

**Isolierung und Identifizierung
von Inhaltsstoffen aus Holz
zersetzenden Basidiomyceten**



DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereiches Chemie der
Universität Hamburg

vorgelegt von

Joachim Rösecke

aus Hamburg

Hamburg 2000

1. Gutachter: Prof. Dr. W. A. König

2. Gutachter: Prof. Dr. W. Walter

Mündliche Prüfungen:

14.09.2000	Anorganische Chemie	Prof. Dr. W. Dannecker
20.09.2000	Organische Chemie	Prof. Dr. W.A. König
26.09.2000	Lebensmittelchemie	Prof. Dr. Dr. H. Steinhart

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von März 1998 bis Juni 2000 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. W. A. König am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg durchgeführt.

Ich danke Herrn Prof. Dr. W. A. König für das fortwährende Interesse am Fortgang dieser Arbeit, für seine stete Unterstützung sowie für die Möglichkeit, an zahlreichen Tagungen teilzunehmen.

Für meine Eltern

Helmut und Gisela

Rösecke

*“They watched the pale rings of light round his lanterns
as they dwindled into the foggy night.
Suddenly Frodo laughed: from the covered basket he held,
the scent of mushrooms was rising.”*

*J.R.R. Tolkien, The Lord of the Rings
Book One, Chapter Four*

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
1.1	EIN BLICK IN DIE VERGANGENHEIT	1
1.2	PILZE UND PILZINHALTSSTOFFE	1
1.3	TERPENARTIGE INHALTSSTOFFE AUS PILZEN	3
1.4	PILZANALYTIK	4
2	PROBLEMSTELLUNG	5
3	ALLGEMEINER TEIL	7
3.1	STEROIDE UND TERPENE	7
3.1.1	<i>Allgemeines</i>	7
3.1.2	<i>Nomenklatur steroidartiger Verbindungen</i>	8
3.1.3	<i>Biogenese</i>	9
3.1.4	<i>Pharmakologisch wirksame Pilzinhaltsstoffe</i>	13
3.2	WEITERE PILZINHALTSSTOFFE	13
3.2.1	<i>Fettsäuren, Kurzkettige Alkohole, Ketone und Aldehyde</i>	13
3.2.2	<i>Aromatische Verbindungen</i>	14
3.3	TAXONOMIE DER PILZE	14
3.4	MORPHOLOGIE UND VERBREITUNG DER BAUMPILZE	15
3.5	UNTERSUCHTE PILZARTEN	16
3.5.1	<i>Taxonomische Zuordnung</i>	16
3.5.2	<i>Fomitopsis pinicola (Sw.: Fr.) P. Karst. (Fichtenporling)</i>	16
3.5.3	<i>Daedalea quercina (L.) Pers. (Eichenwirrling)</i>	21
3.5.4	<i>Daedaleopsis confragosa var. tricolor (Bull.) Bondarzew (Rötende Tramete)</i>	22
3.5.5	<i>Gloeophyllum odoratum (Wulf.: Fr.) Imazeki (Fenchelporling)</i>	23
3.5.6	<i>Fomes fomentarius (L.) Fr. (Echter Zunderschwamm)</i>	24
3.5.7	<i>Ganoderma lipsiense (Batsch) G.F.Atk. (Flacher Lackporling)</i>	25
3.6	EXTRAKTIONSMETHODEN	27
3.7	CHROMATOGRAPHISCHE TRENNMETHODEN	27
3.7.1	<i>Dünnschichtchromatographie</i>	28
3.7.2	<i>Flüssigchromatographie</i>	28
3.7.3	<i>Hochleistungs-Flüssigchromatographie</i>	28
3.7.4	<i>Gelpermeationschromatographie</i>	29
3.7.5	<i>Gaschromatographie</i>	29

3.8	METHODEN DER STRUKTURAUFKLÄRUNG.....	30
3.8.1	Massenspektrometrie	30
3.8.2	NMR-Spektroskopie	30
4	SPEZIELLER TEIL	33
4.1	ISOLIERUNG VON INHALTSSTOFFEN AUS <i>FOMITOPSIS PINICOLA</i>	33
4.1.1	Extraktion.....	33
4.1.2	Trennung der Inhaltsstoffe.....	33
4.1.3	Inhaltsstoffe aus dem n-Hexanextrakt der Kruste	34
4.1.3.1	Identifizierung eines Gemisches aus 3 β -Linoleoyloxyergost-7-en (43), 3 β -Linoleoyloxyergosta-7,22-dien (44) und 3 β -Linoleoyloxyergosta- 7,24(28)-dien (45)	34
4.1.3.2	Identifizierung eines Gemisches einiger Triacylglycerole	34
4.1.3.3	(+)-3-Oxolanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (Pinicolsäure A) (2)	35
4.1.3.4	(+)-3 β -Hydroxylanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (Trametenolsäure B) (21)	36
4.1.3.5	(+)-3 α -Acetoxylanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (22).....	36
4.1.3.6	21-Hydroxylanosta-8,24-dien-3-on (23) und 21-Hydroxylanosta- 7,9(11),24-trien-3-on (24)	37
4.1.3.7	Lanosta-7,9(11),24-trien-3-on (Agnosteron) (46)	38
4.1.3.8	(+)-21-Carboxyacetoxyylanosta-7,9(11),24-trien-3-on (Fomitopssäure B) (47)	38
4.1.4	Inhaltsstoffe aus dem Dichlormethanextrakt der Kruste	40
4.1.4.1	Bekannte Verbindungen	40
4.1.4.2	(+)-Lanosta-7,9(11),24-trien-3 β ,21-diol (Pinicolol A) (25).....	40
4.1.4.3	Lanosta-7,9(11),24-trien-3 β ,15 α ,21-triol (Pinicolol B) (48)	40
4.1.4.4	3-Oxolanosta-7,9(11),24-trien-15 α ,21-diol (Pinicolol C) (49)	42
4.1.4.5	(-)-3,16-Dioxolanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (Pinicolsäure B) (50)	42
4.1.4.6	(+)-3,4-seco-Lanosta-4(28),8,24-trien-3,21-dicarbonsäure (Pinicolsäure C) (51)	43
4.1.4.7	(-)-3 β -Hydroxy-16-oxolanosta-7,9(11),24-trien-21-carbonsäure (Pinicolsäure D) (52).....	44
4.1.4.8	16 α -Hydroxy-3-oxolanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (Pinicolsäure E) (53)	45
4.1.5	Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung zwischen Kruste und Fruchtkörper von <i>Fomitopsis pinicola</i>	46
4.1.6	Flüchtige Inhaltsstoffe aus dem Wasserdampfdestillat	48

4.2	ISOLIERUNG VON INHALTSSTOFFEN AUS <i>DAEDALEA QUERCINA</i>	52
4.2.1	<i>Inhaltsstoffe aus dem n-Hexanextrakt</i>	52
4.2.1.1	(E)- und (Z)-p-Methoxyzimtsäuremethylester (97, 98)	52
4.2.2	<i>Inhaltsstoffe aus dem Dichlormethanextrakt</i>	54
4.2.2.1	16 α -Acetoxy-24-methylen-3-oxolanost-7,9(11)-dien-21-carbonsäure (16-O-Acetylpolyporensäure C) (99) und 16 α -Acetoxy-24-methylen-3- oxolanost-8-en-21-carbonsäure (100)	54
4.2.2.2	16 α -Hydroxy-24-methylen-3-oxolanost-7,9(11)-dien-21-carbonsäure (Polyporensäure C) (30) und 16 α -Hydroxy-24-methylen-3-oxolanost-8- en-21-carbonsäure (101).....	55
4.2.2.3	(-)-5 α ,8 α -Epidioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol (Ergosterolperoxid) (31)..	56
4.2.2.4	3 α -Carboxyacetoxy-24-methyl-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure (3 α - Carboxyacetoxyquercinsäure) (3).....	56
4.2.2.5	(+)-24-Methylen-3,23-dioxolanost-8-en-26-carbonsäure (Quercinsäure B) (102)	57
4.2.2.6	(+)-3 β ,12 β -Dihydroxy-24-methyl-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure (Quercinsäure C) (103).....	58
4.2.2.7	12 β ,23-Epoxy-3 α ,23-dihydroxy-24-methyl-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure (3 α -Oxepanoquercinsäure C) (104).....	59
4.3	ISOLIERUNG VON INHALTSSTOFFEN AUS <i>DAEDALEOPSIS CONFRAGOSA</i> VAR. <i>TRICOLOR</i>	61
4.3.1	<i>Inhaltsstoffe aus dem Dichlormethanextrakt</i>	61
4.3.1.1	Identifizierung bereits beschriebener Verbindungen	61
4.3.1.2	3 α -Carboxyacetoxy-24-methyl-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure (3 α - Carboxyacetoxyquercinsäure) (3) und 3 α -Carboxyacetoxy-24-methylen- 23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure (105)	62
4.4	INHALTSSTOFFE AUS <i>GLOEOPHYLLUM ODORATUM</i>	63
4.4.1	<i>Inhaltsstoffe aus dem n-Hexanextrakt</i>	63
4.4.1.1	4-Methoxyphenylelessigsäuremethylester (33).....	63
4.4.1.2	(Z,Z)-9,12-Octadecadiensäure (Linolsäure) (106), (Z)-9-Octadecensäure (Ölsäure) (107) und Hexadecansäure (Palmitinsäure) (108).....	63
4.4.1.3	(+)-24-Methylen-3-oxolanosta-7,9(11)-dien-21-carbonsäure (Dehydroeburiconsäure) (109).....	64
4.4.1.4	4-Methoxyphenylelessigsäure (18).....	64
4.4.1.5	1-(4'-Methoxyphenyl)-1,2-ethandiol (110).....	65

4.4.1.6	4,4,14 α -Trimethyl-24-oxo-5 α -chol-8-en-21-carbonsäure-dimethylacetal (Gloeophyllsäure A-Dimethylacetal) (111).....	66
4.5	INHALTSSTOFFE AUS <i>FOMES FOMENTARIUS</i>	67
4.5.1	<i>Untersuchungen der Kruste</i>	67
4.5.2	<i>Inhaltsstoffe aus dem n-Hexanextrakt der Fruchtkörper ohne Kruste</i>	67
4.5.2.1	Identifizierung bereits beschriebener Verbindungen	67
4.5.2.2	Ergosta-7,22-dien-3-on (37) und Ergost-7-en-3-on (Fungisteron) (112)	68
4.6	INHALTSSTOFFE AUS <i>GANODERMA LIPSIENSE</i>	70
4.6.1	<i>Inhaltsstoffe aus der Kruste</i>	70
4.6.1.1	Identifizierung bereits beschriebener Verbindungen	70
4.6.1.2	Ergosta-7,22-dien-3 β -ol (26) und Ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol (Ergosterol) (1)	70
4.6.2	<i>Inhaltsstoffe aus den Fruchtkörpern ohne Kruste</i>	70
4.6.2.1	(E)-7 β ,15 α -Dihydroxy-3,11,23-trioxolanosta-8,20(22)-dien-26- carbonsäure (Ganoderensäure A) (42)	70
4.6.2.2	(E)-7 β -Hydroxy-3,11,15,23-tetraoxolanosta-8,20(22)-dien-26- carbonsäure (Ganoderensäure D) (113)	71
4.6.2.3	7 β ,20-Dihydroxy-3,11,15,23-tetraoxolanost-8-en-26-carbonsäure (Ganoderensäure N) (114).....	72
5	ZUSAMMENFASSUNG	73
6	SUMMARY	75
7	EXPERIMENTELLER TEIL	77
7.1	CHEMIKALIEN, MESSGERÄTE UND METHODEN	77
7.1.1	<i>Reagenzien und Lösungsmittel</i>	77
7.1.2	<i>Dünnschichtchromatographie</i>	77
7.1.3	<i>Flüssigchromatographie</i>	77
7.1.4	<i>Hochleistungsflüssigchromatographie</i>	77
7.1.5	<i>Kapillargaschromatographie</i>	78
7.1.6	<i>Enantioselektive Kapillargaschromatographie</i>	78
7.1.7	<i>Massenspektrometrie und GC-MS-Kopplung</i>	78
7.1.8	<i>Wasserdampfdestillation</i>	78
7.1.9	<i>NMR-Spektroskopie</i>	78
7.1.10	<i>Polarimetrie</i>	79
7.1.11	<i>Schmelzpunktbestimmung</i>	79

7.1.12	Herkunft und Identifizierung des Pflanzenmaterials.....	79
7.1.13	Aufarbeitung und Extraktion des Pflanzenmaterials.....	79
7.2	ISOLIERUNG VON INHALTSSTOFFEN AUS <i>FOMITOPSIS PINICOLA</i>	81
7.2.1	<i>n</i> -Hexanextrakt der Kruste.....	81
7.2.2	Dichlormethanextrakt der Kruste.....	86
7.2.3	Wasserdampfdestillat.....	93
7.3	ISOLIERUNG VON INHALTSSTOFFEN AUS <i>DAEDALEA QUERCINA</i>	101
7.3.1	<i>n</i> -Hexanextrakt	101
7.3.2	Dichlormethanextrakt	103
7.4	ISOLIERUNG VON INHALTSSTOFFEN AUS <i>DAEDALEOPSIS CONFRAGOSA</i> VAR. <i>TRICOLOR</i>	108
7.4.1	Dichlormethanextrakt.....	108
7.5	ISOLIERUNG VON INHALTSSTOFFEN AUS <i>GLOEOPHYLLUM ODORATUM</i>	109
7.5.1	<i>n</i> -Hexanextrakt	109
7.5.2	Dichlormethanextrakt	111
7.6	ISOLIERUNG VON INHALTSSTOFFEN AUS <i>FOMES FOMENTARIUS</i>	115
7.6.1	<i>n</i> -Hexanextrakt der Fruchtkörper	115
7.7	ISOLIERUNG VON INHALTSSTOFFEN AUS <i>GANODERMA LIPSIENSE</i>	116
7.7.1	<i>n</i> -Hexanextrakt der Kruste.....	116
7.7.2	Dichlormethanextrakt der Kruste.....	116
7.7.3	Dichlormethanextrakt der Fruchtkörper	117
8	GEFAHRSTOFFANHANG	121
9	SPEKTRENANHANG	123
10	LITERATURVERZEICHNIS.....	137

Abkürzungsverzeichnis

APCI	atmospheric pressure chemical ionization
<i>br. s</i>	breites Singulett
COLOC	correlation via long range couplings
COSY	correlated spectroscopy
<i>d</i>	Dublett
DC	Dünnschichtchromatographie
<i>dd</i>	doppeltes Dublett
<i>ddd</i>	doppeltes doppeltes Dublett
DEPT	distortionless enhancement by polarization transfer
<i>dt</i>	doppeltes Triplet
EE	Ethylacetat (Essigester)
EI-MS	electron ionization mass spectrometry
ESI	Elektrospray-Ionisation
FAB	fast atom bombardment
GC	Gaschromatographie
GC-MS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
GLC	gas liquid chromatography
GPC	Gelpermeationschromatographie
GSC	gas solid chromatography
h	Stunde(n)
HMBC	heteronuclear multiple bond correlation
HMQC	heteronuclear multiple quantum correlation
HPLC	high performance liquid chromatography
HR-MS	high resolution mass spectrometry
HSQC	heteronuclear single quantum correlation
Kap.	Kapitel

LC	liquid chromatography
Lit.	Literatur
LM	Laufmittel
MALDI-TOF	matrix assisted laser desorption-ionization–time of flight
NMR	nuclear magnetic resonance
NOESY	nuclear Overhauser effect spectroscopy
p.a.	pro analysi, zur Analyse
PE	Petrolether
<i>q</i>	Quartett
rel. Int.	relative Intensität
R_i	Retentionsindex
RP	reversed phase
<i>s</i>	Singulett
<i>s</i>	Sekunden
s.	siehe
<i>t</i>	Triplett
<i>t</i>	Time
<i>tt</i>	dreifaches Triplett
vgl.	vergleiche
z.B.	zum Beispiel

1 Einleitung

1.1 Ein Blick in die Vergangenheit

In einem Herbst um 3400 v.Chr. ging ein etwa 40-jähriger Mann in einem Gebiet auf die Jagd, das heute als Südtirol bekannt ist. Er konnte nicht wissen, dass es sein letzter Ausflug werden sollte. Er trug einige Waffen und andere Utensilien bei sich, unter anderem je einen Fruchtkörper des Echten Zunderschwammes und des Birkenporlings. Während seines Ausfluges machte er eine Rast in einer Felsmulde, wo er höchstwahrscheinlich erfroren ist.

5300 Jahre später, am 20.09.1991, legte die österreichische Bergrettung eine Gletscherleiche frei, wie sie die Menschheit in dieser Form noch nicht gesehen hatte. Sie war so gut erhalten wie keine andere Gletschermumie zuvor und ist seitdem als die „Mumie vom Hauslabjoch“ oder „Ötzi“ (nach seinem Fundort im Ötztal) weltbekannt. Einige Tage später konnten auch seine Habseligkeiten geborgen werden, die ebenfalls sehr gut erhalten waren. Darunter waren auch Fruchtkörper der Baumpilze *Fomes fomentarius* (Echter Zunderschwamm), der aufgrund seiner Fähigkeit, lange zu glimmen, schon seit Urzeiten zum Feuermachen verwendet wird, und *Piptoporus betulinus* (Birkenporling), der höchstwahrscheinlich rituellen Zwecken gedient hat, da er nur in sehr jungem Zustand essbar ist und sich nicht zum Feuermachen eignet. Diese Pilze konnten auch nach 5300 Jahren mittels moderner Methoden wie z.B. der Dünnschichtchromatographie und der HPLC durch Vergleich mit authentischen Proben identifiziert werden ^[1].

1.2 Pilze und Pilzinhaltsstoffe

Pilze sind eukaryotische Spezies, die nicht eindeutig zu den Pflanzen oder den Tieren gezählt werden können. Zur Zeit sind etwa 120.000 Spezies beschrieben, man nimmt aber an, dass tatsächlich zwischen 250.000 und 300.000 Spezies existieren. Da sie kein Chlorophyll besitzen und somit nicht zur Photosynthese befähigt sind, sind sie, im Gegensatz zu den Pflanzen auf organische Verbindungen angewiesen, die andere Pflanzen oder Tiere synthetisiert haben. Diese Verbindungen werden entweder unverändert übernommen (Cellulose und Chitin zum Aufbau von Zellwänden), direkt metabolisiert (zum Teil Lignin) oder in Grundbausteine umgewandelt (z.B. Fettsäuren), aus denen dann neue, teils für die jeweilige Spezies sehr spezifische Verbindungen synthetisiert werden. Pilze können sowohl in wässrigen Medien als auch in trockener Umgebung wachsen. Einige Pilze bilden Symbiosen mit Pflanzen aus wie z.B. der Echte Steinpilz (*Boletus edulis*), der als Mykorrhizapilz häufig in den Wurzeln von Fichten und seltener bei Kiefern zu finden ist. Mykorrhizapilze sind für ein gutes Gedeihen des Wirtes sehr wichtig und bilden mit seinen Wurzeln eine Symbiose.

Dabei kann der Pilz bis zu 75% der von dem Wirt produzierten Nährstoffe erhalten. Im Gegenzug liefert der Pilz dem Wirt wichtige Mineralstoffe. Andererseits existiert auch eine Vielzahl von parasitisch lebenden Pilzen, die einem Wirt Nährstoffe entziehen, ihm aber wenig oder nichts im Gegenzug dafür liefern. Unter anderem bei Baumpilzen können verschiedene Spezies zusätzlich zum Parasitismus auch saprophytisch leben, d.h. sie befallen bereits abgestorbenes Pflanzenmaterial. Des weiteren existieren auch Spezies, die beide Formen betreiben können ^[2].

Seit dem frühen 20. Jahrhundert sind Pilze ein Objekt der Naturstoffforschung. Auch mit den damals vergleichsweise einfachen Methoden wie der Säulenchromatographie, IR- und UV-Spektroskopie und mit chemischen Derivatisierungen oder Abbaureaktionen konnte eine große Zahl an Verbindungen isoliert und identifiziert werden. Das große Interesse an Pilzinhaltsstoffen rührt daher, dass verschiedene Pilzspezies schon seit Anbeginn der Menschheit dem Menschen in den verschiedensten Bereichen nutzen aber auch schaden konnten. So sind Pilze involviert in der Fermentation zahlreicher Nahrungsmittel wie z.B. dem Weichkäse Camembert, auf dessen Oberfläche der Pilz *Penicillium camembertii* wächst und ihm seinen weißen Rand verleiht. Von anderen Spezies sind die Fruchtkörper selbst ein Genuss. Als Beispiele seien hier der schon erwähnte Echte Steinpilz (*Boletus edulis*), die zahlreichen Champignon-Arten (Gattung *Agaricus*) und der Echte Pfifferling (*Cantharellus cibarius*) genannt. Pilze sind aber auch in der Lage, sehr spezifische Substanzen zu synthetisieren, die Verwendung finden als Herbizide, Fungizide (!), Insektizide und Antibiotika, zu denen die 1929 erstmals von A. Fleming isolierten Penicilline zählen ^[3]. Des weiteren produzieren Pilze Toxine wie Amanin und Phalloidin (*Amanita phalloides*, Grüner Knollenblätterpilz) und Halluzinogene wie Ibotensäure (*Amanita muscaria*, Fliegenpilz) ^[3,4]. Schon seit etwa 7000 Jahren werden im fernen Osten viele Pilzarten, allen voran der Baumpilz *Ganoderma lucidum* (Glänzender Lackporling), zu vielfältigen medizinischen Zwecken verwendet ^[5]. Aus seinen Fruchtkörpern konnten im Laufe der letzten 20 Jahre weit über 100 Triterpene und steroidartige Verbindungen isoliert werden, von denen sehr viele pharmakologische Wirkung gegen eine Vielzahl von Humankrankheiten aufweisen.

Baumpilze können sowohl nützlich sein als auch schaden. So sind sie hauptverantwortlich für die Zersetzung und Beseitigung von abgestorbenem Holz in Wäldern. Da viele Spezies aber auch lebendes Material befallen, können sie auch Schaden anrichten und Baumbestände zerstören, wo es nicht erwünscht ist, wie z.B. in Baumschulen oder Alleen. Des weiteren kann durch starke Beeinträchtigung der Bruch- und Standsicherheit der befallenen Bäume auch eine Gefahr für Mensch und Eigentum entstehen.

1.3 Terpenartige Inhaltsstoffe aus Pilzen

Pilze sind in der Lage, jede Klasse von Naturstoffen zu metabolisieren und zu synthetisieren. Neben Alkaloiden, Proteinen und Peptiden, Lipiden, Sacchariden und modifizierten und unmodifizierten Nucleotiden ^[3,9] produzieren alle Pilze Terpene. Neben einfachen Monoterpenkohlenwasserstoffen und -alkoholen treten eine Vielzahl teils sehr komplexer Sesquiterpene und Diterpene auf.

Den größten Anteil der terpenartigen Inhaltsstoffe in

freier Natur wachsender Pilze bilden aber die Triterpene und deren Derivate. Das wichtigste Derivat ist hierbei das Ergosterol (Ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol) (1) (Abb. 1-1). Es hat eine

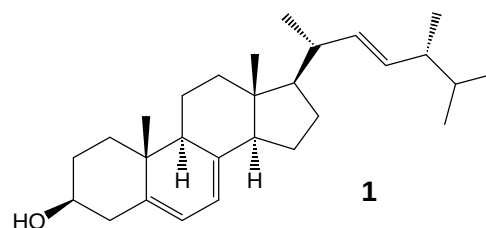


Abbildung 1-1: Ergosterol (1)

wichtige Funktion als Wachstumsfaktor und kann somit per Definition als Primärmetabolit bezeichnet werden, der allerdings aus dem Sekundärmetabolismus entsteht ^[6,7,8,9]. Des weiteren finden sich in Pilzen zahlreiche Tri- und 24-Homotriterpene wie 3, die sich vom Lanosterol, dem biogenetischen Vorläufer aller Steroide und Triterpene in Pilzen ableiten ^[9,10]. Bei diesen Derivatisierungen bleibt im allgemeinen das Steroid-Grundgerüst erhalten. Es treten lediglich Doppelbindungsisomerien, Cyclisierungen, Veresterungen von Hydroxylgruppen, Oxygenierungen an den verschiedensten Positionen, Reduktionen und Abbaureaktionen an der Steroid-Seitenkette auf. Als Beispiele seien hier 3-Oxolanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (Pinicolsäure A)

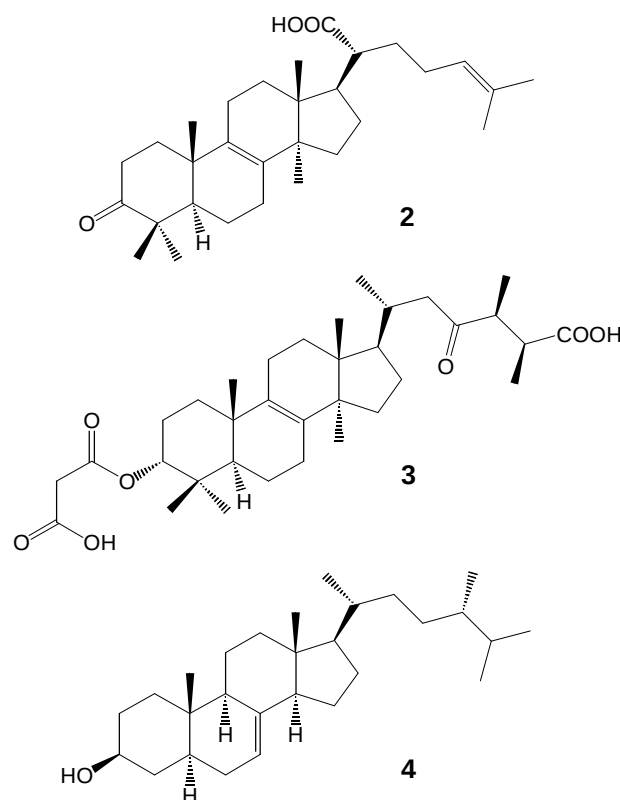


Abbildung 1-2: Einige Triterpenderivate aus Pilzen

(2) aus *Fomitopsis pinicola* ^[11,12], 3 α -Carboxyacetoxy-24-methyl-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure (3 α -Carboxyacetoxyquercinsäure) (3) aus *Daedalea quercina* ^[13] und Ergost-7-en-3 β -ol (Fungisterol) (4) aus verschiedenen Spezies ^[9] genannt (Abb. 1-2).

Triterpene und deren Derivate sind wie der größte Teil der Naturstoffe chirale Verbindungen, d.h. sie lassen sich nicht durch Drehung in ihr Spiegelbild überführen und sind

in der Lage, in Lösung die Ebene des polarisierten Lichtes zu drehen (Angabe des Drehsinns: (-)-gegen oder (+)-in Richtung des Uhrzeigersinns). Während es bei Sesqui- und Diterpenen vorkommt, dass beide Enantiomere natürlich vorkommen (selten sogar in ein und derselben Pflanze wie das Sesquiterpen Germacren D in *Solidago canadensis* ^[14,15]), so existiert z.B. vom Cholesterol (Cholest-5-en-3 β -ol, auch Cholesterin) (5), dem wichtigsten Steroid für alle Säugetiere (Abb. 1-3), in der Natur nur die (-)-Form, während das (+)-Enantiomer nicht vorkommt, bzw. noch nicht gefunden wurde.

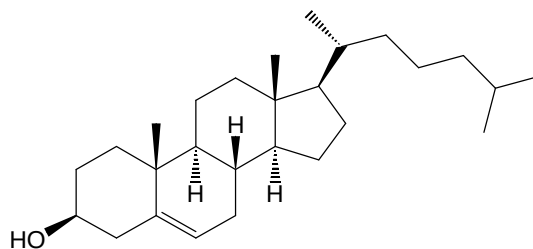


Abbildung 1-3: Cholesterol (5)

1.4 Pilzanalytik

Nicht zuletzt die Analytik von Pilzinhaltsstoffen führte zur Weiterentwicklung von chromatographischen Trennverfahren sowie der NMR-Spektroskopie ^[16,17,18,19] und Massenspektrometrie ^[18,19]. Die Methoden, die noch in den 1950-er Jahren Anwendung fanden (IR-, UV-Spektroskopie), werden heutzutage nur noch der Vollständigkeit halber bei der Identifikation isolierter Naturstoffe angewendet. Diese erfolgt heute hauptsächlich mit den unterschiedlichsten NMR-Methoden, die es einem ermöglichen, bekannte und auch neue Naturstoffe zu identifizieren, sofern diese in ausreichend reinem Zustand vorliegen. Durch Einführung und Weiterentwicklung der Gaschromatographie und der HPLC ^[20,21,22,23] wurde es im Laufe der letzten Jahre aber immer einfacher, diese benötigte Reinheit zu erhalten, besonders da GC und HPLC auch in präparativem Maßstab durchgeführt werden können. Durch die ständige Weiterentwicklung von Kopplungsmethoden, wie GC-MS, LC-MS/MS und LC-NMR ^[24,25], wird der Analyseprozess in Zukunft immer schneller ablaufen. Häufig kann dann sogar vollständig auf eine vorherige Aufreinigung verzichtet werden. Bei Durchführung dieser Techniken im Kapillarmaßstab werden für solche Analysen auch immer kleinere Substanzmengen benötigt. Z.B. konnten so 1996 von *Albert et al.* mittels Kapillar-HPLC-NMR-Kopplung aus einem Rohextrakt ¹H-NMR-Spektren bekannter Bittersäuren aus Hopfen erhalten werden ^[25].

2 Problemstellung

Die Analyse von Pflanzen- und Pilzinhaltsstoffen dient heutzutage verstärkt der Identifizierung von Verbindungen mit biologischer, speziell pharmakologischer Wirkung. So wird heutzutage vermehrt die Fähigkeit von Pilzen und Bakterien ausgenutzt, Verbindungen zu synthetisieren, die sie in freier Natur mangels geeigneter Vorläufer nicht produzieren würden, die aber gute Eigenschaften als Pharmaka, Duftstoffe oder z.B. Herbizide haben. So können viele natürlich synthetisierte Substanzen übersehen werden, die ebenfalls potentiell biologisch aktiv sind. Außerdem können möglichst vollständige Analysen der Inhaltsstoffe eines Pilzes Hinweise auf Biosynthesewege in der jeweiligen Spezies liefern. Vergleicht man die Anzahl der in einem Pilz vorhandenen Verbindungen (ermittelt z.B. durch HPLC) mit der Anzahl identifizierter Verbindungen, so stellt man fest, dass bei vielen Spezies bisher nur ein Bruchteil der vorhandenen Verbindungen wirklich identifiziert worden ist. Eine Ausnahme bildet hier der pharmakologisch hochwirksame Pilz *Ganoderma lucidum* (Glänzender Lackporling), aus dem allein über 100 Triterpenderivate isoliert und identifiziert wurden. Aber bei vielen Spezies ist die Situation anders. So sind z.B. aus dem Baumpilz *Fomitopsis pinicola* bis ins Ende der 1990-er Jahre lediglich zehn Triterpene und Steroide isoliert worden. Die Anwesenheit von weit mehr Inhaltsstoffen lässt sich aber mittels HPLC und auch DC feststellen. Da Pilze hohe Konzentrationen an Triterpenen und Steroiden aufweisen, bietet sich diese Substanzklasse für analytische Untersuchungen an. Einige Pilze enthalten auch größere Mengen anderer Substanzklassen wie z.B. aromatische Verbindungen, die dem Pilz möglicherweise als Lock- oder Duftstoffe dienen können.

In dieser Arbeit sollten ausschließlich Baumpilze untersucht werden. Baumpilze besitzen in der Regel eine höhere Konzentration an Triterpenderivaten als andere Spezies. Ein weiterer Vorteil von Baumpilzen ist der, dass sie mit einigen Ausnahmen vergleichsweise große Fruchtkörper ausbilden (bis zu 30 cm Breite), so dass genügend Analysematerial zur Verfügung steht. Meist ist schon die Menge, die sich an einem einzelnen Baum finden lässt ausreichend für eingehende Untersuchungen. Interessante Baumpilzarten lassen sich im gesamten Gebiet Deutschlands finden.

