLC 25 mit Erweiterungsmodul mit Vorsäule Guard-Pak C₁₈ (25 x 10 mm) und zwei Kartuschen Nova-Pak C₁₈ (6 µm, 25 x 100 mm) (Gesamtdimension der stationären Phase: 25 x 200 mm), mit einer Flussrate von 8.0 ml min⁻¹.

Phase 2: a) *Waters* Symmetry C₁₈ (5 µm, 3.9 x 300 mm) mit *Phenomenex*-Vorsäule C₁₈ (2 x 4 mm) bei 1.0 ml min⁻¹; b) *Waters* Symmetry C₁₈ (5 µm, 4.6 x 250 mm) bei 1.0 ml min⁻¹; c) *Waters* Symmetry C₁₈ (5 µm, 7.8 x 300 mm) mit *Phenomenex*-Vorsäule C₁₈ (3 x 4 mm) und einer Flussrate von 4.0 ml min⁻¹; d) *Waters* Symmetry C₁₈ (5 µm, 19 x 300 mm) bei 12.0 ml min⁻¹.

Phase 3: a) *Daicel* Chiralcel OD-H (5 µm, 4.6 x 250 mm) mit *Daicel*-Vorsäule (4.6 x 20 mm) bei 1.0 ml min⁻¹; b) *Daicel* Chiralcel OD-R (5 µm, 4.6 x 250 mm) bei 0.5 ml min⁻¹; c) Cellulose-tris-(4-chlor-3-methylphenylcarbamate) (4.0 x 250 mm) bei 0.5 ml min⁻¹.

Phase 4: *Rainin* Dynamax-60A NH₂ (8 x 300 mm), 2.0 ml min⁻¹ Flussrate.

Hochgeschwindigkeits-Gegenstromchromatographie (HSCCC): Das System bestand aus einer Pumpe P 402 der Fa. *Latek*, einem Type 50 Teflon Rotary Valve der Fa. *Latek*, dem High Speed Countercurrent Chromatograph der Fa. *P.C. Inc.*, dem UV-Visible Spectrophotometric Detector SPD-6AV, einem Schreiber *BBC* Goertz Metrawatt SE120 mit einem nachgeschalteten programmierbaren Fraktionssammler FC-1 der Fa. *Rainin*. Die HSCCC war mit einer *Triple Coil* ausgestattet. Die Anlage wurde mit Rotationsgeschwindigkeiten von 830-870 U min⁻¹ und Flussraten von 1.0 ml min⁻¹ (kleine Säule: 1.07 mm ID, V = 12.2 ml) oder 2.5 ml min⁻¹ (mittlere Säule: 1.68 mm ID, V = 82 ml; große Säule: 1.68 mm ID, V = 236 ml) betrieben. Die Komponenten des Systems waren mit inerten PTFE-Schläuchen der Fa. *Latek* verbunden.

HPLC-CD-Kopplung: Das chromatographische System bestand aus einer PU-1580 HPLC-Pumpe der Fa. *Jasco*, einem on-line-Entgaser der Fa. *Gastorr* und einem Gradientenmischer LG-980-02S (Fa. *Jasco*). Als Detektionseinheit wurde entweder der CD-Detektor CD-995 (Fa. *Jasco*) mit einem Spektrenbereich von 220-420 nm (Bandbreite 20 nm) oder ein J-715 Spektropolarimeter (Fa. *Jasco*) verwendet, das mit einer über ein *Besta*-Motorventil angesprochenen Standard-Flusszelle (Länge 5 mm, 2 mm ID) der Fa. *Jasco* betrieben wurde. Als Chromatographie-Software diente das Programm *Jasco-Borwin* (Version 1.50), die Visualisierung und Bearbeitung der CD-Spektren erfolgte mit dem mitgelieferten Programmpaket *Spectramanager* der Fa. *Jasco*. Standardmäßig arbeitete man am J-715 mit einer Scangeschwindigkeit von 500 nm min^{-1} , einer auf die Konzentration abgestimmten Bandbreite zwischen 1 und 10 nm und 3 Akkumulationen. Die Spektren wurden nur leicht geglättet (Smooth = 5) und sind bei beiden Detektoren basislinienkorrigiert. Die Werte sind in Milligrad (Φ) gegeben.

1.3 Vorbereitung der Versuche

Lösungsmittel: Die Reinigung und Absolutierung (abs.) erfolgte nach folgenden Standardmethoden mit abschließender Destillation über Vigreux-Kolonnen unter Schutzgas: Chloroform (CHCl_3) und Dichlormethan (CH_2Cl_2) wurden über Phosphorpentoxid mindestens 2 h refluxiert und dann abdestilliert. Mit Calciumchlorid vorgetrockneten Diethylether (Et_2O) destillierte man über Natriumdraht ab. *N,N*-Dimethylformamid (DMF) und *N,N*-Dimethylacetamid (DMA) wurden direkt vor Gebrauch über gepulvertem Calciumhydrid fraktionierend destilliert. Dimethoxyethan (DME), Essigsäureethylester (EE), *n*-Hexan (*n*-Hex), Isopropanol (*i*-PrOH), Petrolether 50-70 (PE) und Toluol wurde ohne Trocknung destillativ gereinigt. Methanol (MeOH) erhitzte man über Magnesiumspänen zum Sieden und destillierte nach frühestens 4 h ab. Tetrahydrofuran (THF) wurde nach Vortrocknung über Phosphorpentoxid unmittelbar vor Gebrauch über Kalium destilliert. Wasser (H_2O) für die HPLC wurde über eine Milli-Q-Anlage der Fa. *Millipore* gereinigt und entionisiert. Die Lösungsmittelsysteme für die HSCCC wurden den angegebenen Volumenverhältnissen entsprechend gemischt und durch mehrmaliges Schütteln im Scheidetrichter gegeneinander abgesättigt. Lösungsmittel für die HPLC und HSCCC wurden vor Benutzung 5 min mit Helium entgast. Acetonitril (MeCN, LiChroSolv) wurde käuflich erworben und ohne weitere Reinigung verwendet.

Chemikalien wurden von der Ausgabe des Instituts bezogen. Folgende Reagenzien wurden käuflich erworben: *n*-Butyllithium (2.5 M in *n*-Hexan) (*n*-BuLi), Dibromtetrachlorethan,

Lithiumchlorid (LiCl), Tetramethylethyldiamin (TMEDA), Tributylzinnchlorid, 1,8-Naphthosulton (**59**), Trifluoressigsäure (TFA), Tetrakis-(triphenylphosphan)-palladium(0), Bis-(triphenylphosphan)-palladium(II)-chlorid und Bis-(triphenylphosphin)-palladium(II)-acetat.

Die *Versuche* mit luft- oder feuchtigkeitsempfindlichen Substanzen wurden in ausgeheizten Apparaturen unter Schutzgas (Stickstoff oder Argon) durchgeführt. Die Verbindungen **67**^[271-273] und (Chlormethyl)-methylether^[274] (MOMCl) wurden nach Literaturangaben hergestellt.

2 Untersuchung von *Ancistrocladus congolensis*

2.1 Isolierung der Naturstoffe

Das Pflanzenmaterial von *A. congolensis* wurde von Prof. V. Mudogo und L. Nlandu am Yandja-Fluss (Forêt Lokokele) in der Demokratischen Republik Kongo im Juni 1998 gesammelt. Ein Herbarexemplar wurde im Herbarium Bringmann unter der Nummer 30 hinterlegt.^[275]

250 g des luftgetrockneten Stammmaterials wurden mit einer Schlagmühle zerkleinert und sukzessive mit Lösungsmitteln steigender Polarität extrahiert (PE, CH₂Cl₂, MeOH). Der vom Lösungsmittel befreite methanolische Extrakt (12.1 g) wurde durch HSCCC-Trennung [CHCl₃/EE/MeOH/0.1 M HCl 5:3:5:3, mittlere und große Säule in Reihe, Rotationsrichtung vorwärts, organische (untere) als mobile Phase, Elutionsmodus (H)→T, 4.0 ml min⁻¹] in 13 Fraktionen unterteilt. Aus Fraktion 11 erhielt man nach HPLC-Chromatographie an System 4 mit Phase 4 (CH₂Cl₂/MeOH+0.1 % NH₄CO₃ 5:1; CH₂Cl₂/MeOH+0.1 % NH₄CO₃ 0 min 95:5, 35 min 55:45) 6.7 mg (17.7 μmol, 0.027 ‰) von Verbindung **15**. Die Fraktion 12 der HSCCC-Trennung wurde mittels HPLC auf System 4 mit Phase 4 (CH₂Cl₂/MeOH+0.1 % NH₄CO₃ 5:1) weiter aufgereinigt und man erhielt 2.8 mg (7.13 μmol, 0.011 ‰) von Verbindung **18** als amorphen, bräunlichen Feststoff. 500 g der luftgetrockneten und gemahlenden Wurzelrinde wurden mit 0.01 N HCl bei Raumtemperatur extrahiert. Man erhielt nach Entfernen des Lösungsmittels 10.0 g Rohextrakt, welcher an Kieselgel (CH₂Cl₂/PE 7:3, CH₂Cl₂/MeOH 100:0 - 1:1) in 10 Fraktionen unterteilt wurde. Die Hauptfraktion 2 wurde in zwei Teile aufgeteilt (61:39), wovon Erstere an Kieselgel (CH₂Cl₂/MeOH 100:0 - 1:1) mit anschließender HPLC auf System 1 mit Phase 1b (MeOH/H₂O/TFA 50:50:0.1) aufgereinigt wurde. Man erhielt 2.3 mg (5.65 μmol, 0.008 ‰) von Verbindung **22** als bräunlichen, mikrokristallinen Feststoff und 3.6 mg (8.55 μmol, 0.012 ‰) des farblosen, mikrokristallinen Feststoffs **19**. Der kleinere Teil der Fraktion 2 wurde mit MPLC (System 1, MeCN/H₂O/TFA 40:60:0.1), Chromatographie an Kieselgel (CH₂Cl₂/MeOH 100:0 - 5:1) und HPLC auf System 2 mit Phase 2c (MeCN/H₂O/TFA 25:75:0.1) gereinigt; daraus ergaben sich 1.4 mg (3.33 μmol, 0.0072 ‰) des beige-weißen, mikrokristallinen Feststoffs **20**.

2.2 Ancistrocongolin A (18)

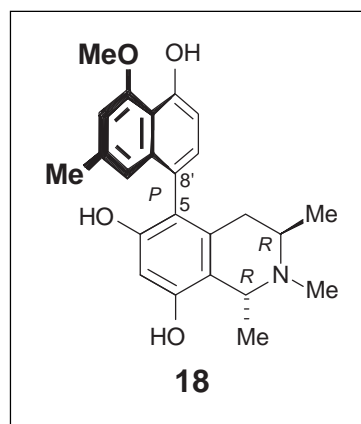
$[\alpha]_D^{23} = +6.9$ ($c = 0.05$, CHCl_3).

CD (EtOH): $\Delta\epsilon_{198} +16.3$, $\Delta\epsilon_{210} -17.0$, $\Delta\epsilon_{224} -14.2$, $\Delta\epsilon_{238} +7.5$,
 $\Delta\epsilon_{280} -0.5$, $\Delta\epsilon_{300} +0.5$, $\Delta\epsilon_{339} -0.9$.

IR (NaCl): $\tilde{\nu} = 3747 \text{ cm}^{-1}$, 3313 (b), 2919, 2855, 1699, 1680,
 1652, 1266, 1200, 1134, 772.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.00$ (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, 3-
 CH₃), 1.44 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, 1-CH₃), 1.95 (dd, $J = 17.8$, 11.1
 Hz, 1H, 4-H_{ax}), 2.19 (dd, $J = 17.8$, 4.6 Hz, 1H, 4-H_{eq}), 2.27 (s, 3H, 2'-CH₃), 2.35 (s, 3H,
 NCH₃), 3.21 (m, 1H, 3-H), 4.07 (s, 3H, 4'-OCH₃), 4.23 (q, $J = 6.5$ Hz, 1H, 1-H), 6.32 (s, 1H,
 7-H), 6.64 (s, 1H, 3'-H), 6.77 (s, 1H, 1'-H), 6.88 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, 6'-H), 7.23 (d, $J = 7.8$
 Hz, 1H, 7'-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3): $\delta = 17.02$ (CH₃-1), 19.12 (CH₃-3), 22.10 (CH₃-2'), 31.16 (C-
 4), 35.90 (NCH₃), 46.20 (C-3), 55.44 (C-1), 56.16 (OCH₃-4'), 100.23 (C-7), 106.85 (C-3'),
 109.75 (C-6'), 113.96 (C-4'a), 116.85 (C-5), 118.16 (C-1'), 118.51 (C-8a), 121.77 (C-8'),
 131.01 (C-7'), 134.81 (C-4a), 136.08 (C-8'a), 136.66 (C-2'), 152.40 (C-6), 154.25 (C-8),
 154.89 (C-5'); die ^{13}C -Zuordnung erfolgte durch HMQC- und HMBC-
 Experimente.



Tab. 5. HMQC- und HMBC-Korrelationen von **18**

^{13}C -Zuordnung	ppm	HMQC-Korrel.	ppm	HMBC-Korrel.	ppm
CH ₃ -1	17.02	1-CH ₃	1.44	1-H	4.23
CH ₃ -3	19.12	3-CH ₃	1.00	4-H _{ax}	1.95
CH ₃ -2'	22.10	2'-CH ₃	2.27	3'-H	6.64
				1'-H	6.77
C-4	31.16	4-H _{ax}	1.95	3-CH ₃	1.00
		4-H _{eq}	2.19		
NCH ₃	35.90	NCH ₃	2.35		
C-3	46.20	3-H	3.21	3-CH ₃	1.00
				4-H _{ax}	1.95
				NCH ₃	2.35
				1-H	4.23
C-1	55.44	1-H	4.23	1-CH ₃	1.44
				NCH ₃	2.35
OCH ₃ -4'	56.16	4'-OCH ₃	4.07		
C-7	100.23	7-H	6.32		

¹³ C-Zuordnung	ppm	HMQC-Korrel.	ppm	HMBC-Korrel.	ppm
C-3'	106.85	3'-H	6.64	2'-CH ₃ 1'-H	2.27 6.77
C-6'	109.75	6'-H	6.88		
C-4'a	113.96			3'-H 1'-H 6'-H	6.64 6.77 6.88
C-5	116.85			4-H _{ax} 4-H _{eq} 7-H 7'-H	1.95 2.19 6.32 7.23
C-1'	118.16	1'-H	6.77	2'-CH ₃ 3'-H	2.27 6.64
C-8a	118.51			1-CH ₃ 4-H _{ax} 7-H	1.44 1.95 6.32
C-8'	121.77			1'-H 6'-H	6.77 6.88
C-7'	131.01	7'-H	7.23		
C-4a	134.81			4-H _{ax} 4-H _{eq} 1-H	1.95 2.19 4.23
C-8'a	136.08			7'-H	7.23
C-2'	136.66			2'-CH ₃	2.27
C-6	152.40			7-H	6.32
C-8	154.25			1-H 7-H	4.23 6.32
C-5'	154.89			6'-H 7'-H	6.88 7.23
C-4'	156.32			4'-OCH ₃ 3'-H	4.07 6.64

 Tab. 6. ROESY-Wechselwirkungen von **18**

Proton	ppm	Proton	ppm
3-CH ₃	1.00	4-H _{ax}	1.95
		4-H _{eq}	2.19
		NCH ₃	2.35
		3-H	3.21
1-CH ₃	1.44	NCH ₃	2.35
		3-H	3.21
		1-H	4.23
		7-H	6.32
4-H _{ax}	1.95	4-H _{eq}	2.19
		NCH ₃	2.35
		1'-H	6.77

Proton	ppm	Proton	ppm
4-H _{eq}	2.19	3-H	3.21
		7'-H	7.23
2'-CH ₃	2.27	3'-H	6.64
		1'-H	6.77
NCH ₃	2.35	3-H	3.21
		1-H	4.23
4'-OCH ₃	4.07	3'-H	6.64
6'-H	6.88	7'-H	7.23

MS (70 eV); m/z (%): 393 (7) [M]⁺, 392 (18) [M-H]⁺, 378 (100) [M-CH₃]⁺, 363 (6) [M-2CH₃]⁺, 348 (30) [M-3CH₃]⁺, 189 (10) [M-CH₃]²⁺.

HRMS (70 eV); C₂₄H₂₆NO₄: ber. 392.1862; gef. 392.1861 [M-H]⁺.

2.3 Ancistrocongolins B (19)

Schmp. (MeOH) 161-162 °C.

$[\alpha]_D^{23} = -12.0$ ($c = 0.22$, CHCl₃).

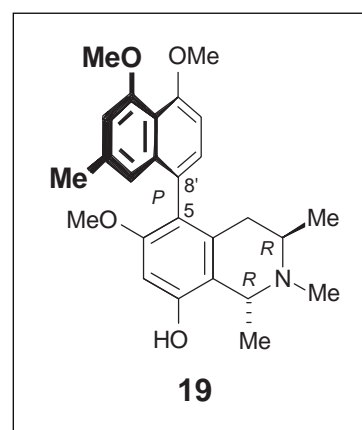
CD (EtOH): $\Delta\epsilon_{201} +32.7$, $\Delta\epsilon_{227} -28.4$, $\Delta\epsilon_{242} +18.7$, $\Delta\epsilon_{267} -0.9$, $\Delta\epsilon_{302} +4.2$, $\Delta\epsilon_{357} -4.2$.

IR (NaCl): $\tilde{\nu} = 3250$ cm⁻¹ (b), 2924, 2849, 1665, 1584, 1463, 1273, 1200, 1136, 719.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.31$ (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, 3-

CH₃), 1.85 (d, $J = 6.1$, 3H, 1-CH₃), 2.03 (dd, $J = 19.0, 12.4$ Hz, 1H, 4-H_{ax}), 2.31 (s, 3H, 2'-CH₃), 2.59 (dd, $J = 18.7, 4.8$ Hz, 1H, 4-H_{eq}), 2.69 (s, 3H, NCH₃), 3.66 (s, 3H, 6-OCH₃), 3.90 (m, 1H, 3-H), 3.98 (s, 3H, 4'-OCH₃), 4.01 (s, 3H, 5'-OCH₃), 5.10 (q, $J = 6.4$ Hz, 1H, 1-H), 6.58 (s, 1H, 1'-H), 6.68 (s, 1H, 3'-H), 6.88 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, 6'-H), 6.92 (s, 1H, 7-H), 7.17 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, 7'-H).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃): $\delta = 16.96$ (CH₃-3), 19.14 (CH₃-1), 22.14 (CH₃-2'), 28.28 (C-4), 32.94 (NCH₃), 48.55 (C-3), 55.74 (OCH₃-6), 56.33 (OCH₃-5'), 56.53 (OCH₃-4'), 58.41 (C-1), 98.58 (C-7), 105.37 (C-6'), 108.48 (C-3'), 110.12 (C-8a), 116.24 (C-4'a), 116.50 (C-1'), 119.62 (C-5), 125.52 (C-8'), 128.44 (C-7'), 130.09 (C-4a), 136.22 (C-8'a), 136.51 (C-2'), 155.29 (C-8), 156.76 (C-5'), 157.57 (C-4'), 158.40 (C-6); die ¹³C-Zuordnung erfolgte durch HMQC- und HMBC- Experimente.