Im Zentrum dieser Arbeit stand die Identifizierung von Inhaltsstoffen aus dem Baumpilz *Fomitopsis pinicola* (Fichtenporling). Des weiteren wurden die Spezies *Daedalea quercina* (Eichenwirrling), *Daedaleopsis confragosa* var. *tricolor* (Rötende Tramete), *Fomes fomentarius* (Echter Zunderschwamm), *Ganoderma lipsiense* (Flacher Lackporling) und *Gloeophyllum odoratum* (Fenchelporling) untersucht.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war die Feststellung von Unterschieden der chemischen Zusammensetzung zwischen der Kruste, die Fruchtkörper einiger Spezies auf ihrer Oberseite ausbilden, und dem Rest der Fruchtkörper. Von den zu untersuchenden Spezies waren das *F. pinicola*, *F. fomentarius* und *G. lipsiense*.

Von allen Pilzarten sollten Extrakte angefertigt werden, wobei die eventuell vorhandene Kruste vorher abgetrennt und alle Materialien mit mehreren Lösungsmitteln steigender Polarität bearbeitet werden sollten. Die Analyse der Inhaltsstoffe sollte mittels gängiger Methoden wie GC, GC-MS und HPLC und die präparative Trennung über klassische Säulenchromatographie und Gelpermeationschromatographie durchgeführt werden. Die Identifizierung der Substanzen sollte hauptsächlich mittels ein- und zweidimensionaler NMR-Spektroskopie (^1H , ^{13}C , DEPT, COSY, HMQC, HMBC, NOESY) erfolgen. Einfache Moleküle sollten, wenn möglich, zum endgültigen Beweis synthetisiert werden.

3 Allgemeiner Teil

3.1 Steroide und Terpene

3.1.1 Allgemeines

1815 fand M.E. Chevreul im unverseifbaren Anteil tierischer Fette eine weiße kristalline Substanz, die mit dem Hauptbestandteil menschlicher Gallensteine identisch war. Diese Substanz wurde von ihm „cholestérine“ genannt (von griech. *chole*: Galle und *stereos*: fest). Nachdem später zahlreiche Verbindungen mit ähnlicher Struktur identifiziert werden konnten, wurden diese Verbindungen unter dem Begriff Steroide zusammengefasst. Triterpene sind isoprenoide Naturstoffe, die 30 Kohlenstoffatome enthalten. In den meisten Fällen bestehen sie aus dem Steroid-Grundgerüst des Gonans (6) und einer längeren Seitenkette. Man kann die Steroide in drei Gruppen einteilen: die Zoosterole, die in Tieren vorkommen und als Hauptvertreter das Cholesterol (5) haben (s. Abb. 1-3), die Phytosterole aus grünen Pflanzen (Hauptvertreter: Sitosterol (7) und Stigmasterol (8)) und die Mykosterole aus Pilzen (Hauptvertreter: Ergosterol (1) (s. Abb. 1-1)). Cholesterin ist bei den Tieren ein sehr wichtiger Bestandteil von Zellmembranen und reguliert unter anderem deren Fluidität. Es ist außerdem biogenetischer Vorläufer zahlreicher Hormone wie z.B. dem männlichen

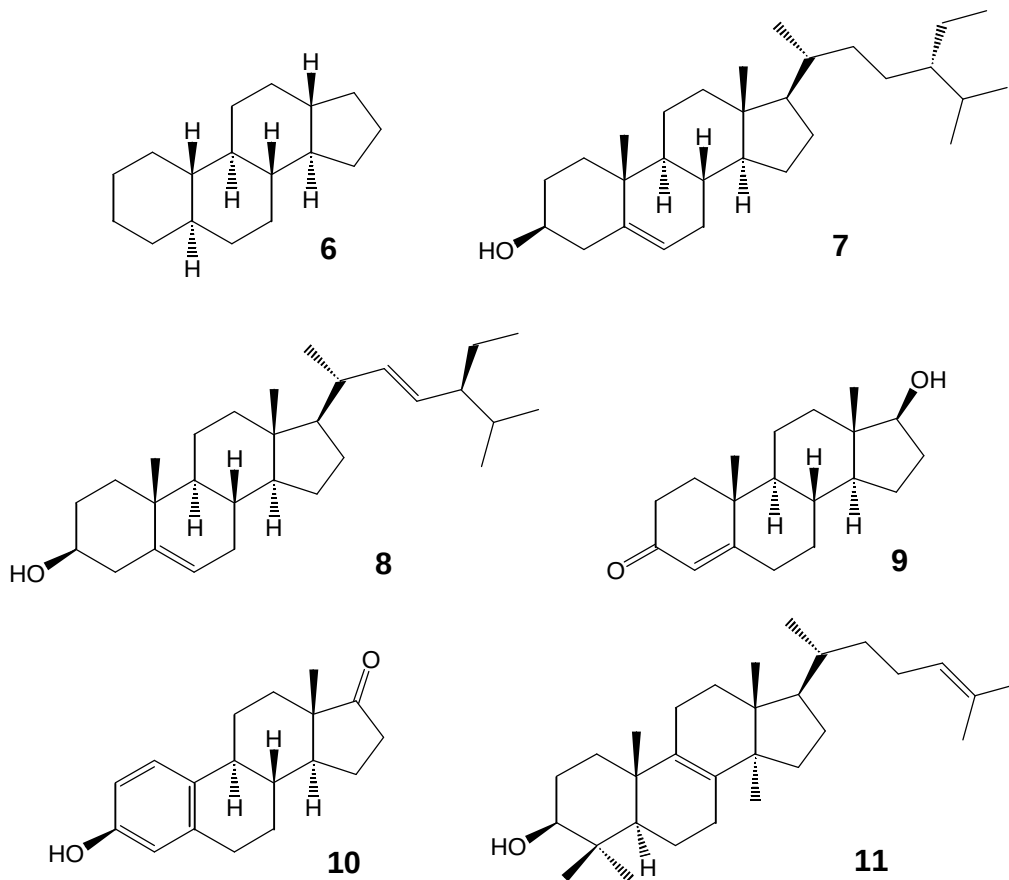


Abbildung 3-1: Beispiele für Steroide und Triterpene

Sexualhormon Testosteron (**9**) oder dem weiblichen Sexualhormon Östron (**10**)^[26].

Ergosterol spielt eine äußerst wichtige Rolle als Wachstumsfaktor in dem Großteil aller Pilzarten. Es existieren nur sehr wenige Spezies, in denen kein Ergosterol nachgewiesen werden kann. Nimmt man dem Pilz die Möglichkeit Ergosterol zu synthetisieren, so wird sein Wachstum dramatisch gehemmt oder sogar zum Stillstand gebracht. Solch ein Eingriff in die Biosynthese kann auf jedem beliebigen Schritt der Biosynthese des Triterpens Lanosterol (**11**), dem biogenetischen Vorläufer von Ergosterol in Pilzen, oder aber während der Metabolisierung des Lanosterols zu Ergosterol erfolgen^[6].

Obgleich die Triterpen-Derivate den größten Anteil an den terpenoiden Inhaltsstoffen in Pilzen bilden, produzieren sie ebenfalls einfache Monoterpene, teils komplexe und einzigartige Sesquiterpene sowie Diterpene, die allesamt hauptsächlich durch Wasserdampfdestillation gewonnen werden. Deren Konzentrationen sind allerdings mit einigen Ausnahmen im Vergleich zu den Konzentrationen der Triterpen-Derivate sehr klein. Die Isolierung und Identifizierung sesquiterpenoider Verbindungen unbekannter Struktur aus natürlich gewachsenen Pilzen erwies sich in der Vergangenheit als sehr schwierig^[27,28].

3.1.2 Nomenklatur steroidartiger Verbindungen

Da die IUPAC-Nomenklatur für relativ komplexe Moleküle wie Triterpene sehr umständlich ist, hat es sich bewährt, gewissen Grundgerüsten Trivialnamen zu geben. Die für diese Arbeit wichtigen Namen sind in Abbildung 3-2 gezeigt. Des weiteren ist die Nummerierung bei Triterpenen sowie die Bezeichnung der Ringe des Steroid-Grundgerüsts angegeben.

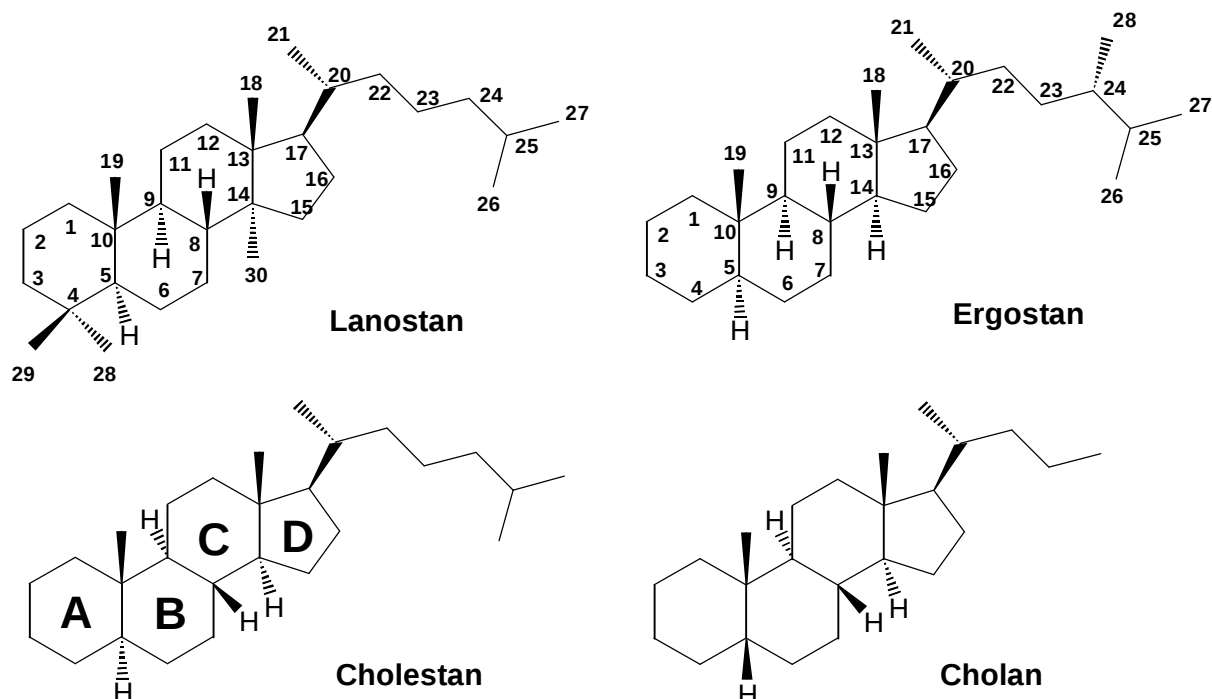


Abbildung 3-2: Nomenklatur einiger Grundgerüste, Nummerierung der Kohlenstoffe und Bezeichnung der Ringe im Steroid-Grundgerüst

3.1.3 Biogenese

Triterpene sind wie alle terpenoiden Verbindungen aus Isopreneinheiten aufgebaut. Neben den Triterpenen, die aus sechs Isopreneinheiten (30 Kohlenstoffatomen) bestehen, existieren die Monoterpene (2 Isopreneinheiten/10 Kohlenstoffe, z.B. Limonen (**12**)), die Sesquiterpene (3/15, z.B. 6-Protoilluden (**13**)), die Diterpene (4/20, z.B. Abietatrien (**14**)), die seltenen Sesterterpene (5/25), die Tetraterpene (8/40, z.B. β -Carotin (**15**)) und die Polyterpene (z.B. Kautschuk (**16**)) (s. Abb. 3-2). Diese „Isoprenregel“ wurde 1953 von *Ruzicka* etabliert^[29]. Im Allgemeinen wird angenommen, dass die für die Biogenese von Sesqui- und Triterpenen benötigten Isopreneinheiten aus Mevalonsäure entstehen^[30]. Dabei entsteht zunächst das Dimethylallylpyrophosphat (DPP), das im Gleichgewicht mit dem Isopentenylpyrophosphat (IPP) steht. Drei dieser Moleküle werden gekoppelt zum Farnesylpyrophosphat (FPP), aus dem alle Sesquiterpene entstehen. Durch Kondensation zweier FPP-Einheiten entsteht das Squalen, ein acyclischer Triterpen-Kohlenwasserstoff. Dieser wird zunächst durch die Squalen-2,3-epoxidase katalysiert mittels Luftsauerstoff zum 2,3-Epoxysqualen umgesetzt. In Pilzen wird nun das 2,3-Epoxysqualen mittels einer 2,3-Epoxysqualencyclase unter Wanderung zweier Methylgruppen zum Lanosterol cyclisiert (Abb. 3-4). Lediglich in grünen Pflanzen ist das Produkt der Cyclisierung das Cycloartenol (**17**). Aus Lanosterol werden durch Oxygenierungen, Isomerisierungen, Cyclisierungen,

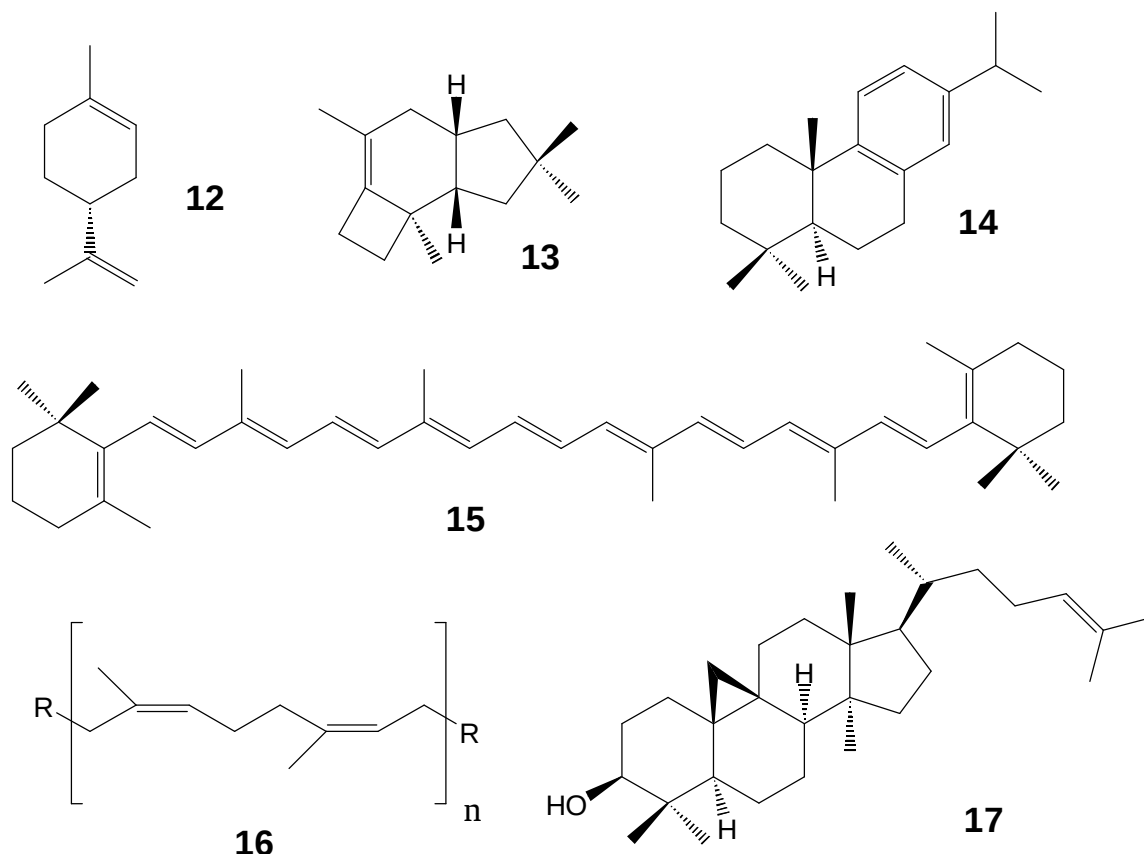


Abbildung 3-3: Verschiedene Terpene

Reduktionen und Abbaureaktionen die zahlreichen Triterpene und Triterpen-Derivate, die in Baumpilzen gefunden werden können, gebildet ^[6]. Aus Lanosterol wird je nach Pilzart auf unterschiedlichen Wegen auch das Ergosterol gebildet. In Fadenpilzen, zu denen auch die Baumpilze gehören wird Lanosterol zunächst über S-Adenosylmethionin in Position 24 methyliert und zum 24-Methylen-24,25-dihydrolanosterol umgewandelt. Im Gegensatz dazu werden z.B. in Hefepilzen zunächst die drei Methylgruppen an Position 4 und 14 abgebaut und es entsteht Zymosterol (Cholesta-8,24-dien-3 β -ol). 24-Methylen-24,25-dihydrolanosterol wird in Position 4 mittels einer Cytochrom P-450 Oxidase unter Abspaltung von Formiat demethyliert. Daraufhin wird zunächst die α -ständige Methylgruppe an C-4 abgebaut. Nach Epimerisierung an Position 4 wird dann auch die verbleibende Methylgruppe entfernt und es entsteht Fecosterol. Durch Doppelbindungsisomerien und Reduktionen, die von Spezies zu Spezies unterschiedlich ablaufen entsteht letztendlich Ergosterol (Abb. 3-5) ^[6].

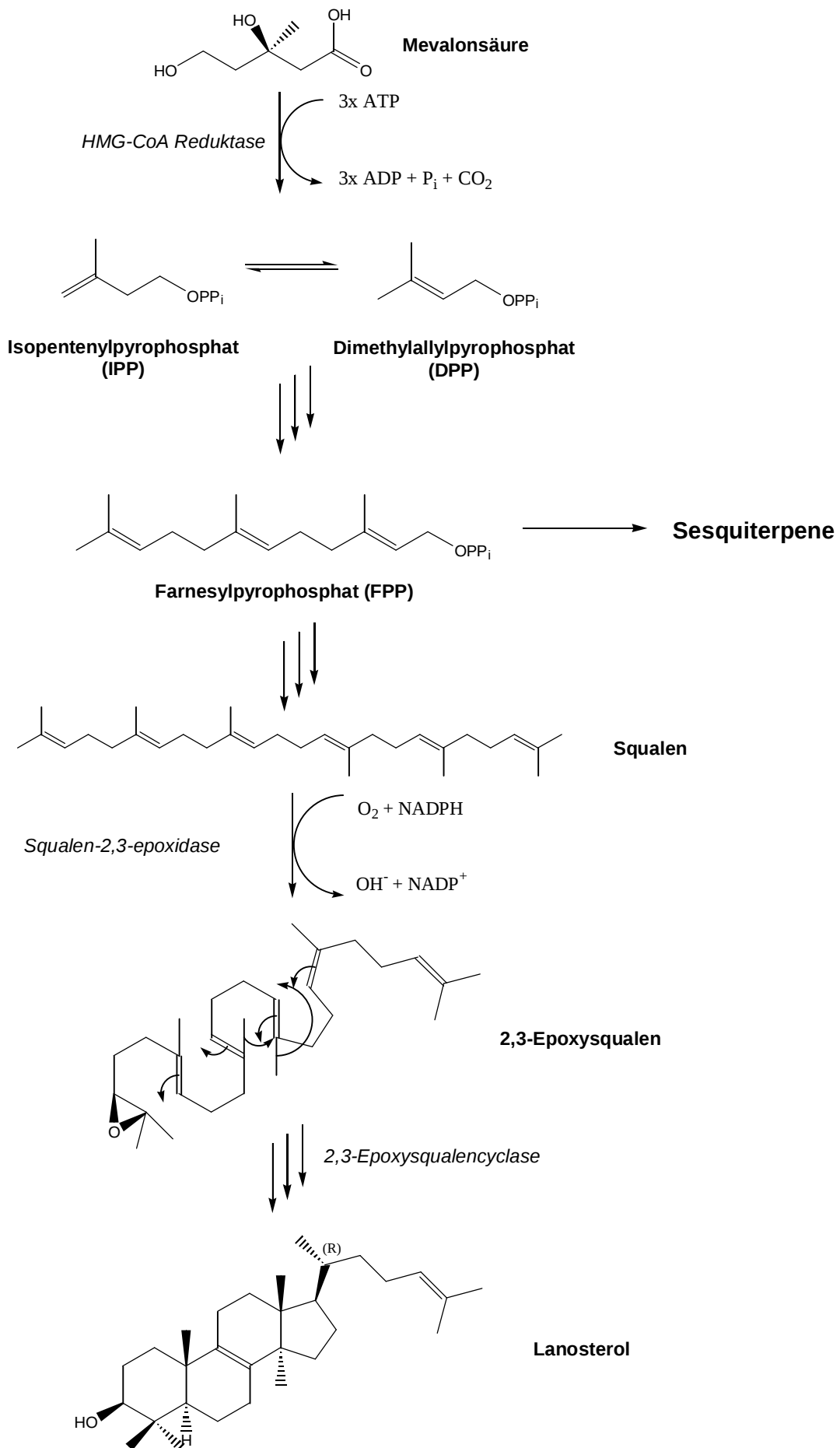


Abbildung 3-4: Biogenese des Lanosterols in Pilzen und Tieren

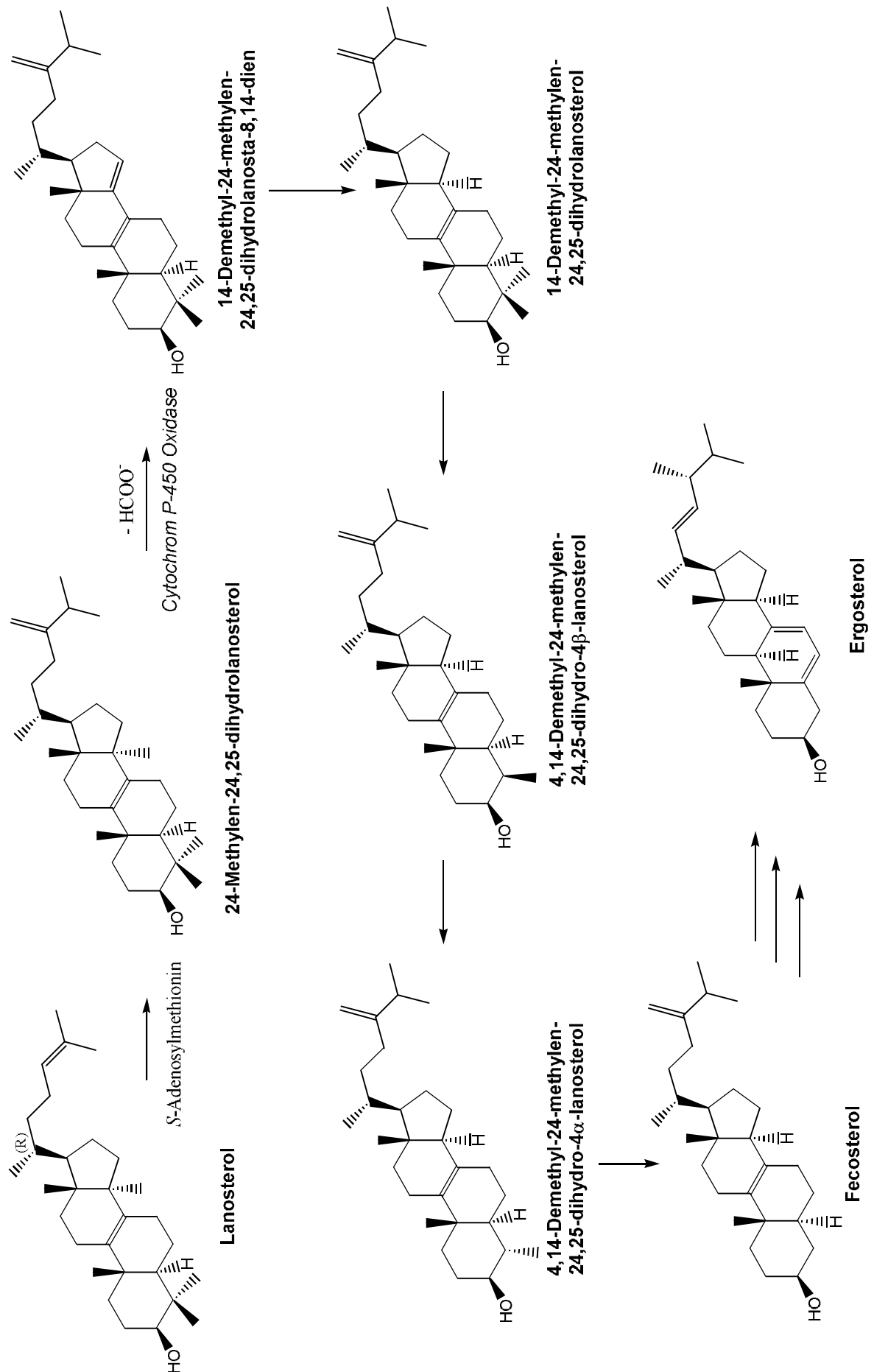


Abbildung 3-5: Ergosterol-Biogenese in Baumpilzen

3.1.4 Pharmakologisch wirksame Pilzinhaltsstoffe

Zahlreiche Pilzinhaltsstoffe zeigen bemerkenswerte pharmakologische Wirkungen, allen voran die Penicilline, die heutzutage mit neun Milliarden US-\$ den größten Anteil am 16 Milliarden US-\$ betragenden Umsatz aller auf dem Markt befindlicher Antibiotika innehaben ^[3]. Aber auch terpenoide Inhaltsstoffe haben große Bedeutung. So wird z.B. Ergosterol, aus dem durch UV-Bestrahlung Ergocalciferol (Vitamin D₂) hergestellt wird, heutzutage durch Fermentation mit den Hefepilzen *Saccharomyces cerevisiae* und *S. uvarum* produziert. Aber auch Triterpen-Derivate können bemerkenswerte antibiotische Eigenschaften besitzen. Zu diesen gehört z.B. die Fusidinsäure (s. Abb. 3-6) ^[3]. Des weiteren isolierte Steglich 1981 z.B. aus Kulturen von *Pleurotellus hypnophilus* das antibiotisch wirksame Sesquiterpen-Derivat Pleurotellol (s. Abb. 3-6) ^[31].

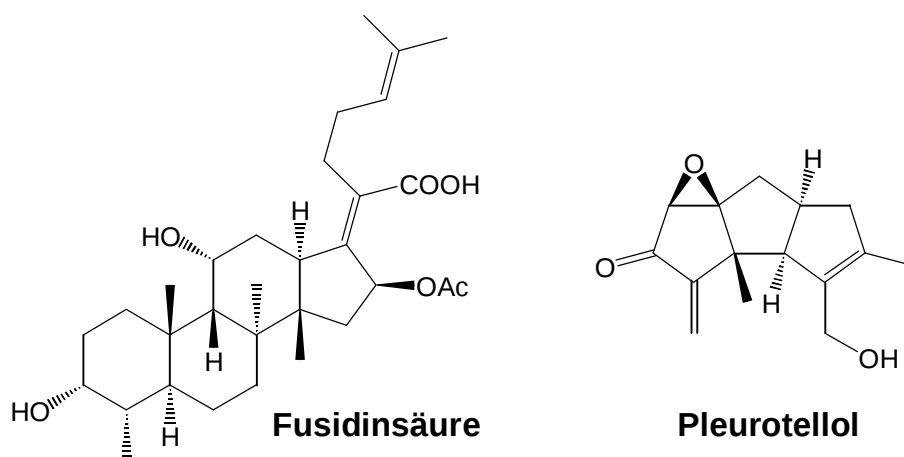


Abbildung 3-6: Antibiotika aus Pilzen

3.2 Weitere Pilzinhaltsstoffe

3.2.1 Fettsäuren, Kurzkettige Alkohole, Ketone und Aldehyde

Pilze enthalten hohe Konzentrationen der verschiedensten Fettsäuren, wobei die Linolsäure ((Z,Z)-9,12-Octadecadiensäure) häufig am höchsten konzentriert vorliegt ^[27,28,32]. Pilze sind auch dazu in der Lage, die ungewöhnlichen Fettsäuren mit ungerader Kohlenstoffanzahl sowie zahlreiche andere seltene Fettsäuren zu synthetisieren ^[32-34]. Die Linolsäure ist erwiesenermaßen der biogenetische Vorläufer zahlreicher Alkohole, Ketone und Aldehyde mit Kettenlängen von C₇ bis C₁₂ ^[35]. Der wichtigste Vertreter dieser Gruppe ist ohne Zweifel das 1-Octen-3-ol, der „Pilzalkohol“, dessen (R)-(-)-Enantiomer in den meisten Pilzarten für den typischen Pilzgeruch verantwortlich ist ^[35]. Allerdings produzieren einige Pilzarten, z.B. *Fomes fomentarius*, fast ausschließlich das deutlich geruchsschwächere (S)-(+)-Enantiomer ^[27].

3.2.2 Aromatische Verbindungen

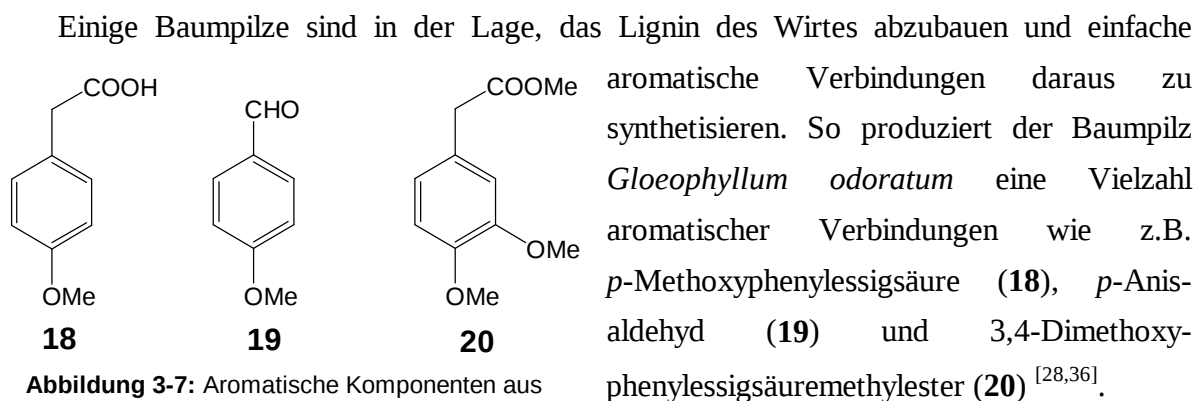


Abbildung 3-7: Aromatische Komponenten aus *Gloeophyllum odoratum*

3.3 Taxonomie der Pilze

Das Reich (*Regnum*) der Pilze (*Fungi*) wird unterteilt in drei Abteilungen: *Basidiomycota*, *Ascomycota* und *Zygomycota* (Endung *-mycota*). Des weiteren existieren die *Deuteromycota*. Letztere sind Pilze, die nicht eindeutig zu den *Basidiomycota* oder den *Ascomycota* gezählt werden können. Die Abteilungen können in Unterabteilungen (Endung *-mycotina*) aufgeteilt werden. Die Unterabteilungen sind wiederum in Klassen (*-mycetes*), die Klassen in Unterklassen, die Unterklassen in Ordnungen, die Ordnungen in Familien, die Familien in Gattungen und die Gattungen in Arten (Spezies) unterteilt. Wenn mehrere Varietäten existieren, so wird hinter der Artbezeichnung noch dessen Bezeichnung angegeben (z.B. *Daedaleopsis confragosa* var. *tricolor*). Hinter den Namen der Art werden wie bei allen systematischen Bezeichnungen die Namen der Autoren (häufig in Abkürzungen) genannt, die diesen Pilz so eingeordnet haben. Tabelle 3-1 zeigt als Beispiel die vollständige Zuordnung des Baumpilzes *Ganoderma lucidum* (Fr.) P. Karst^[2,4].