Tab. 7. HMQC- und HMBC-Korrelationen von **19**

¹³ C-Zuordnung	ppm	HMQC-Korrel.	ppm	HMBC-Korrel.	ppm
CH ₃ -3	16.96	3-CH ₃	1.31		
CH ₃ -1	19.14	1-CH ₃	1.85	1-H	5.10
CH ₃ -2'	22.14	2'-CH ₃	2.31	1'-H	6.58
				3'-H	6.68
C-4	28.28	4-H _{ax}	2.03	3-CH ₃	1.31
		4-H _{eq}	2.59		
NCH ₃	32.94	NCH ₃	2.69		
C-3	48.55	3-H	3.90	3-CH ₃	1.31
				4-H _{ax}	2.03
				NCH ₃	2.69
				1-H	5.10
OCH ₃ -6	55.74	6-OCH ₃	3.66		
OCH ₃ -5'	56.33	5'-OCH ₃	4.01		
OCH ₃ -4'	56.53	4'-OCH ₃	3.98		
C-1	58.41	1-H	5.10	1-CH ₃	1.85
				NCH ₃	2.69
C-7	98.58	7-H	6.92		
C-6'	105.37	6'-H	6.88		
C-3'	108.48	3'-H	6.68	2'-CH ₃	2.31
				1'-H	6.58
C-8a	110.12			1-CH ₃	1.85
				4-H _{ax}	2.03
				4-H _{eq}	2.59
				1-H	5.10
				7-H	6.92
C-4'a	116.24			1'-H	6.58
				3'-H	6.68
				6'-H	6.88
C-1'	116.50	1'-H	6.58	2'-CH ₃	2.31
				3'-H	6.68
C-5	119.62			4-H _{eq}	2.59
				7-H	6.92
				7'-H	7.17
C-8'	125.52			1'-H	6.58
				6'-H	6.88
C-7'	128.44	7'-H	7.17		
C-4a	130.09			4-H _{ax}	2.03
				4-H _{eq}	2.59
				1-H	5.10
C-8'a	136.22			7'-H	7.17
C-2'	136.51			2'-CH ₃	
C-8	155.29			1-H	5.10
				7-H	6.92
C-5'	156.76			5'-OCH ₃	4.01
				7'-H	7.17

¹³ C-Zuordnung	ppm	HMQC-Korrel. ppm	HMBC-Korrel. ppm
C-4'	157.57		4'-OCH ₃ 3.98 3'-H 6.68
C-6	158.40		6-OCH ₃ 3.66 7-H 6.92

 Tab. 8. ROESY-Wechselwirkungen von **19**

Proton	ppm	Proton	ppm
3-CH ₃	1.31	4-H _{ax}	2.03
		NCH ₃	2.69
		3-H	3.90
1-CH ₃	1.85	3-H	3.90
		1-H	5.10
4-H _{ax}	2.03	4-H _{eq}	2.59
		NCH ₃	2.69
		1'-H	6.58
2'-CH ₃	2.31	1'-H	6.58
		3'-H	6.68
4-H _{eq}	2.59	3-H	3.90
		7'-H	7.17
NCH ₃	2.69	1-H	5.10
		1'-H	6.58
6-OCH ₃	3.66	1'-H	6.58
		7-H	6.92
4'-OCH ₃	3.98	3'-H	6.68
5'-OCH ₃	4.01	6'-H	6.88
6'-H	6.88	7'-H	7.17

MS (70 eV); *m/z* (%): 421 (4) [M]⁺, 407 (27) [M+H-CH₃]⁺, 406 (100) [M-CH₃]⁺.

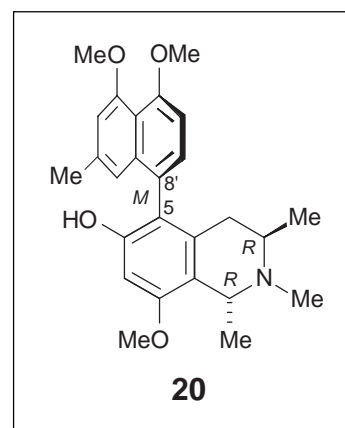
HRMS (70 eV); C₂₅H₂₈NO₄: ber. 406.2018; gef. 406.2017 [M-CH₃]⁺.

2.4 Ancistrocongolins C (**20**)

Schmp. (MeCN/H₂O) 140-141 °C.

[α]_D²³ = 128.1 (*c* = 0.125, CHCl₃).

CD (EtOH): Δε₂₀₀ -10.7, Δε₂₁₁ +15.2, Δε₂₂₄ +18.2, Δε₂₃₉ -19.6,
Δε₂₈₆ +1.8.



IR (NaCl): $\tilde{\nu} = 3415 \text{ cm}^{-1}$ (b), 2925, 2855, 1674, 1585, 1453, 1365, 1274, 1201, 1121, 1096, 834, 799.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.31$ (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, 3- CH_3), 1.73 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, 1- CH_3), 2.26 (dd, $J = 18.7, 6.3$ Hz, 1H, 4- H_{eq}),^[276] 2.29 (dd, $J = 18.7, 10.7$ Hz, 1H, 4- H_{ax}),^[276] 2.37 (s, 3H, 2'- CH_3), 2.70 (s, 3H, NCH_3), 3.83 (m, 1H, 3-H), 3.89 (s, 3H, 8- OCH_3), 3.99 (s, 3H, 4'- OCH_3), 4.02 (s, 3H, 5'- OCH_3), 4.72 (q, $J = 6.6$ Hz, 1H, 1-H), 6.59 (s, 1H, 7-H), 6.69 (s, 1H, 1'-H), 6.75 (s, 1H, 3'-H), 6.87 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, 6'-H), 7.17 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, 7'-H), 12.57 (s, 1H, 6-OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 16.77$ (CH_3 -3), 19.02 (CH_3 -1), 22.21 (CH_3 -2'), 28.95 (C-4), 33.11 (NCH_3), 48.03 (C-3), 55.55 (OCH_3 -8), 56.31 (OCH_3 -5'), 56.49 (OCH_3 -4'), 57.83 (C-1), 97.54 (C-7), 105.19 (C-6'), 109.30 (C-3'), 113.07 (C-8a), 115.93 (C-1'), 116.54 (C-4'a), 117.45 (C-5), 121.07 (C-8'), 130.27 (C-7'), 130.62 (C-4a), 136.02 (C-8'a), 138.25 (C-2'), 154.36 (C-6), 157.26 (C-8), 157.76 (C-4'), 158.37 (C-5'); die ^{13}C -Zuordnung erfolgte durch HMQC- und HMBC- Experimente.

Tab. 9. HMQC- und HMBC-Korrelationen von **20**

^{13}C -Zuordnung	ppm	HMQC-Korrel.	ppm	HMBC-Korrel.	ppm
CH_3 -3	16.77	3- CH_3	1.31		
CH_3 -1	19.02	1- CH_3	1.73	1-H	4.72
CH_3 -2'	22.21	2'- CH_3	2.37	1'-H	6.9
				3'-H	6.75
C-4	28.95	4- H_{eq}	2.26	3- CH_3	1.31
		4- H_{ax}	2.29		
NCH_3	33.11	NCH_3	2.70	1-H	4.72
C-3	48.03	3-H	3.83	3- CH_3	1.31
				4- H_{eq}	2.26
				NCH_3	2.70
				1-H	4.72
OCH_3 -8	55.55	8- OCH_3	3.89		
OCH_3 -5'	56.31	5'- OCH_3	4.02		
OCH_3 -4'	56.49	4'- OCH_3	3.99		
C-1	57.83	1-H	4.72	1- CH_3	1.73
				NCH_3	2.70
C-7	97.54	7-H	6.59		
C-6'	105.19	6'-H	6.87		
C-3'	109.30	3'-H	6.75	2'- CH_3	2.37
				1'-H	6.69

¹³ C-Zuordnung	ppm	HMQC-Korrel.	ppm	HMBC-Korrel.	ppm
C-8a	113.07			1-CH ₃	1.73
				4-H _{ax}	2.29
				1-H	4.72
				7-H	6.59
C-1'	115.93	1'-H	6.69	2'-CH ₃	2.37
				3'-H	6.75
C-4'a	116.54			1'-H	6.69
				3'-H	6.75
				6'-H	6.87
C-5	117.45			7-H	6.59
				7'-H	7.17
C-8'	121.07			1'-H	6.69
				6'-H	6.87
C-7'	130.27	7'-H	7.17		
C-4a	130.62			4-H _{eq}	2.26
				4-H _{ax}	2.29
				1-H	4.72
C-8'a	136.02			1'-H	6.69
				7'-H	7.17
C-2'	138.25			2'-CH ₃	2.37
C-6	154.36			7-H	6.59
C-8	157.26			8-OCH ₃	3.89
				1-H	4.72
				7-H	6.59
C-4'	157.76			4'-OCH ₃	3.99
				3'-H	6.75
C-5'	158.37			5'-OCH ₃	4.02
				6'-H	6.87
				7'-H	7.17

 Tab. 10. ROESY-Wechselwirkungen von **20**

Proton	ppm	Proton	ppm
3-CH ₃	1.31	4-H	2.26- 2.29
		NCH ₃	2.70
		3-H	3.83
1-CH ₃	1.73	3-H	3.83
		1-H	4.72
4-H	2.26- 2.29	2'-CH ₃	2.37
		NCH ₃	2.70
		3-H	3.83
		1'-H	6.69
		7'-H	7.17

Proton	ppm	Proton	ppm
2'-CH ₃	2.37	1'-H	6.69
		3'-H	6.75
NCH ₃	2.70	1-H	4.72
8-OCH ₃	3.89	7-H	6.59
4'-OCH ₃	3.99	3'-H	6.75
5'-OCH ₃	4.02	6'-H	6.87
6'-H	6.87	7'-H	7.17

MS (70 eV); *m/z* (%): 421 (1) [M]⁺, 406 (100) [M-CH₃]⁺, 203 (9) [M-CH₃]²⁺.

HRMS (70 eV); C₂₅H₂₈NO₄: ber. 406.2018; gef. 406.2022 [M-CH₃]⁺.

2.5 Ancistrocongolol D (22)

Schmp. (MeOH/H₂O) 232 °C.

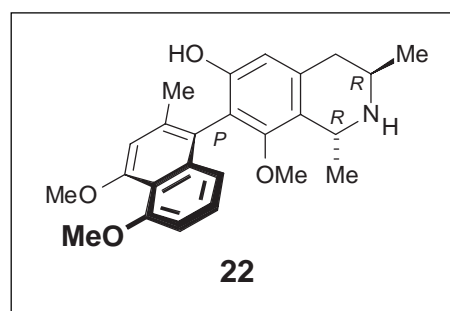
[α]_D²³ = -6.7 (*c* = 0.52, CHCl₃).

CD (EtOH): Δε₁₉₃ +14.2, Δε₂₁₀ -42.3, Δε₂₂₄ +5.0, Δε₂₃₁ -7.4, Δε₂₄₁ +4.7, Δε₂₅₇ +7.1, Δε₂₈₅ -13.9, Δε₃₁₁ +3.0.

IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ = 3432 cm⁻¹ (b), 2924, 2846, 1671, 1613, 1457, 1423, 1393, 1338, 1260, 1202, 1130, 1098, 1070, 753.

¹H-NMR (600 MHz, d₄-MeOH): δ = 1.51 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, 3-CH₃), 1.63 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, 1-CH₃), 2.15 (s, 3H, 2'-CH₃), 2.89 (dd, *J* = 17.4, 11.8 Hz, 1H, 4-H_{ax}), 3.07 (s, 3H, 8-OCH₃), 3.15 (dd, *J* = 17.6, 4.9 Hz, 1H, 4-H_{eq}), 3.87 (m, 1H, 3-H), 3.92 (s, 3H, 5'-OCH₃), 3.96 (s, 3H, 4'-OCH₃), 4.73 (q, *J* = 6.7 Hz, 1H, 1-H), 6.58 (s, 1H, 5-H), 6.85 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, 6'-H), 6.91 (s, 1H, 3'-H), 6.96 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, 8'-H), 7.20 (dd, *J* = 8.4, 7.8 Hz, 1H, 7'-H)^[277].

¹³C-NMR (150 MHz, d₄-MeOH) δ = 19.27 (CH₃-3), 19.38 (CH₃-1), 20.83 (CH₃-2'), 34.49 (C-4), 45.19 (C-3), 49.89 (C-1), 56.82 (OCH₃-4'), 56.95 (OCH₃-5'), 60.46 (OCH₃-8), 106.95 (C-6'), 110.36 (C-3'), 111.42 (C-5), 117.65 (C-4'a), 118.60 (C-8a), 119.71 (C-8'), 120.01 (C-7), 123.49 (C-1'), 127.52 (C-7'), 133.07 (C-4a), 137.63 (C-2'), 137.96 (C-8'a), 157.23 (C-8), 157.40 (C-6), 158.15 (C-4'), 158.67 (C-5'); die ¹³C-Zuordnung erfolgte durch HMQC- und HMBC- Experimente.



Tab. 11. HMQC- und HMBC-Korrelationen von **22**

¹³ C-Zuordnung	ppm	HMQC-Korrel.	ppm	HMBC-Korrel.	ppm
CH ₃ -3	19.27	3-CH ₃	1.51	4-H _{ax}	2.89
CH ₃ -1	19.38	1-CH ₃	1.63	1-H	4.73
CH ₃ -2'	20.83	2'-CH ₃	2.15	3'-H	6.91
C-4	34.49	4-H _{ax}	2.89	3-CH ₃	1.51
		4-H _{eq}	3.15	5-H	6.58
C-3	45.19	3-H	3.87	3-CH ₃	1.51
				4-H _{ax}	2.89
				1-H	4.73
C-1	49.89	1-H	4.73	1-CH ₃	1.63
OCH ₃ -4'	56.82	4'-OCH ₃	3.96		
OCH ₃ -5'	56.95	5'-OCH ₃	3.92		
OCH ₃ -8	60.46	8-OCH ₃	3.07		
C-6'	106.95	6'-H	6.85	8'-H	6.96
C-3'	110.36	3'-H	6.91	2'-CH ₃	2.15
C-5	111.42	5-H	6.58		
C-4'a	117.65			6'-H	6.85
				3'-H	6.91
				8'-H	6.96
C-8a	118.60			1-CH ₃	1.63
				1-H	4.73
				5-H	6.58
C-8'	119.71	8'-H	6.96	6'-H	6.85
C-7	120.01			5-H	6.58
C-1'	123.49			2'-CH ₃	2.15
				3'-H	6.91
				8'-H	6.96
C-7'	127.52	7'-H	7.20		
C-4a	133.07			4-H _{ax}	2.89
				1-H	4.73
C-2'	137.63			2'-CH ₃	2.15
C-8'a	137.96			7'-H	7.20
C-8	157.23			8-OCH ₃	3.07
				1-H	4.73
C-6	157.40			5-H	6.58
C-4'	158.15			4'-OCH ₃	3.96
				3'-H	6.91
C-5'	158.67			5'-OCH ₃	3.92
				7'-H	7.20

Tab. 12. ROESY-Wechselwirkungen von **22**

Proton	ppm	Proton	ppm
3-CH ₃	1.51	4-H _{ax}	2.89
		4-H _{eq}	3.15
		3-H	3.87
1-CH ₃	1.63	2'-CH ₃	2.15
		8-OCH ₃	3.07
		3-H	3.87
		1-H	4.73
2'-CH ₃	2.15	8-OCH ₃	3.07
		3'-H	6.91
4-H _{ax}	2.89	4-H _{eq}	3.15
		3-H	3.87
		5-H	6.58
8-OCH ₃	3.07	1-H	4.73
		8'-H	6.96
4-H _{eq}	3.15	3-H	3.87
		5-H	6.58
5'-OCH ₃	3.92	6'-H	6.85
4'-OCH ₃	3.96	3'-H	6.91
6'-H	6.85	7'-H	7.20
8'-H	6.96	7'-H	7.20

MS (70 eV); *m/z* (%): 407 (5) [M]⁺, 406 (5) [M-H]⁺, 392 (100) [M-CH₃]⁺, 196 (12) [M-CH₃]²⁺.

HRMS (70 eV); C₂₄H₂₆NO₄: ber. 392.1857; gef. 392.1862 [M-CH₃]⁺.

3 Untersuchung von *Triphyophyllum peltatum*

3.1 Isolierung von Habropetalin A (25)

Das Pflanzenmaterial von *Triphyophyllum peltatum* wurde von Prof. Dr. L. Aké Assi im Parc de Taï (Westliche Elfenbeinküste) im Februar 1993 gesammelt. Ein Herbarexemplar ist im Herbarium Bringmann (Nr. 2) hinterlegt.^[278]

Das luftgetrocknete und gemahlene Wurzelmaterial (1.5 kg) wurde nacheinander mit PE, CH₂Cl₂ und MeOH heiß extrahiert. Der methanolische Extrakt wurde gegen *n*-Hexan und CHCl₃ perfortiert und der nach Entfernen des Lösungsmittel erhaltene Chloroform-Extrakt über eine kurze Kieselgelsäule (CH₂Cl₂/MeOH) grob fraktioniert. Eine anschließende HSCCC-Trennung [CHCl₃/MeOH/0.1 N HCl 5:5:3, mittlere und große Säule in Reihe, Rotationsrichtung vorwärts, untere organische als mobile Phase, Elutionsmodus (H)→T, 4.0 ml min⁻¹] ergab 20.3 mg (51.7 µmol, 0.013 ‰) einer schwach beigen, mikrokristallinen Verbindung.^[90]

3.2 Habropetalin A (25)

Schmp. (MeOH) 225 °C.

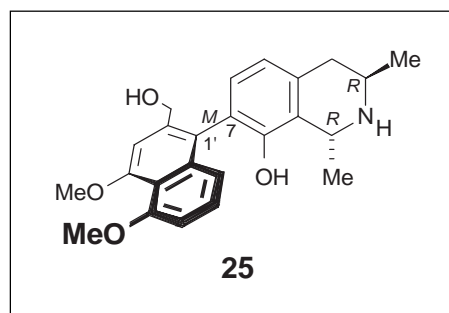
$[\alpha]_D^{25} = -16.5$ ($c = 0.1$, MeOH).

CD (EtOH): $\Delta\epsilon_{198} +13.1$, $\Delta\epsilon_{222} -41.0$, $\Delta\epsilon_{238} +31.7$, $\Delta\epsilon_{260} +2.7$, $\Delta\epsilon_{281} +12.2$, $\Delta\epsilon_{303} -2.3$.

IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3516$ cm⁻¹, 3410, 2958, 2924, 1593, 1460, 1431, 1390, 1338, 1300, 1261, 1201, 1127, 1099, 1076, 811, 765.

¹H-NMR (600 MHz, d₄-MeOH): $\delta = 1.28$ (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, 3-CH₃), 1.49 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, 1-CH₃), 2.59 (dd, $J = 16.6$ Hz, $J = 11.0$ Hz, 1H, 4-H_{ax}), 2.87 (dd, $J = 16.8$ Hz, $J = 4.3$ Hz, 1H, 4-H_{eq}), 3.40 (m, 1H, 3-H), 3.92 (s, 3H, 5'-OCH₃), 4.00 (s, 3H, 4'-OCH₃), 4.43 (d, $J = 3.2$ Hz, 2H, 2'-CH₂OH), 4.44 (m, 1H, 1-H), 6.74 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, 5-H), 6.79 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, 6-H), 6.90 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 0.8$ Hz, 1H, 6'-H), 6.92 (dd, $J = 8.5$ Hz, $J = 0.9$ Hz, 1H, 8'-H), 7.20 (dd, $J = 8.5$ Hz, $J = 7.7$ Hz, 1H, 7'-H), 7.24 (s, 1H, 3'-H).

¹³C-NMR (150 MHz, d₄-MeOH): $\delta = 20.44$ (CH₃-1), 22.14 (CH₃-3), 37.71 (C-4), 43.09 (C-3), 48.86 (C-1), 56.82 (OCH₃-5'), 57.03 (OCH₃-4'), 63.27 (CH₂OH-2'), 106.89 (C-3'), 107.76 (C-6'), 118.53 (C-4'a), 120.19 (C-8'), 121.54 (C-5), 123.87 (C-7), 125.90 (C-1'), 127.48 (C-7'), 128.37 (C-8a), 130.65 (C-6), 136.04 (C-4a), 138.34 (C-8'a), 140.15 (C-2'),



152.29 (C-8), 158.48 (C-4'), 158.53 (C-5'); die ^{13}C -Zuordnung erfolgte durch HMQC- und HMBC- Experimente.