Tabelle 3-1: Einordnung der Art <i>Ganoderma lucidum</i> in das Reich der Pilze	
Abteilung	Basidiomycota
Unterabteilung	Basidiomycotina
Klasse	Basidiomycetes
Unterklasse	Hymenomycetidae
Ordnung	Poriales
Familie	Ganodermataceae
Gattung	<i>Ganoderma</i>
Art	<i>Ganoderma lucidum</i>

3.4 Morphologie und Verbreitung der Baumpilze

Das Leben eines Pilzes beginnt mit dem Eindringen einer Sproßzelle (Keimhyph) in den Baum. Hyphen sind fädige Vegetationsorgane, in der einzelne Zellen in einer Kette aneinandergereiht sind. Die Gesamtheit der Hyphen wird als Myzel bezeichnet. Durch Fanghyphen und andere Haftorgane siedelt sich der Pilz sodann in dem Baum an und über Infektionshyphen beginnt der Pilz, dem Baum Nährstoffe zu entziehen. Durch Laufhyphen oder Sproßkolonien breitet sich der Pilz daraufhin im Wirt aus und erhöht seine Biomasse. Alle bisher genannten Vorgänge finden in der vegetativen Phase statt. Die fruktifikative (reproduktive) Phase beginnt bei Baumpilzen mit dem Ausbilden von Fruchtkörpern außerhalb des Baumes. Die Fruchtkörper bestehen im allgemeinen aus locker geflochtenen

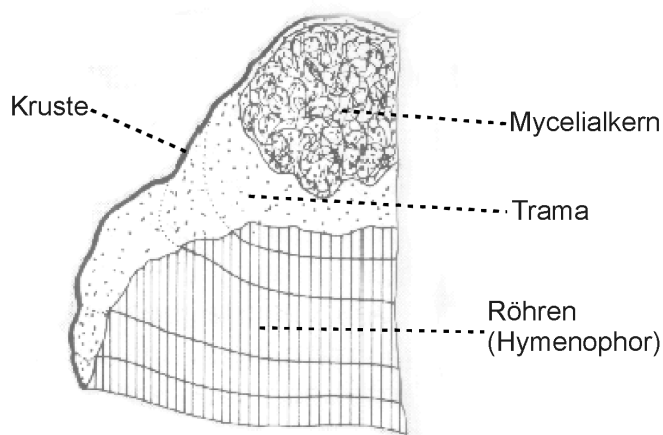


Abbildung 3-8: Aufbau eines Baumpilzfruchtkörpers am Beispiel von *Fomes fomentarius* [4]

Hyphen, dem Trama und dem Hymenophor (Träger des Hymeniums), das bei mehrjährigen Spezies, analog der Jahresringe in Baumstämmen, aus mehreren aufeinander liegenden Röhrenschichten besteht, die jedes Jahr neu gebildet werden (s. Abb 3-8). Im Hymenium bilden sich bei den Basidiomyceten, die sich sexuell vermehrende Pilze sind, an den Basidien die Basidiosporen. Diese werden von einigen Pilzarten aktiv in die Umgebung

abgegeben und andere benötigen dazu äußere Einflüsse (Wind, Erschütterungen). Einmal freigesetzte Basidiosporen werden von Wind, Wasser, Tieren oder Menschen als Vehikel verbreitet und können in geeigneten Wirten neue Sproßzellen ausbilden^[2,37].

Baumpilze können parasitisch oder saprophytisch leben. Parasiten lagern sich an lebendes Pflanzenmaterial an und bringen es zum Absterben. Saprophytisch lebende Arten befallen nur bereits abgestorbenes Material. Es existieren auch Arten, die zu beiden Formen befähigt sind. Baumpilze können Weißfäule oder Braunfäule erzeugen. Weißfäule erregende Pilze entziehen dem Baum hauptsächlich das braun gefärbte Lignin, ein vernetztes, kompliziertes Polymer aus verschiedensten aromatischen Bausteinen, und lassen die weiß gefärbte Cellulose zurück. Pilze, die Braunfäule erzeugen, lassen den größten Teil des Lignins zurück und entziehen dem Baum hauptsächlich die Cellulose^[2].

3.5 Untersuchte Pilzarten

3.5.1 Taxonomische Zuordnung

Alle in dieser Arbeit untersuchten Spezies gehören der Abteilung *Basidiomycota*, der Unterabteilung *Basidiomycotina*, der Klasse *Basidiomycetes*, der Unterklasse *Hymenomycetidae* sowie der Ordnung *Poriales* an. Die weiteren taxonomischen Zuordnungen sind in Tabelle 3-2 aufgelistet.

Tabelle 3-2: Taxonomische Zuordnung der untersuchten Spezies			
Spezies	<i>Fomitopsis pinicola</i>	<i>Daedalea quercina</i>	<i>Daedaleopsis confragosa</i> var. <i>tricolor</i>
Familie	Poriaceae	Poriaceae	Poriaceae
Gattung	<i>Fomitopsis</i>	<i>Daedalea</i>	<i>Daedaleopsis</i>
Spezies	<i>Gloeophyllum odoratum</i>	<i>Fomes fomentarius</i>	<i>Ganoderma lipsiense</i>
Familie	Poriaceae	Poriaceae	Ganodermataceae
Gattung	<i>Gloeophyllum</i>	<i>Fomes</i>	<i>Ganoderma</i>

3.5.2 *Fomitopsis pinicola* (Sw.: Fr.) P. Karst. (Fichtenporling)

Synonyme für diese Spezies sind *Polyporus pinicola* Fr. und *Fomes pinicola* (Autor nicht bekannt). Der Fichtenporling (auch als Rotrandiger Baumschwamm bekannt) ist ein Braunfäule erzeugender Pilz, der schwache oder abgestorbene Fichten und seltener auch Tannen und Buchen befällt. Junge Fruchtkörper dieses mehrjährigen Pilzes sind rein weiß. Ältere bilden eine orange-rote wachsartige, harzige Kruste auf ihrer Oberseite aus, die im Alter eine blaue bis dunkelgraue Färbung annimmt, wobei ein roter Rand immer erhalten bleibt (s. Abb. 3-9). Die Fruchtkörper können eine Breite von bis zu 30 cm erreichen. Ihre einzigartige Färbung macht diese Spezies unverwechselbar. Lediglich mit einigen *Ganoderma*-Arten könnte er verwechselt werden, die allerdings ausnahmslos braunes Fleisch besitzen, während das Fleisch von *F. pinicola* weiß bis blass holzfarben und sehr zäh ist. Zusätzlich scheiden junge Fruchtkörper auf ihrer Unterseite wässrige Tropfen aus. Die Bezeichnung „Porling“ bedeutet, dass der Pilz in der Lage ist, störende Gegenstände zu umwachsen. Die meisten Pilze haben eine vorbestimmte Form, von der nicht abgewichen werden kann ^[4,37].



Abbildung 3-9:
Fomitopsis pinicola (Sw.: Fr.) P. Karst.
(Foto: Michael Wood)



Abbildung 3-10:
Daedalea quercina (L.) Pers. [4]



Abbildung 3-11:
Daedaleopsis confragosa var.
tricolor (Bull.) Bondarzew [4]



Abbildung 3-12:
Gloeophyllum odoratum
(Wulf.: Fr.) Imazeki [4]



Abbildung 3-13:
Fomes fomentarius (L.) Fr.



Abbildung 3-14:
Ganoderma lipsiense
(Batsch) G.F.Atk.

In der Vergangenheit konnten elf Triterpene und Steroide aus diesem Pilz isoliert und identifiziert werden, die in Tabelle 3-3 und Abbildung 3-15 aufgeführt sind. *Keller et al.* konnten 1996 antibakterielle Wirkungen der Verbindungen **2**, **21**, **22**, **26** und **30** in einem DC-Assay gegen *Bacillus subtilis* feststellen ^[12]. Das und die Tatsache, dass getrocknete und zermahlene Fruchtkörper von *F. pinicola* und dem verwandten Pilz *Fomitopsis officinalis* in vielen Kulturen unter anderem zur Blutstillung, zur Entzündungshemmung und als homöopathisches Mittel zur Krebsvorsorge verwendet werden ^[5], macht die Untersuchung dieses Pilzes sehr interessant im Hinblick auf die Isolierung potentiell biologisch aktiver Inhaltsstoffe.

Tabelle 3-3: Bekannte Verbindungen aus <i>Fomitopsis pinicola</i>			
Verbindung	Lit.	Verbindung	Lit.
Pinicolsäure A (2) (s. Abb. 1-2)	[11,12]	Fomitopssäure (27)	[12]
Trametenolsäure B (21)	[12,38]	Ergosta-7,22-dien-3 β -ol (26)	[12,40]
3 α -Acetoxylanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (22)	[12]	Pachymsäure (28)	[12]
21-Hydroxylanosta-8,24-dien-3-on (23)	[12,40]	Eburicosäure (29)	[41]
21-Hydroxylanosta-7,9(11),24-trien-3-on (24)	[40,41]	Polyporensäure C (30)	[12,38,39]
Lanosta-7,9(11),24-trien-3 β ,15-diol (25)	[40]		

1996 konnten von *Striegler* und *Haslinger* einige Cerebroside aus Extrakten dieses Pilzes isoliert und identifiziert werden ^[42].

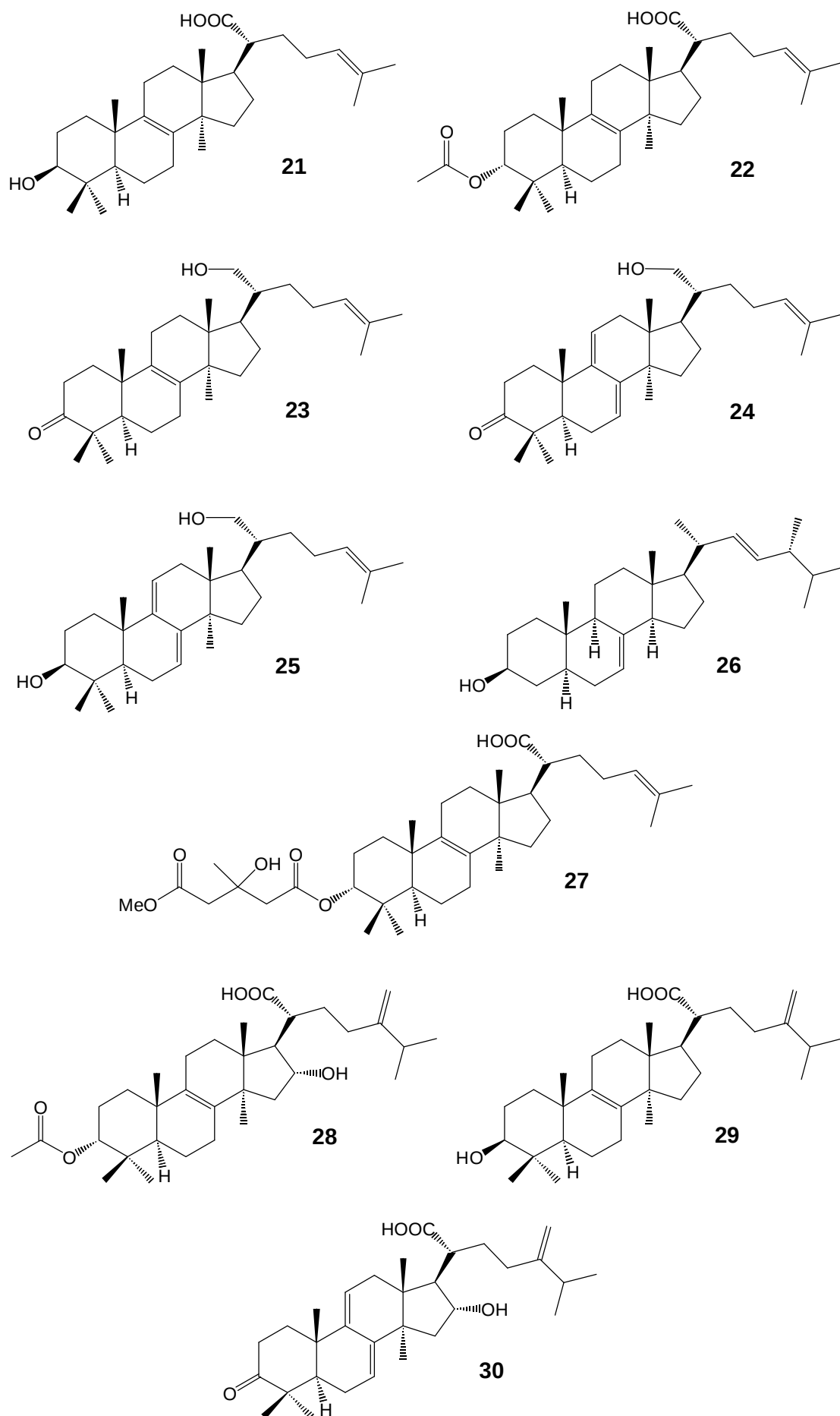


Abbildung 3-15: Bekannte Triterpen-Derivate aus *F. pinicola*

3.5.3 *Daedalea quercina* (L.) Pers. (Eichenwirrling)

Ein Synonym für diese Spezies ist *Trametes quercina* (L.) Pilát. Der Eichenwirrling (auch als Eichen-Tramete bekannt) ist ein Braunfäule erzeugender, mehrjähriger Pilz, der als Wundparasit oder Saprophyt an Stämmen oder Stümpfen von Eichen wächst (s. Abb 3-10). Viel seltener kann er auch an Edelkastanie, Pappel oder Robinie gefunden werden. Die Oberseite seiner Fruchtkörper ist uneben und blass holzbraun gefärbt. Sein besonders grob angelegtes, fast rein lamelliges (daedaloides) Hymenophor macht ihn unverwechselbar. Seine Fruchtkörper (Hüte) sind sehr häufig gruppenweise oder in Reihen miteinander verwachsen und erreichen eine Breite von bis zu 20 cm. Eine Besonderheit dieser Spezies ist, dass, wie bei anderen mehrjährigen Spezies, nicht jedes Jahr eine neue Röhrenschicht gebildet wird. Das Hymenium wächst einfach in jedem Jahr weiter (Catahymenium) ^[4].

In der Vergangenheit konnten lediglich vier Triterpen-Derivate aus Fruchtkörpern des Eichenwirrlings isoliert werden. Diese sind das Ergosterol (**1**) ^[9,35], 5 α ,8 α -Epidioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol (Ergosterolperoxid) (**31**) ^[9,35], Ergosta-7,22-dien-3 β -ol (**26**) ^[9,35], die allesamt als häufig vorkommende Pilzinhaltsstoffe bekannt sind, und das mit Malonsäure veresterte Homotriterpen 3 α -Carboxyacetox-24-methyl-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure (3 α -Carboxyacetoxiquercinsäure) (**3**) ^[13] (s. Abb. 3-16). Es wird angenommen, dass **31** ein Artefakt des Ergosterols ist, das durch Einwirkung von Luftsauerstoff und Licht auf Extrakte dieses Pilzes entsteht. Sensibilisiert würde diese Reaktion durch eine Vielzahl anderer Inhaltsstoffe ^[36]. Ergosterol lässt sich weiterhin durch Luftsauerstoff und Einsatz geeigneter Sensibilisatoren (z.B. Eosine) präparativ in **31** überführen ^[37]. *Lindequist et al.* konnten ferner antivirale Wirkungen von **31** feststellen ^[38]. *Chairul et al.* konnten 1990 die absolute Konfiguration des Dimethylesters von **3** mittels Röntgenstrukturanalyse bestimmen, nachdem sie diese Verbindung aus einer ihnen unbekannten *Ganoderma*-Art isoliert hatten ^[39]. Des weiteren konnten einige ungewöhnliche Fettsäuren aus *D. quercina* isoliert werden ^[40].

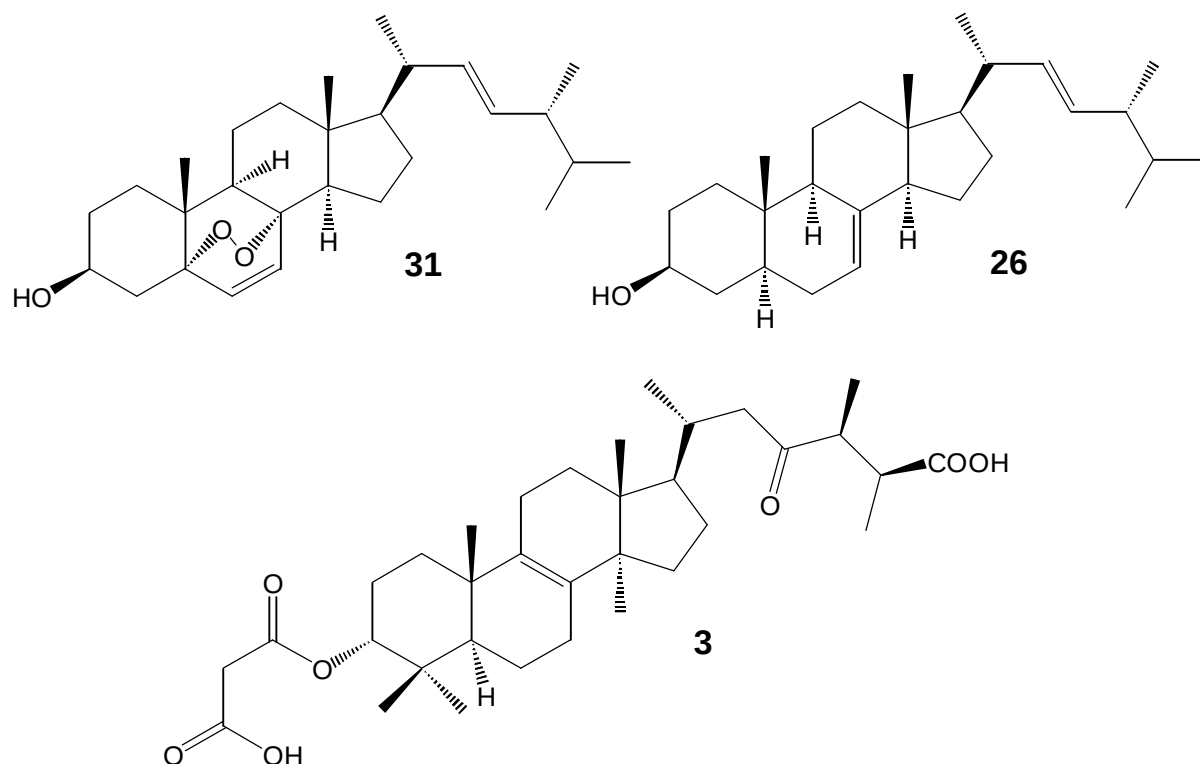


Abbildung 3-16: Bekannte Verbindungen aus *Daedalea quercina*

3.5.4 *Daedaleopsis confragosa* var. *tricolor* (Bull.) Bondarzew (Rötende Tramete)

Synonyme für diese Spezies sind *Lenzites tricolor* (Bull.) und *Daedaleopsis tricolor* (Bull.: Fr.) Bond. et Sing. Sie ist abzugrenzen von der anderen Varietät *Daedaleopsis confragosa* var. *confragosa* (Bolton: Fr.) J. Schröt. [Synonym: *Trametes confragosa* (Bolton: Fr.) Joerst.]. Die Rötende Tramete ist ein Weißfäule erzeugender Pilz, der als Saprophyt auf verschiedenen Laubhölzern, vor allem an Traubenkirschen, Birken und Weiden wächst (s. Abb. 3-11). Sie bildet flache, fächerförmige Hüte von bis zu 12 cm Breite aus, die auf deren Oberseiten in mehreren Rotbrauntönen farbig gezont sind. Das Hymenophor ist fast rein lamellig und verfärbt sich bei frischen Fruchtkörpern bei Druckausübung rötlich. Junge Exemplare können mit der Art *Trametes gibbosa* verwechselt werden, die allerdings weißes Fleisch besitzen, während *D. confragosa* braunes Fleisch hat ^[4].

Diese Spezies wurde in der Vergangenheit nicht auf terpenoide Inhaltsstoffe hin untersucht. Lediglich einige ungewöhnliche Hydroxyfettsäuren konnten aus Extrakten isoliert werden, die auch in *Daedalea quercina* gefunden wurden ^[40]. Wässrigen Extrakten dieser Spezies wurden in der Vergangenheit Antitumor-Wirkungen zugeschrieben ^[5,41].

3.5.5 *Gloeophyllum odoratum* (Wulf.: Fr.) Imazeki (Fenchelporling)

Synonyme für diese Spezies sind *Osmoporus odoratus* (Wulf.: Fr.) Sing. und *Trametes odorata* (Wulf.) Fr. Der Braunfäule erzeugende Fenchelporling (auch Fenchel-Tramete) lebt saprophytisch und wächst ganzjährig an Stümpfen von Fichten und seltener an Kiefern. Er ist häufig im Gebirge zu finden. Er hat eine orange-gelbliche bis grau-schwärzliche Färbung und bildet wulstige Konsolen (s. Abb. 3-12). Das Fleisch und das Hymenophor sind rostbraun gefärbt. Unverwechselbar macht diesen Pilz der intensive Geruch nach Fenchel und Anis. Nur die Wohlriechende Tramete *Trametes suaveolens* besitzt einen ähnlichen Geruch, ihre Fruchtkörper sind allerdings weiß und unterscheiden sich in ihrer Größe deutlich von denen von *G. odoratum* ^[4].

Eben dieser Duft machte den Fenchelporling in der Vergangenheit zum Ziel zahlreicher Untersuchungen seiner flüchtigen Inhaltsstoffe. Dabei wurden eine Vielzahl Mono- und Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffe, -Alkohole und -Ketone ^[50,51] sowie zahlreiche Fettsäuren und die Hauptkomponente der Wasserdampfdestillate natürlich wachsender Fruchtkörper, der *p*-Methoxyphenylessigsäuremethylester (**33**) sowie *p*-Anisaldehyd (**19**) identifiziert ^[36,52]. Einige Beispiele sind in Abbildung 3-17 angegeben (s. auch Abb. 3-7). Mit Ausnahme von **33** konnten diese Verbindungen, nicht im Wasserdampfdestillat, sondern nur in Extrakten gefunden werden ^[28,36].

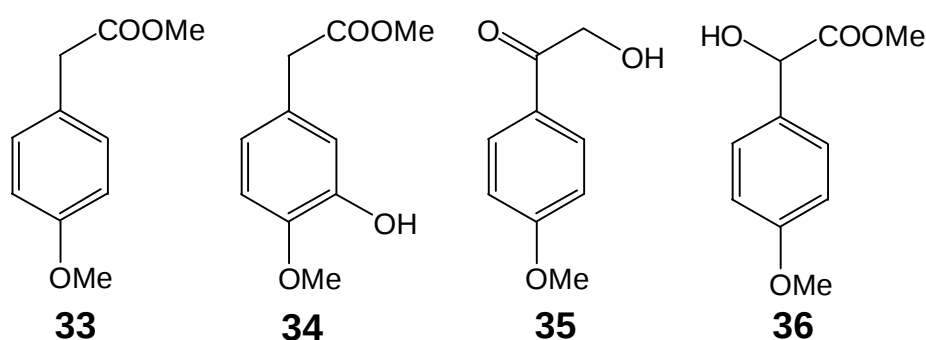


Abbildung 3-17: Einige aromatische Komponenten aus *Gloeophyllum odoratum*

Da Pilze in der Lage sind, bei Veränderung der äußeren Gegebenheiten (z.B. Änderung des Mediums in Flüssigkulturen) die Art der von ihnen synthetisierten Verbindungen stark zu ändern, wurden in der Vergangenheit auch von *G. odoratum* Flüssigkulturen angelegt, unter anderem, um gezielt Duftstoffe zu produzieren. So konnten aus Flüssigkulturen auch zahlreiche Verbindungen isoliert werden, die der Pilz in freier Natur nicht produziert ^[53-56].

Neben den oben genannten Verbindungen wurden auch Ergosterol (**1**) und Trametenolsäure B (**21**) (s. Kap. 3.5.2) aus Fruchtkörpern dieser Spezies isoliert ^[9,57].

3.5.6 *Fomes fomentarius* (L.) Fr. (Echter Zunderschwamm)

Der Echte Zunderschwamm, für den keine Synonyme existieren, ist ein mehrjähriger Pilz, der Weißfäule erzeugt und parasitisch an geschwächten Buchen und Birken, seltener

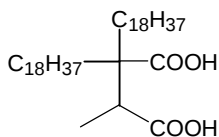
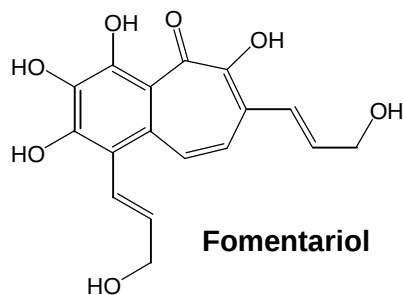


Abbildung 3-18: Fomentariol und Fomentarsäure

auch an anderen Laubbäumen wächst (s. Abb. 3-13). Die Fruchtkörper besitzen eine auf ihrer Oberfläche hellbraune bis schwarze fein zonierte Hutkruste, die darunter eine intensiv violette Farbe besitzt. Er kann mit einigen *Ganoderma*- und *Phellinus*-Arten verwechselt werden. Ein

zuverlässiger Test ist aber das Auflösen der Kruste in verdünnter Kalilauge, die letztere intensiv rotviolett färbt. Dieses Phänomen ist einzigartig bei *F. fomentarius* ^[4]. Diese Färbung wird hauptsächlich durch das Pigment Fomentariol erzeugt, das 1974 von *Arpin et al.* erstmals isoliert ^[58] und 1978 von *Steglich und Zechlin* synthetisiert wurde (Abb. 3-18) ^[59]. Ein weiterer Inhaltsstoff, die Fomentarsäure, wurde 1967 von *Singh und Rangaswami* identifiziert ^[60] und unter anderem 1987 von *Belletire und Fry* synthetisiert (Abb. 3-18) ^[61].

Die flüchtigen Inhaltsstoffe von *F. fomentarius* wurden in einer früheren Arbeit eingehend untersucht ^[27], wobei Fettsäuren sowie kurzkettige Alkohole (z.B. (S)-(+)-1-Octen-3-ol), Ketone und Aldehyde einen großen Anteil davon bilden. 1958 wurde von *Arthur et al.* das Steroid Ergosta-7,22-dien-3-on (**37**), das heute als Inhaltsstoff vieler Spezies bekannt ist, isoliert ^[62]. 1965 isolierten *Singh und Rangaswami* zusätzlich Ergosterol (**1**) und Ergosta-4,6-dien-3-on (Isoergosteron) (**38**) ^[63] (s. Abb. 3-19).

Hier sei nochmals erwähnt, dass *F. fomentarius* eine der beiden Pilzarten ist, die als Beigabe der Gletschermumie vom Hauslabjoch gefunden wurden (s. Kap. 1.1) ^[1].

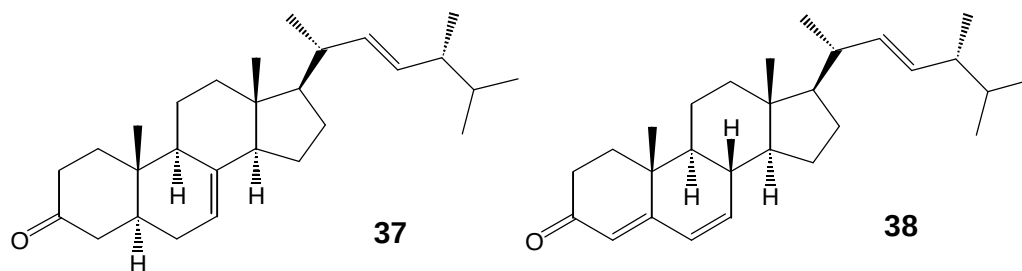


Abbildung 3-19: Bekannte Inhaltsstoffe aus *Fomes fomentarius*

3.5.7 *Ganoderma lipsiense* (Batsch) G.F.Atk. (Flacher Lackporling)

Synonyme für diese Spezies sind *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. und *Fomes applanatus* Gill. Diese mehrjährige, Weißfäule erregende Art ist ganzjährig an abgestorbenem Laubholz und sehr selten an Nadelholz zu finden. Sie besitzt eine braun gefärbte, lackartige Kruste auf der Oberseite ihrer Fruchtkörper (s. Abb. 3-14). Die Unterseite ist weiß und verfärbt sich auf Druck schnell dunkelbraun. In der Zeit vom Frühjahr bis Herbst ist die Oberfläche der Fruchtkörper zusätzlich mit Sporen braun bepudert ^[4].

Diese Spezies ist eng verwandt mit der Art *Ganoderma lucidum*, deren zermahlene Fruchtkörper in der traditionellen chinesischen Medizin schon seit 4000 Jahren in der Behandlung von z.B. Hepatitis, Arthritis, Bronchitis und Asthma angewendet werden ^[5]. Auch *G. lipsiense* wird in der traditionellen chinesischen Medizin, z.B. bei Erkältungen oder zum Schmerzstillen verwendet, die Anzahl der Anwendungen reicht aber bei weitem nicht an die von *G. lucidum* heran ^[5]. Eben diese breite Verwendung in der traditionellen chinesischen Medizin veranlasste eine große Zahl von Arbeitsgruppen in der Vergangenheit dazu, Spezies der Gattung *Ganoderma* auf deren Inhaltsstoffe hin zu untersuchen. So konnten seit 1982 aus *G. lucidum* über 100 verschiedene Triterpen-Derivate isoliert und identifiziert werden ^[64-81]. Zahlreiche dieser Verbindungen zeigen diverse biologische Aktivitäten ^[69,71,82]. So sind die Ganoderensäuren (Abb. 3-20) z.B. in der Lage, die Cholesterol-Synthese in Ratten zu inhibieren ^[83]. Aber *G. lucidum* enthält auch biologisch aktive Substanzen anderer Klassen. So inhibiert z.B. ein *S*-Diastereomer des 5'-Desoxy-5'-methylsulphinyladenosen (Abb. 3-20) die Blutgerinnung ^[84]. Des weiteren konnte z.B. ein Polysaccharid aus *G. lucidum* isoliert werden ^[85].

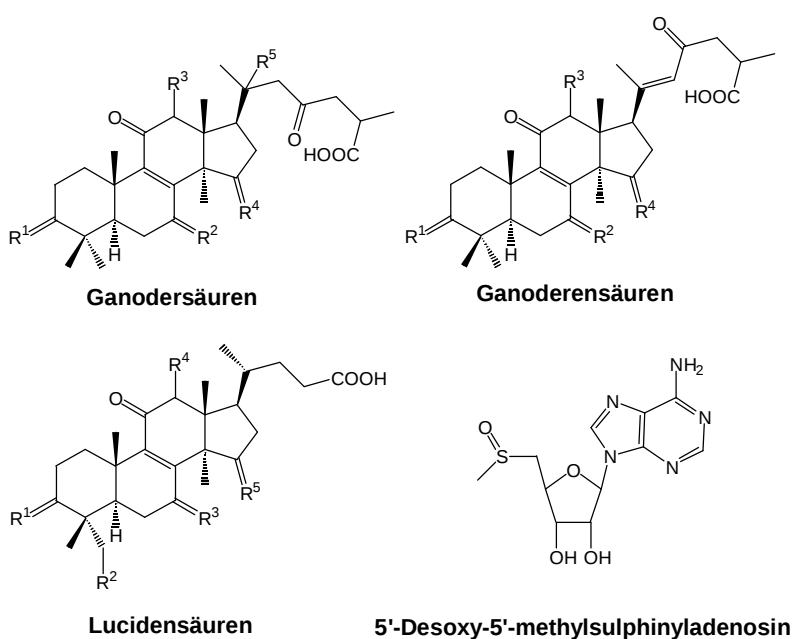


Abbildung 3-20: Verbindungen aus *Ganoderma lucidum*

Der Grund, weshalb die Spezies *G. lucidum* in diesem Kapitel so intensiv behandelt wurde, ist der, dass Verbindungen, die in der Vergangenheit aus *G. lipsiense* isoliert wurden, teils sehr ähnlich oder sogar die gleichen sind. Es wurden bereits Friedelin (39), Alnusenon (40), Ergost-7-en-3 β -ol (Fungisterol) (4), Ergosta-7,16-dien-3 β -ol (41)^[86], Ergosta-7,22-dien-3-on (37), Ergosterol (1)^[87], die Ganoderensäuren A (42), F, G, H und I^[88], sowie die Applanoxidsäuren A-H^[89,90] aus *G. lipsiense* isoliert und identifiziert (Abb. 3-21). Es sei hier angemerkt, dass es sich bei den Resten in den Abbildungen 3-20 und 3-21 (z.B. =R⁴) jeweils entweder um eine Ketogruppe oder eine Hydroxyfunktion handelt.