Tab. 13. HMQC- und HMBC-Korrelationen von **25**

^{13}C -Zuordnung	ppm	HMQC-Korrel.	ppm	HMBC-Korrel.	ppm
CH ₃ -1	20.44	1-CH ₃	1.49	1-H	4.44
CH ₃ -3	22.14	3-CH ₃	1.28	4-H _{ax}	2.59
				3-H	3.40
C-4	37.71	4-H _{ax}	2.59	3-CH ₃	1.28
		4-H _{eq}	2.87	5-H	6.74
C-3	43.09	3-H	3.40	3-CH ₃	1.28
				4-H _{ax}	2.59
				4-H _{eq}	2.87
				1-H	4.44
C-1	48.86	1-H	4.44	1-CH ₃	1.49
OCH ₃ -5'	56.82	5'-OCH ₃	3.92		
OCH ₃ -4'	57.03	4'-OCH ₃	4.00		
CH ₂ OH-2'	63.27	2'-CH ₂ OH	4.43	3'-H	7.24
C-3'	106.89	3'-H	7.24	2'-CH ₂ OH	4.43
C-6'	107.76	6'-H	6.90	8'-H	6.92
C-4'a	118.53			6'-H	6.90
				8'-H	6.92
				3'-H	7.24
C-8'	120.19	8'-H	6.92	6'-H	6.90
C-5	121.54	5-H	6.74	4-H _{ax}	2.59
				4-H _{eq}	2.87
C-7	123.87			5-H	6.47
C-1'	125.90			2'-CH ₂ OH	4.43
				6-H	6.79
				8'-H	6.92
				3'-H	7.24
C-7'	127.48	7'-H	7.20		
C-8a	128.37			4-H _{ax}	2.59
				4-H _{eq}	2.87
				1-H	4.44
				5-H	6.74
C-6	130.65	6-H	6.79		
C-4a	136.04			4-H _{ax}	2.59
				4-H _{eq}	2.87
				1-H	4.44
				6-H	6.79
C-8'a	138.34			7'-H	7.20
C-2'	140.15			2'-CH ₂ OH	4.43
C-8	152.29			1-H	4.44
				6-H	6.79

¹³ C-Zuordnung	ppm	HMQC-Korrel. ppm	HMBC-Korrel. ppm
C-4'	158.48		4'-OCH ₃ 4.00 3'-H 7.24
C-5'	158.53		5'-OCH ₃ 3.92 6'-H 6.90 7'-H 7.20

 Tab. 14. ROESY-Wechselwirkungen von **25**

Proton	ppm	Proton	ppm
3-CH ₃	1.28	4-H _{ax}	2.59
		4-H _{eq}	2.87
		3-H	3.40
1-CH ₃	1.49	3-H	3.40
		2'-CH ₂ OH	4.43
		1-H	4.44
4-H _{ax}	2.59	4-H _{eq}	2.87
		3-H	3.40
		5-H	6.74
4-H _{eq}	2.87	3-H	3.40
		5-H	6.74
5'-OCH ₃	3.92	6'-H	6.90
4'-OCH ₃	4.00	3'-H	7.24
2'-CH ₂ OH	4.43	6-H	6.79
		3'-H	7.24
5-H	6.74	6-H	6.79
6-H	6.79	8'-H	6.92
6'-H	6.90	7'-H	7.20
8'-H	6.92	7'-H	7.20

MS (70 eV); *m/z* (%): 393 (20) [M]⁺, 378 (53) [M-CH₃]⁺, 360 (100) [M-CH₃-H₂O]⁺.

HRMS (70 eV); C₂₄H₂₇NO₄: ber. 393.1940; gef. 393.1939 [M]⁺.

3.3 Vergleich von „5'-O-Methyltriphyopeltin (33)“ und Habropetalin A (25)

Die Verbindung „5'-O-Methyltriphyopeltin“ (**33**) wurde bereits von Bruneton *et al.*^[97] mit der gleichen Konstitution wie Habropetalin A (**25**) publiziert. Aufgrund der unterschiedlichen oder teilweise fehlenden physikalischen und spektroskopischen Daten (siehe Tab. 15, Seite 148) und keiner verfügbaren Originalsubstanz ist es unklar, ob es sich bei beiden Verbindungen um ein und dieselbe Substanz handelt. Aus diesem Grund muss das hier isolierte und vollständig charakterisierte Alkaloid (**25**) als neu angesehen werden.

Tab. 15. Tabellarischer Vergleich von **25** mit den verfügbaren^[97] Daten von **33**

	Habropetalin A (25)	5'- <i>O</i> -Methyltriphyopeltin (33) ^[97]
HRMS	C ₂₄ H ₂₇ NO ₄ : 393.1939 [M] ⁺	C ₂₄ H ₂₇ NO ₄ : 393.1940 [M] ⁺
Schmp.	225 °C	209 °C
[α] _D	-16.5 (<i>c</i> = 0.1, MeOH)	keine Angaben
¹ H-NMR	1.28 (d, <i>J</i> = 6.3 Hz, 3H, 3-CH ₃)	1.26 (d, <i>J</i> = 6.5 Hz, 3H, 1- oder 3-CH ₃)
	1.49 (d, <i>J</i> = 6.7 Hz, 3H, 1-CH ₃)	1.49 (d, <i>J</i> = 7.0 Hz, 3H, 1- oder 3-CH ₃)
	4-H _{ax} , 4-H _{eq} , 3-H, 1-H siehe Kap. 3.2, Seite 145	keine Angaben
	3.92 (s, 3H, 5'-OCH ₃)	3.90 (s, 3H, 5'-OCH ₃)
	4.00 (s, 3H, 4'-OCH ₃)	3.96 (s, 3H, 4'-OCH ₃)
	4.43 (d, <i>J</i> = 3.2 Hz, 2H, 2'-CH ₂ OH)	4.55 (s, 2H, 2'-CH ₂ OH)
	5-H, 6-H, 6'-H, 8'-H, 7'-H, 3'-H siehe Kap. 3.2, Seite 145	6 x Ar-H (1',2',4',5'-substituiertes Naphthalin), keine weiteren Angaben

4 Untersuchung von *Dioncophyllum thollonii*

4.1 Isolierung von Dioncophyllin E (37)

Das Pflanzenmaterial von *Dioncophyllum thollonii* wurde von A.M. Louis in Rabi Kounga (Gabun) im Oktober 1996 gesammelt. Ein Herbarexemplar ist unter der Nummer 1 im Herbarium Bringmann hinterlegt.^[279]

1.2 kg des luft-getrockneten Wurzelmaterials wurden in einer Schlagmühle zerkleinert und mit *n*-Hexan und MeOH nacheinander heiß extrahiert. Der methanolische Extrakt wurde mit *n*-Hexan und Chloroform perforiert und der daraus entstandene Chloroform-Extrakt wurde nach Entfernen des Lösungsmittels säulenchromatographisch (CH₂Cl₂/MeOH 9:1) fraktioniert. Die zweite Fraktion, die den Hauptanteil der Dragendorff-aktiven Substanzen beinhaltet, wurde säulenchromatographisch (CHCl₃/MeOH 9:1, 10:3, 15:1) weiter aufgereinigt. HPLC-Analyse auf System 1 mit Phase 1a (MeOH/H₂O/TFA 60:40:0.1) und anschließende semipräparative Aufreinigung auf System 1 mit Phase 1b und 1c (MeOH/H₂O/TFA 70:30:0.1) ergab 6.3 mg (17.4 µmol, 0.00525%) eines beigen, mikrokristallinen Feststoffs.

4.2 Dioncophyllin E (37)

Schmp. (MeOH/H₂O) 59-60 °C.

$[\alpha]_D^{25} = -146^\circ$ ($c = 0.1$, MeOH).

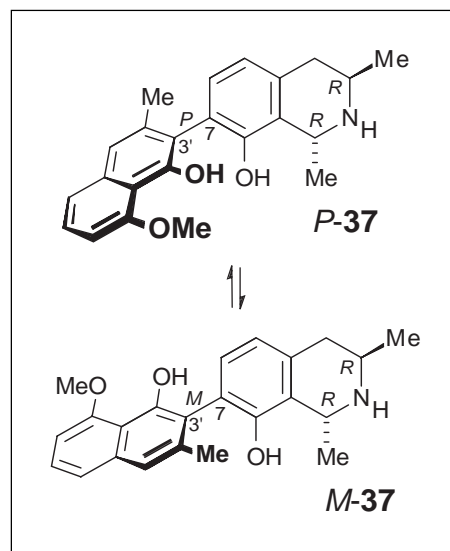
CD (schnelleres Atropisomer): $\Phi_{217} -3.3$, $\Phi_{230} +0.8$, $\Phi_{240} -1.7$, $\Phi_{277} +0.7$, $\Phi_{334} -1.2$.

CD (langsamerer Atropisomer): $\Phi_{216} +5.3$, $\Phi_{230} -1.3$, $\Phi_{240} +1.7$, $\Phi_{280} -0.4$, $\Phi_{335} +1.3$.

IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3376 \text{ cm}^{-1}$, 2961, 2919, 2851, 1578, 1464, 1358, 1088, 805, 625.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.58$ & 1.59 (d, $J = 6.0$

& 6.1 Hz, 3H, 3-CH₃), 1.71 & 1.74 (d, $J = 6.5$ & 6.7 Hz, 3H, 1-CH₃), 2.14 & 2.15 (s, 3H, 2'-CH₃), 2.98-3.13 (m, 2H, 4-H), 3.69-3.77 (m, 1H, 3-H), 4.00 & 4.04 (s, 3H, 5'-OCH₃), 4.89-4.96 (m, 1H, 1-H), 6.74 & 6.77 (m, 1H, 6'-H), 6.81 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5-H), 7.05 & 7.06 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, 6-H), 7.24 & 7.27 (s, 1H, 1'-H), 7.29-7.37 (m, 2H, 7'-H & 8'-H), 9.71 (s, 1H, 4'-OH).



^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3): δ = 17.8 & 18.1 (CH_3 -1), 18.4 & 18.8 (CH_3 -3), 20.6 & 20.8 (CH_3 -2'), 33.8 & 33.8 (C-4), 44.1 & 44.4 (C-3), 48.1 & 48.1 (C-1), 56.2 & 56.2 (OCH_3 -5'), 104.0 & 104.0 (C-6'), 113.3 & 113.3 (C-4'a), 116.9 & 117.2 (C-3'), 120.0 & 120.0 (C-1'), 120.6 & 121.2 (C-8a), 120.7 & 120.7 (C-5), 121.1 & 121.3 (C-8'), 122.0 & 122.4 (C-7), 126.6 & 126.6 (C-7'), 130.2 & 130.5 (C-6), 131.3 & 131.4 (C-4a), 136.3 & 136.5 (C-8'a), 137.4 & 138.1 (C-2'), 149.5 & 149.7 (C-8), 151.8 & 151.8 (C-4'), 156.0 & 156.0 (C-5').

 Tab. 16. HMQC- und HMBC-Korrelationen von **37**

^{13}C -Zuordnung	ppm	HMQC-Korrel.	ppm	HMBC-Korrel.	ppm
CH_3 -1	17.8 18.1	1- CH_3	1.74 1.71		
CH_3 -3	18.4 & 18.8	3- CH_3	1.58 & 1.59		
CH_3 -2'	20.6 & 20.8	2'- CH_3	2.14 & 2.15		
C-4	33.8 & 33.8	4-H	2.98-3.13	3- CH_3 5-H	1.58 & 1.59 6.81 & 6.81
C-3	44.1 & 44.4	3-H	3.69-3.77	3- CH_3 4-H	1.58 & 1.59 2.98-3.13
C-1	48.1 & 48.1	1-H	4.89-4.96	1- CH_3	1.71 & 1.74
OCH_3 -5'	56.2 & 56.2	5'- OCH_3	4.00 & 4.04		
C-6'	104.0 & 104.0	6'-H	6.74 & 6.77	8'-H	7.29-7.37
C-4'a	113.3 & 113.3			6'-H 1'-H 8'-H 4'-OH	6.74 & 6.77 7.24 & 7.27 7.29-7.37 9.71
C-3'	116.9 & 117.2			2'- CH_3 6-H 1'-H 4'-OH	2.14 & 2.15 7.05 & 7.06 7.24 & 7.27 9.71
C-1'	120.0 & 120.0	7.24 & 7.27		2'- CH_3 8'-H	2.14 & 2.15 7.29-7.37
C-8a	120.6 & 121.2			1- CH_3 4-H 5-H	1.71 & 1.74 2.98-3.13 6.81 & 6.81
C-5	120.7 & 120.7	5-H	6.81 & 6.81	4-H	2.98-3.13
C-8'	121.1 & 121.3	8'-H	7.29-7.37	6'-H 1'-H	6.74 & 6.77 7.24 & 7.27
C-7	122.0 & 122.4			5-H	6.81 & 6.81
C-7'	126.6 & 126.6	7'-H	7.29-7.37		
C-6	130.2 & 130.5	6-H	7.05 & 7.06		
C-4a	131.3 & 131.4			4-H 6-H	2.98-3.13 7.05 & 7.06
C-8'a	136.3 & 136.5			1'-H 7'-H	7.24 & 7.27 7.29-7.37

¹³ C-Zuordnung	ppm	HMQC-Korrel.	ppm	HMBC-Korrel.	ppm
C-2'	137.4 & 138.1			2'-CH ₃	2.14 & 2.15
C-8	149.5 & 149.7			1-CH ₃	1.71 & 1.74
				4-H	2.98-3.13
				5-H	6.81 & 6.81
C-4'	151.8 & 151.8			4'-OH	9.71
C-5'	156.0 & 156.0			5'-OCH ₃	4.00 & 4.04
				6'-H	6.74 & 6.77
				7'-H	7.29-7.37

 Tab. 17. ROESY-Wechselwirkungen von **37**

Proton	ppm	Proton	ppm
3-CH ₃	1.58 & 1.59	3-H	3.69-3.77
		1-H	4.89-4.96
1-CH ₃	1.71 & 1.74	4-H	2.98-3.13
		3-H	3.69-3.77
2'-CH ₃	2.14 & 2.15	6-H	7.05 & 7.06
		1'-H	7.24 & 7.27
4-H	2.98-3.13	3-H	3.69-3.77
		5-H	6.81 & 6.81
5'-OCH ₃	4.00 & 4.04	6'-H	6.74 & 6.77
6'-H	6.74 & 6.77	7'-H	7.29-7.37
5-H	6.81 & 6.81	6-H	7.05 & 7.06
1'-H	7.24 & 7.27	8'-H	7.29-7.37

MS (70 eV); *m/z* (%): 363 (5) [M]⁺, 348 (100) [M-CH₃]⁺, 333 (12) [M-2CH₃]⁺.

HRMS (70 eV); C₂₂H₂₂NO₃: ber. 348.1600; gef. 348.1604 [M-CH₃]⁺.

5 Beiträge zur Synthese von Dioncophyllin E

5.1 Synthese des Naphthalin-Bausteins

5.1.1 Synthese in Anlehnung an Watanabe et al.^[156]

Zu einer Lösung von 13.9 ml (10.0 g, 99.1 mmol) *N,N*-Diisopropylamin in 15 ml abs. THF gab man binnen 5 min 39.7 ml (99.1 mmol) *n*-BuLi zu. Nach Abkühlen auf -78 °C tropfte man 4.00 g (28.3 mmol) **67** in 70 ml abs. THF über einen Zeitraum von 15 min zu und ließ für weitere 2 h bei dieser Temperatur rühren. Nach Erwärmen auf -20 °C wurden 6.97 ml (10.6 g, 56.7 mmol) **66** in 20 ml abs. THF in 2 min zugegeben, die Reaktionsmischung für weitere 5 min bei -20 °C und anschließend bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Nach Hydrolyse mit gesätt. wässriger Ammoniumchlorid-Lösung und 10proz. Salzsäure (1:1) und Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. wurde die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ extrahiert und die organische Phase über MgSO₄ getrocknet. Säulenchromatographische Trennung (PE/CHCl₃ 5:1) ergab als einzig identifizierbares Produkt das Abfangprodukt des Arins **60** mit H₂O, 3-Hydroxyanisol.^[280,281] Dieser Versuch wurde auch analog mit *N*-Cyclohexyl-*N*-isopropylamin mit dem gleichen Ergebnis durchgeführt. Das erwünschte Produkt 1-Hydroxy-8-methoxynaphthalin (**70**) wurde nachweislich durch späteren Vergleich mit synthetisiertem Material nicht gebildet.

5.1.2 Desulfonierung von Chromotropsäure-Derivaten

Allgemeine Vorschrift für die versuchte Desulfonierung der Derivate **62**, **71**^[282,283] und **72**^[282,283] am Beispiel von **72**: 75 mg (0.22 mmol) **72** wurden in 2 ml 2 N H₂SO₄ gelöst (hellgelbe / beige Lösung) und unter Rückfluss erhitzt. Es konnte kein Umsatz beobachtet werden. Nach 10 h ließ man die Lösung auf RT abkühlen, neutralisierte mit 1 N NaOH und extrahierte die wässrige Phase mit CH₂Cl₂. In der organischen Phase wurde kein Produkt nachgewiesen.

Eine analoge Umsetzung mit 30 % H₂SO₄ ergab das gleiche Ergebnis. Eine gleichzeitig durchgeführte Wasserdampfdestillation der Reaktionsmischung zur direkten Entfernung möglicher Produkte sowie zur Steigerung der Innentemperatur erbrachte keine Änderung. Ebenso zeigte sich bei der Reaktion im Zwei-Phasen-System 2 N H₂SO₄ / *p*-Xylol kein Umsatz.

5.1.3 1,8-Diaminonaphthalin als Edukt

5.1.3.1 Bucherer-Reaktion

10.0 g (63.3 mmol) 1,8-Diaminonaphthalin (**75**) wurden in 74.6 ml (100 g, 38-40 %) Bisulfit-Lauge (NaHSO₃) und 50 ml H₂O analog Lit.^[165] suspendiert und für 4 h unter Rückfluss erhitzt. Die DC-Kontrolle ergab einen Startfleck, wie dies für die Bildung der Sulfonsäure zu erwarten war. Nach Abkühlen wurden 150 ml 1 N NaOH (pH = 11) zugegeben und das Reaktionsgemisch erneut für 2 h refluxiert (eine erhöhte Reaktionszeit von 15 h brachte keine Veränderung). Nach Abkühlen und Neutralisation mit 1 N HCl wurde von der Masse des schwarzen Niederschlags abfiltriert, die wässrige Phase gegen Et₂O extrahiert und die erhaltene organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet. Man erhielt 382 mg eines komplexen Produktgemisches, welches nicht weiter aufgereinigt wurde.

5.1.3.2 Diazotierung

Die Diazotierung von **75** erfolgte analog Lit.^[167] mit 1.0 g (6.33 mmol) Edukt. Anstelle der Zugabe des Natriumazids erfolgte eine Erwärmung auf 100 °C für 1 h. Nach Abkühlen wurde direkt und nach Neutralisation mit NaOH gegen EE extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet. Das erhaltene Produktgemisch wurde schichtchromatographisch getrennt, das gesuchte Produkt konnte jedoch nicht identifiziert werden.

5.1.4 1,8-Dihydroxynaphthalin (**73**)

Die Synthese erfolgte in Anlehnung an Lit.^[153-155,284] In einem 250 ml Dreihalskolben^[285] mit KPG-Rührer und Feststoffzugabe wurden 21.0 g (375 mmol) KOH-Plätzchen in einem Sandbad bis auf 250 °C erhitzt. Bei dieser Temperatur wurde unter Rühren 5.00 g (24.2 mmol) 1,8-Naphthosulton portionsweise binnen 5 min zugegeben. Hierbei wurde eine sofortige Gasentwicklung beobachtet. Die anfänglich farblose Schmelze färbte sich bei der Zugabe von Gelb über Grün zu Schwarz. Nach beendeter Zugabe wurde die Feststoffzugabe durch eine Stickstoffeinleitung ersetzt und das Gemisch für weitere 45 min unter Durchleitung von Stickstoff zum Austreiben des vorhandenen H₂O auf der Temperatur gehalten.¹¹ Nach Abkühlung auf 90-100 °C wurde die Reaktionsmischung vorsichtig mit

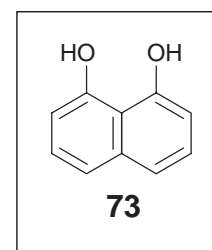
¹¹ Das Austreiben des Wassers ist für die Reaktion von essenzieller Bedeutung. Fließt das Wasser in die Reaktionsmischung zurück, bildet sich nicht das gewünschte Produkt, sondern die Reaktion bleibt auf der Stufe des Kaliumsalzes der 1-Hydroxy-8-naphthalinsulfonsäure stehen.^[153]

halbkonzentrierter HCL auf pH = 1 eingestellt und anschließend mit schweflig-saurem H₂O (1%) bis zur vollständigen Auflösung des Feststoffs verdünnt. Die wässrige Mischung wurde in einen Erlenmeyer-Kolben überführt, kurz aufgekocht und über eine Faltenfilter heiß filtriert. Nach mehrmaligem Waschen des schwarzen, öligen Filtrerrückstandes mit heißem schweflig-saurem H₂O wurden die vereinten wässrigen Phasen am Rotationsverdampfer auf ca. 1/10 ihres Volumens eingengt. Hierbei fiel aus der gelben, klaren Lösung ein weißer Feststoff aus. Die wässrige Phase wurde erschöpfend mit Et₂O extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet. Nach Filtration wurde die organische Phase bis zur Trockne am Rotationsverdampfer eingengt und anschließend i. Vak. getrocknet. Der Feststoff wurde aus schweflig-saurem H₂O umkristallisiert. Man erhielt nadelförmige, farblose Kristalle.

Ausb. 1.08 g (6.75 mmol, 28 %); Lit.^[284] 32 %; Lit.^[155] 86 %.

Schmp. 143-145 °C; Lit.^[153] 139-140 °C; Lit.^[155] 141-142 °C.

Die gefundenen physikalischen und spektroskopischen Daten stimmen mit denen in Lit.^[154,155] überein. Aufgrund der in der Literatur fehlenden Massendaten werden diese hier angegeben.



MS (70 eV); *m/z* (%): 160 (100) [M]⁺, 142 (9), 131 (18), 114 (52), 103 (8), 77 (12), 63 (8), 51 (11).

5.1.5 8-Hydroxy-1-methoxynaphthalin (70)

Die Synthese erfolgte in Anlehnung an Lit.^[286] mit den dort nur erwähnten Reagenzien. Zu 500 mg (3.12 mmol) **73** in 10 ml abs. DMF wurden bei RT vorsichtig 74.9 mg (3.20 mmol) Natriumhydrid und anschließend 970 µl (2.21 g, 15.6 mmol) Methyljodid zugegeben. Die Reaktionslösung wurde für 6 h auf 50 °C erhitzt. Zu der abgekühlten Mischung gab man ein 1:1-Gemisch von H₂O/PE, trennte die organische Phase ab und trocknete diese über MgSO₄. Das so erhaltene Rohprodukt (80-90 %) wurde direkt weiter umgesetzt. Für die Charakterisierung wurde das Rohprodukt mittels PSC (1 mm, CH₂Cl₂/PE 1:1) gereinigt. Man erhielt einen mikrokristallinen, farblosen Feststoff. Versuche, das Methylierungsmittel durch *para*-Toluolsulfonsäuremethylester zu ersetzen, schlugen fehl.

Ausb. 402 mg (2.31 mmol, 74 %); Lit.^[286] 95 %; Lit.^[169,284,287-289] 37-99 %.

Schmp. (CH₂Cl₂/MeOH) 52-54 °C; Lit.^[284] 53.5-55 °C; Lit.^[287] 55-56 °C.

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3320 cm⁻¹, 3180, 1610, 1595, 1565, 1440, 1390, 1250, 1150, 1070, 955, 805, 745.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 4.08 (s, 3H, OCH₃), 6.79 (d, 1H, J = 7.3 Hz, 2-H), 6.89 (dd, J = 7.6 Hz, J = 1.3 Hz, 1H, 7-H), 7.30 (d, J = 7.8 Hz, 1H, 5-H), 7.32 (t, J = 8.1 Hz, J = 7.8 Hz, 1H, 3-H), 7.36 (t, J = 8.1 Hz, J = 7.3 Hz, 1H, 6-H), 7.43 (dd, J = 8.3 Hz, J = 0.5 Hz, 1H, 4-H), 9.32 (s, 1H, 8-OH).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 56.11 (OCH₃), 103.91 (C-2), 110.43 (C-7), 115.09 (C-8a), 118.86 (C-5), 121.88 (C-4), 125.59 (C-3), 127.72 (C-6), 136.76 (C-4a), 154.49 (C-8), 156.17 (C-1).

MS (70 eV); m/z (%): 174 (100) [M]⁺, 159 (67) [M-CH₃]⁺, 131 (71) [M-CH₃-C₂H₄]⁺.

5.1.6 8-Hydroxy-1-(methoxymethoxy)-naphthalin (77)

Zu 50.0 mg (313 μ mol) der in THF gelösten Verbindung **73** gab man bei 45 °C 7.90 mg (329 μ mol) Natriumhydrid und anschließend 126 mg (1.56 mmol) MOMCl. Die Reaktionsmischung wurde für 1.5 h auf 80 °C erwärmt, nach Abkühlen mit Et₂O mehrmals extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Man erhielt einen farblosen, mikrokristallinen Feststoff.

Ausb. 57.0 mg (279 μ mol, 97 %); Lit.^[170] 25 %.

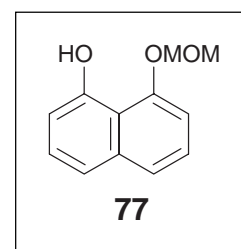
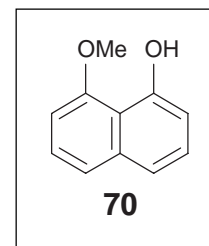
Schmp. (Et₂O) 160 °C.; Lit.^[170] „red-brown liquid“

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3408 cm⁻¹ (b), 3058, 2956, 2828, 1632, 1609, 1583, 1457, 1403, 1259, 1158, 1039, 934, 817, 757.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.60 (s, 3H, OCH₃), 5.43 (s, 2H, OCH₂O), 6.93 (dd, J = 7.3 Hz, J = 1.5 Hz, 1H, 7-H), 7.05 (dd, J = 7.9 Hz, J = 0.8 Hz, 1H, 2-H), 7.31 (dd, J = 8.3 Hz, J = 7.9 Hz, 1H, 3-H), 7.33 (dd, J = 8.1 Hz, J = 1.5 Hz, 1H, 6-H), 7.38 (dd, J = 8.1 Hz, J = 7.3, 1H, 5-H), 7.48 (dd, J = 8.3 Hz, J = 0.8, 1H, 4-H), 9.33 (s, 1H, 8-OH).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 56.74 (OCH₃), 95.67 (OCH₂O), 107.64 (C-2), 110.46 (C-7), 115.31 (C-8a), 119.05 (C-5), 122.74 (C-4), 125.67 (C-3), 127.56 (C-6), 136.77 (C-4a), 153.60 (C-1), 154.16 (C-8).

MS (70 eV); m/z (%): 204 (41) [M]⁺, 159 (5) [M-OCH₂OCH₃]⁺, 45 (100) [OCH₂OCH₃]⁺.



5.1.7 1,8-Dimethoxynaphthalin (**74**)

Zu 40.0 mg (250 μmol) **73** in 1 ml abs. DMF wurden bei RT vorsichtig 29.0 mg (1.25 mmol) Natriumhydrid und anschließend 77.6 μl (177 mg, 1.25 mmol) Methyljodid zugegeben. Die Reaktionslösung wurde für 2 h auf 50 °C erhitzt. Zu der abgekühlten Mischung gab man ein 1:1-Gemisch von H₂O/PE, trennte die organische Phase ab und trocknete über MgSO₄. Das so erhaltene Rohprodukt (82 %) wurde mittels PSC (1 mm, CH₂Cl₂/PE 7:3) gereinigt. Man erhielt einen mikrokristallinen, weißen Feststoff.

Ausb. 29 mg (154 μmol , 62 %); Lit.^[287] 30 %; Lit.^[290] 50 %; Lit.^[169] 67 %.

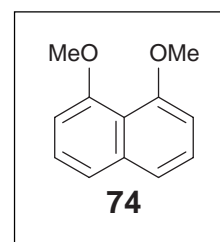
Schmp. (CH₂Cl₂/MeOH) 163 °C; Lit.^[290] 156-157 °C

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3350 cm⁻¹ (b), 3002, 2957, 1583, 1463, 1428, 1389, 1349, 1277, 1238, 1112, 1092, 1055, 812, 756.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.99 (s, 6H, OCH₃), 6.87 (dd, J = 7.3 Hz, J = 1.3 Hz, 2H, 2-H & 7-H), 7.37 (t, J = 8.1 Hz, J = 7.3 Hz, 2H, 3-H & 6-H), 7.41 (dd, J = 8.2 Hz, J = 1.3 Hz, 2H, 4-H & 5-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 56.43 (OCH₃), 106.16 (C-2 & C-7), 117.57 (C-8a), 120.82 (C-4 & C-5), 126.33 (C-3 & C-6), 137.36 (C-4a), 157.01 (C-1 & C-8).

MS (70 eV); m/z (%): 188 (100) [M]⁺, 173 (11) [M-CH₃]⁺, 145 (22), 127 (20), 115 (57).

5.1.8 1-(Methoxymethoxy)-8-methoxynaphthalin (**78**)

Variante I:

a) Zu 30.0 mg (172 μmol) **70** in 3 ml CH₂Cl₂ wurden 3 ml (5N) Natriumhydroxydlösung gegeben. Dem Zwei-Phasen-Gemisch fügte man 34.4 μl (36.5 mg, 453 μmol) MOMCl und 30.0 mg (813 μmol) Tetra-*n*-butylammonium-iodid hinzu und ließ die Reaktionsmischung für 3 d intensiv bei Raumtemperatur rühren. Die Mischung wurde mehrmals mit CH₂Cl₂ extrahiert und die erhaltene organische Phase über MgSO₄ getrocknet. Zur Entfernung des Phasen-Transfer-Katalysators wurde die organische Phase über desakt. SiO₂ filtriert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Man erhielt einen farblosen mikrokristallinen Feststoff.

Ausb. 34.4 mg (162 μmol , 94 %); typische Ausbeuten: 80-94 %.

b) Zu 10.0 mg (57.4 μmol) **70** in 2.5 ml abs. THF gab man bei Raumtemperatur 6.88 mg (287 μmol) Natriumhydrid hinzu. Nach Erwärmen auf 45 °C fügte man 21.8 μl (23.1 mg, 287 μmol) MOMCl hinzu und rührte für weitere 20 min bei 80 °C. Die Reaktion wurde vorsichtig mit einigen Tropfen H₂O gequench und mit Et₂O mehrmals extrahiert. Nach

Trocknung der organischen Phase über MgSO₄ wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Säulenchromatographische Reinigung (PE/CH₂Cl₂ 1:1 → 1:3) ergab einen farblosen mikrokristallinen Feststoff.

Ausb. 9.36 mg (42.8 μmol, 75 %); typische Ausbeuten: 55-75 %.

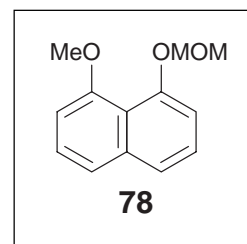
Variante II:

Zu 30.0 mg (147 μmol) **77** in 10 ml abs. DMF gab man bei Raumtemperatur 6.75 mg (294 μmol) Natriumhydrid und 45.7 μl (104 mg, 735 μmol) Methyljodid hinzu. Die Reaktionsmischung wurde für 2 h auf 50 °C erwärmt und nach dem Abkühlen und Quenchen mit einigen Tropfen Wasser mit einem 1:1-Gemisch H₂O/PE mehrmals extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die Reinigung mittels PSC (1 mm, PE/CH₂Cl₂ 1:1) ergab einen farblosen mikrokristallinen Feststoff.

Ausb. 9.56 mg (43.8 μmol, 30 %).

Schmp. (CH₂Cl₂/MeOH) 58-59 °C; Lit.^[171] 61 °C.

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3059 cm⁻¹, 2932 (b), 2839, 1579, 1462, 1386, 1269, 1152, 1093, 1068, 1041 987, 816, 756.



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.62 (s, 3H, CH₂OCH₃), 3.98 (s, 3H, OCH₃), 5.27 (s, 2H, OCH₂O), 6.86 (dd, *J* = 7.6 Hz, *J* = 1.0 Hz, 1H, 2-H), 7.08 (dd, *J* = 7.6 Hz, *J* = 1.0 Hz, 1H, 7-H), 7.36 (t, *J* = 8.1 Hz, *J* = 7.6 Hz, 1H, 6-H), 7.37 (t, *J* = 8.1 Hz, *J* = 7.6, 1H, 3-H), 7.42 (dd, *J* = 8.1 Hz, *J* = 1.0 Hz, 1H, 4-H), 7.50 (dd, *J* = 8.1 Hz, *J* = 1.0, 1H, 5-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 56.41 (CH₂OCH₃), 56.33 (OCH₃), 97.00 (OCH₂), 106.25 (C-2), 113.70 (C-7), 118.75 (C-8a), 120.98 (C-4), 122.85 (C-5), 126.17 (C-6), 126.29 (C-3), 137.47 (C-4a), 153.90 (C-8), 156.70 (C-1).

MS (70 eV); *m/z* (%): 218 (24) [M]⁺, 188 (22) [M-2CH₃]⁺, 115 (20), 45 (100) [OCH₂OCH₃]⁺.

5.1.9 2-Brom-1-(Methoxymethoxy)-8-methoxynaphthalin (**79**)

Man löste in 0.6 ml abs. THF 60.0 mg (275 μmol) **78** und kühlte auf -15 °C. Hierzu gab man 165 μl (2.5 M, 412 μmol) *n*-BuLi und 32.0 mg (275 μmol) TMEDA wobei sich die gelbe Lösung von gelb nach braun färbte. Die Mischung wurde für 1 h bei dieser Temperatur weiter gerührt, dann auf -78 °C gekühlt und 134 mg (412 μmol) Dibromtetrachlorethan hinzugegeben. Man ließ über Nacht auf RT erwärmen, quenchte mit einigen Tropfen MeOH

und reinigte die Reaktionsmischung direkt über PSC (2 mm, CH₂Cl₂/PE 1:1) auf. Man erhielt eine leicht hellbraune, ölige Substanz.

Ausb. 65.4 mg (220 μmol, 80 %).

IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ = 3054 cm⁻¹, 2986, 1571, 1423, 1265, 1159, 1092, 979, 931, 896, 740, 706.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 3.77 (s, 3H, CH₂OCH₃), 3.99 (s, 3H, OCH₃), 5.15 (s, 2H, OCH₂O), 6.91 (m, 1H, 7-H), 7.40 (m, 2H, 5-H & 6-H), 7.45 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, 3-H), 7.61 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, 4-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 56.02 (OCH₃), 58.29 (CH₂OCH₃), 100.75 (OCH₂O), 106.69 (C-7), 115.11 (C-2), 120.96 (C-8a), 121.02 (C-5), 125.38 (C-4), 126.45 (C-6), 130.59 (C-3), 136.45 (C-4a), 149.47 (C-1), 155.08 (C-8).

MS (70 eV); *m/z* (%): 298/296 (10/11) [M]⁺, 268/266 (15/16) [M-2CH₃]⁺, 217 (7) [M-Br]⁺, 172 (11) [M-Br-CH₂OCH₃]⁺, 144 (10), 45 (100) [CH₂OCH₃]⁺.

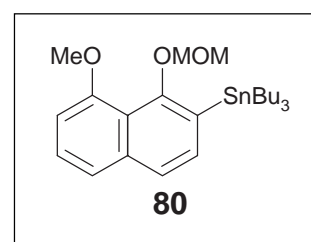
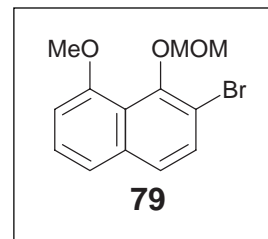
HRMS (70 eV); C₁₃H₁₃O₃Br⁷⁹: ber. 296.0048; gef. 296.0048 [M]⁺.

5.1.10 1-(Methoxymethoxy)-8-methoxy-2-tributylstannyl-naphthalin (**80**)

Zu 20.0 mg (91.6 μmol) **78** in 0.2 ml abs. THF gab man bei -15 °C 66 μl (2.5 M, 165 μmol) *n*-BuLi und 10.6 mg (91.6 μmol) TMEDA. Nach Rühren für weitere 1.5 h bei dieser Temperatur kühlte man auf -55 °C und gab 44 mg (137 μmol) Tributylzinnchlorid hinzu. Die Reaktion^[291] wurde nach 1.5 h mit einigen Tropfen Ammoniumchlorid gequencht und mit *n*-Hex extrahiert. Die organische Phase wurde zur Entfernung polarer Reaktionsprodukte zweimal gegen MeOH ausgeschüttelt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Eine chromatographische Reinigung des Produktes ist aufgrund der Empfindlichkeit und der damit einhergehenden raschen Zersetzung auf Kieselgel sehr schwierig. Man erhielt das Produkt nach der beschriebenen Art in Form eines gelben Öls mit einer ausreichenden Reinheit von > 95 % (NMR), geeignet für die direkte weitere Umsetzung. Zur Charakterisierung wurde über PSC gereinigt.

Ausb. 34.6 mg (68.7 μmol, 75 %).

IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ = 3431 cm⁻¹, 2956, 2924, 1639, 1559, 1462, 1324, 1257, 1161, 1082, 1047, 984.



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.91 (t, J = 7.3 Hz, 9H, CH_3), 1.18 (t, J = 8.2 Hz, 6H, $1'$ - CH_2), 1.36 (m, 6H, $3'$ -H), 1.56 (m, 6H, $2'$ -H), 3.52 (s, 3H, CH_2OCH_3), 3.98 (s, 3H, OCH_3), 5.02 (s, 2H, OCH_2O), 6.86 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H-7), 7.35 (t, J = 7.8 Hz, 1H, H-6), 7.44 (d, J = 7.9 Hz, 1H, H-5), 7.46 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H-3), 7.57 (d, J = 7.8 Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 10.45 (CH_2 - $1'$), 13.59 (CH_3), 27.33 (CH_2 - $3'$), 29.10 (CH_2 - $2'$), 55.91 (CH_2OCH_3), 57.64 (OCH_3), 100.74 (OCH_2O), 105.93 (C-7), 119.50 (C-8a), 121.08 (C-5), 124.11 (C-4), 125.71 (C-6), 132.94 (C-2), 133.78 (C-3), 137.99 (C-4a), 155.03 (C-8), 156.87 (C-1).

MS (70 eV); m/z (%): 507 (9) $[\text{M-H}]^+$, 451 (100) $[\text{M-C}_4\text{H}_9]^+$, 291 (40) $[\text{M-3C}_4\text{H}_9\text{-CH}_2\text{OCH}_3\text{-H}]$, 235 (41), 179 (68), 45 (97) $[\text{CH}_2\text{OCH}_3]^+$.

HRMS (70 eV); $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{O}_3\text{Sn}^{120}$: ber. 451.1295; gef. 451.1295 $[\text{M-C}_4\text{H}_9]^+$.