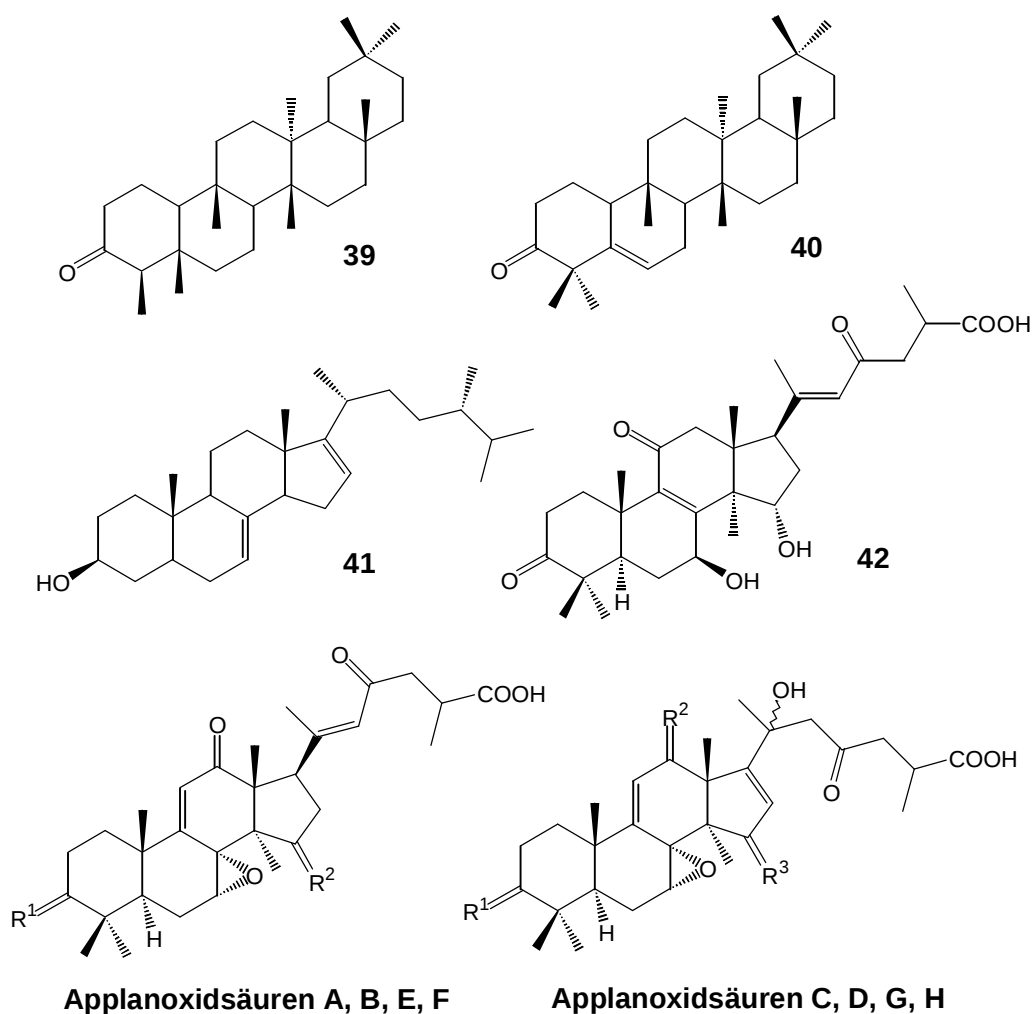


Abbildung 3-21: Bekannte Verbindungen aus *Ganoderma lipsiense*

3.6 Extraktionsmethoden

Um Verbindungen aus Pflanzen zu isolieren, muss das Material zunächst extrahiert werden. Zur Gewinnung flüchtiger Inhaltsstoffe hat sich die Wasserdampfdestillation bewährt. Hierbei werden unter relativ milden Bedingungen flüchtige Verbindungen aus dem Pflanzenmaterial, das in siedendem Wasser aufgeschlämmt wird, mit dem entstehenden Wasserdampf aus dem Sud entfernt. Dieser Wasserdampf wird daraufhin kondensiert und durch ein unpolares Lösungsmittel geleitet (z.B. *n*-Hexan). Dabei wird der Großteil der Verbindungen von dem Lösungsmittel aufgenommen.

Nicht flüchtige Verbindungen werden durch Extraktion gewonnen. Dabei ist es von Vorteil, das Pflanzenmaterial zu zermahlen, um die Zellen aufzuschließen. Das kann durch Einfrieren des Materials mit flüssigem Stickstoff und anschließendem Zermörsern erreicht werden. Das so erhaltene Pulver kann dann in Lösungsmitteln steigender Polarität inkubiert werden, um erstens eine Vortrennung zwischen polaren und unpolaren Inhaltsstoffen zu erreichen und zweitens um eine möglichst vollständige Extraktion zu erhalten. Der eigentliche Extraktionsvorgang besteht darin, das Material in dem Extraktionsmittel einige Zeit (mehrere Tage) stehen zu lassen. Der Extraktionsvorgang kann beschleunigt werden durch kontinuierliches Schütteln, Einwirkung von Ultraschall und durch Austausch der Lösungsmittels z.B. nach der Hälfte der geplanten Zeit. Nach der Extraktion muss lediglich das Pflanzenmaterial abfiltriert und das Lösungsmittel entfernt werden.

3.7 Chromatographische Trennmethoden

Die erste chromatographische Trennung gelang 1903 dem russischen Botaniker *Michail Tswett*, der mit Hilfe einer gepackten Säule aus fein verteiltem Calciumcarbonat einen Blattextrakt auftrennte und mehrere farbige Zonen z.B. vom Chlorophyll oder Spirilloxanthin in der Säule bemerkte. Daher hat die Chromatographie ihren Namen (griech. *Chroma*: Farbe, *graphein*: schreiben) ^[23]. Heutzutage existiert eine Vielzahl unterschiedlicher chromatographischer Trennmethoden, die aber alle auf das Prinzip von *Tswett* zurückzuführen sind. In jedem Fall wird eine mobile Phase, in der sich das zu trennende Substanzgemisch befindet, an einer stationären Phase vorbeigeführt. Durch unterschiedliche Verteilungen der einzelnen Komponenten zwischen stationärer und mobiler Phase oder durch Adsorption an der stationären Phase wird so eine Trennung der Inhaltsstoffe erreicht. Man unterscheidet die einzelnen Arten der Chromatographie am Aggregatzustand der beiden Phasen. Es existieren hauptsächlich die Fest-Flüssig- (DC, LC, HPLC, GPC), die Fest-Gasförmig- (GSC) und die Gas-Flüssig-Chromatographie (GLC).

3.7.1 Dünnschichtchromatographie

Die DC ist eine Form der Fest-Flüssig-Chromatographie bei der das Laufmittel eine z.B. mit Kieselgel beschichtete Glas- oder Metallplatte (Dimensionen 5x10 bis 20x20 cm) angetrieben durch Kapillarkräfte hoch läuft und dabei die am unteren Ende in kleinen Mengen in Lösung aufgetragenen Substanzen entlang der Platte auftrennt. Die DC ist eine schnelle und leicht durchführbare Methode, um einen Eindruck über die Anzahl der in einem Substanzgemisch enthaltenen Komponenten zu erhalten, und kommt mit sehr wenig Substanz aus. Durch unterschiedliche Detektionsmethoden können auch qualitative Aussagen über bestimmte Substanzklassen erhalten werden. Bei Verwendung größerer Platten und Schichtdicken kann die DC auch präparativ durchgeführt werden ^[23].

3.7.2 Flüssigchromatographie

Bei der klassischen Säulenchromatographie wird eine Glassäule, die am unteren Ende einen verschließbaren Ablauf besitzt, mit einer stationären Phase gefüllt. Am oberen Ende wird dann das zu trennende Substanzgemisch in Lösung aufgetragen und dann mit einem geeigneten Laufmittel eluiert. Enthält das Substanzgemisch unpolare und polare Verbindungen, so kann die Polarität während der Chromatographie durch Veränderung der Laufmittelzusammensetzung gesteigert werden. Durch Anlegen eines Druckes kann die Elution beschleunigt werden. Am Ablauf können dann die im Idealfall getrennten Substanzen aufgefangen werden. Als stationäre Phase wird in den allermeisten Fällen Kieselgel verwendet. Alternativ dazu kann auch Aluminiumoxid oder Reversed-Phase-Kieselgel (RP) verwendet werden. Hierbei handelt es sich um Kieselgel, bei dem dessen endständige Hydroxylgruppen mit unpolaren Alkylresten verethert wurden (in der Regel Octyl- [RP-8] oder Octadecylreste [RP-18]). Da letzteres aber unverhältnismäßig teurer ist als underivatisiertes Kieselgel, wird in den meisten Fällen die Normalphasen-Chromatographie durchgeführt.

3.7.3 Hochleistungs-Flüssigchromatographie

Bei der HPLC werden ähnliche Materialien verwendet wie bei der normalen Flüssigchromatographie, jedoch ist die Korngröße der stationären Phase hier weitaus kleiner. Bei der LC sind Korngrößen von 40-200 μm üblich, während sie bei der HPLC 3-10 μm betragen. Dadurch wird die spezifische Oberfläche stark vergrößert, woraus eine deutliche Verbesserung der Trennleistung resultiert. Allerdings müssen bei solchen Korngrößen hohe Drücke angelegt werden, da der Druckabfall entlang einer Säule mit kleiner werdender Korngröße stark zunimmt. Üblich sind Drücke von 40-250 bar. Eingestellt wird bei der HPLC eine konstante Flussrate [ml/min]. Da die Konstanz der Flussrate sowie der

Laufmittelzusammensetzung sehr wichtig für die Reproduzierbarkeit von Trennungen ist, werden für die HPLC Spezialpumpen benötigt. Detektiert werden können die eluierten Substanzen mittels geeigneter UV-, Brechungsindex- oder Fluoreszenzdetektoren. Diese Signale werden dann an einen Schreiber übermittelt. Nach der Detektion können die eluierten Substanzen auch in präparativem Maßstab aufgefangen werden. Analytische Säulen haben Längen von 10-25 cm und Innendurchmesser von 3-5 mm. Präparative Säulen haben dagegen Innendurchmesser von 1-4 cm (für die kleineren existiert die Bezeichnung „semipräparativ“). Die HPLC wird sehr häufig mit RP-Phasen durchgeführt (RP-8 bis RP-30). Als Laufmittel wird dabei Wasser verwendet, das mit organischen Modifiern wie Acetonitril oder Methanol versetzt wird. Da die Detektoren sehr empfindlich auf eluierte Substanzen reagieren, müssen hochreine Laufmittel verwendet werden, um das Ergebnis nicht zu verfälschen^[20-23].

3.7.4 Gelpermeationschromatographie

Die GPC trennt Substanzen aufgrund ihrer Molekülgröße. Eine spezielle Phase, Sephadex LH-20, besteht z.B. aus einem mit Hydroxypropylgruppen veretherem Polysaccharid. Durch diese Veretherung entstehen Hohlräume, in die kleinere Moleküle eingelagert werden können, größere hingegen nicht, woraus eine längere Elutionszeit für kleinere Moleküle resultiert. Die GPC wird häufig dafür angewendet, Salze von wasserlöslichen organischen Molekülen abzutrennen. Es können nahezu alle Laufmittel verwendet werden (unpolare wie *n*-Hexan und polare wie Wasser, abhängig von der stationären Phase). Entscheidend ist, dass das zu trennende Gemisch im Laufmittel löslich ist. Die Adsorption spielt bei dieser Art der Chromatographie nur eine geringe Rolle. Für die GPC existiert eine Vielzahl verschiedener stationärer Phasen, die teils auf sehr spezielle Trennprobleme abzielen. Dazu gehören poröse Gläser, desaktivierte Kieselgele und Polymere. Die GPC kann analog der LC (mit Verwendung von Glassäulen), oder analog der HPLC durchgeführt werden. Für letzteres existiert ein spezieller Detektor - das Durchflussviskosimeter. Hierbei wird ständig die Viskosität des Eluats gemessen, die sich vergrößert, wenn zusätzlich große Moleküle eluiert werden^[23].

3.7.5 Gaschromatographie

Mit GC ist in den meisten Fällen die Gas-Flüssig-Chromatographie gemeint. Hierbei wird ein Gas (Wasserstoff, Helium oder Stickstoff) ständig entweder durch eine Kapillare, deren Innenseite mit einer flüssigen Phase belegt ist (Polysiloxane, Polyether und ähnliches), oder durch eine mit einem Adsorbens gepackte Säule geleitet. Die flüssige Phase wird im letzteren Fall auf das Adsorbens aufgebracht. Kapillarsäulen sind in der Regel 10-100 m lang und haben Durchmesser von 100-500 µm. Von allen Methoden der Chromatographie liefert

die GC die beste Trennleistung und benötigt die kleinsten Mengen. Allerdings ist ihre Anwendung auf unzersetzt verdampfbare Verbindungen reduziert (bis ca. 300°C). Als Detektoren werden Flammenionisations-, Wärmeleitfähigkeits- und Elektroneneinfangdetektoren verwendet. Die Eluate können aber auch direkt in ein Massenspektrometer geleitet werden, so dass zu jeder eluierten Substanz sofort ein Massenspektrum erhalten wird (GC-MS). Werden chirale Verbindungen mit der stationären Phase gemischt eingesetzt, so können auch Enantiomerentrennungen mittels GC durchgeführt werden. Bewährt haben sich hierfür verschiedene Cyclodextrinderivate, das sind cyclische Oligosaccharide (meist Glucosederivate), die mit den einzelnen Enantiomeren in unterschiedlich starke Wechselwirkung treten^[91-94].

3.8 Methoden der Strukturaufklärung

3.8.1 Massenspektrometrie

Die Massenspektrometrie ist eine schnell durchführbare Methode der Strukturaufklärung kleiner Moleküle. Bei der Elektronenstoß-MS (EI-MS) wird eine Substanz im gasförmigen Zustand mit Elektronen beschossen, wobei die Verbindung ionisiert und fragmentiert wird. Diese Fragmente können dann, nachdem sie mittels eines elektrischen Feldes beschleunigt wurden, durch ein senkrecht zur Flugbahn angelegtes magnetisches Feld geleitet und aufgrund ihres Masse/Ladungsverhältnisses unterschiedlich stark abgelenkt werden, wodurch eine Auftrennung der Fragmente erfolgt. Trägt man die relative Intensität (Anzahl der detektierten Ionen) gegen ihre Masse auf, so erhält man ein Massenspektrum. Dadurch erhält man teils sehr spezifische Fragmentierungsmuster. Andererseits können sich Massenspektren zweier verschiedener Verbindungen auch gleichen. Somit ist für eine eindeutige Strukturaufklärung neuer Verbindungen die Massenspektrometrie allein unzureichend. Durch Kopplung von GC und MS erhält man neben den Massenspektren auch die Retentionszeiten flüchtiger Verbindungen. Diese Kombination kann bei Vorhandensein von authentischen Proben zur Identifizierung von Verbindungen herangezogen werden. Durch hochauflösende MS (HR-MS) kann die Elementarzusammensetzung einzelner Fragmente bestimmt werden, da dabei die Massen auf bis zu vier Dezimalstellen genau erhalten werden. Durch andere Ionisierungsmethoden können z.B. die Molekülmassen auch großer Moleküle erhalten werden (FAB, MALDI-TOF, ESI, APCI)^[19].

3.8.2 NMR-Spektroskopie

Die Kernresonanzspektroskopie ist für die Strukturaufklärung von organischen Verbindungen von entscheidender Bedeutung. Neben den heutzutage standardmäßig aufgenommenen ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren existiert eine Vielzahl zweidimensionaler

Aufnahmetechniken, die eine nahezu vollständige Strukturaufklärung neuer kleiner Moleküle ermöglichen. NMR-Spektren zweier unterschiedlicher Verbindungen unterscheiden sich, so dass die erhaltenen Spektren eindeutig sind. Die Strukturen einfacher, kleiner Moleküle wie z.B. die aus *Gloeophyllum odoratum* isolierten aromatischen Verbindungen (s. Kap. 3.5.5) können allein mittels eindimensionaler Techniken aufgeklärt werden. Die eindimensionalen NMR-Spektren von Steroiden und Triterpenen sind aber aufgrund der großen Anzahl von Protonen und Kohlenstoffatomen mit ähnlichen chemischen Verschiebungen sehr komplex und reichen nicht aus, um unbekannte Strukturen aufzuklären. Abbildung 3-22 zeigt beispielhaft die in d_5 -Pyridin aufgenommenen ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren der Pinicolsäure A (2).

Aus diesen Spektren können lediglich Informationen über die Anzahl der vorhandenen olefinischen Protonen und Kohlenstoffe, der vorhandenen Hydroxylgruppen und Carbonylkohlenstoffe sowie über die Anzahl vorhandener Methylgruppen erhalten werden. Aus ^{13}C -DEPT-Spektren werden zusätzlich Informationen über die Art eines Kohlenstoffatoms (primär, sekundär, tertiär oder quartär) erhalten. Bei einigen Protonensignalen können zwar die Kopplungsmuster erkannt, die Kopplungspartner können aber nicht ermittelt werden. In diesem Fall helfen zweidimensionale Spektren, aus denen deutlich wird, welches Proton mit welchem Proton (^1H - ^1H -COSY) oder mit welchem Kohlenstoff (^1H - ^{13}C -COSY, HMQC, HSQC, COLOC, HMBC) koppelt. Aus ^1H - ^1H -COSY-Spektren sind Kopplungen von 2J bis 5J (letztere sehr selten) zu erkennen, während durch ^1H - ^{13}C -COSY, HMQC und HSQC die 1J -Kopplungen zwischen Proton und Kohlenstoff ermittelt werden. Bei der COLOC- und HMBC-Spektroskopie werden diese 1J -Kopplungen ausgeblendet und Proton-Kohlenstoff-Kopplungen von 2J bis 4J (letztere seltener) können beobachtet werden. Durch Aufnahme der genannten Spektren ist es im Idealfall möglich, sämtliche Konnektivitäten innerhalb eines Moleküls zu bestimmen und somit seine Struktur aufzuklären. Unter anderem bei chiralen Molekülen kann zur Ermittlung der relativen Konfigurationen der Nuclear Overhauser Effect genutzt werden. Hierbei kann die räumliche Nähe zweier Protonen detektiert werden und so die relative Konfiguration an einzelnen Kohlenstoffatomen bestimmt werden (NOESY) [16-19,95].

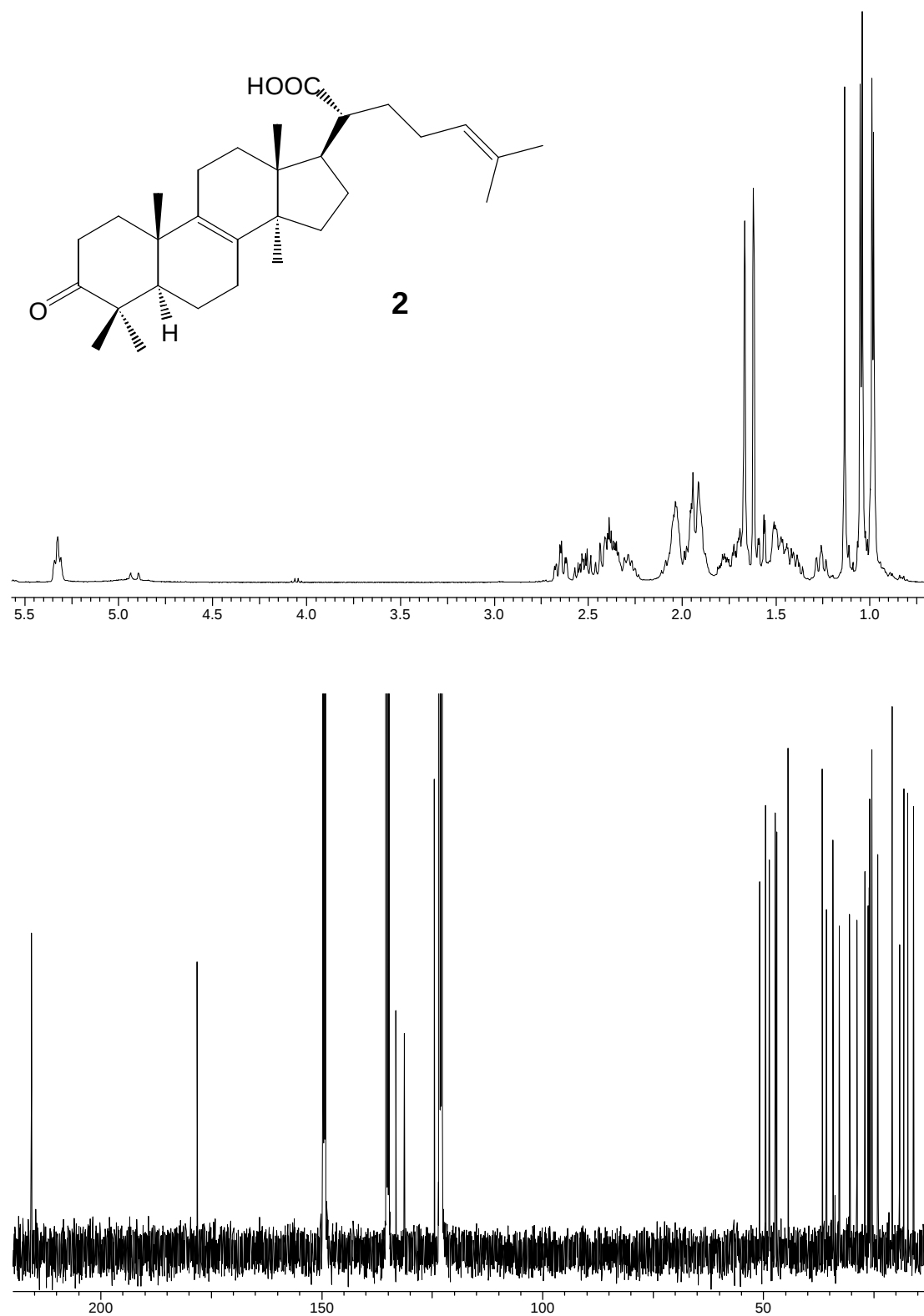


Abbildung 3-22: ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren der Pinicolsäure A (2) (d_5 -Pyridin)

4 Spezieller Teil

4.1 Isolierung von Inhaltsstoffen aus *Fomitopsis pinicola*

Die in dieser Arbeit untersuchten Proben von *F. pinicola* wurden in Hamfelde bei Hamburg und im Ilsetal im Harz gesammelt. Letztere wurden nur auf flüchtige Inhaltsstoffe hin untersucht.

4.1.1 Extraktion

Von den luftgetrockneten Fruchtkörpern von *F. pinicola* wurde zunächst die wachsartige Kruste auf ihrer Oberfläche abgetrennt. Beide Materialien wurden dann in flüssigem Stickstoff zerkleinert und getrennt mit *n*-Hexan extrahiert. Nach Abfiltration der Pflanzenmaterialien wurden letztere mit Methanol extrahiert. Von allen Extrakten wurde das Lösungsmittel entfernt. Die festen Methanolextrakte wurden daraufhin unter Rühren mit Dichlormethan extrahiert. Der bei dieser Extraktion verbliebene Rückstand der Fruchtkörper ohne Kruste wurde daraufhin ebenfalls unter Rühren mit Ethylacetat extrahiert.

4.1.2 Trennung der Inhaltsstoffe

Dünnschichtchromatogramme des *n*-Hexan- und des Dichlormethanextraktes der Kruste zeigten komplexe Substanzgemische an. Beide Extrakte wurden mehrfach säulenchromatographisch an Kieselgel mit Lösungsmittelgradienten aus Chloroform:Methanol oder Petrolether:Ethylacetat getrennt. Die qualitative Analyse der erhaltenen Fraktionen wurde mittels DC durchgeführt. Von Fraktionen, die nach DC nur eine Substanz enthielten, wurde das Lösungsmittel entfernt, die Proben im Hochvakuum getrocknet und ^1H -NMR-spektroskopisch in CDCl_3 oder d_5 -Pyridin untersucht. Stellte sich anhand des ^1H -NMR-Spektrums heraus, dass eine ausreichend reine Substanz für weitere Untersuchungen vorlag, wurden ^{13}C - und ^{13}C -DEPT-NMR-Spektren angefertigt. Stellte sich dann bei der Analyse dieser Spektren heraus, dass es sich um eine bekannte Verbindung handelte, wurden bis auf eine massenspektrometrische Untersuchung keine weiteren Untersuchungen durchgeführt. Bei unbekannten Verbindungen wurden anschließend zweidimensionale NMR-Spektren (^1H - ^1H -COSY, ^1H - ^{13}C -COSY [bzw. HMQC] und HMBC) sowie ein Massenspektrum aufgenommen, um die Struktur zu ermitteln. Gingen aus diesen Spektren (insbesondere aus den chemischen Verschiebungen der Protonen und Kohlenstoffe) die relativen Konfigurationen an chiralen Kohlenstoffzentren nicht hervor, wurde zusätzlich ein NOE-Spektrum angefertigt.

4.1.3 Inhaltsstoffe aus dem *n*-Hexanextrakt der Kruste

4.1.3.1 Identifizierung eines Gemisches aus 3 β -Linolyloxyergost-7-en (43), 3 β -Linolyloxyergosta-7,22-dien (44) und 3 β -Linolyloxyergosta-7,24(28)-dien (45)

Aus dem ^1H -NMR-Spektrum dieser sehr unpolaren Fraktion können zwischen δ 0.50 und 1.10 eine Vielzahl von Methylgruppen (mehr als 15), die teils zum Dublett aufgespalten sind, viele aliphatische CH_2 -Protonen bei δ 1.35 sowie einige olefinische Protonen erkannt werden. Das deutet darauf hin, dass es sich nicht um eine reine Fraktion handelt. Das ^{13}C -NMR-Spektrum enthält über 100 Signale, die teils sehr klein sind und teils eine große Intensität besitzen. Eindeutig zu erkennen sind die olefinischen Signale (δ 127.95, 128.07, 130.10 und 130.25 [alle *d*]) sowie einige Methylenprotonen und die endständige Methylgruppe (δ 14.11) der Linolsäure, die literaturbekannt sind ^[97]. Die Verschiebung der Carbonylgruppe von δ 173.47 (*s*) deutet darauf hin, dass hier ausnahmslos Linolsäureester vorlagen. Die große Anzahl der Methylgruppen im ^1H -NMR-Spektrum sowie das Muster der olefinischen Protonen deutet auf steroidartige Verbindungen als Alkoholkomponenten hin. Da Ergost-7-en-3 β -ol und Ergosta-7,22-dien-3 β -ol als häufig vorkommende Pilzinhaltsstoffe bekannt sind, wurden die bekannten ^{13}C -NMR-Verschiebungen dieser beiden Verbindungen mit den erhaltenen verglichen ^[12,97]. Mit Ausnahme der Verschiebungen im Ring A, an dem der Linolsäurerest hängt, können alle Signale beider Verbindungen in dem erhaltenen Spektrum wiedergefunden werden. Somit konnten 3 β -Linolyloxyergost-7-en (43) und -ergosta-7,22-dien (44) als Komponenten dieser Fraktion nachgewiesen werden. Es verbleiben nur noch wenige, nicht zugeordnete Signale, von denen die bei δ 156.87 (*s*) und 106.00 (*t*) die wichtigsten sind. Diese Verschiebungen deuten auf eine endständige Methylengruppe in Position 24 hin, was bei Steroiden und Triterpenen aus Pilzen häufig vorkommt. Der Vergleich der restlichen Signale mit den literaturbekannten Daten von Ergosta-7,24(28)-dien-3 β -ol ^[97] zeigt eine sehr gute Übereinstimmung so dass die letzte Verbindung in dieser Fraktion das 3 β -Linolyloxyergost-7,24(28)-dien (45) ist. Aufgrund der Vielzahl der Signale in allen NMR-Spektren konnte eine Aufklärung mittels zweidimensionaler NMR-Spektroskopie nicht durchgeführt werden. Mehrere Trennversuche dieser drei Verbindungen mittels HPLC waren erfolglos und wurden nicht weiter verfolgt.

4.1.3.2 Identifizierung eines Gemisches einiger Triacylglycerole

Diese ebenfalls sehr unpolare Fraktion zeigt im ^1H -NMR-Spektrum die typischen Signale für Triacylglycerole (δ 4.15 [*dd*], 4.30 [*dd*], 5.30-5.42 [*m*]). Das ^{13}C -NMR-Spektrum deutete auf einen großen Anteil an Öl- und Linolsäure hin ^[32]. Mittels RP-18-DC konnte diese Fraktion analytisch in vier Fraktionen getrennt werden, wobei aufgrund der NMR-Spektren

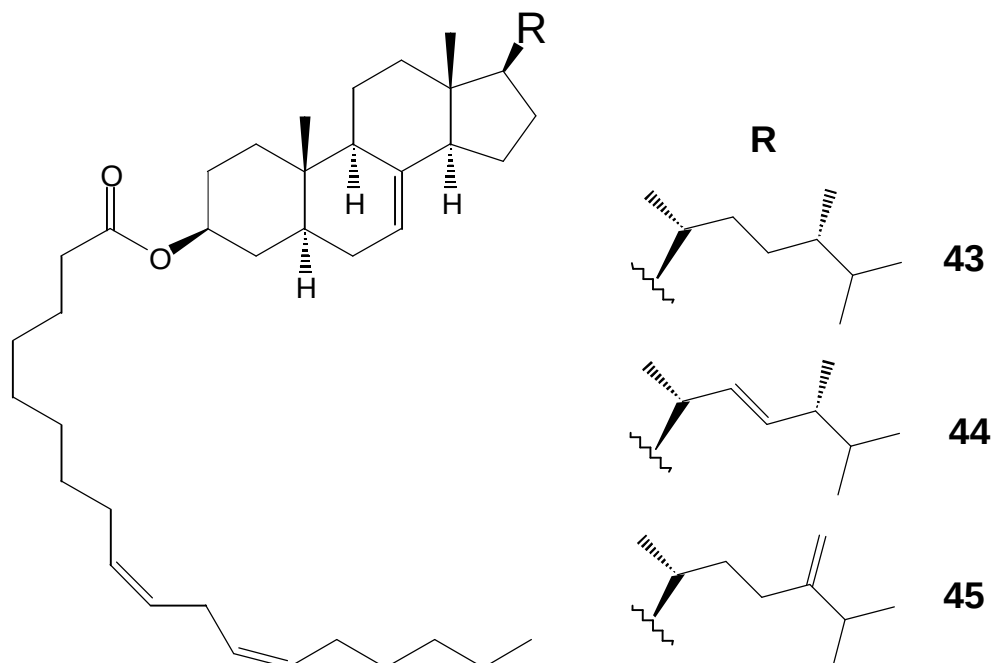


Abbildung 4-1: Linolsäure-Sterylester aus *F. pinicola*

angenommen werden muss, dass sehr viel mehr Verbindungen in dieser Fraktion enthalten sein müssen. Da sich diese Arbeit mit Triterpen-Derivaten befasst, wurde diese Fraktion nicht weiter untersucht.

4.1.3.3 (+)-3-Oxolanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (Pinicolsäure A) (2)

Das ^1H -NMR-Spektrum dieser durch Kristallisation erhaltenen Verbindung zeigt sieben Methylgruppen (alle s) und ein olefinisches Proton (δ 5.33 [t]). Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind

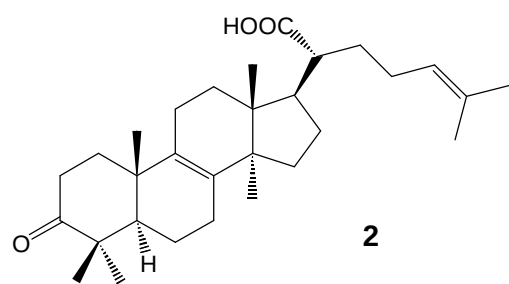


Abbildung 4-2: (+)-Pinicolsäure A (2)

vier olefinische Kohlenstoffe (δ 124.49 [d], 131.36 [s], 133.25 [s] und 134.77 [s]), eine Carbonsäureeinheit (δ 178.22) und ein Ketokohlenstoff (δ 215.78) zu erkennen. Im Massenspektrum sind der Molekülpeak bei $m/z = 454$, ein Peak bei 439 ($[\text{M}-\text{Me}]^+$) und einer bei 421 ($[\text{M}-\text{Me}-\text{H}_2\text{O}]^+$) zu erkennen. Ein Vergleich der erhaltenen Spektren mit den Literaturdaten des bekannten Inhaltsstoffes Pinicolsäure A (2) lieferte

eine vollständige Übereinstimmung ^[11,12]. Da von dieser Verbindung eine große Menge erhalten werden konnte, wurde eine Elementaranalyse durchgeführt, die die Annahme dieser Struktur zusätzlich bestätigen konnte.