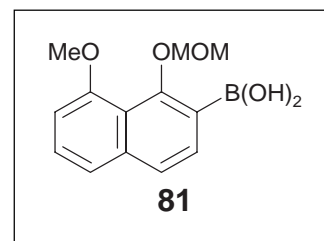
5.1.11 1-(Methoxymethoxy)-8-methoxy-2-naphthalin-boronsäure (**81**)

20 mg (91.6 μmol) **78** wurden in 0.2 ml abs. THF gelöst und auf -15°C gekühlt. Danach gab man 55.0 μl (2.5 M, 138 μmol) *n*-BuLi und 10.6 mg (91.6 μmol) TMEDA hinzu, rührte für eine Stunde und kühlte dann auf -78°C . Zu der Mischung fügte man 20.0 mg (138 μmol) Borsäuretriethylester hinzu und ließ dann auf RT kommen. Nach Abbruch der Reaktion durch Zugabe einiger Tropfen MeOH reinigte man die Reaktionsmischung direkt über PSC (2 mm, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{PE}$ 1:1) auf und erhielt eine leicht bräunlichen, amorphen Feststoff.

Ausb. 19.2 mg (73.3 μmol , 80 %).

IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ = 3015 cm^{-1} , 2976, 2941, 1608, 1599, 1479, 1340, 1279, 1000, 858, 713.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 3.46 (s, 3H, CH_2OCH_3), 3.91 (s, 3H, OCH_3), 5.00 (s, 2H, OCH_2O), 6.08 (s, 2H, B(OH)_2), 6.90 (dd, J = 7.1 Hz, J = 1.5 Hz, 1H, 7-H), 7.32 (t, J = 8.1 Hz, J = 7.3 Hz, 1H, 6-H), 7.47 (dd, J = 8.1 Hz, J = 1.5 Hz, 1H, 5-H), 7.62 (d, J = 8.2 Hz, 1H, 3-H), 7.84 (d, J = 8.2 Hz, 1H, 4-H).



$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 56.02 (OCH_3), 58.12 (CH_2OCH_3), 102.03 (OCH_2O), 106.13 (C-7), 118.84 (C-8a), 121.87 (C-5), 123.81 (C-2), 123.97 (C-4), 124.49 (C-6), 132.14 (C-3), 139.88 (C-4a), 155.91 (C-8), 159.81 (C-1).

MS (70 eV); m/z (%): 262/261 $[\text{M}]^+$ (49/11), 232/231 $[\text{M-2CH}_3]^+$ (19/7), 200 (100), 45 $[\text{CH}_2\text{OCH}_3]^+$ (56).

C ₁₃ H ₁₅ BO ₅ (262.07)	Ber.	C 59.58	H 5.77
		C 59.14	H 5.69

5.2 Versuchte Kupplung zu (1*R*,3*R*)-*N*-Benzyl-7-[5'-methoxy-4'-(methoxymethoxy)-3'-naphthyl]-8-(methoxymethoxy)-1,3-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (**82**)

5.2.1 Versuchte Suzuki-Kupplung zu **82**

Zu 20.0 mg (71.7 μmol) **81** und 27.9 mg (71.7 μmol) **50**^[172] in 0.5 ml i. Vak. entgastem DME/H₂O (9:1) gab man 33.9 mg (108 μmol) Bariumhydroxid und 5.00 mg (4.32 μmol) Tetrakis-(triphenylphosphan)-palladium(0). Die Mischung wurde 5 h lang in einem vorgeheiztem Ölbad auf 60 °C erhitzt. Hierbei wurde neben Zersetzung nur die Bildung des Hydrodeboronierungsproduktes **78** beobachtet. Die Reaktion wurde ebenfalls in höherer Verdünnung (5 ml Lösungsmittel) sowie bei höherer Temperatur (80-90 °C) und den Lösungsmittelsystemen DME/H₂O (3:1) und Toluol/EtOH/H₂O (25:25:10) mit demselben Ergebnis durchgeführt.

5.2.2 Versuchte Stille-Kupplung zu **82**

Ein Gemisch von 20 mg (51.2 μmol) des Bromisochinolins **50**^[172] sowie die anderen in Tab. 18 (Seite 162) gegebenen Reagenzien wurden bei 40 °C i. Vak. für 30 min getrocknet und nach Zugabe des i. Vak. entgasten Lösungsmittels in dem vorgeheiztem Ölbad unter Stickstoff erhitzt. Bei dieser Temperatur gab man die Hälfte einer Lösung von 31.2 mg (61.4 μmol) des Stannans **80** in den entsprechenden Lösungsmittel hinzu, nach weiteren 30 min die zweite Hälfte. In allen Fällen wurde neben dem Hydrodestannylierungsprodukt **78** lediglich die Bildung eines Startflecks beobachtet.

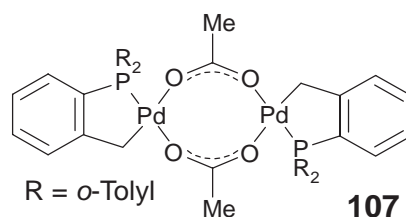
Tab. 18. Angewandte Reaktionsbedingungen bei der Stille-Kupplung

PPh ₃	LiCl ^a	CuBr	Katalysator	Lösungsmittel	Temp.
8.06 mg (30.7 μmol)	18 mg (422 μmol)	661 μg (4.60 μmol)	9 mol% Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂	DMF	135 °C
8.06 mg (30.7 μmol)	18 mg (422 μmol)	661 μg (4.60 μmol)	9 mol% Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂	DMSO	150 °C
8.06 mg (30.7 μmol)	18 mg (422 μmol)	661 μg (4.60 μmol)	9 mol% Pd(PPh ₃) ₄	DMF	135 °C
8.06 mg (30.7 μmol)	18 mg (422 μmol)	661 μg (4.60 μmol)	9 mol% Pd(PPh ₃) ₄	DMSO	170 °C
— ^b	18 mg (422 μmol)	— ^b	9 mol% 107 ^c	DMA	140 °C
— ^b	18 mg (422 μmol)	— ^b	9 mol% 107 ^c	DMSO	170 °C

^a Hierbei wurde trockene, in Ampullen abgepackte Substanz der Fa. *Aldrich* verwendet;

^b Nicht eingesetzt;

^c Hierbei wurde der von Beller und Herrmann beschriebene^[173] binäre Palladium-Katalysator **107** verwendet.



6 HPLC-Analytik von Isoshinanolon

6.1 Chirale HPLC-Analytik

Enantiomerenreines Isoshinanolon (**26**) erhielt man wie früher beschrieben^[102,193] durch Isolation aus *D. thollonii*. Die partialsynthetische Herstellung der Isomere gemische erfolgte ebenfalls analog Lit.^[102,193] Die analytische Trennung der vier möglichen stereoisomeren Formen von Isoshinanolon (**26**) gelang mit System 3 auf Phase 3a (*n*-Hex/*i*-PrOH 98:2 bzw. bei geringerem Fluss von 0.5 ml min⁻¹ mit *n*-Hex/*i*-PrOH 96:4).

6.2 HPLC-CD-Kopplung

Mit Hilfe der „chiralen HPLC-Trennung“ und der HPLC-CD-Kopplung (Detektor: J-715, Detektionswellenlänge: 260 nm) erhielt man CD-Spektren von allen vier Stereoisomeren.

cis-3*R*,4*R*-Isoshinanolon (**26a**):

CD ($t_R = 33.0$ min, *n*-Hex/*i*-PrOH): $\Phi_{214} -15.9$, $\Phi_{231} +2.3$, $\Phi_{237} +0.7$, $\Phi_{255} +5.9$, $\Phi_{333} +1.6$.

cis-3*S*,4*S*-Isoshinanolon (*ent*-**26a**):

CD ($t_R = 28.5$ min, *n*-Hex/*i*-PrOH): $\Phi_{213} +17.2$, $\Phi_{234} 0.0$, $\Phi_{255} -4.3$, $\Phi_{333} -0.1$.

trans-3*R*,4*S*-Isoshinanolon (**26b**):

CD ($t_R = 35.7$ min, *n*-Hex/*i*-PrOH): $\Phi_{212} +18.9$, $\Phi_{231} -1.7$, $\Phi_{236} -0.8$, $\Phi_{257} -7.5$, $\Phi_{333} +1.2$.

trans-3*R*,4*S*-Isoshinanolon (**26b**):

CD ($t_R = 37.4$ min, *n*-Hex/*i*-PrOH): $\Phi_{213} -19.0$, $\Phi_{230} +4.3$, $\Phi_{236} +2.0$, $\Phi_{257} +9.0$, $\Phi_{331} -0.9$.

Die Verschiebung der Retentionszeiten der vier Isomere (vgl. Abb. 45, Seite 76 und Abb. 46, Seite 77), trotz identischer chromatographischer Bedingungen ($t_R = 33.4$ min \rightarrow $t_R = 28.5$ min, $t_R = 40.1$ min \rightarrow $t_R = 33.0$ min, $t_R = 48.0$ min \rightarrow $t_R = 35.7$ min, $t_R = 50.5$ min \rightarrow $t_R = 37.4$ min), rührt von unterschiedlichen Batches des verwendeten Säulenmaterials her. Die Richtigkeit der Zuordnung wurde auf beiden Phasen durch Koelution bestätigt.

Die „achirale Analytik“ (Detektionswellenlänge: 260 nm) erfolgte an Phase 2b (MeCN/H₂O 0 min 20:80, 7 min 50:50, 15 min 80:20; 0.8 ml min⁻¹).

Die Ortsparameter der Röntgenbeugungsanalyse von racemischem *trans*-Isoshinanolon finden sich im Anhang.

7 HPLC-CD-Kopplung in der Naturstoffanalytik

7.1 Untersuchung von Extrakten von *T. peltatum*

Bei der HPLC-CD-Detektion (CD-995, Scanmodus Slow, Detektionswellenlänge 266 oder 302 nm) wurden folgende chromatographischen Bedingungen genutzt: Phase 2b, MeCN/H₂O 0 min 5:95, 30 min 80:20.

7.2 Untersuchung von TaClo (**90**)

Die HPLC-CD-Kopplung wurde mit dem Spektropolarimeter J-715 realisiert. Für die chirale normal-phase-Trennung von TaClo (**90**) und seinem *N*-Methyl-Derivat (**95**) verwendete man Phase 3a, *n*-Hex/*i*-PrOH 60:40, 0.5 ml min⁻¹ bei einer Detektionswellenlänge von 235 nm. Die chirale reversed-phase-Trennung von **90** erfolgte auf Phase 3b, MeCN/H₂O/TFA 50:50:0.1, 0.2 ml min⁻¹ bei 238 nm.

R-TaClo (*R*-**90**):

CD (Chiralcel OD-H, *t_R* = 21.4 min, *n*-Hex/*i*-PrOH): $\Phi_{210} -1.2$, $\Phi_{221} +1.7$, $\Phi_{240} -5.2$, $\Phi_{274} +1.7$, $\Phi_{306} +0.5$.

CD (Chiralcel OD-R, *t_R* = 21.7 min, MeCN/H₂O/TFA): $\Phi_{216} +1.8$, $\Phi_{235} -12.5$, $\Phi_{272} +3.0$, $\Phi_{306} +0.2$.

S-TaClo (*S*-**90**):

CD (Chiralcel OD-H, *t_R* = 37.9 min, *n*-Hex/*i*-PrOH): $\Phi_{210} +0.9$, $\Phi_{220} -1.8$, $\Phi_{239} +5.0$, $\Phi_{275} -1.7$, $\Phi_{306} -0.6$.

CD (Chiralcel OD-R, *t_R* = 23.3 min, MeCN/H₂O/TFA): $\Phi_{216} +2.4$, $\Phi_{233} +11.7$, $\Phi_{272} -3.0$, $\Phi_{308} -0.5$.

R-*N*-Methyl-TaClo (*R*-**95**):

CD (Chiralcel OD-H, *t_R* = 10.4 min, *n*-Hex/*i*-PrOH): $\Phi_{205} +1.5$, $\Phi_{215} -2.9$, $\Phi_{223} -1.3$, $\Phi_{237} -6.8$, $\Phi_{270} +1.2$, $\Phi_{292} 0.0$, $\Phi_{303} +0.7$.

CD (EtOH): $\Delta\epsilon_{201} +0.5$, $\Delta\epsilon_{215} -1.5$, $\Delta\epsilon_{223} -1.0$, $\Delta\epsilon_{236} -3.0$, $\Delta\epsilon_{271} +0.5$, $\Delta\epsilon_{293} -0.1$, $\Delta\epsilon_{303} +0.1$.

S-*N*-Methyl-TaClo (*S*-**95**):

CD (Chiralcel OD-H, *t_R* = 13.6 min, *n*-Hex/*i*-PrOH): $\Phi_{205} -1.7$, $\Phi_{216} +2.7$, $\Phi_{223} +1.5$, $\Phi_{237} 6.7$, $\Phi_{269} -1.0$, $\Phi_{293} +0.7$, $\Phi_{303} -0.3$.

CD (EtOH): $\Delta\epsilon_{200} -0.5$, $\Delta\epsilon_{215} +1.5$, $\Delta\epsilon_{225} +1.1$, $\Delta\epsilon_{237} +2.8$, $\Delta\epsilon_{273} -0.5$, $\Delta\epsilon_{293} +0.2$, $\Delta\epsilon_{303} -0.2$.

7.3 Untersuchung von Murrastifolin-F (97) und Derivaten

Die HPLC-CD-Kopplung wurde mit dem Spektropolarimeter J-715 durchgeführt. Die „chiralen Trennungen“ erfolgten an Phase 3a unter den jeweils genannten Bedingungen, die „achirale Trennung“ an Phase 2b.

7.3.1 Murrastifolin-F (97)

Chromatographie: *n*-Hex/*i*-PrOH 95:5; 0.8 ml min⁻¹; 254 nm.

CD schnelleres Isomer (*t_R* = 18.1 min, *n*-Hex/*i*-PrOH): $\Phi_{212} +1.9$, $\Phi_{223} -3.0$, $\Phi_{234} +2.7$, $\Phi_{256} -2.6$, $\Phi_{285} +0.3$, $\Phi_{294} -0.5$.

CD langsames Isomer (*t_R* = 18.6 min, *n*-Hex/*i*-PrOH): $\Phi_{212} -1.3$, $\Phi_{217} +6.8$, $\Phi_{224} +2.3$, $\Phi_{234} -2.4$, $\Phi_{256} +2.1$, $\Phi_{281} -0.3$, $\Phi_{296} +0.7$.

Durch den Vergleich mit von J. Kraus berechneten^[233] Spektren konnte in Übereinstimmung mit Spektren von enantiomerenreinem Material dem schnelleren Isomer die *P*-Konfiguration zugeordnet werden.

Die Bestimmung des natürlichen Enantiomerenverhältnisses von Murrastifolin-F (97) in *Murraya koenigii* erfolgte über Flächenfaktoren (F). Es wurden drei Verhältnisse auf der achiralen und ein Verhältnis auf der chiralen Säule bestimmt. Auswertung der CD-Spur: *M*-Isomer überwiegt:

$$\frac{CD_{Standard}}{UV_{Standard}} = S \qquad \frac{CD_{Extrakt}}{UV_{Extrakt}} = E \qquad \frac{E}{S} \cdot 100 = ee \qquad (\text{Gl. 10, Gl. 11, Gl. 12})$$

achiral: H₂O/MeCN/TFA 0 min 40:60:0.01, 10 min 20:80:0.01, 30 min 100:0:0.01; 1.2 ml min⁻¹; 254 nm; *t_R* = 17.2 min.

Standard: F = 0.33556; Extrakt: F = 0.05008, 0.03811, 0.03426; ee [%]: 14.9, 11.4, 10.2; dr = 42.5:57.5, 44.3:55.7, 44.9:55.1.

chiral: *n*-Hex/*i*-PrOH 95:5; 0.8 ml min⁻¹; 254 nm; *t_R* = 18.2 min und *t_R* = 18.6 min.

Standard: F = 0.27328; Extrakt: F = 0.04368; ee [%]: 16.0; dr = 42:58.

7.3.2 Bis-*O*-desmethyilmurrastifolin-F (98) [1-Hydroxy-4-(1'-hydroxy-3'-methyl-9'H-carbazol-9'-yl)-3-methyl-9H-carbazol]

Chromatographie: *n*-Hex/*i*-PrOH 80:20; 0.8 ml min⁻¹; 254 nm.

CD schnelleres Isomer (*t_R* = 14.8 min, *n*-Hex/*i*-PrOH): $\Phi_{204} -1.4$, $\Phi_{210} +2.1$, $\Phi_{223} -3.9$, $\Phi_{235} +6.8$, $\Phi_{255} -5.0$, $\Phi_{298} -1.1$.

CD langsames Isomer ($t_R = 17.1$ min, *n*-Hex/*i*-PrOH): $\Phi_{207} +0.4$, $\Phi_{213} -0.7$, $\Phi_{222} +2.9$, $\Phi_{236} -4.8$, $\Phi_{255} +5.8$, $\Phi_{295} +1.0$.

Enantiomerenverhältnis: 50:50.

Stand-alone-Spektren der beiden Enantiomere:^[292]

P-1-Hydroxy-4-(1'-hydroxy-3'-methyl-9'H-carbazol-9'-yl)-3-methyl-9H-carbazol (*P*-**98**):

CD (EtOH): $\Delta\epsilon_{204} -4.1$, $\Delta\epsilon_{212} +6.0$, $\Delta\epsilon_{222} -19.7$, $\Delta\epsilon_{236} +25.3$, $\Delta\epsilon_{255} -21.9$, $\Delta\epsilon_{296} -5.3$.

M-1-Hydroxy-4-(1'-hydroxy-3'-methyl-9'H-carbazol-9'-yl)-3-methyl-9H-carbazol (*M*-**98**):

CD (EtOH): $\Delta\epsilon_{200} +5.2$, $\Delta\epsilon_{210} -2.4$, $\Delta\epsilon_{222} +17.2$, $\Delta\epsilon_{237} -27.0$, $\Delta\epsilon_{256} +19.0$, $\Delta\epsilon_{295} +3.4$.

7.3.3 *1*-Hydroxy-4-{9'-[1'-((2''S)-methoxy(trifluormethyl)-phenylacetoxy)-3'-methyl-9H-carbazolyl]}-3-methyl-9H-carbazol (**99**)

Chromatographie: *n*-Hex/*i*-PrOH 90:10; 0.6 ml min⁻¹; 254 nm.

Die Zuordnung der absoluten Achsenkonfigurationen erfolgte durch Vergleich mit anderen Verbindungen und der CD-Spektren.^[293]

CD schnelleres Isomer ($t_R = 20.9$ min, *n*-Hex/*i*-PrOH, dr = 97:3, *M*-**99**): $\Phi_{210} +11.9$, $\Phi_{230} +5.7$, $\Phi_{250} +1.2$, $\Phi_{261} -3.9$, $\Phi_{293} -1.9$.

CD langsames Isomer ($t_R = 23.5$ min, *n*-Hex/*i*-PrOH, dr = 28:72, *P*-**99**): $\Phi_{220} +4.2$, $\Phi_{236} -0.7$, $\Phi_{245} +1.1$, $\Phi_{261} +3.5$, $\Phi_{292} +3.9$.

7.3.4 [4-(1'-hydroxy-3'-methyl-9'H-carbazol-9'-yl)-3-methyl-9H-carbazol-1-yl]-camphersulfonat (**100**)

Chromatographie: *n*-Hex/*i*-PrOH 80:20; 0.8 ml min⁻¹; 254 nm.

CD schnelleres Isomer ($t_R = 18.2$ min, *n*-Hex/*i*-PrOH): $\Phi_{211} +4.7$, $\Phi_{223} -15.0$, $\Phi_{235} +16.2$, $\Phi_{257} -11.4$, $\Phi_{295} -1.8$.

CD langsames Isomer ($t_R = 22.9$ min, *n*-Hex/*i*-PrOH): $\Phi_{210} -3.7$, $\Phi_{223} +17.1$, $\Phi_{236} -16.7$, $\Phi_{258} +11.4$, $\Phi_{291} +2.0$.

7.3.5 *rac*-unlike-1'-Methoxy-9'-(1-methoxy-3-methyl-9H-carbazol-4-yl)-4'-(1''-methoxy-3''-methyl-9''H-carbazol-9-yl)-3'-methyl-9'H-carbazol (*rac*-u-**101**)

Chromatographie: *n*-Hex/*i*-PrOH 95:5; 0.7 ml min⁻¹; 254 nm.

CD schnelleres Isomer ($t_R = 29.4$ min, *n*-Hex/*i*-PrOH): $\Phi_{220} -4.9$, $\Phi_{237} +8.8$, $\Phi_{349} +1.5$.

CD langsames Isomer ($t_R = 45.1$ min, *n*-Hex/*i*-PrOH): $\Phi_{223} +4.6$, $\Phi_{236} -8.4$, $\Phi_{350} -1.3$.

Enantiomerenverhältnis: 50:50.

7.4 Untersuchung von Cyclorocaglamid (103)

Die Trennung des Reaktionsgemisches der Rocaglamid AE-Cyclisierung zu Cyclorocaglamid erfolgte an Phase 2a (MeCN/H₂O/TFA 50:50:0.1, 1 ml min⁻¹, 220 nm). Die Spektren des natürlichen, isolierten Cyclorocaglamids wurden unter identischen chromatographischen Bedingungen gemessen, die Identität der beiden Substanzen wurde durch Koelution bestätigt.

Cyclorocaglamid (**103**) (natürlich):

CD ($t_R = 13.3$ min, MeCN/H₂O/TFA): $\Phi_{201} -44.4$, $\Phi_{219} +47.3$, $\Phi_{230} +21.8$, $\Phi_{242} +14.8$, $\Phi_{274} +0.2$, $\Phi_{295} +2.0$.

Cyclorocaglamid (**103**) (partialsynthetisch):

CD ($t_R = 13.3$ min, MeCN/H₂O/TFA): $\Phi_{200} -16.6$, $\Phi_{219} +16.8$, $\Phi_{239} +5.0$, $\Phi_{241} +5.1$, $\Phi_{273} 0.0$, $\Phi_{293} +1.3$.

7.5 Untersuchung von Thalidomid (104) und seinen Metaboliten

Die Enantiomeren von Thalidomid (**104**) und den Metaboliten 5'-Hydroxythalidomid (**106**) und 5-Hydroxythalidomid (**105**) wurden an Phase 3c mit MeOH als Eluenten bei einer Detektionswellenlänge von 255 nm getrennt.

R-Thalidomid (*R*-**104**):

CD ($t_R = 33.1$ min, MeOH): $\Phi_{205} -5.6$, $\Phi_{215} +5.0$, $\Phi_{233} -3.6$, $\Phi_{253} +1.7$, $\Phi_{283} -1.0$, $\Phi_{296} -0.3$, $\Phi_{339} -0.8$.

S-Thalidomid (*S*-**104**):

CD ($t_R = 12.9$ min, MeOH): $\Phi_{205} +4.8$, $\Phi_{217} -5.9$, $\Phi_{234} +3.1$, $\Phi_{253} -3.0$, $\Phi_{339} +1.0$.

cis-3'*R*,5'*S*-Hydroxythalidomid (3'*R*,5'*S*-**106**):

CD ($t_R = 10.0$ min, MeOH): $\Phi_{205} -11.6$, $\Phi_{224} -0.4$, $\Phi_{251} +5.2$.

Die Zuordnung der absoluten Konfiguration erfolgte durch Vergleich von experimentellen und von J. Mühlbacher quantenchemisch berechneten CD-Spektren.^[113]

cis-3'*S*,5'*R*-Hydroxythalidomid (3'*S*,5'*R*-**106**):

CD ($t_R = 14.5$ min, MeOH): $\Phi_{205} +12.3$, $\Phi_{224} +1.6$, $\Phi_{253} -4.0$.

Die Zuordnung der absoluten Konfiguration erfolgte durch Vergleich von experimentellen und von J. Mühlbacher quantenchemisch berechneten CD-Spektren.^[113]

3*R*-5-Hydroxythalidomid (***R*-105**):

CD ($t_R = 12.4$ min, MeOH): $\Phi_{209} -5.4$, $\Phi_{222} -1.5$, $\Phi_{231} -1.9$, $\Phi_{254} +6.4$.

Die Zuordnung der absoluten Konfiguration erfolgte durch Vergleich von experimentellen und quantenchemisch berechneten CD-Spektren.^[113]

3*S*-5-Hydroxythalidomid (***S*-105**):

CD langsames Isomer ($t_R = 15.4$ min, MeOH): $\Phi_{209} +5.0$, $\Phi_{222} +2.0$, $\Phi_{232} +2.9$, $\Phi_{254} -4.6$.

Die Zuordnung der absoluten Konfiguration erfolgte durch Vergleich von experimentellen und quantenchemisch berechneten CD-Spektren.^[113]

8 Anhang

8.1 Struktur- und Ortsparameter der Röntgenbeugungsanalyse von 26b

Kristallographischer Abschnitt

Summenformel:	$C_{11}H_{12}O_3$
Molekulargewicht:	192.21
a [pm]:	915.96(4)
b [pm]:	1191.38(6)
c [pm]:	1763.47(8)
β [Grad]:	101.611(10)
V [pm ³]:	$1885.2(15) \times 10^6$
Z:	8
d (ber.) [g·cm ⁻³]:	1.355
Kristallsystem:	monoklin
Raumgruppe:	P2 ₁ /n

Datenaufnahme

Diffraktometer:	Bruker Smart Apex mit D8-Goniometer
Strahlung:	Mo K α
Monochromator	Graphit
Kristallgröße [mm]:	0.5 x 0.4 x 0.2
Datenaufnahmemodus:	Ω -scan
Θ -Bereich [Grad]:	0.997-26.39
Reziproke Gitterkonstante:	$h = -11 \rightarrow 11$ $k = -14 \rightarrow 14$ $l = -22 \rightarrow 22$
Zahl der gemessenen Reflexe:	14880
davon symmetrieunabhängig:	3859
beob. Reflexe $F > 2\sigma(F)$:	2944
Lin. Abs. Koeff. [mm ⁻¹]:	0.098
Abs. Korrektur:	SADDABS2(empirisch)

Strukturanalyse und Verfeinerung

Verhältnis Parameter/ F_0 :	14.40
R, R _{w2} :	0.0492, 0.1247
Größter Differenzpeak:	0.36 eÅ ⁻³
Größte Differenzlücke:	0.28 eÅ ⁻³
verwendetes Programm:	SHELXL-97

Ortsparameter [$\times 10^{-4}$] und isotrope Temperaturkoeffizienten $U(\text{eq})$ [$\text{pm}^2 \times 10^{-1}$]

	x	y	z	$U(\text{eq})$
C1	6476(2)	1373(1)	694(1)	23(1)
C2	6197(2)	1020(2)	1482(1)	27(1)
C3	6256(2)	2069(2)	1988(1)	34(1)
C4	5203(2)	2972(2)	1638(1)	31(1)
C5	4845(2)	3071(1)	790(1)	25(1)
C10	5446(2)	2306(1)	323(1)	23(1)
C9	5093(2)	2421(2)	-472(1)	28(1)
C8	4164(1)	3291(2)	-805(1)	32(1)
C7	3564(2)	4044(2)	-361(1)	31(1)
C6	3894(2)	3934(1)	438(1)	28(1)
C11	7318(2)	146(2)	1865(1)	35(1)
C12	1141(2)	1697(1)	139(1)	23(1)
C13	-205(2)	2351(2)	-275(1)	29(1)
C14	-247(2)	3493(2)	107(1)	32(1)
C15	-127(2)	3457(1)	965(1)	28(1)
C16	640(2)	2507(1)	1394(1)	24(1)
C17	762(2)	2439(2)	2204(1)	28(1)
C18	1443(2)	1519(2)	2612(1)	32(1)
C19	2029(2)	685(2)	2222(1)	32(1)
C20	1939(2)	738(1)	1427(1)	27(1)
C21	1244(2)	1637(1)	1007(1)	22(1)
C22	-175 (2)	2479(2)	-1132(1)	44(1)
O2	4670(2)	3622(1)	2053(1)	45(1)
O1	6354(1)	452(1)	171(1)	32(1)
O3	3267(2)	4664(1)	866(1)	37(1)
O4	1106(2)	599(1)	-190(1)	34(1)
O5	-681(2)	4217(1)	1296(1)	41(1)
O6	207(2)	3244(1)	2603(1)	40(1)

Die isotropen Temp.-Koeffizienten U sind definiert als ein Drittel der Spur des orthogonalisierten U_{ij} -Tensors.

LITERATUR UND ANMERKUNGEN

- [1] M.L. Cohen, *Nature* **2000**, 762-767.
- [2] K.C. Nicolaou, C.N.C. Boddy, S. Bräse, N. Winssinger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *15*, 2096-2152. *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2230-2287.
- [3] M. Backmund, M. von Zilonka, W.J. Hartmann, J. Hesse, D. Eichenlaub, *Fortschr. Med.* **1999**, *117*, 20-23.
- [4] M.H. McCormick, W.M. Stark, G.E. Pittenger, R.C. Pittenger, J.M. McGuire, *Antibiot. Annu.* **1955-1956**, 606-611.
- [5] G.M. Cragg, D.J. Newman, K.M. Snader, *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 52-60.
- [6] A. Harvey, *Drug Discovery Today* **2000**, *5*, 294-300.
- [7] E. Breitmaier, *Alkaloide*, Teubner, Stuttgart, **1997**.
- [8] W. Steglich, B. Fugmann, S. Lang-Fugmann, *Römpp Lexikon Naturstoffe*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **1997**.
- [9] G. Bringmann, F. Pokorny in *The Alkaloids* (Hrsg.: G.A. Cordell), Academic Press, New York, **1995**, Bd. 46, S. 127-271.
- [10] G. Bringmann, G. François, L. Aké Assi, J. Schlauer, *Chimia* **1998**, *52*, 18-28.
- [11] G. Bringmann, C. Günther, M. Ochse, O. Schupp, S. Tasler in *Progr. Chem. Org. Nat. Prod.* (Hrsg.: W. Herz, H. Falk, G.W. Kirby, R.E. Moore, C. Tamm), Springer, **2001**, Bd. 82.
- [12] G. Bringmann, M. Wohlfarth, H. Rischer, J. Schlauer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1464-1466. *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1523-1525.
- [13] H. Meimberg, P. Dittrich, G. Bringmann, J. Schlauer, G. Heubl, *Plant Biol.* **2000**, *2*, 218-228.
- [14] Exakt handelt es sich hierbei um ein Tetrahydroisochinolin, welches jedoch im folgenden nur als Isochinolin bezeichnet werden soll.
- [15] T.R. Govindachari, P.C. Parthasarathy, *Indian J. Chem.* **1970**, *8*, 567-569.
- [16] T.R. Govindachari, P.C. Parthasarathy, *Tetrahedron* **1971**, *27*, 1013-1026.
- [17] G. Bringmann, J. Holenz, L. Aké Assi, C. Zhao, K. Hostettmann, *Planta Med.* **1996**, *62*, 556-557.
- [18] G. Bringmann, J. Holenz, B. Wiesen, B.W. Nugroho, P. Proksch, *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 342-347.

- [19] G. Bringmann, M. Rübenacker, E. Ammermann, G. Lorenz, L. Aké Assi, Deutsches Patent D.O.S. DE 41 17 080 A 1, Offenlegung 26.11.92; Europäisches Patent EP 0515 856 A1, Offenlegung 02.12.1992.
- [20] G. François, G. Bringmann, J.D. Phillipson, L. Aké Assi, C. Dochez, M. Rübenacker, C. Schneider, M. Wéry, D.C. Warhurst, G.C. Kirby, *Phytochemistry* **1994**, *35*, 1461-1464.
- [21] G. François, G. Timperman, J. Holenz, L. Aké Assi, T. Geuder, L. Maes, J. Dubois, M. Hanocq, G. Bringmann, *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **1996**, *90*, 115-123.
- [22] G. François, G. Timperman, W. Eling, L. Aké Assi, J. Holenz, G. Bringmann, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1997**, *41*, 2533-2539.
- [23] M.R. Boyd, Y.F. Hallock, J.H. Cardellina II, K.P. Manfredi, J.W. Blunt, J.B. McMahon, R.W. Buckheit Jr., G. Bringmann, M. Schäffer, G.M. Cragg, D.W. Thomas, J.G. Jato, *J. Med. Chem.* **1994**, 1740-1745.
- [24] Y.F. Hallock, K.P. Manfredi, J.-R. Dai, J.H. Cardellina II, R.J. Gulakowski, J.B. McMahon, M. Schäffer, M. Stahl, K.-P. Gulden, G. Bringmann, G. François, M.R. Boyd, *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 677-683.
- [25] Y.F. Hallock, J.H. Cardellina II, M. Schäffer, G. Bringmann, G. François, M.R. Boyd, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 1729-1734.
- [26] T.R. Hoye, M. Chen, L. Mi, O.P. Priest, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 8747-8750.
- [27] G. Bringmann, W. Saeb, D. Koppler, G. François, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 13409-13418.
- [28] G. Bringmann, R. Götz, G. François, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 13419-13426.
- [29] P.D. Hobbs, V. Upender, J. Liu, D.J. Pollart, D.W. Thomas, M.I. Dawson, *Chem. Soc., Chem. Commun.* **1996**, 923-924.
- [30] V. Upender, D.J. Pollart, J. Liu, P.D. Hobbs, C. Olsen, W.-r. Chao, B. Bowden, J.L. Crase, D.W. Thomas, A. Pandey, J.A. Lawson, M.I. Dawson, *J. Heterocyclic Chem.* **1996**, *33*, 1371-1384.
- [31] P.D. Hobbs, V. Upender, M.I. Dawson, *Synlett* **1997**, 965-967.
- [32] H. Zhang, D.E. Zembower, Z. Chen, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 2687-2690.
- [33] G. Bringmann, J. Holenz, R. Weirich, M. Rübenacker, C. Funke, M.R. Boyd, R.J. Gulakowski, G. François, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 497-512.
- [34] G. Bringmann, M. Wenzel, T.R. Kelly, M.R. Boyd, R.J. Gulakowski, R. Kaminsky, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 1731-1740.
- [35] C.B. de Koning, J.P.M. van Otterlo, W.A.L. van Otterlo, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 3037-3040.
- [36] T.R. Hoye, M. Chen, B. Hoang, L. Mi, O.P. Priest, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 7184-7201.

- [37] G. Bringmann, W. Saeb, J. Kraus, R. Brun, G. François, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 3523-3531.
- [38] G. Bringmann, W. Saeb, J. Mies, K. Messer, M. Wohlfarth, R. Brun, *Synthesis* **2000**, 1843-1847.
- [39] C.B. de Koning, J.P. Michael, W.A.L. van Otterlo, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 799-811.
- [40] M. J. Balick, P. A. Cox, *Drogen, Kräuter und Kulturen*, Spektrum Akademischer Verlag, Berlin, Heidelberg, Oxford, **1997**.
- [41] R.E. Geran, *Novon* **1997**, *7*, 242-245.
- [42] M. Cheek, C. Frimondt-Møller, V. Hørlyck, *Kew Bull.* **2000**, *55*, 207-212.
- [43] M. Cheek, *Kew Bull.* **2000**, *55*, 871-882.
- [44] J. Léonard, *Bull. Soc. Roy. Bot. Belg.* **1949**, *82*, 27-40.
- [45] J.P. Foucher, J.L. Pousset, A. Cavé, A. Bouquet, R. Paris, *Plantes méd. et Phytothér.* **1975**, *9*, 87-98.
- [46] Die mit „“ apostrophierten Strukturen sind unvollständig, unzureichend hergeleitet, und zum Teil sogar offensichtlich falsch.
- [47] T.R. Govindachari, K. Nagarajan, P.C. Parthasarathy, T.G. Rajagopalan, H.K. Desai, G. Kartha, S.-m. Lai Chen, K. Nakanishi, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1974**, 1413-1417.
- [48] HSCCC steht als Kurzform für das englische High-Speed Countercurrent Chromatography.
- [49] Y. Ito, W. D. Conway, *High-Speed Countercurrent Chromatography*, John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, **1996**.
- [50] Y.F. Hallock, K.P. Manfredi, J.W. Blunt, J.H. Cardellina II, M. Schäffer, K.-P. Gulden, G. Bringmann, A.Y. Lee, J. Clardy, G. François, M.R. Boyd, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 6349-6355.
- [51] G. Bringmann, M. Ochse, R. Götz, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 2069-2077.
- [52] G. Bringmann, R. God, M. Schäffer, *Phytochemistry* **1996**, *43*, 1393-1403.
- [53] G. Bringmann, T. Geuder, M. Rübenacker, R. Zagst, *Phytochemistry* **1991**, *30*, 2067-2070.
- [54] Ich danke Frau M. Michel (geb. Schäffer) für die Durchführung des oxidativen Abbaus.
- [55] G. Bringmann, S. Busemann in *Natural Product Analysis* (Hrsg.: P. Schreier, M. Herderich, H.-U. Humpf, W. Schwab), Friedr. Vieweg & Sohn Verlagsgesellschaft mbH, Braunschweig, Wiesbaden, **1998**, S. 195-212.

- [56] G. Bringmann, M. Rückert, J. Schlauer, M. Herderich, *J. Chromatogr. A* **1998**, *810*, 231-236.
- [57] G. Bringmann, C. Günther, W. Saeb, J. Mies, A. Wickramasinghe, V. Mudogo, R. Brun, *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 1333-1337.
- [58] D.H. Williams, I. Fleming in *Strukturaufklärung in der organischen Chemie*, 6. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **1991**.
- [59] M. Ochse, *Dissertation*, Verlag Mainz, Wissenschaftsverlag, Aachen, **1999**.
- [60] N.H. Anh, A. Porzel, H. Ripperger, G. Bringmann, M. Schäffer, R. God, T.V. Sung, G. Adam, *Phytochemistry* **1997**, *45*, 1287-1291.
- [61] G. Bringmann, F. Teltschik, M. Michel, S. Busemann, M. Rückert, R. Haller, S. Bär, A. Robertson, R. Kaminsky, *Phytochemistry* **1999**, *52*, 321-332.
- [62] G. Bringmann, H. Reuscher, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 5249-5252.
- [63] F. Teltschik, *Dissertation*, Universität Würzburg, **1999**.
- [64] G. Bringmann, F. Pokorny, M. Stäblein, M. Schäffer, L. Aké Assi, *Phytochemistry* **1993**, *33*, 1511-1515.
- [65] G. Bringmann, C. Schneider, L. Aké Assi, *Planta Med.* **1993**, *59 (Suppl.)*, 620-621.
- [66] Y.F. Hallock, J.H. Cardellina II, M. Schäffer, M. Stahl, G. Bringmann, G. François, M.R. Boyd, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 8121-8128.
- [67] G. Bringmann, M. Stahl, K.-P. Gulden, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 2817-2822.
- [68] G. Bringmann, M. Wohlfarth, H. Rischer, M. Heubes, W. Saeb, S. Diem, M. Herderich, J. Schlauer, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 2571-2577.
- [69] G. Bringmann, F. Pokorny, H. Reuscher, D. Lisch, L. Aké Assi, *Planta Med.* **1990**, *56*, 496-497.
- [70] G. Bringmann, A. Hamm, C. Günther, M. Michel, R. Brun, V. Mudogo, *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 1465-1470.
- [71] Bundesministerium für Forschung und Technologie, *Bundesanzeiger* **1993**, *172*, 8918.
- [72] R.J. Gulakowski, J.B. McMahon, Staley P.G., R.A. Moran, M.R. Boyd, *J. Virol. Methods* **1991**, *33*, 87-100.
- [73] G. Bringmann, D. Feineis, *Act. Chim. Thérapeut.* **2000**, *26*, 151-171.
- [74] G. Bringmann, C. Rummey, persönliche Mitteilung.
- [75] H.K. Airy Shaw, *Kew Bull.* **1951**, 327-347.
- [76] R. Schmid, *Botanisches Jahrb.* **1964**, *83*, 1-56.
- [77] A. Engler, *Syllabus der Pflanzenfamilien*, 12. Aufl., Gebrüder Borntraeger, Berlin-Nikolassee, **1964**, Bd. 2, S. 163-164.