4.1.3.4 (+)-3 β -Hydroxyylanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (Trametenolsäure B) (21)

Das ^1H -NMR-Spektrum dieser durch Kristallisation erhaltenen Verbindung zeigt sieben Methylgruppen (alle s) ein Hydroxymethinproton (δ 3.43 [dd]) und ein olefinisches Proton (δ 5.32 [t]). Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind vier olefinische Kohlenstoffe (δ 124.50 [d], 131.32

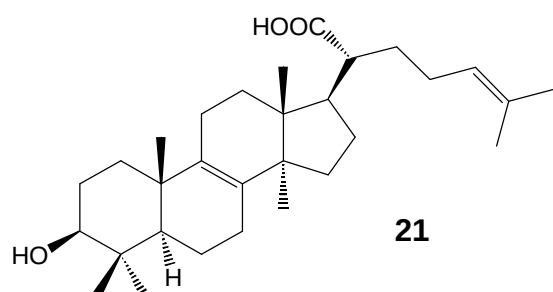


Abbildung 4-3: (+)-Trametenolsäure B (21)

[s], 133.89 [s] und 134.77 [s]), eine Carbonsäureeinheit (δ 178.24) sowie ein Hydroxymethinkohlenstoff (δ 77.60 [d]) zu erkennen. Im Massenspektrum tritt ein Molekülpeak bei m/z = 456, ein [M-Me]-Peak bei 441 und ein [M-Me-H₂O]-Peak bei 423 auf. Ein Vergleich der erhaltenen Spektren mit den Literaturdaten des bekannten Inhaltsstoffes

Trametenolsäure B (21) lieferte eine vollständige Übereinstimmung^[11,12]. Diese Verbindung konnte zuvor aus vielen anderen Spezies isoliert werden, unter anderem aus dem hier ebenfalls untersuchten Baumpilz *Gloeophyllum odoratum*^[9,57].

4.1.3.5 (+)-3 α -Acetoxylanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (22)

Das ^1H -NMR-Spektrum dieser durch Kristallisation erhaltenen Verbindung zeigt acht Methylgruppen (alle s), von denen eine deutliche Tieffeldverschiebung aufweist (δ 2.07). Des weiteren sind ein Hydroxymethinproton (δ 4.67 [br. s]) und ein olefinisches Proton (δ 5.10 [t]) zu erkennen. Im ^{13}C -NMR-Spektrum kann man vier olefinische Kohlenstoffe (δ 123.62

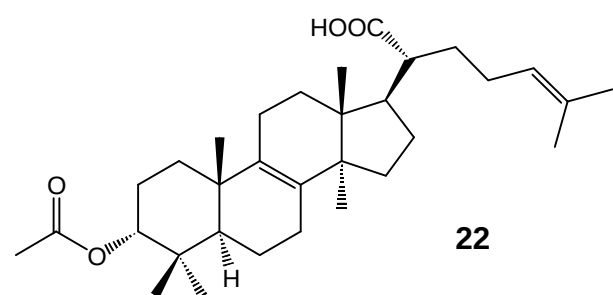


Abbildung 4-4: (+)-3 α -Acetoxylanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (22)

[d], 132.27 [s], 133.92 [s] und 134.54 [s]), eine Carbonsäureeinheit (δ 182.93), ein Estercarbonyl- (δ 170.84) sowie ein Hydroxymethinkohlenstoff (δ 77.93 [d]) beobachten. Diese Daten stimmten vollständig mit denen der bereits zuvor aus *F. pinicola* isolierten 3 α -Acetoxylanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (22) überein^[12].

Das Massenspektrum zeigt mit einem Molekülpeak bei m/z = 498, einem Peak bei 483 ([M-Me]⁺), einem Peak bei 437 ([M-H₂O-MeCO]⁺) sowie einem Peak bei 423 ([M-Me-AcOH]⁺) ebenfalls Übereinstimmung mit den Literaturdaten für 22.

4.1.3.6 21-Hydroxylanosta-8,24-dien-3-on (23) und 21-Hydroxylanosta-7,9(11),24-trien-3-on (24)

Eine Fraktion des Hexanextraktes enthielt ein Gemisch zweier Verbindungen. Ein Vergleich der spektroskopischen Daten mit den Literaturwerten von 21-Hydroxylanosta-8,24-dien-3-on (23) zeigt eindeutig, dass eine dieser beiden Verbindungen **23** ist. Aus dem ^1H -NMR-Spektrum konnten sieben Methylgruppen, ein olefinisches Proton (δ 5.10 [t]) sowie die zwei diastereotopen Protonen an C-21 (δ 3.66 [dd] und 3.72 [dd]) dieser Verbindung zugeordnet werden. Auch die literaturbekannten ^{13}C -Verschiebungen konnten wiedergefunden werden (Olefinische: δ 124.85 [d], 131.31 [s], 133.10 [s] und 135.23 [s], Hydroxymethylengruppe: δ 62.47 [t], Ketogruppe: δ 217.73 [s]). Da exakt 60 Kohlenstoffatome im ^{13}C -NMR-Spektrum zu erkennen sind, muss es sich bei der zweiten Verbindung ebenfalls um ein Triterpen handeln. Die Anwesenheit einer weiteren Hydroxymethylengruppe (δ 62.43 [t]), einer weiteren Ketogruppe (δ 216.66 [s]) sowie sechs weiteren olefinischen Kohlenstoffen (δ 117.00 [d], 120.06 [d], 124.82 [d], 131.36 [s], 142.73 [s] und 144.61 [s]) und zwei olefinischen Protonen (δ 5.41 [d] und 5.53 [d]) und der Vergleich mit anderen ähnlichen, in dieser Arbeit identifizierten Verbindungen zeigten, dass es sich hierbei um 21-Hydroxylanosta-7,9(11),24-trien-3-on (**24**) handeln muss. Da die Massenspektrometrie für Gemische nur unzureichend anwendbar ist, seien hier nur beide detektierten Molekülpeaks bei $m/z = 440$ (**23**) und 438 (**24**) erwähnt. Auch die zweidimensionale NMR-Spektroskopie konnte aufgrund der großen Anzahl vorhandener Protonen und Kohlenstoffe keine weiteren Beweise liefern. Beide Verbindungen wurden schon vorher aus *F. pinicola* isoliert und identifiziert (**23** [12,40], **24** [40,41]), von den NMR-Daten von **24** wird hier allerdings erstmals berichtet.

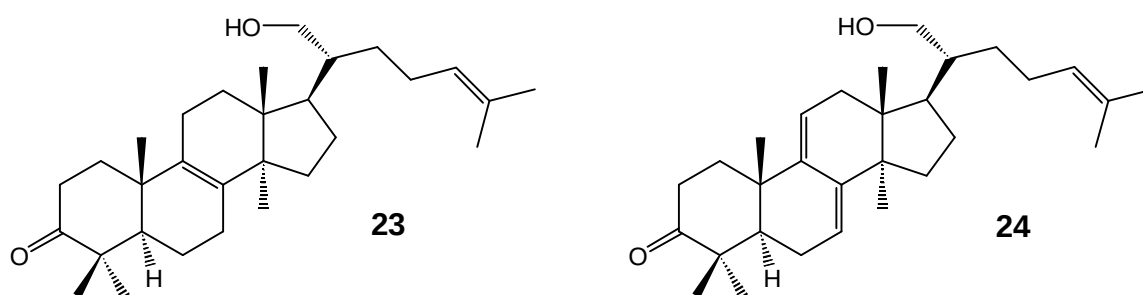


Abbildung 4-5: 21-Hydroxylanosta-8,24-dien-3-on (**23**) und 21-Hydroxylanosta-7,9(11),24-trien-3-on (**24**)

4.1.3.7 Lanosta-7,9(11),24-trien-3-on (Agnosteron) (46)

Das ^1H -NMR-Spektrum dieser sehr unpolaren Verbindung zeigt acht Methylgruppen, von denen eine zum Dublett aufspaltet, sowie drei olefinische Protonen (δ 5.11 [t], 5.40 [d], 5.51 [d]). Neben sechs olefinischen Kohlenstoffen (δ 117.37 [d], 119.85 [d], 125.19 [d], 131.04 [s], 142.98 [s] und 144.52 [s]) kann im ^{13}C -NMR-Spektrum nur eine funktionelle Gruppe, eine Ketofunktion (δ 216.88 [s]), zugeordnet werden. Diese Daten deuteten auf ein Lanosta-7,9(11),24-trien-Grundgerüst hin. Da die meisten Triterpene in Position 3 oxygeniert sind, wurde die Struktur von Lanosta-7,9(11),24-trien-3-on angenommen. Ein Massenspektrum mit einem Molekülpeak bei $m/z = 422$ bestätigte die mögliche Elementarzusammensetzung von $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}$. Vergleich der erhaltenen spektroskopischen Daten mit den Daten von Lanosta-7,9(11),24-trien-3 β -ol (Agnosterol), das ein bekannter Bestandteil

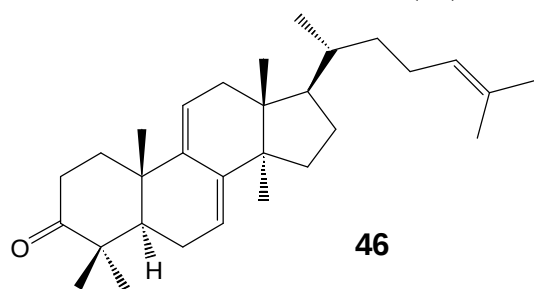


Abbildung 4-6: Agnosteron (46)

von Wollfett ist ^[98], und mit denen anderer in dieser Arbeit identifizierten Verbindungen bestätigte diese Annahme. Da in diesem Molekül fast ausnahmslos aliphatische Protonen vorhanden sind, konnte die zweidimensionale NMR-Spektroskopie keine brauchbaren Ergebnisse zur Strukturaufklärung liefern. So wird als Struktur

für diese Verbindung Lanosta-7,9(11),24-trien-3-on angenommen, für das hier in Anlehnung an Agnosterol, der Name Agnosteron (46) vorgeschlagen wird. Hierbei handelt es sich um einen neuen Naturstoff.

4.1.3.8 (+)-21-Carboxyacetoxylanosta-7,9(11),24-trien-3-on (Fomitopssäure B) (47)

Diese relativ polare Verbindung zeigt im ^1H -NMR-Spektrum sieben Methylgruppen (alle s), drei olefinische Protonen (δ 5.08 [t], 5.37 [d] und 5.51 [d]), zwei diastereotope Methylenprotonen (δ 4.07 [dd] und 4.33 [dd]) sowie eine isolierte, stark tieffeldverschobene CH_2 -Gruppe (δ 3.41 [s], 2H). Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind sechs olefinische Kohlenstoffe (δ 117.04 [d], 120.20 [d], 124.41 [d], 131.63 [s], 142.59 [s] und 144.54 [s]), ein oxygenierter Methylenkohlenstoff (δ 65.88 [t]) und drei Carbonylkohlenstoffe (δ 167.47 [s], 169.02 [s] und 216.90 [s]) zu erkennen. Das Massenspektrum zeigt einen Peak höchster Masse von $m/z = 480$. Ein HR-MS lieferte für diesen Peak einen Wert von durchschnittlich 480.3615, was einer Elementarzusammensetzung von $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_3$ am nächsten kommt (erforderlich: 480.3603). Ein Vergleich der spektroskopischen Daten mit denen der bereits isolierten Verbindungen 21-Hydroxylanosta-7,9(11),24-trien-3-on (24) und Lanosta-7,9(11),24-trien-3-on (46) lieferte

sehr gute Übereinstimmungen für die ^{13}C -Verschiebungen des Steroid-Ringgerüsts. Lediglich die Seitenkette an C-17 zeigt deutliche Abweichungen. Zur Strukturbestimmung wurden hier jeweils ein ^1H - ^1H -COSY-, ein HMQC-, und ein HMBC-Spektrum angefertigt. Aus dem HMQC-Spektrum ging hervor, dass die beiden oben erwähnten diastereotopen Methylenprotonen mit dem ebenfalls erwähnten oxygenierten Methylenkohlenstoff (δ 65.88 [t]) direkt verbunden sind. Im HMBC-Spektrum zeigt der Kohlenstoff C-21 eine Kopplung mit dem Proton an C-20, dessen chemische Verschiebung und Kopplungsmuster hier nicht genau angegeben werden kann, da es im ^1H -NMR-Spektrum stark mit anderen Signalen

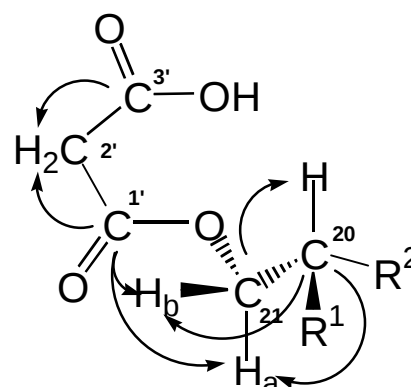


Abbildung 4-7: Beobachtete Fernkopplungen

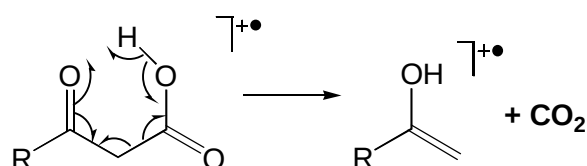


Abbildung 4-8: Abspaltung von Kohlendioxid aus 47

überlagert ist. Die beiden Protonen an C-21 zeigen Fernkopplung mit einem Carbonylkohlenstoff (δ 167.47 [s]). Mit letzterem zeigen auch die beiden chemisch äquivalenten, stark tieffeldverschobenen Methylenprotonen (δ 3.41 [s], 2H) eine Fernkopplung. Sie koppeln ebenfalls mit einem

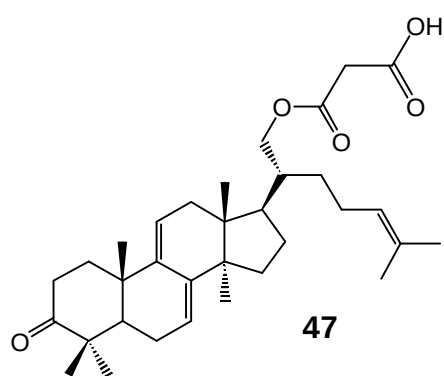


Abbildung 4-9: (+)-Fomitopssäure B (47)

zweiten Carbonylkohlenstoff (δ 169.02 [s]) (s. Abb. 4-7). Die gute Übereinstimmung der ^{13}C -Verschiebung dieser Verbindung mit denen von 21-Hydroxylanosta-7,9(11),24-trien-3-on (24) und die beobachteten Fernkopplungen lassen als einzige mögliche Struktur das (+)-21-Carboxyacetoxyanosta-7,9(11),24-trien-3-on (47) zu. Alle wichtigen Fernkopplungen sind in Abbildung 4-7 dargestellt. Der Molekülpeak von 524 ist im Massenspektrum nicht detektierbar, da das Molekül unter Elektronenbeschuss leicht Kohlendioxid verliert (s. Abb.

4-8). Daraus resultiert der beobachtete Peak größter Masse von $m/z = 480$ ($[\text{M}-\text{CO}_2]^+$). Diese Verbindung ist bisher in der Natur nicht gefunden worden. Da die Fomitopssäure (27) eine für *F. pinicola* ebenfalls sehr charakteristische Struktur aufweist, wird hier der Name Fomitopssäure B (47) für diese Verbindung vorgeschlagen.

4.1.4 Inhaltsstoffe aus dem Dichlormethanextrakt der Kruste

4.1.4.1 Bekannte Verbindungen

Aus dem Dichlormethanextrakt konnten einige Verbindungen isoliert werden, die zuvor bereits im *n*-Hexanextrakt gefunden wurden. Hierzu gehören die Pinicolsäure A (**2**), die Trametenolsäure B (**21**) sowie ein Gemisch aus 21-Hydroxylanosta-8,24-dien-3-on (**23**) und 21-Hydroxylanosta-7,9(11),24-trien-3-on (**24**). Zusätzlich konnte reines 21-Hydroxylanosta-7,9(11),24-trien-3-on (**24**) gewonnen werden, wodurch die ermittelte Struktur zusätzlich bestätigt werden konnte (vgl. Kap. 4.1.3.6).

4.1.4.2 (+)-Lanosta-7,9(11),24-trien-3 β ,21-diol (Pinicolol A) (**25**)

Das ^1H -NMR-Spektrum dieser Verbindung zeigt sieben Methylgruppen (alle *s*) ein Hydroxymethinproton (δ 3.26 [*dd*]), zwei diastereotope Hydroxymethylenprotonen (δ 3.65 [*dd*] und 3.74 [*dd*]) und drei olefinische Protonen (δ 5.13 [*t*], 5.32 [*d*] und 5.49 [*d*]). Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind sechs olefinische Kohlenstoffe (δ 115.96 [*d*], 120.53 [*d*], 124.85 [*d*], 131.51 [*s*], 142.52 [*s*] und 146.14 [*s*]), ein Hydroxymethylenkohlenstoff (δ 62.59 [*t*]) und ein Hydroxymethinkohlenstoff (δ 78.98 [*d*]) zu erkennen. Diese Daten sprechen für ein Lanosta-7,9(11),24-trien-Gerüst. Im Massenspektrum sind als wichtige Signale der Molekülpeak bei

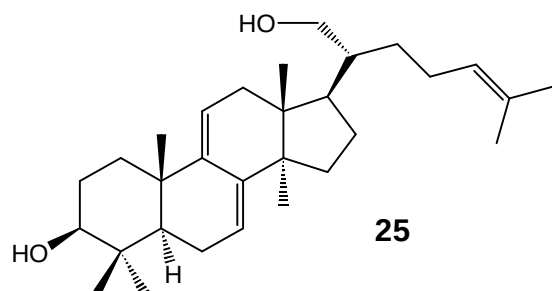


Abbildung 4-10: (+)-Pinicolol A (**25**)

$m/z = 440$ und ein Peak bei 409 ($[\text{M}-\text{CH}_2\text{OH}]^+$) zu erkennen. Vergleich der ^{13}C -Verschiebungen mit denen von **24** und **47** zeigte sehr gute Übereinstimmungen, so dass als Struktur nur das von Halsall *et al.* bereits aus dieser Spezies isolierte (+)-Lanosta-7,9(11),24-trien-3 β ,21-diol in Frage kommt^[40]. Für diese Verbindung wird hier der Name Pinicolol A (**25**) vorgeschlagen,

da weitere eng verwandte Verbindungen aus diesem Pilz in dieser Arbeit isoliert wurden. Die NMR-spektroskopischen Daten von **25** werden hier zum ersten Mal beschrieben.

4.1.4.3 Lanosta-7,9(11),24-trien-3 β ,15 α ,21-triol (Pinicolol B) (**48**)

Das ^1H -NMR-Spektrum dieser leicht verunreinigten Verbindung zeigt sieben Methylgruppen (alle *s*) zwei Hydroxymethinprotonen (δ 3.25 [*dd*] und 4.31 [*dd*]), zwei diastereotope Hydroxymethylenprotonen (δ 3.62 [*dd*] und 3.72 [*dd*]) und drei olefinische Protonen (δ 5.11 [*t*], 5.39 [*d*] und 5.92 [*d*]). Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind sechs olefinische Kohlenstoffe (δ 115.77 [*d*], 121.61 [*d*], 124.61 [*d*], 131.73 [*s*], 140.76 [*s*] und 146.37 [*s*]), ein Hydroxymethylenkohlenstoff (δ 62.45 [*t*]) und zwei Hydroxymethinkohlenstoffe (δ 74.66 [*d*])

und 78.89 [d]) zu erkennen. Diese Daten sprechen für ein drei Hydroxygruppen enthaltendes Lanosta-7,9(11),24-trien-Gerüst. Das Massenspektrum war aufgrund der Verunreinigung, die nicht abgetrennt werden konnte, nicht auswertbar. Die ^{13}C -Verschiebungen im Ring A mit den verbundenen Methylgruppen zeigen eine sehr gute Übereinstimmung mit den Daten von **25**, so dass eine Hydroxygruppe in Position 3 β lokalisiert sein muss. Die Verschiebungen in der Seitenkette stimmen mit denen in **23**, **24** und **25** sehr gut überein, so dass angenommen wurde, dass sich die Hydroxymethylfunktion in Position 21 befindet. Durch HMQC- und HMBC-Spektren konnten diese Annahmen bestätigt werden. Das verbliebene Hydroxymethinproton (δ 4.31 [dd]) zeigt im HMBC-Spektrum lediglich Fernkopplungen mit den Kohlenstoffen in den Positionen 30 (δ 17.25 [q]), 14 (δ 52.06 [s]) und 8 (δ 140.76 [s]), die deutlich verschiedene Verschiebungen besitzen wie die analogen Kohlenstoffe in **25** (s. Abb. 4-11). Das lässt Position 15 als einzig mögliche Position für die verbleibende Hydroxygruppe zu. Ein Vergleich der Verschiebungen aller Ringkohlenstoffe dieser Verbindung mit den literaturbekannten Daten von Lanosta-7,9(11),24-trien-3 β ,15 α -diol (Polycarpol, Abb. 4-12), das von Jung *et al.* aus der Rinde der höheren Pflanze *Melodorum fruticosum* isoliert wurde^[99], bestätigte diese Annahme und lässt nur eine α -Konfiguration dieser Hydroxygruppe zu (δ [C-15]: 74.52 in Polycarpol^[99] und 74.66 in **48**). So wird als Struktur für diese Verbindung das Lanosta-7,9(11),24-trien-3 β ,15 α ,21-triol vorgeschlagen, das hier mit Pinicolol B (**48**) bezeichnet wird. Hierbei handelt es sich um einen bisher unbekannten Naturstoff.

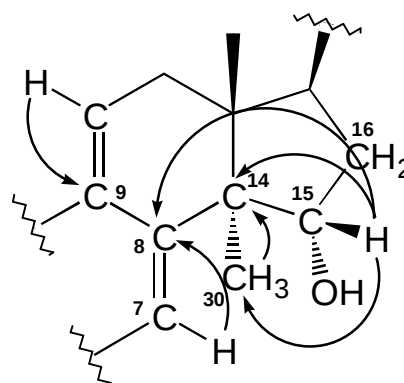


Abbildung 4-11: Wichtige beobachtete Fernkopplungen in **48**

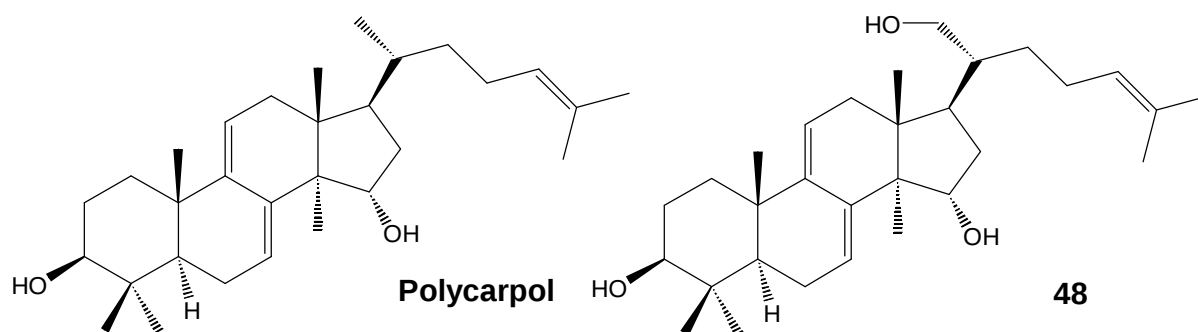


Abbildung 4-12: Polycarpol und Pinicolol B (**48**)

4.1.4.4 3-Oxolanosta-7,9(11),24-trien-15 α ,21-diol (Pinicolol C) (49)

Das ^1H -NMR-Spektrum dieser leicht verunreinigten Verbindung zeigt sieben Methylgruppen (alle s) ein Hydroxymethinproton (δ 4.31 [dd]), zwei diastereotop

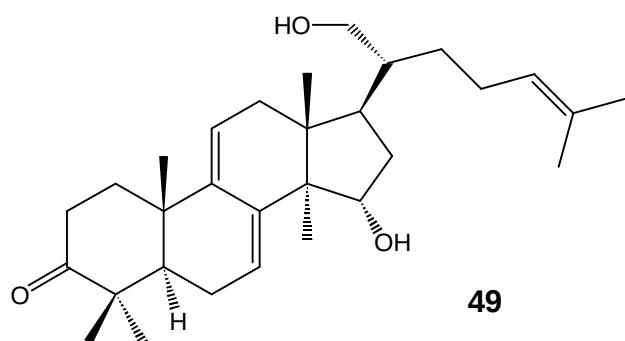


Abbildung 4-13: Pinicolol C (49)

Hydroxymethylenprotonen (δ 3.62 [dd] und 3.72 [dd]) und drei olefinische Protonen (δ 5.11 [t], 5.39 [d] und 5.92 [d]). Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind sechs olefinische Kohlenstoffe (δ 116.82 [d], 121.27 [d], 124.57 [d], 131.77 [s], 140.97 [s] und 144.90 [s]), ein Hydroxymethylen- (δ 62.46 [t]), ein Hydroxymethin- (δ 74.57 [d]) sowie ein Ketokohlenstoff (δ 216.60

[s]) zu erkennen. Die Verschiebungen der Kohlenstoffatome im Ring A stimmen sehr gut mit denen von Lanosta-7,9(11),24-trien-3-on (46) und die Verschiebungen in den Ringen C und D sowie in der Seitenkette sehr gut mit denen von Lanosta-7,9(11),24-trien-3 β ,15 α ,21-triol überein. Aufgrund der Verunreinigung war ein Massenspektrum nicht aussagekräftig, aber die Analyse der ^{13}C -NMR-Daten führte dazu, dass diese Verbindung als 3-Oxolanosta-7,9(11),24-trien-15 α ,21-diol identifiziert werden konnte, für das hier der Name Pinicolol C (49) vorgeschlagen wird. Bei dieser Verbindung handelt es sich ebenfalls um einen bisher unbekannten Naturstoff.

4.1.4.5 (-)-3,16-Dioxolanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (Pinicolsäure B) (50)

Diese kristallin erhaltene Substanz zeigt im ^1H -NMR-Spektrum sieben Methylgruppen (alle s) und ein olefinisches Proton (δ 5.36 [t]). Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind vier olefinische Kohlenstoffe (δ 123.58 [d], 131.42 [s], 132.46 [s] und 134.51 [s]), eine Carbonsäureeinheit (δ 176.85 [s]) sowie zwei Ketokohlenstoffe (δ 215.60 [s], 217.37 [s]) zu erkennen. Die Kohlenstoffanzahl beträgt 30

und der Molekülpeak im Massenspektrum bei $m/z = 468$ bestätigt eine mögliche Elementarzusammensetzung von $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_4$. Ein [M-Me]-Peak tritt bei $m/z = 453$ auf. Die Verschiebungen der Kohlenstoffe in den Ringen A und B stimmen sehr gut mit denen von 3-Oxolanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (2) überein, so dass eine Ketofunktion in Position 3 lokalisiert sein muss. Die Position der zweiten Keto- und der Carboxy-Funktion wurden mittels HMBC-

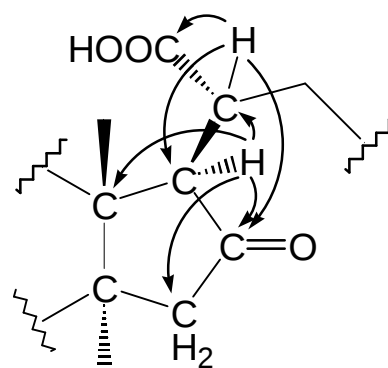


Abbildung 4-14: Wichtige Fernkopplungen in 50

Spektroskopie ermittelt. Dieser Ketokohlenstoff zeigte Fernkopplungen mit den Protonen an

C-17 und C-20 (beide δ 2.95 [m]), so dass er sich in Position 16 befinden muss. Der Carbonsäurekohlenstoff zeigt ebenfalls Fernkopplungen mit den Protonen an C-17 und C-20, aber zusätzlich Kopplung mit den Protonen an C-22 (ebenfalls δ 2.95 [m]), so dass Position 21 die einzig mögliche bleibt (s. Abb. 4-14), was auch mit den bisherigen Ergebnissen übereinstimmt, da in fast allen aus *F. pinicola* isolierten Triterpensäuren die Carbonsäurefunktion in Position 21 zu finden ist. Somit ist dieser neue Naturstoff die Verbindung 3,16-Dioxolanosta-8,24-dien-21-carbonsäure, für die hier der Name Pinicolsäure B (**50**) vorgeschlagen wird.

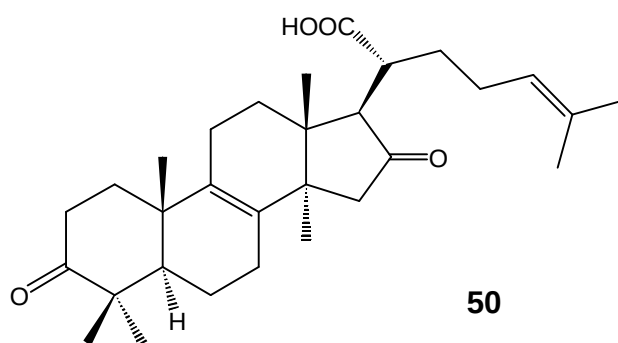


Abbildung 4-15: (-)-Pinicolsäure B (**50**)

4.1.4.6 (+)-3,4-*seco*-Lanosta-4(28),8,24-trien-3,21-dicarbonsäure (Pinicolsäure C) (**51**)

Das ^1H -NMR-Spektrum dieser Verbindung zeigt sechs Methylgruppen (alle *s*) und drei olefinische Protonen (δ 4.69 [br. s], 4.90 [br. s] und 5.08 [t]). Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind sechs olefinische Kohlenstoffe (δ 113.70 [t], 123.58 [d], 129.44 [s], 132.32 [s] und 138.98 [s], 147.46 [s]) sowie zwei Carbonsäure-Einheiten (δ 181.38 [s], 184.04 [s]) zu erkennen. Die Kohlenstoffanzahl beträgt 30 und die Verschiebungen der Kohlenstoffe in den Ringen C und D sowie in der Seitenkette zeigen gute Übereinstimmung mit denen von **2** und **50**, so dass eine Carbonsäurefunktion in Position 21 lokalisiert sein muss. Die Verschiebungen der olefinischen Kohlenstoffe sowie die Anwesenheit der beiden olefinischen Protonen mit Verschiebungen unter 5 ppm deuten auf die Anwesenheit einer externen Doppelbindung hin. Die Auswertung des HBMK-Spektrums zeigte die

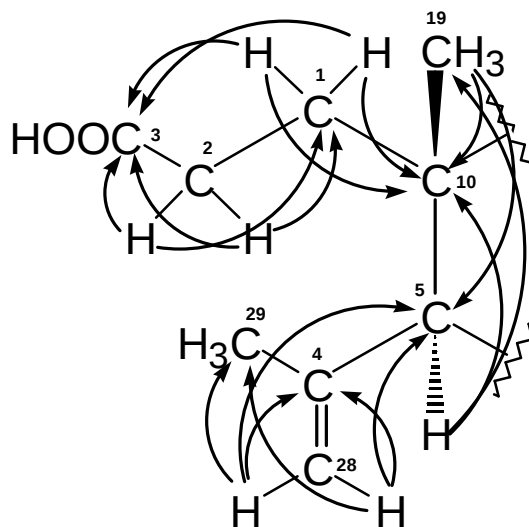


Abbildung 4-16: Wichtige Fernkopplungen in **51**

in Abbildung 4-16 aufgeführten Fernkopplungen. Das Auftreten eines intensiven Signals bei $m/z = 397$ ($[M-CH_2CH_2COOH]^+$) im Massenspektrum neben einem Molekülpeak bei 470 bestätigte, dass es sich hierbei um 3,4-*seco*-Lanosta-4(28),8,24-trien-3,21-dicarbonsäure handeln muss, für die hier der Name Pinicolsäure C (51) vorgeschlagen wird. Auch waren die erhaltenen Daten (speziell das MS) vergleichbar mit denen von Delevoyin A (3,4-*seco*-Tirucalla-4(28),7,24-trien-3,21-dicarbonsäure), das von *Mulholland et al.* aus dem sambischen Baum *Entandrophragma delevoyi* isoliert wurde^[100].