- [78] G. Bringmann, M. Wenzel, H. Bringmann, J. Schlauer, L. Aké Assi, *Der Palmengarten* **1996**, *60*, 32-37.
- [79] G. Bringmann, J. Schlauer, K. Wolf, H. Rischer, U. Buschbom, A. Kreiner, F. Thiele, M. Duschek, L. Aké Assi, *Carniv. Pl. Newslett.* **1999**, *28*, 7-13.
- [80] G. Bringmann, M. Wenzel, H. Bringmann, J. Schlauer, L. Aké Assi, F. Haas, *Carniv. Pl. Newslett.* **2001**, *30*, 15-21.
- [81] J. Bruneton, A. Bouquet, A. Fournet, A. Cavé, *Phytochemistry* **1976**, *15*, 817-818.
- [82] M. Lavault, T. Kouhon, J. Bruneton, *C.R. Séances Acad. Sci., Sér. C* **1977**, *285*, 167-169.
- [83] M. Lavault, J. Bruneton, *C.R. Séances Acad. Sci., Sér. C* **1978**, *287*, 129-131.
- [84] G. Bringmann, M. Rübenacker, J.R. Jansen, D. Scheutzow, L. Aké Assi, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 639-642.
- [85] G. Bringmann, C. Günther, W. Saeb, J. Mies, R. Brun, L. Aké Assi, *Phytochemistry* **2000**, *54*, 337-346.
- [86] G. Bringmann, J.R. Jansen, H. Reuscher, M. Rübenacker, K. Peters, H.G. von Schnering, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 643-646.
- [87] G. Bringmann, M. Rübenacker, T. Geuder, L. Aké Assi, *Phytochemistry* **1991**, *30*, 3845-3847.
- [88] G. Bringmann in *Guidelines and Issue for the Discovery and Drug Development against Tropical Diseases* (Hrsg.: H. Vial, A. Fairlamb, R. Ridley), World Health Organisation, Geneva, **2002**, im Druck.
- [89] G. Bringmann, M. Rübenacker, R. Weirich, L. Aké Assi, *Phytochemistry* **1992**, *31*, 4019-4024.
- [90] Ich danke Frau Apothekerin B. Schwöbel für die Hilfe bei der Isolierung von Habropetalin A.
- [91] G. Bringmann, M. Rübenacker, P. Vogt, H. Busse, L. Aké Assi, K. Peters, H.G. von Schnering, *Phytochemistry* **1991**, *30*, 1691-1696.
- [92] G. Bringmann, W. Saeb, M. Rübenacker, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 423-432.
- [93] Der in der Publikation verwendete Name "5'-O-Methyldioncopeltin A" war ein vorläufiger Arbeitsname. Der endgültige Name lautet "Habropetalin A".
G. Bringmann, K. Messer, M. Wohlfarth, J. Kraus, K. Dumbuya, M. Rückert, *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 2678-2686.
- [94] S.W. Hanson, *Chem. Sierra Leone* **1977**, *4*, 38-40.
- [95] M. Tezuka, C. Takahashi, M. Kuroyanagi, M. Satake, K. Yoshihira, S. Natori, *Phytochemistry* **1973**, *12*, 175-183.

- [96] S.W. Hanson, M. Crawford, D.P.J. Thanasingh, *Phytochemistry* **1981**, *20*, 1162-1164.
- [97] M. Lavault, J. Bruneton, *Planta Med., Suppl.* **1980**, 17-21.
- [98] M. Lavault, *Thèse*, Universität Angers, **1979**.
- [99] G. Bringmann in *The Alkaloids* (Hrsg.: A. Brossi), Academic Press, New York, **1986**, Bd. 29, S. 141-184.
- [100] J. Fleischhauer, A. Koslowski, B. Kramer, E. Zobel, G. Bringmann, K.-P. Gulden, T. Ortmann, B. Peter, *Z. Naturforsch.* **1993**, *48b*, 140-148.
- [101] G. Bringmann, *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1996**, *105*, 601-613.
- [102] K. Messer, *Diplomarbeit*, Universität Würzburg, **1998**.
- [103] R. H. Thomson, *Naturally Occurring Quinones*, 3. Aufl., Chapman and Hall, London, New York, **1987**.
- [104] K. Peters, E.-M. Peters, H.G. von Schnering, G. Bringmann, C. Kehr, R.D. Haller, S. Bär, M.A. Isahakia, S.A. Robertson, *Z. Kristallogr.* **1995**, *210*, 290-291.
- [105] G. Bringmann, K. Messer, K. Wolf, J. Mühlbacher, M. Grüne, R. Brun, A.M. Louis, *Phytochemistry* **2002**, *60*, 389-397.
- [106] G. Bringmann, W. Saeb, R. God, M. Schäffer, G. François, K. Peters, E.-M. Peters, P. Proksch, K. Hostettmann, L. Aké Assi, *Phytochemistry* **1998**, *49*, 1667-1673.
- [107] G. Bringmann, D. Lisch, H. Reuscher, L. Aké Assi, K. Günther, *Phytochemistry* **1991**, *30*, 1307-1310.
- [108] K. Albert, *J. Chromatogr. A* **1999**, *856*, 199-211.
- [109] Die NMR-Signalsätze der beiden Atropisomere waren aufgrund zu starker Überlagerungen nicht zu trennen und den einzelnen Rotameren zuzuordnen. Aus diesem Grund werden für manche Protonen mit distinkten Signalen zwei chemische Verschiebungen, für andere ein Bereich angegeben.
- [110] Ich danke Herrn Dr. M. Grüne für seine engagierte Hilfe und Durchführung der Win-Daisy-Simulation.
- [111] G. Bringmann, J. Mühlbacher, C. Repges, J. Fleischhauer, *J. Comp. Chem.* **2001**, *22*, 1273-1278.
- [112] Ich danke Herrn Dipl.-Chem. J. Mühlbacher für die Berechnung der CD-Spektren.
- [113] J. Mühlbacher, *Dissertation*, Universität Würzburg, voraussichtlich **2002**.
- [114] G. Bringmann, C. Günther, J. Mühlbacher, M.D.L.P. Gunathilake, A. Wickramasinghe, *Phytochemistry* **2000**, *53*, 409-416.
- [115] G. Bringmann, M. Wenzel, M. Rückert, K. Wolf, S. Busemann, M. Schäffer, L. Aké Assi, *Heterocycles* **1998**, *47*, 985-990.

- [116] M.J.S. Dewar, E.G. Zoebisch, E.F. Healy, J.J.P. Stewart, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 3902-3909.
- [117] Ich danke Frau Dr. K. Wolf für die Berechnung der Rotationsbarriere von Dionocphyllin E und die Anfertigung der Grafiken.
- [118] L. Ernst, *Chem. Unserer Zeit* **1983**, *17*, 21-30.
- [119] A. A. Frost, R. G. Pearson, *Kinetik und Mechanismen homogener chemischer Reaktionen*, Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstr., **1964**, S. 173-174.
- [120] N. Ruangrunsi, V. Wongpanich, P. Tantivatana, H.J. Cowe, P.J. Cox, S. Funayama, G.A. Cordell, *J. Nat. Prod.* **1985**, *48*, 529-535.
- [121] G. Bringmann, C. Günther, S. Busemann, M. Schäffer, J.D. Olowokudejo, B.I. Alo, *Phytochemistry* **1998**, *47*, 37-43.
- [122] T.R. Govindachari, P.C. Parthasarathy, H.K. Desai, *Ind. J. Chem.* **1973**, *11*, 1190-1191.
- [123] T.R. Govindachari, P.C. Parthasarathy, T.G. Rajagopalan, H.K. Desai, K.S. Ramachandran, E. Lee, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1975**, 2134-2136.
- [124] P.C. Parthasarathy, G. Kartha, *Ind. J. Chem.* **1983**, *22B*, 590-591.
- [125] D. Meksuriyen, N. Ruangrunsi, P. Tantivatana, G.A. Cordell, *Phytochemistry* **1990**, *29*, 2750-2752.
- [126] G. Bringmann, K. Messer, B. Schwöbel, R. Brun, L. Aké Assi, *Phytochemistry* eingereicht.
- [127] G. François, G. Bringmann, J.D. Phillipson, M.R. Boyd, L. Aké Assi, C. Schneider, G. Timperman, U.S. Patent Nr. 5,639,761; erteilt 17.06.1997; PCT Internationale Patentanmeldung Nr. PCT/US 95/01717 (13.02.1995); Europäische Patentanmeldung Nr. 95910230.2; Japanische Patentanmeldung Nr. 521360/1995; Australische Patentanmeldung Nr. 18417/95; Kanadische Patentanmeldung Nr. 2,185,155; Internationale Publikation Nr. WO 95/21616 (17.08.1995). *Chemical Abstracts* **1995**, *123*, 266123u.
- [128] G. François, G. Bringmann, C. Dochez, C. Schneider, G. Timperman, L. Aké Assi, *J. Ethnopharmacol.* **1995**, *46*, 115-120.
- [129] G. François, B. Chimnuka, G. Timperman, J. Holenz, J. Plaizier-Vercammen, L. Aké Assi, G. Bringmann, *Parasitol. Res.* **1999**, *85*, 935-941.
- [130] C.J. Bungard, J.C. Morris, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 631-633.
- [131] G. Bringmann, R. Weirich, H. Reuscher, J.R. Jansen, L. Kinzinger, T. Ortmann, *Liebigs Ann. Chem.* **1993**, 877-888.
- [132] G. Bringmann, D. Menche, *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 615-624.

- [133] G. Bringmann, J. Hinrichs, J. Kraus, A. Wuzik, T. Schulz, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 2508-2516.
- [134] G. Bringmann, T. Hartung, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 7891-7902.
- [135] G. Bringmann, M. Breuning, R. Walter, A. Wuzik, K. Peters, E.M. Peters, *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 3047-3055.
- [136] G. Bringmann, M. Breuning, S. Tasler, H. Endress, C.L.J. Ewers, L. Göbel, K. Peters, E.-M. Peters, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 3029-3038.
- [137] G. Bringmann, G. Prasuna, unveröffentlicht.
- [138] G. Bringmann, T. Pabst, P. Henschel, J. Kraus, K. Peters, E.-M. Peters, D.S. Rycroft, J.D. Conolly, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9127-9133.
- [139] J.-P. Geisler, *Dissertation*, Universität Würzburg, **1990**.
- [140] G. Bringmann, C. Günther, P. Henschel, K. Peters, E.-M. Peters, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 1253-1259.
- [141] J.K. Stille, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1986**, *25*, 508-522. *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 504-519.
- [142] T.N. Mitchell in *Metal-catalyzed Cross-coupling Reactions* (Hrsg.: F. Diederich, P.J. Stang), Wiley-VCH, Weinheim, Berlin, New York, Chichester, Brisbane, Singapur, Toronto, **1998**, S. 167-202.
- [143] V. Farina in *Organic Reactions* (Hrsg.: L.A. Paquette), J. Wiley & Sons, New York, Chichester, Weinheim, Brisbane, Singapur, Toronto, **1997**, Bd. 50.
- [144] S.P. Stanforth, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 263-303.
- [145] Auf eine Erörterung dieses Verfahrens wird im Rahmen dieser Arbeit mit dem Hinweis auf die angegebene Literatur verzichtet.
- [146] J.-m. Fu, B.-p. Zhao, M.J. Sharp, V. Snieckus, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 1683-1685.
- [147] X. Wang, V. Snieckus, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 4879-4882.
- [148] W. Wang, V. Snieckus, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 424-426.
- [149] V. Snieckus, *Pure & Appl. Chem.* **1994**, *66*, 2155-2158.
- [150] C.A. James, V. Snieckus, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8149-8152.
- [151] S.-i. Mohri, M. Stefinovic, V. Snieckus, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7072-7073.
- [152] V. Snieckus, *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 879-933.
- [153] H. Erdmann, *Liebigs Annalen* **1888**, *247*, 306-366.
- [154] M. Poirier, M. Simard, J.D. Wuest, *Organometallics* **1996**, *15*, 1296-1300.
- [155] J.P. Ragot, C. Steeneck, M.-L. Alcaraz, R.J.K. Taylor, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1999**, 1073-1082.

- [156] M. Watanabe, S. Hisamatsu, H. Hotokezaka, S. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* **1986**, *34*, 2810-2820.
- [157] B. Tarnchompoo, C. Thebtaranonth, Y. Thebtaranonth, *Synthesis* **1986**, 785-786.
- [158] M.P. Sibi, J.W. Dankwardt, V. Snieckus, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 273-275.
- [159] C. Günther, *Dissertation*, Universität Würzburg, **1999**.
- [160] J.L. Herrmann, G.R. Kieczkowski, R.H. Schlessinger, *Tetrahedron Lett.* **1973**, *26*, 2433-2436.
- [161] G.B. Mpango, K.K. Mahalanabis, Z. Mahdavi-Damghani, V. Snieckus, *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 4823-4826.
- [162] Durch nachträglichen Vergleich mit dem später synthetisch hergestellten Produkt wurde dies eindeutig belegt.
- [163] V.A. Kozlovv, N.A. Bagrovskaya, *J. Org. Chem.* **1986**, *22*, 1106-1114.
- [164] G. Heller, H. Kretzschmann, *Chem. Ber.* **1921**, *54*, 1098-1107.
- [165] H.T. Bucherer, *J. prakt. Chem.* **1904**, *69*, 49-91.
- [166] H. Seeboth, *Angew. Chem.* **1967**, *79*, 329-340.
- [167] R.W. Hoffmann, G. Guhn, M. Preiss, B. Dittrich, *J. Chem. Soc. (C)* **1969**, 769-772.
- [168] P. Tavs, H. Sieper, H. Beecken, *Liebigs Ann. Chem.* **1967**, *704*, 150-160.
- [169] D.H. Buchanan, N. Takemura, J.N.O. Sy, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 4291-4294.
- [170] F. Hibbert, K.J. Spiers, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1989**, 377-380.
- [171] K. Tatsuta, N. Kojima, M. Chino, S. Kawazoe, M. Nakata, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 4961-4964.
- [172] Ich danke Herrn Dr. C. Günther für die Überlassung der Bausteine.
- [173] M. Beller, H. Fischer, W.A. Herrmann, K. Öfele, C. Broßmer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 1847-1848. *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1992-1993.
- [174] W.A. Herrmann, V.P.W. Böhm, C.-P. Reisinger, *J. Organomet. Chem.* **1999**, *576*, 23-41.
- [175] M.A. Brimble, L.J. Duncalf, *Aust. J. Chem.* **1999**, *52*, 19-29.
- [176] T.R. Hoye, M. Chen, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 7940-7942.
- [177] G. Bringmann, M. Rückert, K. Messer, O. Schupp, A.M. Louis, *J. Chromatogr. A* **1999**, *837*, 267-272.
- [178] G. Bringmann, C. Schneider, L. Aké Assi, *Planta Med., Suppl. 2* **1991**, *57*, 10.
- [179] N.H. Anh, T. Van Sung, H. Ripperger, G. Adam, *Tap chi Hoa hoc* **1996**, *34*, 89-93.
- [180] N.H. Anh, H. Ripperger, A. Porzel, T.V. Sung, G. Adam, *Phytochemistry* **1997**, *44*, 549-551.

- [181] M. Bin Zakaria, J.A.D. Jeffreys, P.G. Waterman, S.-M. Zhong, *Phytochemistry* **1984**, *23*, 1481-1484.
- [182] S.-M. Zhong, P.G. Waterman, J.A.D. Jeffreys, *Phytochemistry* **1984**, *23*, 1067-1072.
- [183] P. Richomme, B. Papillon, P. Cabalion, J. Bruneton, *Pharm. Acta Helv.* **1991**, *66*, 88-89.
- [184] V. Kumar, K.M. Meepagala, S. Balasubramaniam, *Phytochemistry* **1985**, *24*, 1118-1119.
- [185] G.M.K.B. Gunaherath, A.A.L. Gunatilaka, M.U.S. Sultanbawa, S. Balasubramaniam, *Phytochemistry* **1983**, *22*, 1245-1247.
- [186] J. Bhattacharyya, V.R. De Carvalho, *Phytochemistry* **1986**, *25*, 764-765.
- [187] J.-M. Yue, J. Xu, Y. Zhao, H.-D. Sun, Z.-W. Lin, *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 1031-1033.
- [188] J.-M. Yue, Y. Zhao, Q.-S. Zhao, Z.-W. Lin, H.-D. Sun, H.-M. Wu, J.-F. Xu, *Acta Bot. Sinica* **1998**, *40*, 1035-1039.
- [189] K. Likhitwitayawuid, R. Kaewamatawong, N. Ruangrunsi, J. Krungkrai, *Planta Med.* **1998**, *64*, 237-241.
- [190] G. Bringmann, M. Wohlfarth, H. Rischer, M. Rückert, J. Schlauer, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 8445-8448.
- [191] G. Bringmann, J. Schlauer, M. Rückert, B. Wiesen, K. Ehrenfeld, P. Proksch, F.C. Czygan, *Plant Biol.* **1999**, *1*, 581-584.
- [192] G. Bringmann, H. Rischer, M. Wohlfarth, J. Schlauer, L. Aké Assi, *Phytochemistry* **2000**, *53*, 339-343.
- [193] G. Bringmann, M. Münchbach, K. Messer, D. Koppler, M. Michel, O. Schupp, M. Wenzel, A.M. Louis, *Phytochemistry* **1999**, *51*, 693-699.
- [194] D. Koppler, *Dissertation*, Universität Würzburg, **1996**.
- [195] Ich danke Herrn Prof. G. Tóth für die Messung der NMR-Spektren und die daraus resultierende Berechnung des Konformationsgleichgewichtes von Isoshinanolon.
- [196] M. Kasai, H. Ziffer, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 2346-2349.
- [197] H.J. Carlsen, T. Katsuki, V.S. Martin, K.B. Sharpless, *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 3936-3938.
- [198] Ich danke Frau M. Münchbach und Frau M. Michel (geb. Schäffer) für die Durchführung und Auswertung des oxidativen Abbaus.
- [199] E. R. Wölfel, *Theorie und Praxis der Röntgenstrukturanalyse*, 3. Aufl., Friedr. Vieweg & Sohn, Braunschweig, Wiesbaden, **1987**.
- [200] R. Pfeifer, *Dissertation*, Universität Würzburg, voraussichtlich **2002**.
- [201] Diese Information ist leicht ersichtlich z.B. durch die Anwendung einer Datenbankrecherche mit SciFinder 2000 unter dem entsprechenden Suchbegriff.