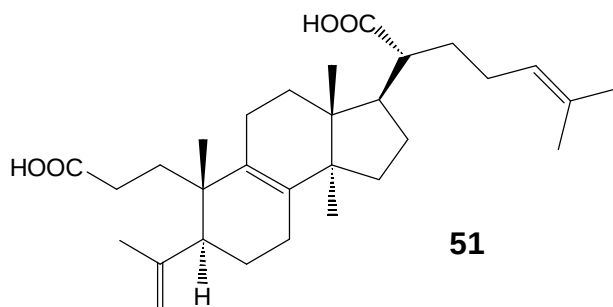


Abbildung 4-17: (+)-Pinicolsäure C (51)

4.1.4.7 (-)-3 β -Hydroxy-16-oxolanosta-7,9(11),24-trien-21-carbonsäure (Pinicolsäure D) (52)

Das 1H -NMR-Spektrum dieser kristallin erhaltenen Verbindung zeigt sieben Methylgruppen (alle s) ein Hydroxymethinproton (δ 3.45 [dd]) und drei olefinische Protonen (δ 5.37 [t], 5.41 [d] und 5.51 [d]). Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind sechs olefinische Kohlenstoffe (δ 116.05 [d], 122.45 [d], 124.45 [d], 131.41 [s], 139.65 [s] und 146.38 [s]), ein Hydroxymethin- (δ 77.56 [d]), ein Ketokohlenstoff (δ

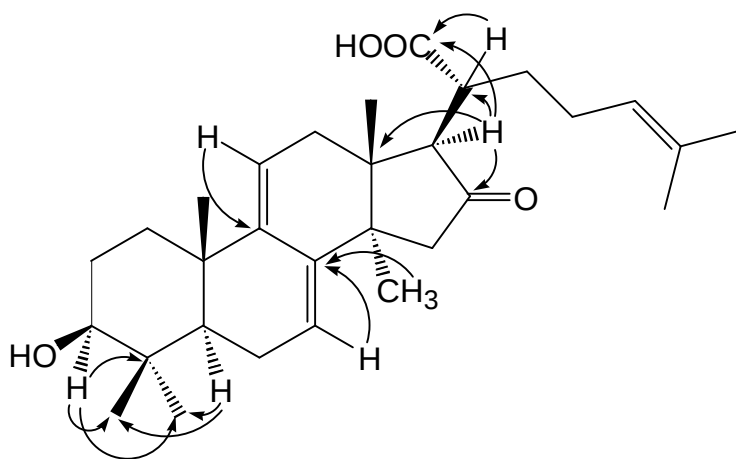


Abbildung 4-18: Wichtige Fernkopplungen in 52

216.81 [s]) sowie eine Carbonsäureeinheit (δ 176.76 [s]) zu erkennen und die Kohlenstoffanzahl beträgt 30. Alle diese Verschiebungen sind nicht vergleichbar mit denen zuvor isolierter Substanzen, deuten aber auf ein Lanosta-7,9(11),24-trien-Gerüst hin, das eine Hydroxy-, eine Keto- und eine Carbonsäurefunktion enthält. Im Massenspektrum sind ein Molekülpeak bei $m/z = 468$, ein $[M-Me]$ -Peak bei 453 sowie ein $[M-Me-H_2O]$ -Peak bei 435

zu erkennen, was die mögliche Elementarzusammensetzung von $C_{30}H_{44}O_4$ bestätigt. Zur endgültigen Stukturbestimmung wurden zweidimensionale NMR-Spektren (COSY, HMQC, HMBC) angefertigt und ausgewertet. Auf diese Weise konnten sämtliche Konnektivitäten ermittelt werden. Die wichtigen Fernkopplungen, die zur Ermittlung der Struktur führten, sind in Abbildung 4-18 aufgeführt. Die Verschiebungen der Kohlenstoffe 3, 28 und 29 zeigen eindeutig, dass die Hydroxyfunktion in Position 3 β -Konfiguration besitzen muss, da diese Verschiebungen bei einer α -Konfiguration deutlich anders sein würden. So konnte dieser neue Naturstoff als 3 β -Hydroxy-16-oxolanosta-7,9(11),24-trien-21-carbonsäure identifiziert werden, für die hier der Name Pinicolsäure D (52) vorgeschlagen wird.

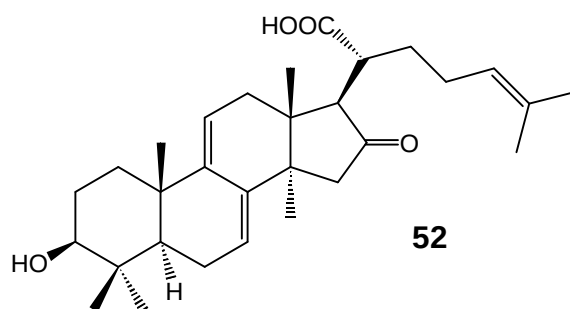


Abbildung 4-19: (-)-Pinicolsäure D (52)

4.1.4.8 16 α -Hydroxy-3-oxolanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (Pinicolsäure E) (53)

Das 1H -NMR-Spektrum dieser leicht verunreinigten Verbindung zeigt sieben Methylgruppen (alle *s*), ein Hydroxymethinproton (δ 4.14 [*t*]) und ein olefinisches Proton (δ 5.13 [*t*]). Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind vier olefinische Kohlenstoffe (δ 123.41 [*d*], 132.47 [*s*], 133.24 [*s*] und 135.08 [*s*]), eine Carbonsäureeinheit (δ 181.01 [*s*]) sowie ein Ketokohlenstoff (δ 217.52 [*s*]) zu erkennen. In $CDCl_3$ sind nur 29 Kohlenstoffe zu erkennen. Allerdings wird ein Signal bei δ 77.04 eines Hydroxymethinkohlenstoffes durch das Lösungsmittelsignal überlagert. Das Massenspektrum zeigt aufgrund der vorhandenen Verunreinigung keine charakteristischen Signale und kann zur Strukturaufklärung nicht herangezogen werden. Ein Vergleich der ^{13}C -Verschiebungen der Ringe A, B und C von 21-Hydroxylanosta-8,24-dien-3-on (23) zeigt sehr gute

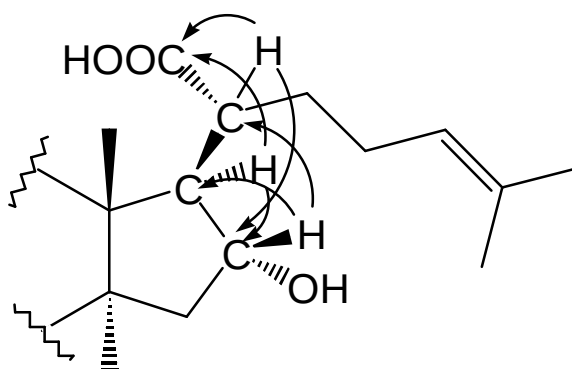


Abbildung 4-20: Wichtige Fernkopplungen in 53

Das Massenspektrum zeigt aufgrund der vorhandenen Verunreinigung keine charakteristischen Signale und kann zur Strukturaufklärung nicht herangezogen werden. Ein Vergleich der ^{13}C -Verschiebungen der Ringe A, B und C von 21-Hydroxylanosta-8,24-dien-3-on (23) zeigt sehr gute

Übereinstimmungen mit den erhaltenen Daten, so dass die Ketofunktion in Position 3 lokalisiert sein muss, was durch Auftreten von 3J -Fernkopplungen des Ketokohlenstoffes mit den Protonen der Methylgruppen 28 und 29 bestätigt wurde (HMBC). Weitere Auswertung der beobachteten Fernkopplungen zeigte, dass die Carbonsäurefunktion in Position 21 liegt, da sie Fernkopplungen mit den Protonen an C-17 und C-20 zeigt, und die Hydroxyfunktion in Position 16 lokalisiert sein muss, da das verbleibende Proton an C-16 Fernkopplungen mit C-17 und C-20 und C-16 Fernkopplungen mit den Protonen an C-17 und C-20 zeigt (Abb. 4-20). Ein aufgenommenes NOESY-Spektrum lieferte keine hinreichenden Auskünfte über die relative Konfiguration an C-16, aber der Vergleich der ^{13}C -Verschiebungen in diesem Bereich (C-30, C-17, C-16, C-15) mit denen der von Keller *et al.* aus *F. pinicola* isolierten Polyporensäure C (30) ^[12] zeigt gute Übereinstimmung, so dass angenommen wird, dass hier eine α -Konfiguration vorliegt. Somit konnte dieser neue Naturstoff als 16 α -Hydroxy-3-oxolanosta-8,24-dien-21-carbonsäure identifiziert werden, für die hier der Name Pinicolsäure E (53) vorgeschlagen wird.

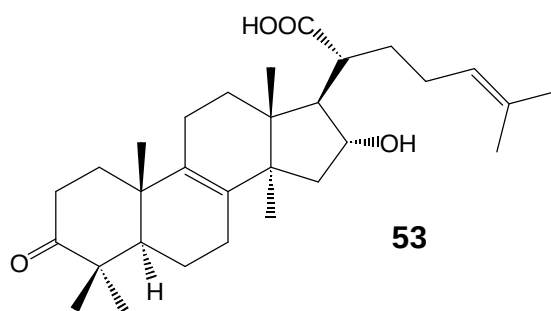


Abbildung 4-21: Pinicolsäure E (53)

4.1.5 Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung zwischen Kruste und Fruchtkörper von *Fomitopsis pinicola*

In dieser Arbeit wurde die weiche, rote bis dunkelblaue Kruste, die auf der Oberseite älterer Fruchtkörper von *F. pinicola* entsteht, abgetrennt, separat extrahiert und untersucht. Nach der Extraktion mit *n*-Hexan wurden beide Materialien, wie bereits beschrieben, mit Methanol und die nach Entfernen des Lösungsmittels erhaltenen festen Methanolextrakte mit Dichlormethan extrahiert. Hierbei stellte sich zunächst heraus, dass 90% des Methanolextraktes der Kruste und nur 14% des Methanolextraktes der Fruchtkörper ohne Kruste in Dichlormethan löslich sind, was auf eine deutlich unterschiedliche chemische Zusammensetzung hinweist. Beide Dichlormethanextrakte wurden daraufhin mittels HPLC an einer RP-18-Phase untersucht (Abbildung 4-22). Bei dem angelegten Lösungsmittelgradienten wurden nicht alle Verbindungen getrennt und da ein UV-Detektor verwendet wurde, konnten nicht alle Signale eindeutig zugeordnet werden. Es wurden aber

die Bereiche, in denen die Triterpensäuren und andere Triterpene eluiert werden, festgestellt. Bei einem Vergleich der HPLC-Chromatogramme stellt man fest, dass in der Kruste die Konzentration an Triterpenen signifikant höher ist, als im Rest der Fruchtkörper. Des weiteren befinden sich in den Fruchtkörpern zahlreiche polarere Verbindungen. Da junge Fruchtkörper von *F. pinicola* rein weiß sind und keine Kruste besitzen, wurde ein solcher ebenfalls mit Methanol extrahiert und der rohe Extrakt ebenfalls unter den gleichen Bedingungen HPLC-chromatographisch untersucht (Abb. 4-22). Auch hier ist die Konzentration an Triterpenen deutlich geringer als in der Kruste der älteren Fruchtkörper. Da beim vollständigen Abtrennen der sehr dünnen und weichen Kruste immer etwas des unter der Kruste liegenden Tramas mit abgetrennt wird, wurde zusätzlich eine kleine Menge (etwa 500 mg) der reinen Kruste von einem Fruchtkörper entfernt und mit Dichlormethan extrahiert, wobei sich das Material fast vollständig auflöste. Alle diese Ergebnisse führen zu der Erkenntnis, dass die zahlreichen Triterpenderivate von Beginn der fruktifizierenden Phase an in den Fruchtkörpern produziert und während des Alterungsprozesses als rötliche Schicht auf ihrer Oberseite akkumuliert werden, so dass diesen Verbindungen eine Schutzfunktion gegen Fraßfeinde und mikrobielle Angriffe zugeschrieben werden kann.

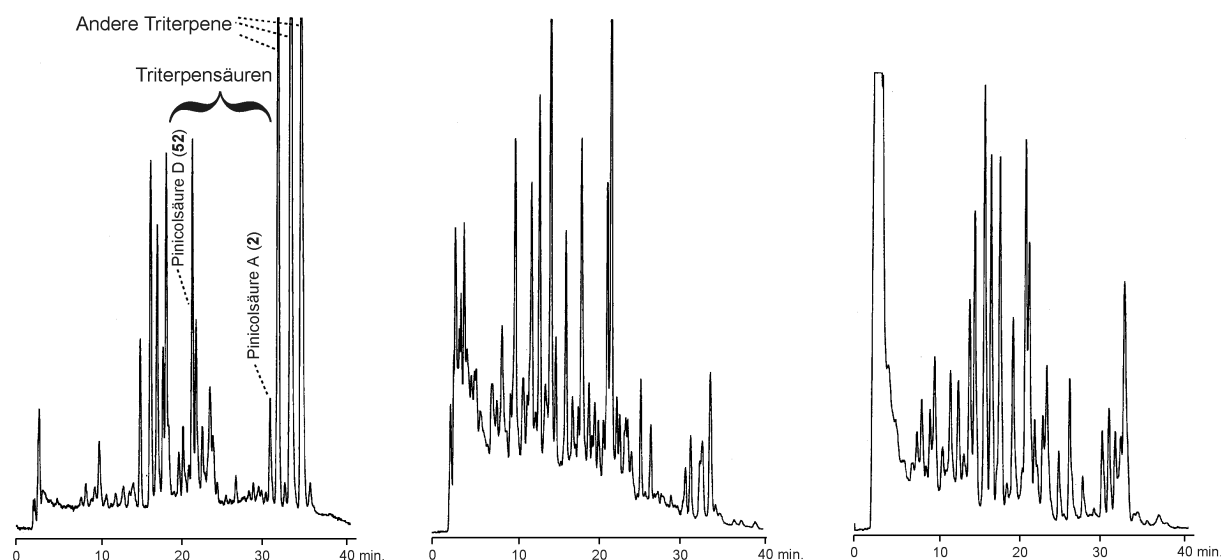


Abbildung 4-22: HPLC-Chromatogramme des dichlormethanolöslichen Anteils des Methanolextraktes der Kruste (links), des dichlormethanolöslichen Anteils des Methanolextraktes der Fruchtkörper ohne Kruste (Mitte) und des Methanolextraktes eines jungen Fruchtkörpers (rechts), Phenomenex „Prodigy“ RP-18, Laufmittel: Methanol: 2% aq. Essigsäure 75:25 (5 Min.), Änderung auf 100:0 über 20 Minuten.

4.1.6 Flüchtige Inhaltsstoffe aus dem Wasserdampfdestillat

Das durch Wasserdampfdestillation gewonnene ätherische Öl der vollständigen Fruchtkörper (inkl. Kruste) von *F. pinicola*, der zuvor noch nicht auf flüchtige Inhaltsstoffe hin untersucht wurde, wurde zunächst durch Kieselgelfiltration in zwei unpolare und eine polare Fraktion vorgetrennt. Diese Fraktionen wurden getrennt mittels GC-MS-Kopplung untersucht und die darin enthaltenen Verbindungen durch Vergleich der Retentionszeiten sowie der Massenspektren mit Literaturdaten ^[101] und mit denen vorhandener Standardverbindungen identifiziert. Die erhaltenen Gaschromatogramme sind in den Abbildungen 4-23 bis 4-25 aufgeführt. Es konnten die in Tabelle 4-1 aufgeführten aliphatischen und aromatischen Verbindungen sowie die in den Abbildungen 4-26 und 4-27 gezeigten Terpene identifiziert werden. Es wurden einige in Baumpilzen sehr häufig vorkommende aliphatische Ketone und Alkohole wie der Hauptinhaltsstoff 1-Octen-3-ol (49.6 %), von dem angenommen wird, dass hier das (S)-(+)-Enantiomer vorlag, da aus dem Baumpilz *Fomes fomentarius* ebenfalls nur dieses isoliert wurde ^[27], oder 3-Octanol, (Z)-2-Octen-1-ol und 3-Decanon identifiziert ^[35]. Des weiteren konnte eine große Anzahl Mono-, Sesqui- und Diterpene gefunden werden, von denen einige auch in anderen Pilzarten vorkommen, z.B. die Sesquiterpene 6-Protoilluden und (-)- β -Barbaten (*F. fomentarius* ^[27]), (+)- α -Barbaten und (*R*)-*trans*-Nerolidol (*Piptoporus betulinus* ^[28]) und das Diterpen (Z)-Biformen (aus Flüssigkulturen von *Trichothecium roseum* ^[102]). Viele Sesquiterpene wurden in der Vergangenheit z.B. von *Hanssen et al.* in Flüssigkulturen verschiedener Spezies, z.B. *Lentinus lepideus*, gefunden ^[9,53,103-105]. Das deutet auf die Wichtigkeit dieser flüchtigen Inhaltsstoffe für Pilze hin. Funktionen können z.B. das Abwehren oder Anlocken von Insekten sein, die dem Pilz eventuell schaden oder seine Sporen weiter verbreiten können. Einige der Sesquiterpene sowie die Diterpene Cembren A, 7,13-Abietadien und Abietatrien wurden hier zum ersten Mal als Metabolite von Pilzen identifiziert. Es wurden keine weiteren Versuche unternommen, die Fraktionen des Wasserdampfdestillats in seine Bestandteile aufzutrennen, da sich in einer früheren Arbeit erwiesen hat, dass die Mengen an flüchtigen Terpenen in natürlich gewachsenen Baumpilzen in der Regel zu gering sind, um Strukturaufklärungen neuer Verbindungen durchzuführen ^[28]. Auch wurden keine weiteren Konfigurationsanalysen durchgeführt. Von einigen Verbindungen wurde angenommen, dass sie dieselbe Konfiguration besitzen wie die analogen Verbindungen, die früher in anderen Baumpilzen gefunden wurden ^[27,28]. Nicht beschriftete Signale in den folgenden Abbildungen konnten nicht zugeordnet werden.

Tabelle 4-1: Flüchtige aliphatische und aromatische Verbindungen aus <i>Fomitopsis pinicola</i>	
3-Decanon (54)	1-Octanol (61)
3-Undecanon (55)	(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal (62)
3-Dodecanon (56)	2-Pentylfuran (63)
<i>n</i> -Heptanal (57)	Furfural (64)
(<i>S</i>)-(+)-1-Octen-3-ol (58)	Benzaldehyd (65)
3-Octanol (59)	Phenylacetaldehyd (66)
(<i>Z</i>)-2-Octen-1-ol (60)	4-Methoxyphenyllessigsäuremethylester (33)

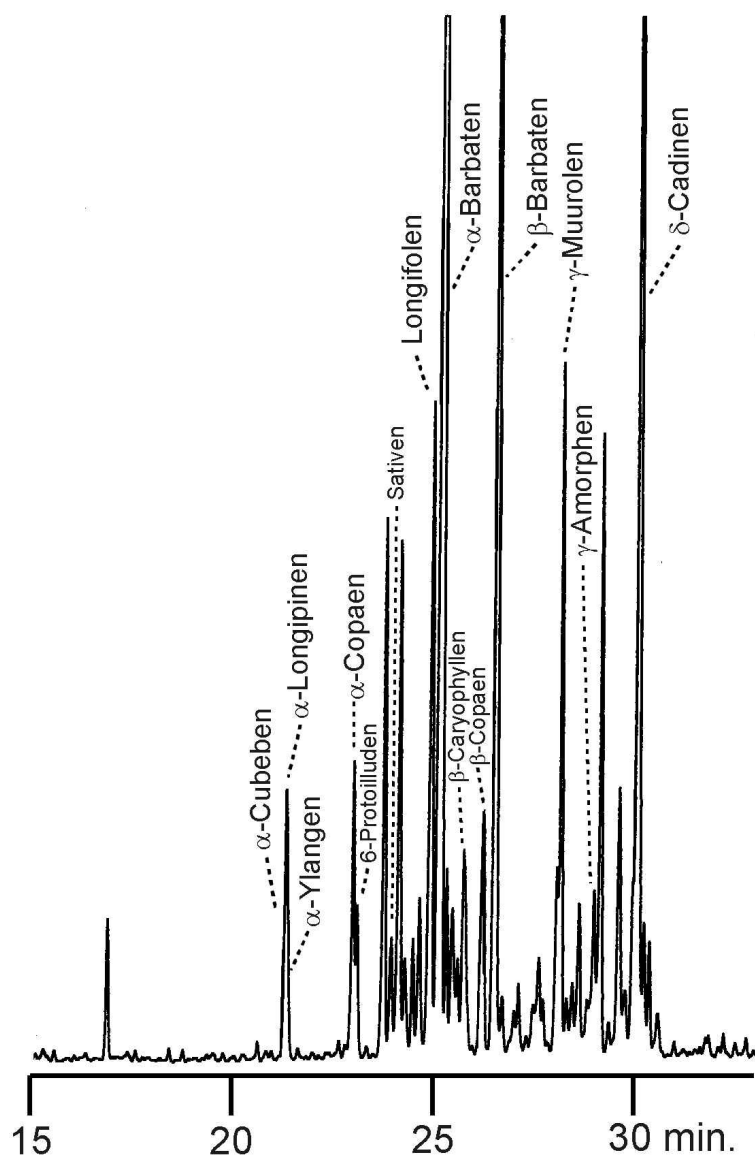


Abbildung 4-23: Fraktion 1 des Wasserdampfdestillats (CPSil-5CB, 25 m, 50-230° C, 3°/min.)

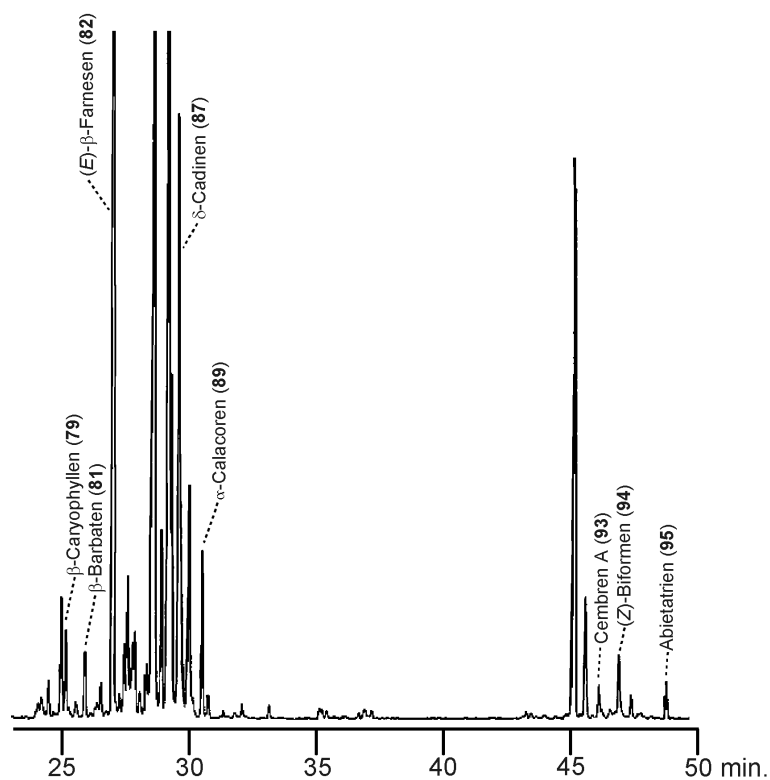


Abbildung 4-24: Fraktion 2 des Wasserdampfdestillats (CPSil-5CB, 25 m, 50-230° C, 3° /min.)

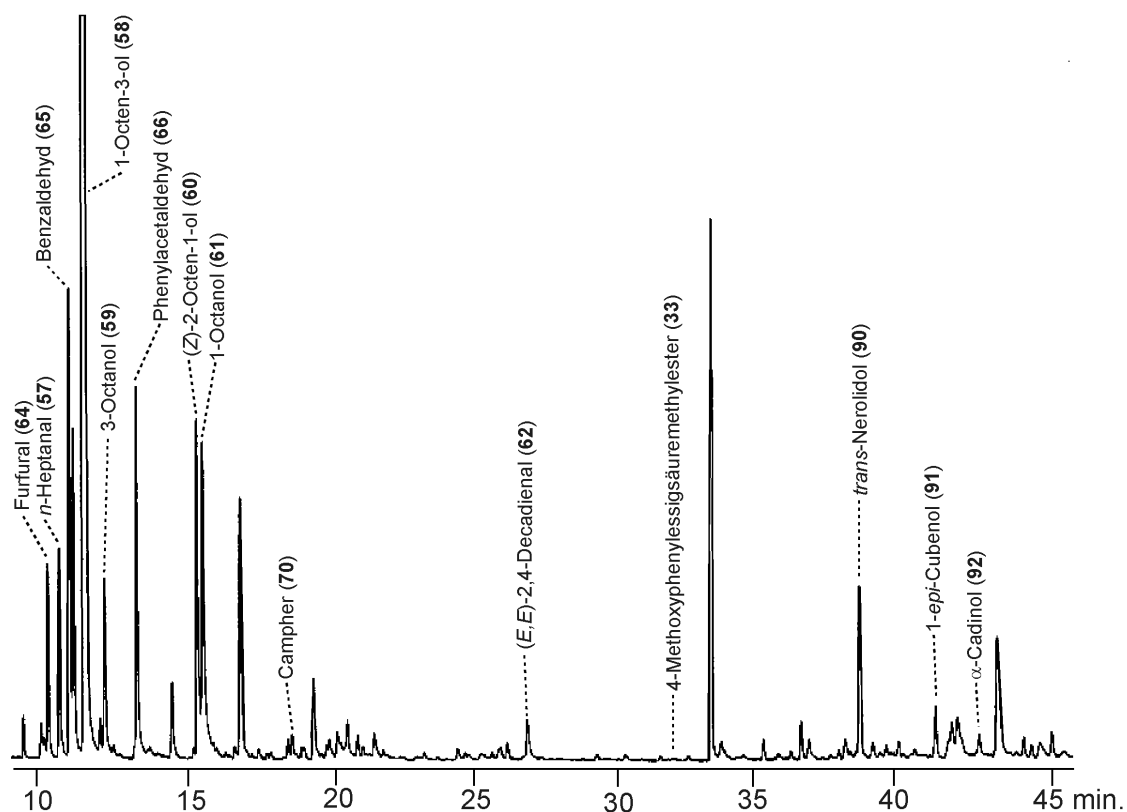
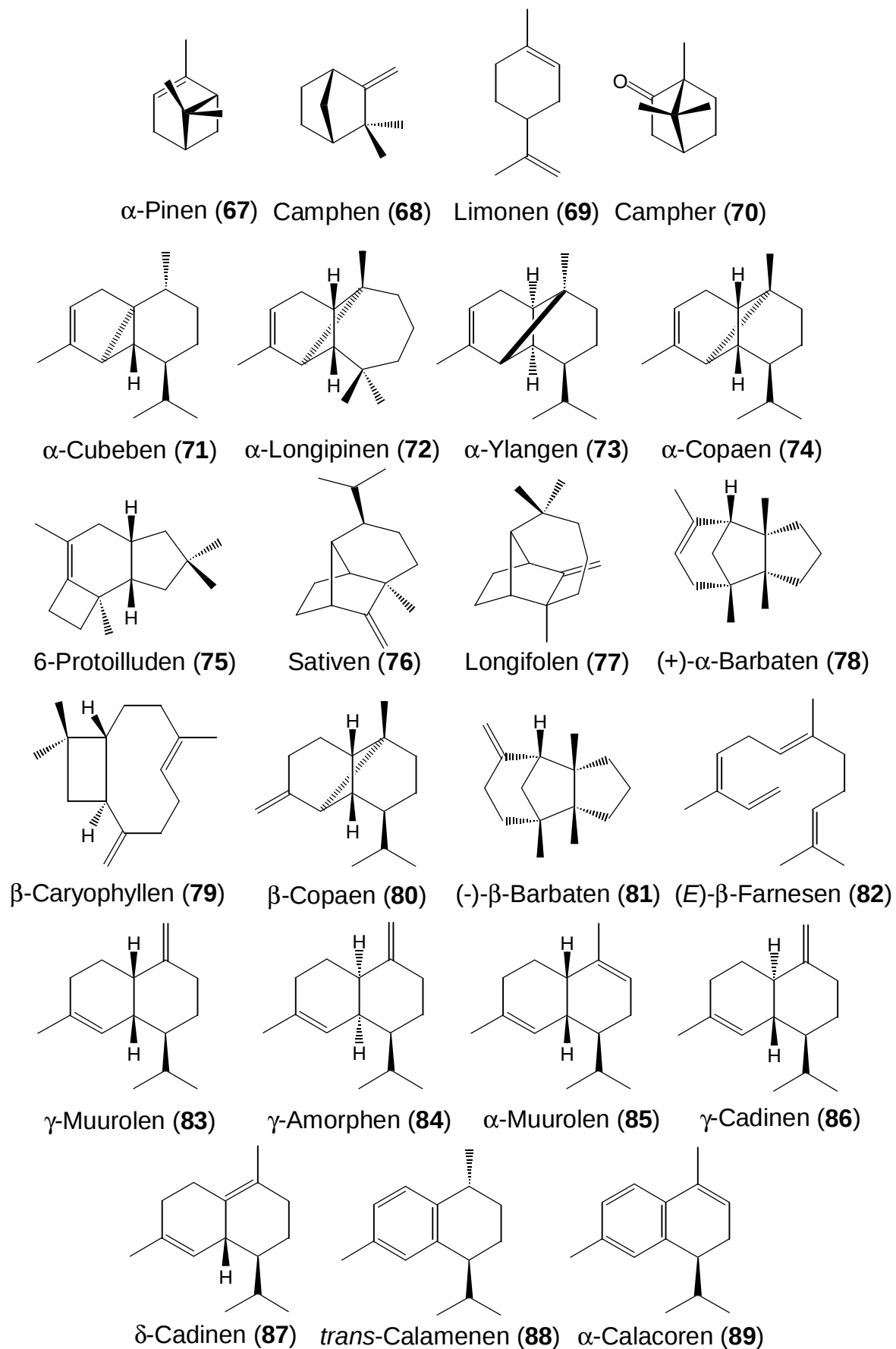


Abbildung 4-25: Ethylacetat-Eluat des Wasserdampfdestillats (CPSil-5CB, 25 m, 50-230° C, 3° /min.)


Abbildung 4-26: Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffe aus *Fomitopsis pinicola*

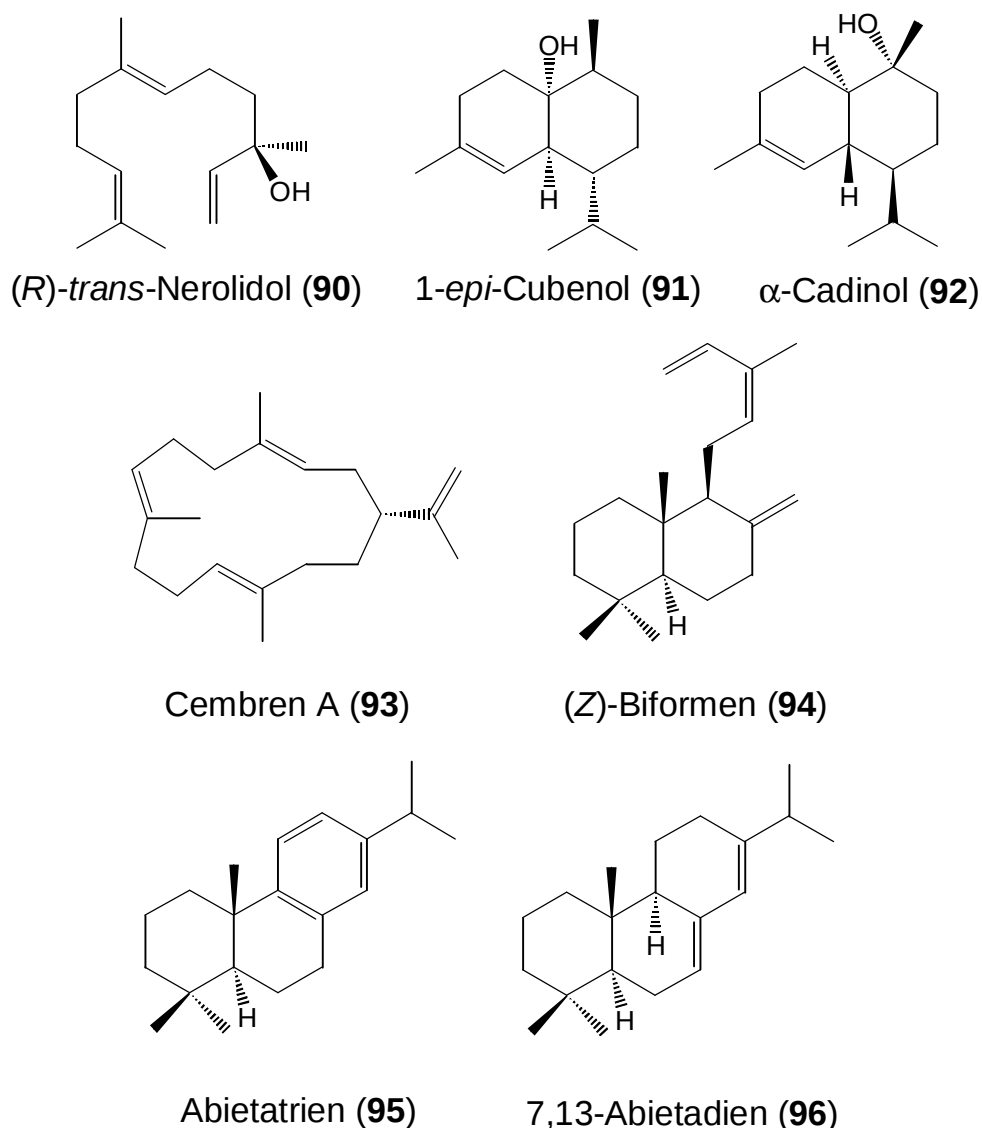


Abbildung 4-27: Sesquiterpen-Alkohole und Diterpene aus *Fomitopsis pinicola*

4.2 Isolierung von Inhaltsstoffen aus *Daedalea quercina*

Die in dieser Arbeit untersuchten Fruchtkörper von *Daedalea quercina* wurden bei Salzgitter im Harz gesammelt. Extraktion und Trennung wurden analog der Vorgehensweise bei *Fomitopsis pinicola* durchgeführt (s. Kap. 4.1 und 4.2). Da aber die Fruchtkörper von *D. quercina* keine Kruste auf ihrer Oberseite besitzen, wurden sie komplett in einem Extraktionsschritt aufgearbeitet.

4.2.1 Inhaltsstoffe aus dem *n*-Hexanextrakt

4.2.1.1 (*E*)- und (*Z*)-*p*-Methoxyzimtsäuremethylester (97, 98)

Im ^1H -NMR-Spektrum dieses Gemisches sind zunächst 2 intensive Signale, die 4 aromatischen Protonen zugeordnet werden können (δ 6.92 [dt], 7.49 [dt]). Das

Kopplungsmuster deutet auf einen *p*-substituierten aromatischen Ring hin. Des weiteren existieren zwei Dubletts, die jeweils einem Proton zugeordnet werden können und nur miteinander koppeln (δ 6.32 [d], 7.66 [d]). Deren große Tieffeld-Verschiebung sowie die Größe der Kopplungskonstanten ($^3J = 16.2$ Hz) sprechen für eine Doppelbindung in Konjugation mit dem aromatischen Ring, an der eine (*E*)-Konfiguration vorliegt. Des weiteren sind noch zwei Methylgruppen zu erkennen, die beide an je einen Sauerstoff gebunden sind (δ 3.80 [s], 3.85 [s]). Das Massenspektrum zeigt einen Molekülpeak bei $m/z = 192$ sowie weitere intensive Signale bei 161 und 133. Diese Daten deuten darauf hin, dass es sich bei dieser Verbindung um (*E*)-*p*-Methoxyzimtsäuremethylester (**97**) handelt, was durch Vergleich mit vorhandenen Literaturdaten bestätigt werden konnte ^[106,107]. Zum endgültigen Strukturbeweis wurde **97** aus kommerziell erhältlicher 4-Methoxyzimtsäure durch Umsetzung mit Diazomethan synthetisiert. Die erhaltenen spektroskopischen Daten stimmten mit denen des isolierten Naturstoffes überein. Eine Koinjektion des Naturstoffes mit der synthetisierten Substanz lieferte zusätzlich gleiche Retentionszeiten. Demnach entspricht im Massenspektrum das Signal bei $m/z = 161$ dem [M-OMe]- und das Signal bei 133 dem [M-COOMe]-Fragment. **97** wurde zuvor von Wat *et al.* in der Spezies *Lentinus lepideus* gefunden ^[108].

Neben dieser Hauptkomponente ist in dieser Fraktion im Verhältnis 15:1 eine weitere Komponente enthalten, die durch GC-MS-Kopplung nachgewiesen wurde. Das Massenspektrum dieser zweiten Verbindung ist nahezu identisch mit dem von **97**, was darauf hindeutet, dass es sich hierbei um das entsprechende (*Z*)-Isomer zu **97** handelt. Auch im ^1H -NMR-Spektrum sind weitere Signale erkennbar, die diese Vermutung bei Vergleich mit den bekannten Literaturdaten von (*Z*)-*p*-Methoxyzimtsäuremethylester (**98**) bestätigen ^[109].

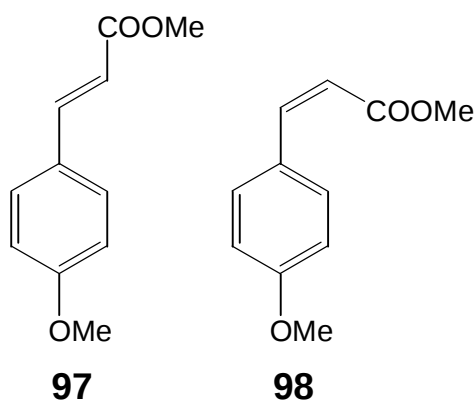


Abbildung 4-28: (*E*)- und (*Z*)-*p*-Methoxyzimtsäuremethylester (**97**, **98**)

4.2.2 Inhaltsstoffe aus dem Dichlormethanextrakt

4.2.2.1 16 α -Acetoxy-24-methylen-3-oxolanost-7,9(11)-dien-21-carbonsäure (16-*O*-Acetylpolyporensäure C) (**99**) und 16 α -Acetoxy-24-methylen-3-oxolanost-8-en-21-carbonsäure (**100**)

Eine Fraktion enthielt ein 1:1-Gemisch zweier Verbindungen. Ein Vergleich der spektroskopischen Daten mit den Literaturwerten von 16 α -Acetoxy-24-methylen-3-oxolanost-7,9(11)-dien-21-carbonsäure (**99**) zeigt eindeutig, dass eine dieser beiden Verbindungen **99** ist ^[12]. Es sind aus dem ¹³C-NMR-Spektrum acht Methylgruppen (alle s), sechs olefinische (δ 106.85 [t], 116.51 [d], 121.16 [d], 141.29 [s], 144.48 [s], 154.82 [s]), ein Acetoxymethin- (δ 78.71 [d]), ein Carbonsäure- (δ 180.53 [s]), ein Ester- (δ 170.79 [s]) sowie ein Ketokohlenstoff (δ 216.47 [s]) der Verbindung **99** zuzuordnen. Aufgrund der zahlreichen Signale im ¹H-NMR-Spektrum ist dieses wenig aussagekräftig. Zu den verbleibenden Kohlenstoffsignalen zählen vor allem zwei weitere olefinische (δ 133.45 [s], 134.63 [s]), ein Acetoxymethin- (δ 78.98 [d]), ein Carbonsäure- (δ 180.77 [s]) und ein Ketokohlenstoff (δ 217.48 [s]), was auf eine ähnliche Struktur wie **99** hinweist, die aber ein Lanost-8-en-Gerüst besitzt. Des weiteren sind einige Signale, die der Seitenkette von **99** zugeordnet sind, deutlich intensiver, was darauf hindeutet, dass einige Signale der Seitenkette von **99** die gleichen Verschiebungen besitzen, wie die der zweiten Verbindung. Ein Vergleich der Signale der Ringe A, B und C von 21-Hydroxylanosta-8,24-dien-3-on (**23**) mit den verbleibenden zeigt eine sehr gute Übereinstimmung, so dass dieser Verbindung letztendlich die Struktur 16 α -Acetoxy-24-methylen-3-oxolanost-8-en-21-carbonsäure (**100**) zugeordnet werden konnte.

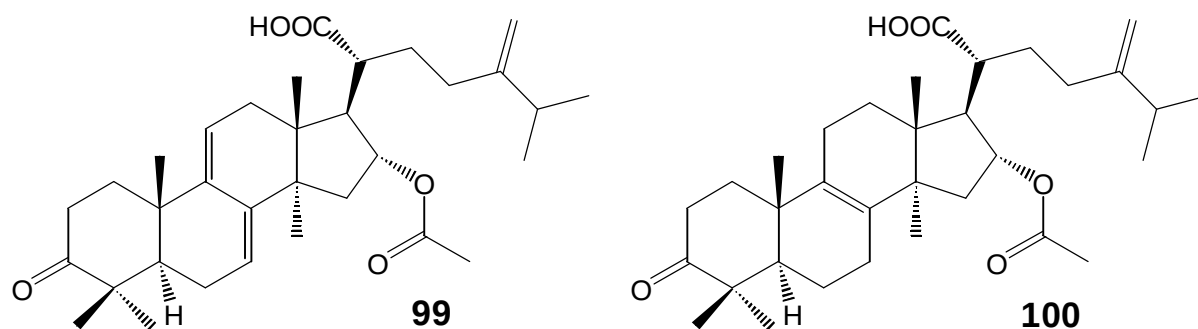


Abbildung 4-29: 16-*O*-Acetylpolyporensäure C (**99**) und 16 α -Acetoxy-24-methylen-3-oxolanost-8-en-21-carbonsäure (**100**)

Beide Verbindungen wurden bisher nicht als Naturstoffe beschrieben. Es wurde allerdings die aus *F. pinicola* isolierte Polyporensäure C (**30**) zur 16-*O*-Acetyl-Verbindung derivatisiert ^[12].

4.2.2.2 16 α -Hydroxy-24-methylen-3-oxolanost-7,9(11)-dien-21-carbonsäure (Polyporensäure C) (**30**) und 16 α -Hydroxy-24-methylen-3-oxolanost-8-en-21-carbonsäure (**101**)

Eine Fraktion enthielt ein 3:1-Gemisch zweier Verbindungen. Ein Vergleich der spektroskopischen Daten mit den Literaturwerten von 16 α -Hydroxy-24-methylen-3-oxolanost-7,9(11)-dien-21-carbonsäure (Polyporensäure C) (**30**) zeigt eindeutig, dass die im Unterschuss vorhandene Verbindung **30** ist, die bereits aus vielen Pilzen, u.a. aus *F. pinicola*, isoliert wurde ^[12]. Es sind aus dem ¹³C-NMR-Spektrum sieben Methylgruppen (alle *s*), sechs olefinische (δ 106.64 [*t*], 117.24 [*d*], 120.31 [*d*], 142.43 [*s*], 144.35 [*s*], 155.64 [*s*]), ein Hydroxymethin- (δ 75.98 [*d*]), ein Carbonsäure- (δ 178.24 [*s*]) sowie ein Ketokohlenstoff (δ 214.79 [*s*]) der Verbindung **30** zuzuordnen. Da **30** im Unterschuss vorlag, können keine Signale aus dem ¹H-NMR-Spektrum eindeutig zugeordnet werden, was bei der im Überschuss vorliegenden Verbindung jedoch möglich ist. Es sind im ¹H-NMR-Spektrum sieben Methylgruppen (5 x *s*, 2 x *d*), ein Hydroxymethin- (δ 4.53 [*dd*]) sowie zwei olefinische Protonen (δ 4.85 [*s*], 4.98 [*s*]) zu erkennen. Das ¹³C-NMR-Spektrum zeigt vier olefinische (δ 106.64 [*t*], 133.00 [*s*], 135.26 [*s*], 155.69 [*s*]), einen Hydroxymethin- (δ 76.17 [*d*]), einen Carbonsäure- (δ 178.37 [*s*]) sowie einen Ketokohlenstoff (δ 215.83 [*s*]), was für ein Lanost-8-en-Gerüst spricht. Die große Ähnlichkeit dieser Verschiebungen mit denen von **30** führt zu der Erkenntnis, dass es sich hierbei um die Verbindung 16 α -Hydroxy-24-methylen-3-oxolanost-8-en-21-carbonsäure (**101**) handelt. Diese Verbindung wurde zuvor aus dem eng verwandten Pilz *Daedalea dickinsii* isoliert ^[110,111], ihre NMR-Daten wurden aber bisher nicht beschrieben.

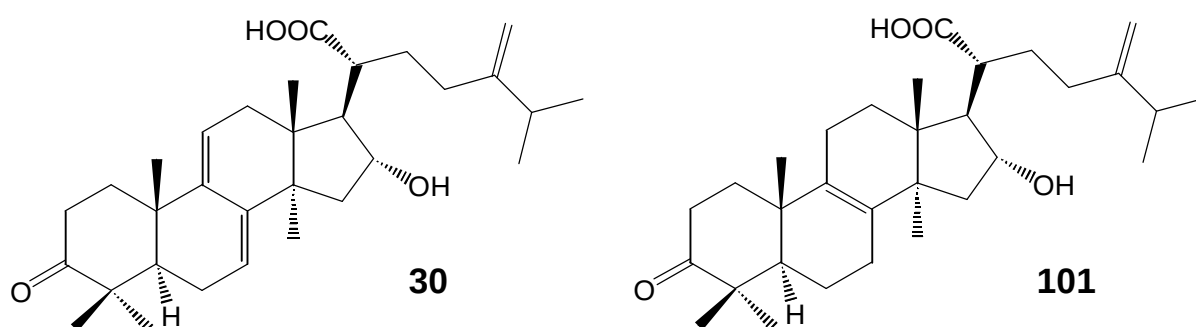


Abbildung 4-30: Polyporensäure C (**30**) und 16 α -Hydroxy-24-methylen-3-oxolanost-8-en-21-carbonsäure (**101**)

4.2.2.3 (-)-5 α ,8 α -Epidioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol (Ergosterolperoxid) (31)

Das ^1H -NMR-Spektrum dieser Verbindung zeigt sechs Methylgruppen (2 x s, 4 x d), ein Hydroxymethinproton (δ 3.97 [m]) und vier olefinische Protonen (δ 5.14 [dd], 5.22 [d], 6.24 [d] und 6.51 [d]). Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind vier olefinische Kohlenstoffe (δ 130.73 [d], 132.30 [d], 135.20 [d], 135.42 [d]), ein Hydroxymethin- (δ 66.46 [d]) sowie zwei oxygenierte

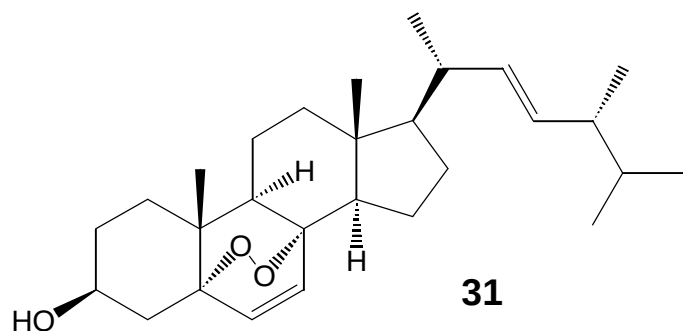


Abbildung 4-31: (-)-Ergosterolperoxid (31)

quartäre Kohlenstoffe (δ 79.43 [s], 82.16 [s]) zu erkennen und die Kohlenstoffanzahl beträgt 28. Das Massenspektrum zeigt ein Signal größter Masse bei $m/z = 396$. Durch Auswertung zweidimensionaler NMR-Spektren (HMQC, HMBC) konnten alle Konnektivitäten bestimmt und diese Verbindung als (-)-5 α ,8 α -

Epidioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol identifiziert werden, das auch als Ergosterolperoxid (31) bekannt ist und von *Tanahashi et al.* bereits aus *D. quercina* isoliert wurde [43]. Der Massenpeak bei 396 entspricht damit dem Fragment [M-O₂].

4.2.2.4 3 α -Carboxyacetoxy-24-methyl-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure (3 α -Carboxyacetoxyquercinsäure) (3)

Das ^1H -NMR-Spektrum dieser Verbindung zeigt acht Methylgruppen (5 x s, 3 x d), eine isolierte Methylengruppe (δ 3.45 [s]) sowie ein Methinproton (δ 4.76 [br. s]). Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind zwei olefinische Kohlenstoffe (δ 134.17 [s], 134.49 [s]), ein Ester- (δ 166.74 [s]) und ein Ketokohlenstoff (δ 213.53 [s]) sowie zwei Carbonsäureeinheiten (δ 171.49 [s], 181.41 [s]) zu erkennen. Die Kohlenstoffanzahl beträgt 34. Das Massenspektrum zeigt ein Signal größter Masse bei $m/z = 528$. Vergleich dieser Daten mit denen der von *Chairul et al.*

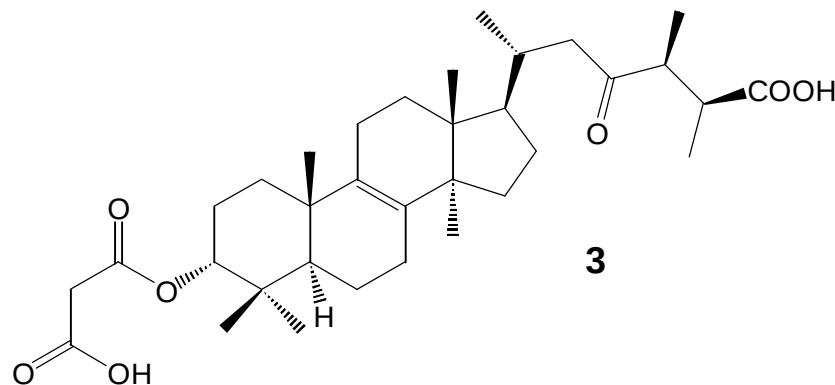


Abbildung 4-32: 3 α -Carboxyacetoxyquercinsäure (3)

aus einer nicht identifizierten *Ganoderma*-Art isolierten 3 α -Carboxyacetoxy-24-methyl-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure, die als 3 α -Carboxyacetoxyquercinsäure (3) bekannt ist, lieferten eine sehr gute Übereinstimmung [47]. Die

Zuordnung der Signale konnte hier vervollständigt werden. Diese Verbindung wurde bereits von *Adam et al.* in *D. quercina* gefunden und ist das Haupttriterpen-Derivat aus dieser Spezies ^[13]. Die absolute Konfiguration von **3** wurde von *Chairul et al.* mittels Röntgenstrukturanalyse bestimmt ^[47].

4.2.2.5 (+)-24-Methylen-3,23-dioxolanost-8-en-26-carbonsäure (Quercinsäure B) (**102**)

Das ¹H-NMR-Spektrum dieser Verbindung zeigt sieben Methylgruppen (5 x s, 2 x d) und zwei olefinische Protonen (δ 5.95 [s], 6.20 [s]). Im ¹³C-NMR-Spektrum sind vier olefinische Kohlenstoffe (δ 125.46 [t], 133.31 [s], 135.16 [s], 148.05 [s]), zwei Ketokohlenstoffe (δ 201.83 [s], 217.90 [s]) sowie eine Carbonsäureeinheit (δ 178.31 [s]) zu erkennen. Die Kohlenstoffanzahl beträgt 31.

Das deutet auf ein Lanost-8-en-Gerüst hin, das mit einer Carbonsäureeinheit, sowie zwei Ketofunktionen funktionalisiert ist, von denen eine, aufgrund der für Ketogruppen starken Hochfeldverschiebung, in Konjugation mit einer Doppelbindung stehen muss. Aufgrund der Kohlenstoffanzahl von 31, der Verschiebungen der zweiten Doppelbindung sowie der Präsenz der erwähnten zwei

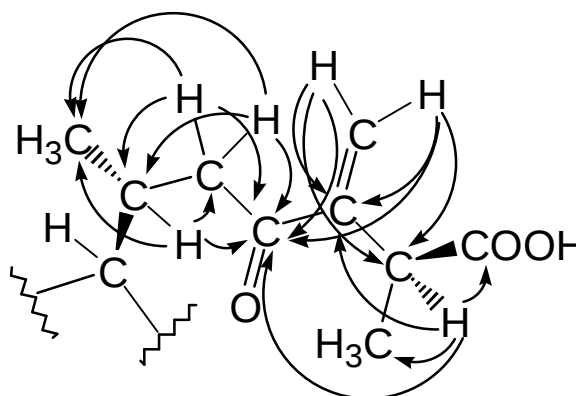


Abbildung 4-33: Wichtige Fernkopplungen in **102**

olefinischen Signale im Protonen-NMR-Spektrum, ist es wahrscheinlich, dass diese Doppelbindung eine Methylengruppe darstellt, die in Triterpen-Derivaten aus Pilzen sehr häufig in Position 24 lokalisiert ist. Das Massenspektrum zeigt ein Signal größter Masse bei $m/z = 482$, was die mögliche Elementarzusammensetzung von $C_{31}H_{46}O_4$ bestätigt. Die ¹³C-

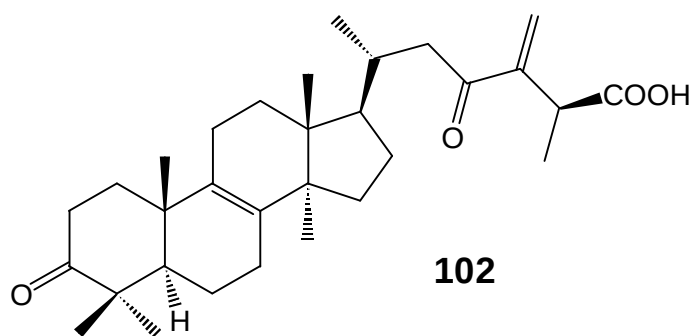


Abbildung 4-34: (+)-Quercinsäure B (**102**)

Verschiebungen in den Ringen A, B und C von 21-Hydroxylanosta-8,24-dien-3-on (**23**) sind mit denen dieser Verbindung nahezu identisch, so dass eine Ketofunktion in Position 3 lokalisiert sein muss. Auswertung der zweidimensionalen NMR-Spektren ergab die in Abbildung 4-33 dargestellten wichtigen Fern-

kopplungen. Somit ist dieser neue Naturstoff (+)-24-Methylen-3,23-dioxolanost-8-en-26-carbonsäure, für die hier der Name Quercinsäure B (**102**) vorgeschlagen wird. Es wird

angenommen, dass die absolute Konfiguration von **102** analog der von **3** ist (vgl. Kap. 4.2.2.4).

4.2.2.6 (+)-3 β ,12 β -Dihydroxy-24-methyl-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure (Quercinsäure C) (**103**)

Das ^1H -NMR-Spektrum dieser Verbindung zeigt acht Methylgruppen (5 x *s*, 3 x *d*) und zwei Hydroxymethinprotonen (δ 3.63 [*br. s*], 4.39 [*t*]). Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind zwei olefinische Kohlenstoffe (δ 133.33 [*s*], 136.74 [*s*]), ein Ketokohlenstoff (δ 213.31 [*s*]), zwei Hydroxymethinkohlenstoffe (δ 71.57 [*d*], 74.64 [*d*]) sowie eine Carbonsäure-Einheit (δ 178.04 [*s*]) zu erkennen. Die Kohlenstoffanzahl beträgt 31. Das spricht für ein Lanost-8-en-Gerüst, das wahrscheinlich in Position 24 eine weitere Methylgruppe besitzt. Im Massenspektrum sind ein Moleküllen-Signal bei $m/z = 502$, ein $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]$ -Signal bei 484, ein $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}-\text{Me}]$ -Signal bei 469 sowie ein $[\text{M}-2\text{H}_2\text{O}-\text{Me}]$ -Signal bei 451 zu erkennen. Das bestätigt die mögliche Elementarzusammensetzung von $\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{O}_5$. Zur Strukturaufklärung wurden zweidimensionale NMR-Spektren aufgenommen (HMQC, HMBC, NOESY). So konnten die in Abbildung 4-35 gezeigten Konnektivitäten ermittelt werden (nur die

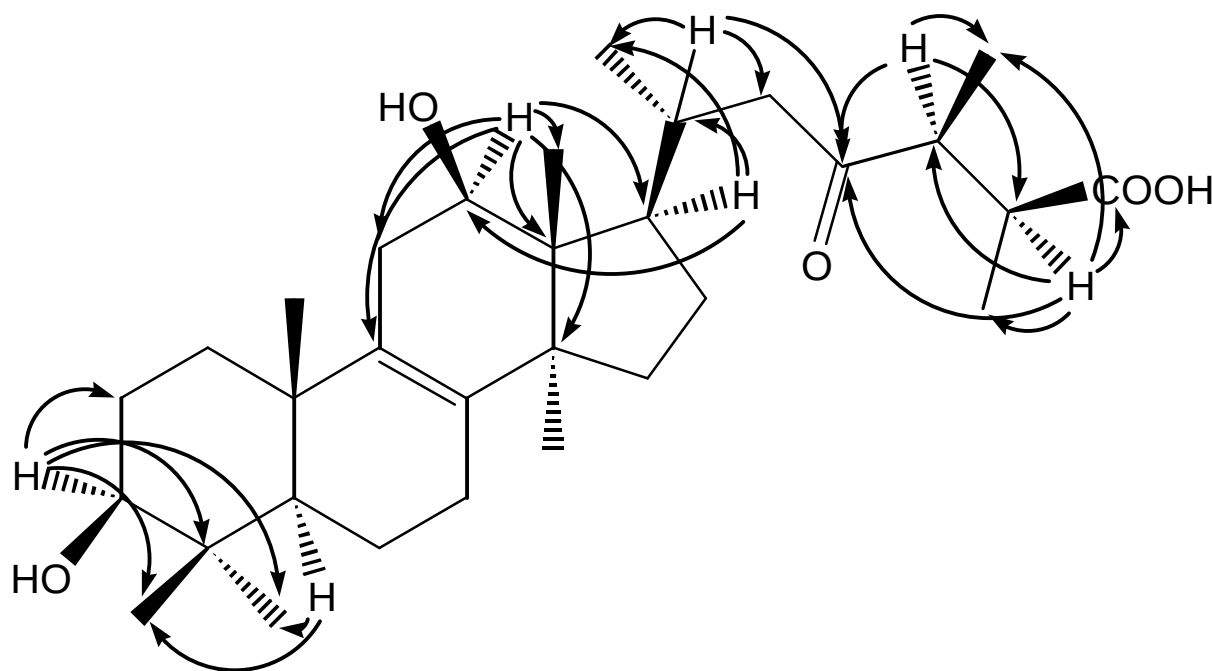


Abbildung 4-35: Wichtige Fernkopplungen in **103**

wichtigsten sind abgebildet). Zur Ermittlung der relativen Konfigurationen der Hydroxygruppen wurde das NOE-Spektrum herangezogen. Das verbleibende Proton an C-3 liegt demnach in räumlicher Nähe zur Methylgruppe C-28 und zum Proton an C-5, wechselwirkt aber nicht mit der Methylgruppe C-29, wonach die Hydroxyfunktion in Position

3 β -Konfiguration besitzen muss. Das Proton an C-12 liegt in räumlicher Nähe zur Methylgruppe C-30 und zum Proton an C-17, wechselwirkt aber nicht mit der Methylgruppe C-18. Damit kommt auch für die Hydroxyfunktion an C-12 nur eine β -Konfiguration in Frage (s. Abb. 4-36). Als Schlussfolgerung ergibt sich, dass es sich bei dieser Verbindung um (+)-3 β ,12 β -Dihydroxy-24-methyl-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure handelt, für die der Name Quercinsäure C (**103**) vorgeschlagen wird. Hierbei handelt es sich um einen neuen Naturstoff. Auch hier wird angenommen, dass die absolute Konfiguration, vor allem an C-24 und C-25, der von **3** entspricht (vgl. Kap 4.2.2.4).

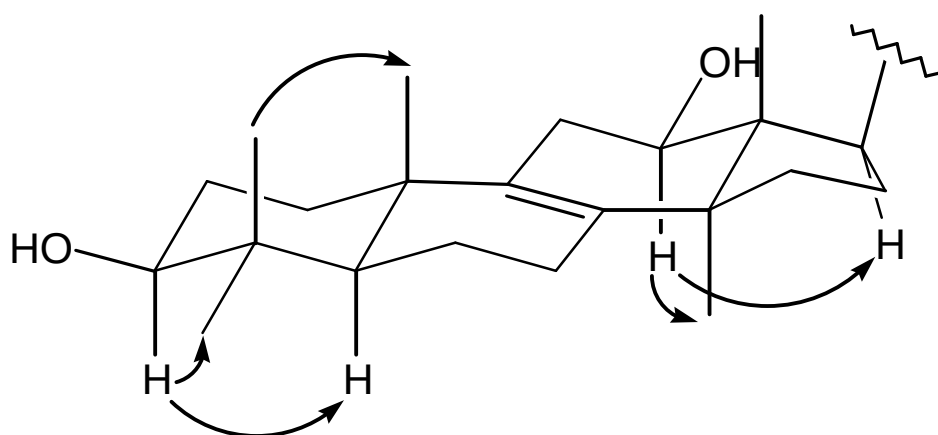


Abbildung 4-36: Wichtige NOE-Kopplungen in **103**

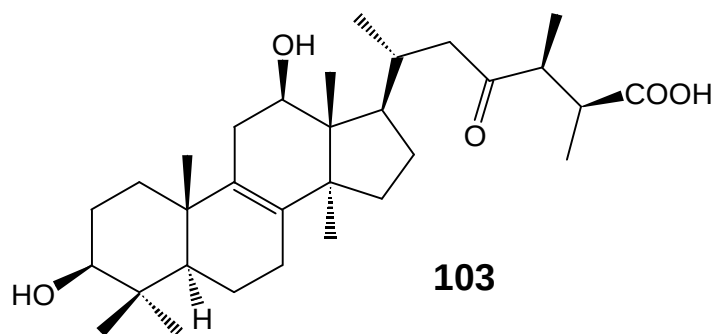


Abbildung 4-37: (+)-Quercinsäure C (**103**)

4.2.2.7 12 β ,23-Epoxy-3 α ,23-dihydroxy-24-methyl-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure (3 α -Oxepanoquercinsäure C) (**104**)

Das ^1H -NMR-Spektrum dieser leicht verunreinigten Verbindung zeigt acht Methylgruppen (5 x s, 3 x d) und zwei Methinprotonen (δ 4.34 [t], 4.74 [br. s]). Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind zwei olefinische Kohlenstoffe (δ 133.84 [s], 134.85 [s]), zwei stark tieffeldverschobene Methinkohlenstoffe (δ 75.79 [d], 79.73 [d]), ein stark tieffeldverschobener quartärer Kohlenstoff (δ 109.96 [s]) sowie eine Carbonsäureeinheit (δ 177.36 [s]) zu erkennen. Die Kohlenstoffanzahl beträgt 31. Das Massenspektrum ist aufgrund

der Verunreinigung nicht aussagekräftig. Zur Strukturbestimmung wurden zweidimensionale NMR-Spektren aufgenommen (HMQC, HMBC). Die ^{13}C -Verschiebungen der Ringe des Steroidgerüsts zeigen viele Ähnlichkeiten mit denen der Quercinsäure C (**103**), so dass ein Lanost-8-en-Gerüst angenommen wurde. Das Proton an C-3 besitzt allerdings eine deutlich andere Verschiebung als das entsprechende in **103** (δ 4.74 im Vergleich zu 3.63), und auch die Kohlenstoffe in Ring A als auch die Methylgruppen 28 und 29 zeigen eher Ähnlichkeit in ihren Verschiebungen mit denen von 3 α -Acetoxylanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (**22**), so dass angenommen wurde, dass die Hydroxyfunktion in Position 3 α -Konfiguration besitzt. Das NOESY-Spektrum war nicht eindeutig und konnte leider keinen Beweis dafür liefern. Aus dem HMBC-Spektrum wurde ersichtlich, dass offenbar ein Ringschluss zwischen der Hydroxygruppe an C-12 in **103** und dem Carbonylkohlenstoff der Ketogruppe in Position 23

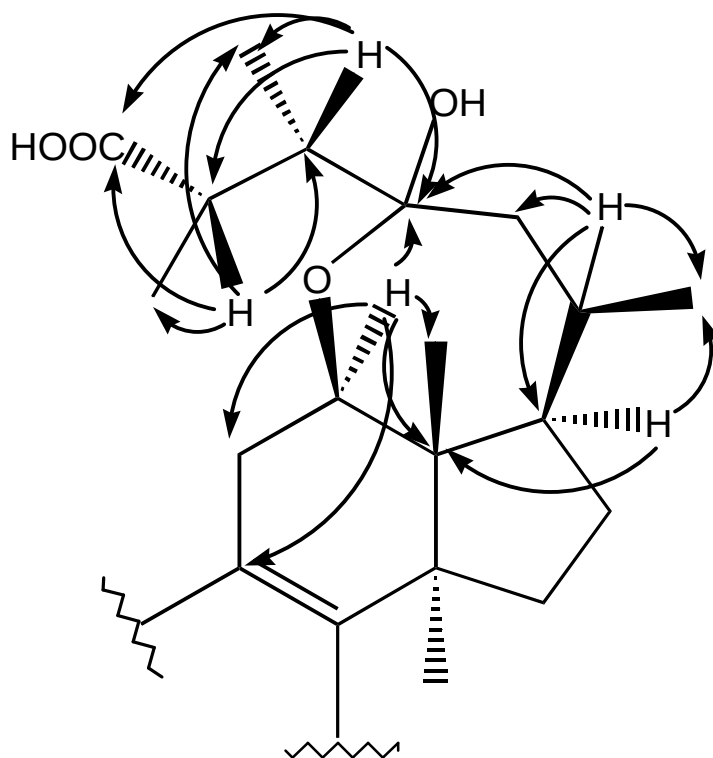


Abbildung 4-38: Beobachtete Fernkopplungen in **104**

stattgefunden hat, woraus ein Halbacetal resultiert. Die zu dieser Erkenntnis führenden Fernkopplungen sind in Abbildung 4-38 dargestellt.