- [202] I.D. Wilson, *J. Chromatogr. A* **2000**, 892, 315-327.
- [203] J.C. Lindon, J.K. Nicholson, I.D. Wilson, *J. Chromatogr. B* **2000**, 748, 233-258.
- [204] D. Louden, A. Handley, S. Taylor, E. Lenz, S. Miller, I.D. Wilson, A. Sage, *Anal. Chem.* **2000**, 72, 3922-3926.
- [205] S.C. Bobzin, S. Yang, T.P. Kasten, *J. Chromatogr. B* **2000**, 748, 259-267.
- [206] G. Bringmann, C. Günther, J. Schlauer, M. Rückert, *Anal. Chem.* **1998**, 70, 2805-2811.
- [207] G. Bringmann, J. Kraus, U. Schmitt, C. Puder, A. Zeeck, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2729-2734.
- [208] A.F. Drake, J.M. Gould, Mason S.F., *J. Chromatogr.* **1980**, 202, 239-245.
- [209] N. Berova, K. Nakanishi, R. W. Woody, *Circular Dichroism*, 2. Aufl., Wiley-VCH, New York, Chichester, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto, **2000**.
- [210] S.A. Westwood, D.E. Games, L. Sheen, *J. Chromatogr.* **1981**, 204, 103-107.
- [211] Die in diesem Kapitel beschriebenen HPLC-MS und HPLC-NMR-Experimente wurden von Herrn Dr. M. Rückert durchgeführt, dem ich an dieser Stelle für die Erlaubnis zur Vorstellung danken möchte.
- [212] M. Rückert, *Dissertation*, Universität Würzburg, **1998**.
- [213] G. Bringmann, M. Ochse, M. Herderich, C. Günther, K. Wolf, F. Teltschik, M. Rückert, *Pharm. Pharmacol. Lett.* **1998**, 8, 1-4.
- [214] G. Bringmann, M. Rückert, C. Günther in *Natural Product Analysis* (Hrsg.: P. Schreier, M. Herderich, H.-U. Humpf, W. Schwab), Friedr. Vieweg & Sohn Verlagsgesellschaft mbH, Braunschweig, Wiesbaden, **1998**, S. 147-149.
- [215] G. Bringmann, D. Feineis, C. Grote, R. God, H.-W. Clement, K.-H. Sontag, B. Janetzky, H. Reichmann, W.-D. Rausch, P. Riederer, W. Wesemann in *Pharmacology of Endogenous Neurotoxin* (Hrsg.: A. Moser), Birkhäuser, Boston, Basel, Berlin, **1998**, S. 151-169.
- [216] G. Bringmann, H. Friedrich, G. Birner, M. Koob, K.-H. Sontag, C. Heim, W. Kolasiewicz, S. Fähr, M. Stäblein, R. God, D. Feineis, *J. Chromatogr. B* **1996**, 687, 337-348.
- [217] C. Grote, H.-W. Clement, W. Wesemann, G. Bringmann, D. Feineis, P. Riederer, K.-H. Sontag, *J. Neural. Transm.* **1995**, 46 (Suppl.), 275-281.
- [218] G. Bringmann, D. Feineis, R. Brückner, M. Blank, K. Peters, E.-M. Peters, H. Reichmann, B. Janetzky, C. Grote, H.-W. Clement, W. Wesemann, *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, 8, 1467-1478.

- [219] M. Gerlach, A.-Y. Xiao, C. Heim, J. Lan, R. God, D. Feineis, G. Bringmann, P. Riederer, K.-H. Sontag, *Neurosci. Lett.* **1998**, *257*, 17-20.
- [220] C. Heim, K.-H. Sontag, *J. Neural. Transm.* **1997**, *50 (Suppl.)*, 107-111.
- [221] G. Bringmann, R. God, D. Feineis, W. Wesemann, P. Riederer, W.-D. Rausch, H. Reichmann, K.-H. Sontag, *J. Neural Transm.* **1995**, *46 (Suppl.)*, 235-244.
- [222] G. Bringmann, D. Feineis, R. God, S. Fähr, W. Wesemann, H.-W. Clement, K.-H. Sontag, C. Heim, T.A. Sontag, H. Reichmann, B. Janetzky, W.-D. Rausch, M. Abdel-Mohsen, E. Koutsilieri, M.E. Götz, W. Gsell, B. Zielke, P. Riederer, *Biogenic Amines* **1996**, *12*, 83-102.
- [223] G. Bringmann, R. Brückner, M. Münchbach, D. Feineis, R. God, W. Wesemann, C. Grote, M. Herderich, S. Diem, K.-P. Lesch, R. Mössner, A. Storch in *Neurotoxic Factors in Parkinson's Disease and Related Disorders* (Hrsg.: A. Storch, M.A. Collins), Kluwer Press/Plenum Publishing Corporation, New York, **2000**, S. 145-150.
- [224] R.S. Burns, C.C. Chiueh, S.P. Markey, M.H. Ebert, D.M. Jacobowitz, I.J. Irwin, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1983**, *80*, 4546-4550.
- [225] M. Gerlach, P.F. Riederer in *Advances in Neurology; Parkinson's Disease* (Hrsg.: G.M. Stern), Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, **1999**, Bd. 80, S. 219-225.
- [226] L.D. Reimche, K. Sankaran, K.W. Hindmarsh, G.F. Kasian, D.K.J. Gorecki, L. Tan, *Dev. Pharmacol. Ther.* **1989**, *12*, 57-64.
- [227] B.E. Fox, C.O. O'Brien, K.J. Kangas, A.L. Murphree, K.W. Wright, *J. Ped. Ophthalmol. Strab.* **1990**, *27*, 242-244.
- [228] G. Bringmann, R. God, S. Fähr, D. Feineis, K. Fornadi, F. Fornadi, *Anal. Biochem.* **1999**, *270*, 167-175.
- [229] G. Bringmann, A. Hille, *Arch. Pharm.* **1990**, *323*, 567-569.
- [230] G. Bringmann, M. Münchbach, D. Feineis, K. Messer, S. Diem, M. Herderich, H.-W. Clement, C. Stichel-Gunkel, W. Kuhn, *J. Chromatogr. B* **2002**, *59*, 603-609.
- [231] R. God, *Dissertation*, Universität Würzburg, **1996**.
- [232] Eine Quantifizierung, d.h. eine Umrechnung auf molare Größen, ist prinzipiell nur bei Kenntnis des molaren Extinktionskoeffizienten möglich und erfordert eine Kalibrierung der HPLC-CD-Kopplung. Dies wurde bei den hier untersuchten Proben wegen der nicht gegebenen Notwendigkeit nicht angewendet.
- [233] G. Bringmann, S. Tasler, H. Endress, J. Kraus, K. Messer, M. Wohlfarth, W. Lobin, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2703-2711.

- [234] G. Bringmann, S. Tasler, H. Endress, K. Peters, E.-M. Peters, *Synthesis* **1998**, 1501-1505.
- [235] C. Ito, T.-S. Wu, H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, *38*, 1143-1146.
- [236] G. Bringmann, K.-P. Gulden, H. Busse, J. Fleischhauer, B. Kramer, E. Zobel, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 3305-3312.
- [237] M.L. King, C.-C. Chiang, H.-C. Ling, E. Fujita, M. Ochiai, A.T. McPhail, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1982**, 1150-1151.
- [238] B.W. Nugroho, B. Güssregen, V. Wray, L. Witte, G. Bringmann, P. Proksch, *Phytochemistry* **1997**, *45*, 1579-1586.
- [239] B.W. Nugroho, R.A. Edrada, B. Güssregen, V. Wray, L. Witte, P. Proksch, *Phytochemistry* **1997**, *44*, 1455-1461.
- [240] B.W. Nugroho, R.A. Edrada, V. Wray, L. Witte, G. Bringmann, P. Proksch, *Phytochemistry* **1999**, *51*, 367-376.
- [241] J. Hiort, Chaidir, F.I. Bohnenstengel, B.W. Nugroho, C. Schneider, V. Wray, L. Witte, P.D. Hung, L.C. Kiet, P. Proksch, *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 1632-1635.
- [242] Chaidir, J. Hiort, B.W. Nugroho, F.I. Bohnenstengel, V. Wray, L. Witte, P.D. Hung, L.C. Kiet, W. Sumaryono, P. Proksch, *Phytochemistry* **1999**, *52*, 837-842.
- [243] G. Brader, S. Vajrodaya, H. Greger, M. Bacher, H. Kalchhauser, O. Hofer, *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 1482-1490.
- [244] V. Dumontet, O. Thoison, O. Omobuwajo, M.-T. Martin, G. Perromat, A. Chiaroni, C. Riche, M. Païs, T. Sevenet, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 6931-6942.
- [245] M. Bacher, O. Hofer, G. Brader, S. Vajrodaya, H. Greger, *Phytochemistry* **1999**, *52*, 253-263.
- [246] M. Dreyer, B.W. Nugroho, F.I. Bohnenstengel, R. Ebel, V. Wray, L. Witte, G. Bringmann, J. Mühlbacher, M. Herold, P.D. Hung, L.C. Kiet, P. Proksch, *J. Nat. Prod.* **2001**, 415-420.
- [247] F.I. Bohnenstengel, K.G. Steube, C. Meyer, B.W. Nugroho, P.D. Hung, L.C. Kiet, P. Proksch, *Z. Naturforsch.* **1999**, *54c*, 55-60.
- [248] F.I. Bohnenstengel, K.G. Steube, C. Meyer, H. Quentmeier, B.W. Nugroho, P. Proksch, *Z. Naturforsch.* **1999**, *54c*, 1075-1083.
- [249] B.M. Trost, P.D. Greenspan, B.V. Yang, M.G. Saulnier, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 9022-9024.
- [250] G. Bringmann, J. Mühlbacher, K. Messer, M. Dreyer, R. Ebel, B.W. Nugroho, V. Wray, P. Proksch, *J. Nat. Prod.* eingereicht.

- [251] W.G. McBride, *Lancet* **1961**, 2, 1358.
- [252] W. Lenz, *Dtsch. Med. Wochenschr.* **1961**, 86, 2555-2556.
- [253] W. Lenz, *Teratology* **1988**, 38, 203-215.
- [254] H.P. Koch, *Prog. Med. Chem.* **1985**, 22, 165-242.
- [255] D. Stirling, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1995**, 30, 319-327.
- [256] J.S. Ochonsky, J. Revuz, *Euro. J. Dermatol.* **1994**, 4, 9-15.
- [257] C. Marwick, *J. Am. Med. Assoc.* **1997**, 278, 1135-1137.
- [258] J. Sheskin, *Clin. Pharmacol. Ther.* **1965**, 6, 303-306.
- [259] P. Höglund, T. Eriksson, S. Björkman, *J. Pharmacokinet. Biopharm.* **1998**, 26, 363-383.
- [260] T. Eriksson, S. Björkman, B. Roth, P. Höglund, *J. Pharm. Pharmacol.* **2000**, 52, 807-817.
- [261] S. Wnendt, M. Finkam, W. Winter, J. Ossig, G. Raabe, K. Zwingenberger, *Chirality* **1996**, 8, 390-396.
- [262] T. Parman, M.J. Wiley, P.G. Wells, *Nature Med.* **1999**, 5, 582-585.
- [263] H. Koch, *Sci. Pharm.* **1981**, 49, 67-99.
- [264] G.B. Gordon, S.P. Spielberg, D.A. Blake, V. Balasubramanian, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1981**, 78, 2545-2548.
- [265] M. Meyring, C. Mühlenbrock, G. Blaschke, *Electrophoresis* **2000**, 21, 3270-3280.
- [266] T. Eriksson, S. Björkman, B. Roth, H. Björk, P. Höglund, *J. Pharm. Pharmacol.* **1998**, 50, 1409-1416.
- [267] M. Meyring, J. Mühlbacher, K. Messer, N. Kastner-Pustet, G. Bringmann, A. Mannschreck, G. Blaschke, *Anal. Chem.* im Druck.
- [268] G. Bringmann, K. Messer, R. Brun, V. Mudogo, *J. Nat. Prod.* im Druck.
- [269] G. Bringmann, K. Messer, W. Saeb, E.-M. Peters, K. Peters, *Phytochemistry* **2001**, 56, 387-391.
- [270] G. Bringmann, J. Kraus, D. Menche, K. Messer, *Tetrahedron* **1999**, 55, 7563-7572.
- [271] E.T. McCabe, W.F. Barthel, S.I. Gertler, S.A. Hall, *J. Org. Chem.* **1954**, 19, 493-498.
- [272] P. Ongoka, B. Maulze, L. Miginiac, *J. Organomet. Chem.* **1987**, 355, 131-139.
- [273] M.A. Weidner-Wells, S.A. Fraga-Spano, J. Turchi, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 6319-6328.
- [274] R.J. Linderman, M. Jaber, B.D. Griedel, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 6499-6500.
- [275] Ich danke Herrn Prof. V. Mudogo für die Beschaffung des Pflanzenmaterials von *Ancistrocladus congolensis* und für seine Hilfe bei der Isolierung von Ancistrocongolins C.

- [276] Dieses Proton tritt eng benachbart mit dem zweiten an C-4 gebundenen Proton auf und weist im ^1H -Spektrum das typische Erscheinungsbild eines ABX-Systems auf (X = 3-H).
- [277] Die Signale resultieren durch Überlappung in einem pseudo-Triplett.
- [278] Ich danke Herrn Prof. Dr. L. Aké Assi für die Beschaffung des Pflanzenmaterials von *Triphyophyllum peltatum*.
- [279] Ich danke Herrn A.M. Louis für die Beschaffung des Pflanzenmaterials von *Dioncophyllum thollonii*.
- [280] H. Cerfontain, N.J. Coenjaarts, A. Koeberg-Telder, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1989**, *108*, 7-13.
- [281] K.E. Malterud, T. Anthonsen, *Acta Chem. Scand. Ser. B* **1987**, *41*, 6-12.
- [282] Ich danke Herrn Dipl.-Chem. A. Hamm für die Überlassung der Bausteine.
- [283] A. Hamm, *Dissertation*, Universität Würzburg, voraussichtlich **2002**.
- [284] M.L. Bender, J.M. Lawlor, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3010-3017.
- [285] Der Kolben sollte nach jeder Reaktion auf seinen Zustand hin überprüft werden. Die KOH-Schmelze greift das Material stark an, was zu einem Abnehmen der Wandstärke führt. Gleiches gilt für den KPG-Rührer.
- [286] N.G. Andersen, S.P. Maddaford, B.A. Keay, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 9556-9559.
- [287] N.P. Buu-Hoï, D. Lavit, *J. Chem. Soc.* **1956**, 2412-2415.
- [288] J. Böeseken, L.G. Smitt, *Rec. Trav. chim.* **1939**, *58*, 125-131.
- [289] H. Staudinger, E. Schlenker, H. Goldstein, *Helv. Chim. Acta* **1921**, *4*, 334-342.
- [290] K.A. Parker, T. Iqbal, *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 1149-1151.
- [291] Die Produktbildung zeigt sich auf dem DC bei der Bedampfung mit Iod durch das Auftreten eines weißen Flecks unter Braunfärbung der übrigen Platte.
- [292] Diese Spektren wurden von Dr. S. Tasler aufgenommen.
- [293] S. Tasler, *Dissertation*, Universität Würzburg, **2000**.
- [294] G. Bringmann, W. Saeb, K. Messer, M. Wohlfarth, R. Brun, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 5871-5875.
- [295] H. Ihmels, K. Faulhaber, K. Wissel, G. Bringmann, K. Messer, G. Viola, D. Vedaldi, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 1157-1161.
- [296] H. Ihmels, K. Faulhaber, C. Sturm, G. Bringmann, K. Messer, N. Gabellini, D. Vedaldi, G. Viola, *Photochem. Photobiol.* **2001**, *74*, 505-511.

Dank

Am Ende dieser Arbeit möchte ich mich ganz herzlich bei all jenen bedanken, die mich in meiner Arbeit unterstützt und motiviert haben, oder in irgendeiner anderen Form zum Gelingen beigetragen haben.

Ohne jeglichen Anspruch auf Vollständigkeit, und der damit gleichzeitig verbundenen Bitte um Entschuldigung für die hier nicht genannten, möchte ich einige Personen besonders hervorheben.

- Die Menschen die nicht zuletzt mit Ihrer praktischen Arbeit mehr als alle anderen geleistet haben sind Manuela Michel (geb. Schäffer) und Michaela Schraut. Ohne dieses "Doppel" wäre das harte Match der Synthese wohl kaum zu bewältigen gewesen.
- Ständige Unterstützung während dieser Zeit durfte ich durch meinen "Kollegen von Anbeginn" Dr. Michael Wohlfarth nebst "Gattin" erfahren. Einfach Danke für diese Freundschaft.
- Den Mitstreitern, die für die schöne Arbeitsatmosphäre gesorgt haben, mir immer die nötige alltägliche Unterstützung haben zukommen lassen und mich so auf meinem Weg begleitet haben, ein ganz, ganz dickes Danke (geographisch, chronologisch gereiht): Dr. Matthias Wenzel, Dr. Stefan Tasler, Heike Endreß, Petra Schreiber (geb. Henschel), Robert Pfeifer, Andreas Hamm, Dr. Michael Ochse, Stefan Neumann, Dr. Christian Günther, Dr. Miriam Münchbach, Dr. Doris Feineis, Dr. Thomas Pabst, Michael Dreyer, Dr. Heiko Rischer, Jan Mies, Dr. Wael Saeb und Dr. Andreas Wuzik. Unseren "Gästen" im zweiten Stock Simone Drees, Philipp Schmidt, Dr. Markus Rückert, Dr. Kristina Wolf, Jörg Mühlbacher, Christian Rummey, Dr. Jürgen Kraus, Markus Hofmann, Dr. Markus Heubes und Prof. Dr. Virima Mudogo. Mit allen verbinde ich meine persönliche Erfahrung, die diese Zeit so angenehm und sicherlich unvergesslich machen. Eine detaillierte Beschreibung hier würde die vorangegangene Arbeit wahrscheinlich mehr als verdoppeln und muss deshalb leider entfallen.
- Ein spezieller Dank gilt den Service-Abteilungen des Instituts, die ihre Abteilungsbezeichnung (d.h. Service) wirklich ernst nehmen. NMR: Dr. Matthias Grüne und Elfriede Ruckdeschel; MS: Dr. Gerda Lange und Fritz Dadrich; Werkstatt: Wilhelm Heilmann und Peter Wendinger; E-Technik: Dipl.-Ing. Bernd Brunner.
- Danken möchte ich auch meinen Lehrlingen Karina Hilpert und Stefan Keppner die nicht nur die Freude der Arbeit mit mir teilen durften.
- Besonders möchte ich auch den engagierten Korrekturlesern des schriftlichen Teils dieser Arbeit danken: Dr. Mike Cappi, Andreas Hamm, Jörg Mühlbacher, Dr. Miriam Münchbach, Stefan Neumann, Robert Pfeifer, Dr. Markus Rückert und Dr. Kristina Wolf.

Am Ende meiner Dissertation sollen jedoch die wichtigsten Personen, d.h. diejenigen stehen, ohne die dies ganz einfach niemals möglich gewesen wäre:

Mein Dreier-Team: Mutti, Kai und Angelika.

Danke!

Lebenslauf

- 09.06.1972 Geboren als Sohn von Ulrich Messer und Birgit Messer, geb. Betz, in Crailsheim
- 09/1978 - 08/1982 Leonhard-Sachs Grund- und Hauptschule in Crailsheim
- 09/1982 - 06/1991 Albert-Schweitzer Gymnasium in Crailsheim
Abschluss: Abitur
- 07/1991 - 06/1992 Sanitätsdienst in Veitshöchheim & Tauberbischofsheim
- 10/1992 Immatrikulation an der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg für das Fach Chemie (Diplom)
- 10/1994 Diplom-Vorprüfung
- 03/1996 - 07/1996 Praktikum am Lehrstuhl für Organische Chemie, Heriot-Watt University, Edinburgh
- 03/1998 Abschluss des Chemiestudiums mit der Diplomarbeit "*Isolierung neuer Wirkstoffe aus Dioncophyllum thollonii und anderen tropischen Heilpflanzen*" unter Anleitung von Prof. Dr. G. Bringmann
- seit 04/1998 Beginn der hier vorliegenden Arbeit
- 04/1998 - 03/2000 Studium der Betriebswirtschaftslehre für Naturwissenschaftler, Fernuniversität Hagen (promotionsbegleitend)
- 04/1998 - 09/2001 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Organische Chemie der Universität Würzburg als Assistent im Rahmen des Organischen Praktikums I & II
- seit 10/2001 Mitarbeiter der Firma Morphochem AG in München

Würzburg, den 05.08.2002

Kim Messer

Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die Dissertation

"Isolierung, Strukturaufklärung und Beiträge zur Synthese von Naturstoffen aus tropischen Heilpflanzen sowie Etablierung chiraler on-line-Analytik"

selbstständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Ich erkläre außerdem, dass diese Dissertation weder in gleicher oder anderer Form bereits in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegen hat.

Ich habe früher außer den mit dem Zulassungsgesuch urkundlich vorgelegten Graden keine weiteren akademischen Grade erworben oder zu erwerben versucht.

Würzburg, den 05.08.2002

Kim Messer