Diese Analyse führt zur Erkenntnis, dass es sich hierbei um 12 β ,23-Epoxy-3 α ,23-dihydroxy-24-methyllanost-8-en-26-carbonsäure handelt, für die hier der Name 3 α -Oxepanoquercinsäure C (**104**) vorgeschlagen wird. Ob es sich bei diesem neuen Naturstoff um ein Artefakt handelt, das aus **103** während der Extraktion entsteht, konnte nicht geklärt werden. Dagegen spricht die α -Konfiguration in Position 3, die hier zum ersten Mal bei einer

freien Hydroxylgruppe beobachtet wurde und in Extrakten von z.B. *Fomitopsis pinicola* nicht auftritt, während die energetisch günstigere β -Konfiguration häufig vorkommt. Eine Epimerisierung, wie sie in Sacchariden vorkommt, ist aufgrund des fehlenden Ringsauerstoffes ebenfalls unwahrscheinlich.

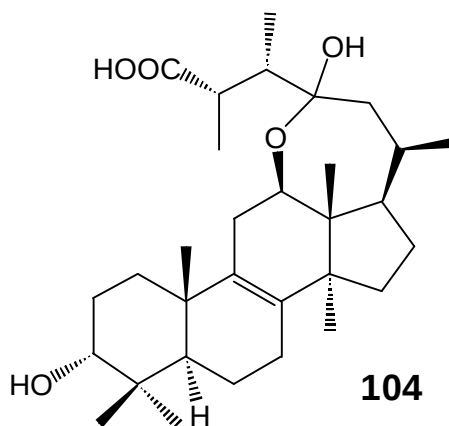


Abbildung 4-39: 3 α -Oxepanoquercinsäure C (104)

4.3 Isolierung von Inhaltsstoffen aus *Daedaleopsis confragosa* var. *tricolor*

Die Fruchtkörper von *Daedaleopsis confragosa* var. *tricolor* wurden im Sachsenwald nahe Hamburg gesammelt. Extraktion und Trennung wurden analog der Vorgehensweise bei *Fomitopsis pinicola* durchgeführt (s. Kap. 4.1 und 4.2) mit dem Unterschied, dass die Fruchtkörper dieser Spezies, die keine Kruste besitzen, nach Zerkleinerung zunächst mit *n*-Hexan, dann direkt mit Dichlormethan und zuletzt mit Methanol extrahiert wurden.

4.3.1 Inhaltsstoffe aus dem Dichlormethanextrakt

4.3.1.1 Identifizierung bereits beschriebener Verbindungen

In dieser Spezies konnte ebenfalls ein Gemisch aus den Linolsäuresterylestern **43-45** isoliert werden (s. Kap. 4.1.3.1). Das Verhältnis der Verbindungen zueinander war das gleiche wie in *Fomitopsis pinicola*. Des weiteren konnte (-)-5 α ,8 α -Epidioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol (Ergosterolperoxid) (**31**) (vgl. Kap. 4.2.2.3) aus dieser Spezies isoliert werden.

4.3.1.2 3 α -Carboxyacetoxy-24-methyl-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure (3 α -Carboxyacetoxyquercinsäure) (3) und 3 α -Carboxyacetoxy-24-methylen-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure (105)

Eine Fraktion enthielt ein 2,5:1 Gemisch zweier Verbindungen, von denen die im Unterschuss vorliegende anhand ihrer ^{13}C -Verschiebungen eindeutig als die bereits beschriebene 3 α -Carboxyacetoxyquercinsäure (3) identifiziert werden konnte (s. Kap. 4.2.2.4). Die zweite Komponente ist 3 sehr ähnlich, da nur wenige zusätzliche Signale im ^{13}C -NMR-Spektrum zu erkennen sind. Das ^1H -NMR-Spektrum dieser zweiten Verbindung zeigt acht Methylgruppen (5 x s, 3 x d), eine isolierte Methylengruppe (δ 3.46 [s]), ein Methinproton (δ 4.76 [br. s]) sowie zwei olefinische Protonen (δ 5.94 [s], 6.20 [s]). Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind vier olefinische Kohlenstoffe (δ 125.34 [t], 134.17 [s], 134.47 [s], 148.05 [s]), ein Ester- (δ 166.74 [s]) und ein Ketokohlenstoff (δ 201.54 [s]) sowie zwei Carbonsäureeinheiten (δ 171.49 [s], 179.76 [s]) zu erkennen. Die Kohlenstoffanzahl beträgt 34. Ein einfacher Vergleich der ^{13}C -Verschiebungen in der Seitenkette dieser Verbindung mit denen von Quercinsäure B (102) zeigte eine sehr gute Übereinstimmung. Des weiteren sind die Signale der Ringe A, B und C im ^{13}C -NMR-Spektrum deutlich intensiver als die übrigen, so dass angenommen werden kann, dass sich hier die Signale beider Verbindungen überlagern, was für eine Identität in diesem Bereich des Moleküls spricht. So wurde diese Verbindung als 3 α -Carboxyacetoxy-24-methylen-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure (105) identifiziert. Diese Verbindung wurde bereits von *Chairul et al.* aus einer *Ganoderma*-Art isoliert ^[47]. Vergleich der erhaltenen Daten mit denen aus der Literatur bestätigte die Annahme dieser Struktur. Auch hier wurde angenommen, dass die absolute Konfiguration in Position 25 die gleiche ist wie die in den ähnlichen Verbindungen aus *Daedalea quercina*.

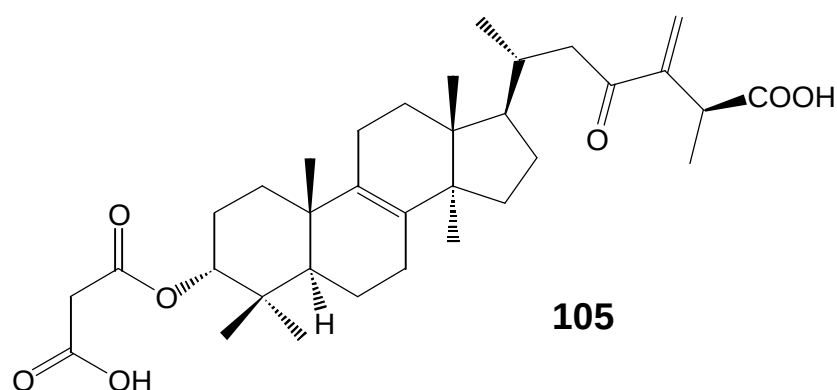


Abbildung 4-40: 3 α -Carboxyacetoxy-24-methylen-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure (105)

4.4 Inhaltsstoffe aus *Gloeophyllum odoratum*

Die in dieser Arbeit untersuchten Fruchtkörper von *Gloeophyllum odoratum* wurden in Hamfelde bei Hamburg gesammelt. Extraktion und Trennung wurden analog der Vorgehensweise bei *Fomitopsis pinicola* durchgeführt (s. Kap. 4.1 und 4.2). Da aber die Fruchtkörper von *G. odoratum* keine Kruste auf ihrer Oberseite besitzen, wurden sie komplett in einem Extraktionsschritt aufgearbeitet.

4.4.1 Inhaltsstoffe aus dem *n*-Hexanextrakt

4.4.1.1 4-Methoxyphenylelessigsäuremethylester (33)

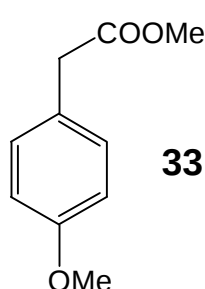


Abbildung 4-41:
4-Methoxyphenylelessig-
säuremethylester (33)

Das Massenspektrum dieser Verbindung zeigt einen Molekülpeak bei $m/z = 180$, ein Hauptsignal bei 121 und die für Aromaten typischen Signale 91 und 77. Diese Daten stimmen vollständig mit denen des bereits in *G. odoratum* gefundenen 4-Methoxyphenylelessigsäuremethylester (33) überein, der die Hauptkomponente des Wasserdampfdestillats dieser Spezies ist [28,50]. Die MS- als auch die ^1H -NMR-Daten stimmten zudem mit denen der von *Saalfank et al.* synthetisierten Verbindung überein [112].

4.4.1.2 (Z,Z)-9,12-Octadecadiensäure (Linolsäure) (106), (Z)-9-Octadecensäure (Ölsäure) (107) und Hexadecansäure (Palmitinsäure) (108)

Dieses Gemisch, das sich nach NMR-Analyse als ein Gemisch mehrerer Fettsäuren darstellte, wurde mit Diazomethanolösung versetzt, um die entsprechenden Methylester zu erhalten, die sich besser mittels GC-MS-Kopplung untersuchen lassen. Auswertung der Massenspektren und Vergleich mit bekannten Daten ergab, dass es sich bei den Hauptbestandteilen (>98%) um die Methylester von (Z,Z)-9,12-Octadecadiensäure (Linolsäure) (106), (Z)-9-Octadecensäure (Ölsäure) (107) und Hexadecansäure

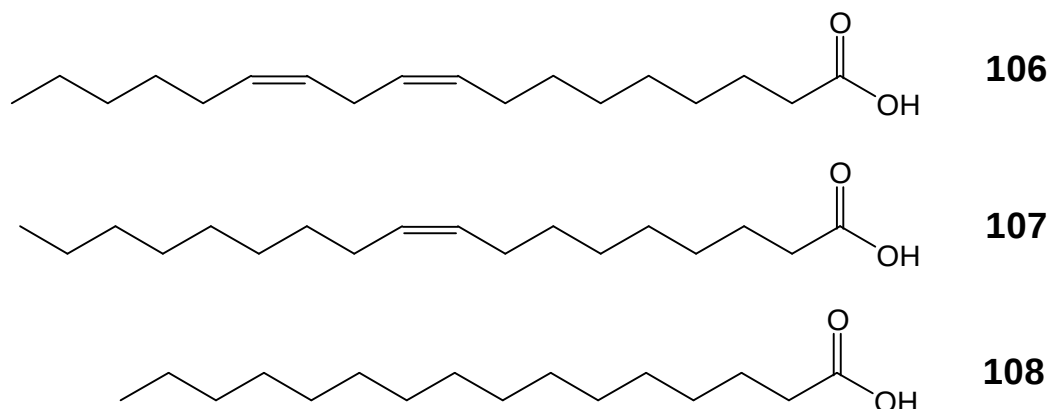


Abbildung 4-42: Linolsäure (106), Ölsäure (107) und Palmitinsäure (108)

(Palmitinsäure) (**108**) handelt, die als Pilzinhaltsstoffe gut bekannt sind ^[27,28].

4.4.1.3 (+)-24-Methylen-3-oxolanosta-7,9(11)-dien-21-carbonsäure (Dehydroeburiconsäure) (**109**)

Das ¹H-NMR-Spektrum dieser Verbindung zeigt sieben Methylgruppen (5 x s, 2 x d) und vier olefinische Protonen (δ 4.89 [s], 4.94 [s], 5.36 [d], 5.53 [d]). Im ¹³C-NMR-Spektrum sind sechs olefinische Kohlenstoffe (δ 106.69 [t], 117.29 [d], 120.35 [d], 142.49 [s], 144.56 [s], 155.44 [s]), ein Ketokohlenstoff (δ 214.75 [s]) sowie eine Carbonsäureeinheit (δ 178.06 [s]) zu erkennen. Die Kohlenstoffanzahl beträgt 31. Das spricht für ein Lanosta-7,9(11)-dien-Gerüst, das wahrscheinlich in Position 24 eine Methylengruppe besitzt. Das Massenspektrum zeigt einen Molekülpeak bei $m/z = 466$. Ein Vergleich dieser Daten mit denen der von *Tai et al.* aus dem Pilz *Poria cocos* isolierten 24-Methylen-3-oxolanosta-7,9(11)-dien-21-carbonsäure (Dehydroeburiconsäure) (**109**)

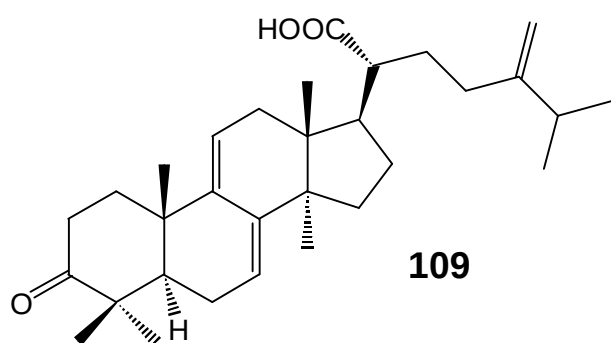


Abbildung 4-43: (+)-Dehydroeburiconsäure (**109**)

lieferte eine vollständige Übereinstimmung ^[113]. Diese Verbindung ist auch ein Teil des früher als Agaricolsäure bekannten Gemisches aus 24-Methylen-3-oxolanosta-7,9(11)-dien-21-carbonsäure, 3-Hydroxy-24-methylen-lanosta-7,9(11)-dien-21-carbonsäure und 3-Hydroxy-24-methylen-lanost-8-en-21-carbonsäure ^[114].

4.4.1.4 4-Methoxyphenylessigsäure (**18**)

Das Massenspektrum dieser Verbindung zeigte ein Molekülsignal bei $m/z = 166$, ein Hauptsignal bei 121 und die für aromatischen Verbindungen charakteristischen Signale bei 78 und 77. Im ¹H-NMR-Spektrum sind vier aromatische Protonen (δ 7.21 [2H, dt], 6.88 [2H, dt]) zu erkennen, deren Kopplungsmuster auf eine *para*-Substitution hindeutet. Des weiteren enthält es nur eine isolierte Methylengruppe (δ 3.60 [s]) und eine stark tieffeldverschobene Methylgruppe (δ 3.80 [s]). Diese Daten ließen als einzig mögliche Struktur die 4-Methoxyphenylessigsäure (**18**) zu, die bereits in einer früheren Arbeit aus diesem Pilz isoliert wurde ^[28,36]. Die Daten stimmten auch mit denen der von *Li et al.* synthetisch hergestellten Verbindung überein ^[115].

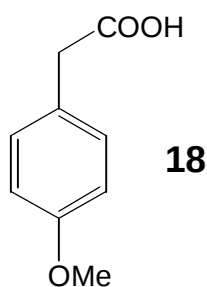


Abbildung 4-44:
4-Methoxyphenyl-
essigsäure (**18**)

4.4.1.5 1-(4'-Methoxyphenyl)-1,2-ethandiol (**110**)

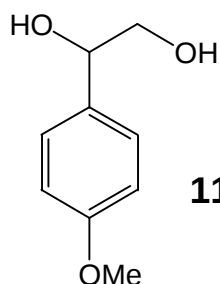
**110**

Abbildung 4-45:
1-(4'-Methoxyphenyl)-
1,2-ethandiol (**110**)

Eine Fraktion enthielt ein Gemisch aus der bereits identifizierten Substanz **18** und einem bisher unbekannten Inhaltsstoff. Im ^1H -NMR-Spektrum sind neben den Signalen von **18** vier aromatische Protonen (δ 7.31 [2H, *dt*], 6.91 [2H, *dt*]) zu erkennen, deren Kopplungsmuster auf eine *para*-Substitution hindeuten. Des weiteren sind drei Protonensignale, die offensichtlich in unmittelbarer Nähe von Hydroxylgruppen lokalisiert sind (δ 4.79 [*dd*], 3.74 [*dd*], 3.68 [*dd*]) und alle miteinander koppeln, und eine stark tieffeldverschobene Methylgruppe (δ 3.82 [*s*]) zu finden. Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind die erwarteten Aromatensignale (δ 159.48 [*s*], 132.60 [*s*], 127.38 [2C, *d*], 114.01 [2C, *d*]), ein Hydroxymethylen- (δ 68.09 [*t*]) und ein Hydroxymethinkohlenstoff (δ 74.21 [*d*]) sowie ein Methylsignal bei δ 55.34 (*q*) zu erkennen. Die Kopplungsmuster der Protonen deuten auf einen Aromaten hin, der mit einer Methoxygruppe und einer Ethyl-1,2-diol-Gruppe substituiert ist. Der Molekülpeak im Massenspektrum bei $m/z = 168$ und weitere Peaks bei 150 ($[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]$) und 137 ($[\text{M}-\text{CH}_2\text{OH}]$) bestätigten diese Annahme. Zur eindeutigen Strukturbestimmung wurde diese Verbindung synthetisiert. Dazu wurde kommerziell erhältliche (*R,S*)-4-Hydroxymandelsäure mit etherischer Diazomethanlösung versetzt und der entstandene 4-Methoxymandelsäuremethylester mit LiAlH_4 zu racemischem 1-(4'-Methoxyphenyl)-1,2-ethandiol reduziert. Die spektroskopischen und spektrometrischen Daten dieser Verbindung stimmten vollständig mit dem Naturstoff überein, so dass diese Verbindung als 1-(4'-Methoxyphenyl)-1,2-ethandiol (**110**) identifiziert werden konnte. Der Naturstoff wurde daraufhin mittels enantioselektiver GC untersucht und das erhaltene Chromatogramm mit dem der synthetisierten Verbindung verglichen.

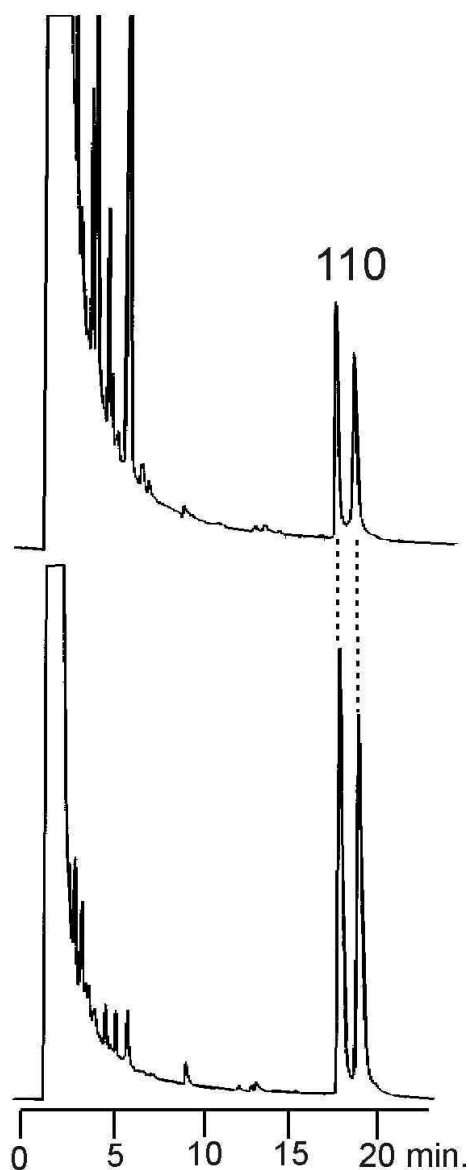


Abbildung 4-46: Natürliches (oben) und
racemisches synthetisiertes
110 (unten) (6T-2,3-Me- β -
CD, 170° C)

Dabei stellte sich heraus, dass der isolierte Naturstoff als racemisches Gemisch vorlag (s. Abb. 4-46). Da zwischen Extraktion und Isolierung von **110** mehrere Wochen vergangen und das einzelne Hydroxymethinproton in α -Position zum Aromaten verhältnismäßig azid ist, ist es möglich, dass eine Racemisierung stattgefunden hat, was allerdings nicht bewiesen werden konnte.

4.4.1.6 4,4,14 α -Trimethyl-24-oxo-5 α -chol-8-en-21-carbonsäure-dimethylacetal (Gloeophyllsäure A-Dimethylacetal) (**111**)

Das ^1H -NMR-Spektrum dieser Verbindung zeigt sieben Methylgruppen (alle s), von denen zwei stark tieffeldverschoben sind (δ 3.32, 3.33), ein Hydroxymethinproton (δ 3.43 [dd]), sowie ein weiteres stark tieffeldverschobenes Methinproton (δ 4.59 [t]). Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind zwei olefinische Kohlenstoffe (δ 133.88 [s], 134.77 [s]), ein Hydroxymethinkohlenstoff (δ 77.61 [d]), eine Carbonsäureeinheit (δ 178.18 [s]) sowie ein stark tieffeldverschobener Methinkohlenstoff (δ 104.35 [d]), an dem sich das erwähnte Methinproton befindet, zu erkennen. Die Kohlenstoffanzahl beträgt 29. Ein Vergleich der ^{13}C -Verschiebungen des Steroid-Gerüsts von 3 β -Hydroxylanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (**21**) mit denen dieser Verbindung liefert eine sehr gute Übereinstimmung, die Kohlenstoffe der Seitenkette sind allerdings nicht wiederzufinden. Zur Ermittlung der Konnektivitäten in der Seitenkette wurden zweidimensionale NMR-Spektren (HMQC, HMBC) aufgenommen. Die Fernkopplungen in der Seitenkette sind in Abbildung 4-47 dargestellt. Es zeigte sich, dass hier die Seitenkette offenbar zum 24-Aldehyd

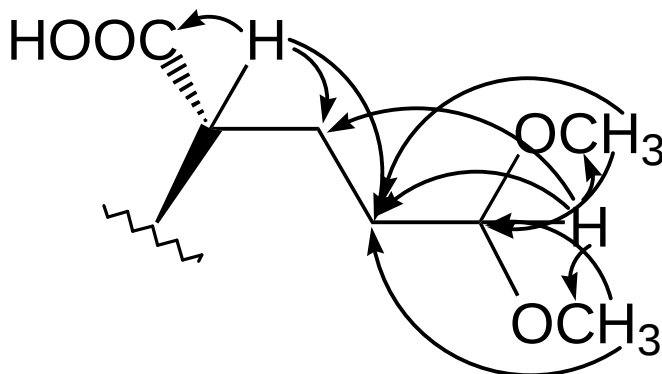


Abbildung 4-47: Wichtige Fernkopplungen in der Seitenkette von **111**

abgebaut wurde, und sich aus diesem das Dimethylacetal gebildet hat. Somit handelt es sich bei dieser Verbindung um 4,4,14 α -Trimethyl-24-oxo-5 α -chol-8-en-21-carbonsäure-dimethylacetal, für das hier der Name Gloeophyllsäure A-Dimethylacetal (**111**) vorgeschlagen wird. Das Massenspektrum belegt diese Annahme durch das Auftreten der Peaks bei m/z = 445 ([M-OMe]), 444 ([M-OMe-H]), 430 ([M-OMe-Me]) und 429 ([M-OMe-Me-H]). Es ist sehr wahrscheinlich, dass sich das Acetal aus dem entsprechenden Aldehyd Gloeophyllsäure A während der langen Extraktion mit Methanol in der relativ sauren Umgebung gebildet hat, was aber nicht bewiesen werden konnte (s. Abb. 4-48).

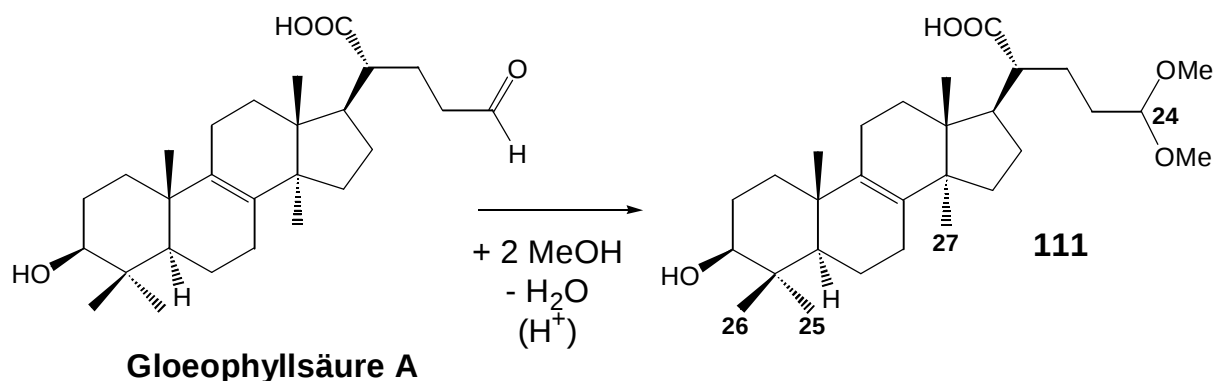


Abbildung 4-48: Acetalisierung von Gloeophyllsäure A zum entsprechenden Dimethylacetal **111**

4.5 Inhaltsstoffe aus *Fomes fomentarius*

Die in dieser Arbeit untersuchten Fruchtkörper von *Fomes fomentarius* wurden in den Harburger Bergen in Hamburg gesammelt. Extraktion und Trennung wurden analog der Vorgehensweise bei *Fomitopsis pinicola* durchgeführt (s. Kap. 4.1 und 4.2).

4.5.1 Untersuchungen der Kruste

Der *n*-Hexanextrakt der im Vergleich zu *Fomitopsis pinicola* dickeren und sehr harten Kruste wurde mittels ^1H -NMR-Spektroskopie untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass lediglich aliphatische Verbindungen wie die häufig in Pilzen vorkommenden kurzkettigen Alkohole, Ketone und Aldehyde sowie Fettsäuren in ihm vorhanden waren. Deshalb wurde auf eine weitere Untersuchung verzichtet. Der Methanolextrakt zeigte die intensive purpurne Färbung des Fomentariols (s. Abb. 3-18) und seiner Derivate. Ein ^1H -NMR-Spektrum zeigte ebenfalls keine für Triterpene und Steroide typischen Signale (Methylgruppen). Daher wurde auch hier auf eine weitere Untersuchung verzichtet.

4.5.2 Inhaltsstoffe aus dem *n*-Hexanextrakt der Fruchtkörper ohne Kruste

4.5.2.1 Identifizierung bereits beschriebener Verbindungen

In dieser Spezies konnte ebenfalls ein Gemisch aus den Linolsäuresterylestern **43-45** isoliert werden (s. Kap. 4.1.3.1). Das Verhältnis der Verbindungen zueinander war das gleiche wie in *Fomitopsis pinicola*. Des weiteren konnte (-)-5 α ,8 α -Epidioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol (Ergosterolperoxid) (**31**) (vgl. Kap. 4.2.2.3) aus dieser Spezies isoliert werden.

4.5.2.2 Ergosta-7,22-dien-3-on (37) und Ergost-7-en-3-on (Fungisteron) (112)

Eine Fraktion bestand aus einem 3:1-Gemisch zweier Verbindungen. Durch Kristallisation konnte der bekannte Pilzinhaltsstoff Ergosta-7,22-dien-3-on (37) rein erhalten

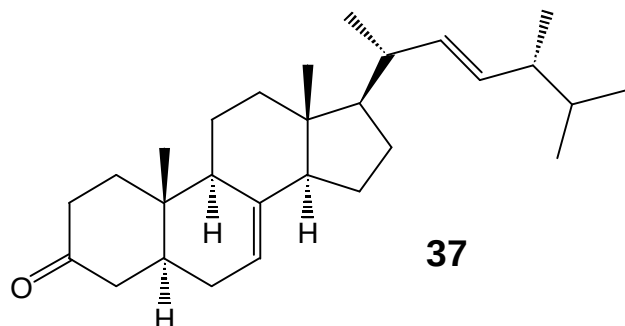


Abbildung 4-49: Ergosta-7,22-dien-3-on (37)

werden^[9]. Das konnte durch Vergleich der spektroskopischen mit den literaturbekannten Daten gezeigt werden^[87,116]. Eine Untersuchung dieses Gemisches mittels GC zeigte die Anwesenheit einer zweiten Verbindung (Abb. 4-50), was auch im ¹³C-NMR-Spektrum erkennbar ist. Aufgrund der ähnlichen Polaritäten und ¹³C-

Verschiebungen muss es sich hierbei um eine Verbindung **37** sehr ähnliche Struktur handeln.

Durch HPLC an einer analytischen RP-30-Säule konnte eine kleine Menge (~0.1 mg) der Ergosta-7,22-dien-3-on (**37**) sehr ähnlichen zweiten Verbindung rein erhalten werden (Abb. 4-51). Davon konnte ein Massenspektrum aufgenommen werden. Der Molekülpeak bei $m/z = 398$ deutete auf eine Verbindung hin, die zwei Protonen mehr besitzt als **37** ($M = 396$). Vergleich der ¹³C-Verschiebungen mit denen von **37** lieferte eine vollständige Übereinstimmung in den Ringen A, B und C. Ebenso lieferte der Vergleich der ¹³C-Daten mit denen von Ergost-7-en-3 β -ol (Fungisterol)^[97] eine vollständige Übereinstimmung in den Verschiebungen in Ring D sowie in der Seitenkette. Damit ist die einzig mögliche Struktur das Ergosta-7-en-3-on, für das hier der Name Fungisteron (**112**) vorgeschlagen wird. **112** wurde bisher nicht als Naturstoff beschrieben.

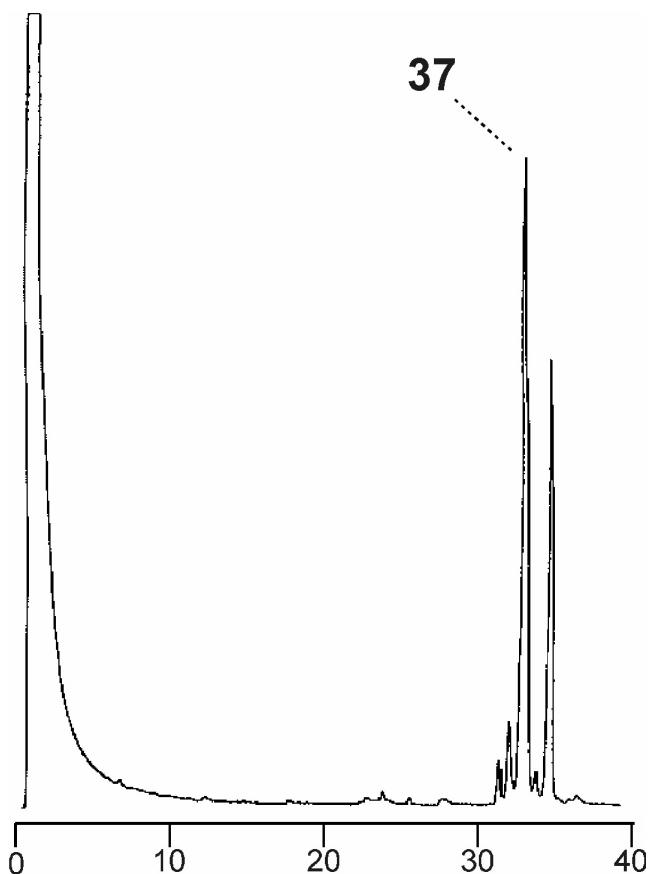


Abbildung 4-50: GC eines Gemisches aus **37** und einer weiteren Verbindung (DB5, 130-250° C)



Abbildung 4-51: Präparatives HPLC-Chromatogramm des Gemisches aus **37** und einer weiteren Verbindung (RP-30, MeOH:2-Propanol, 1:1, 0,7 ml/min.)

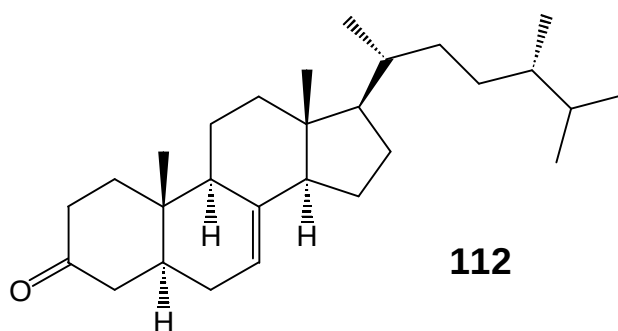


Abbildung 4-52: Fungisteron (**112**)

4.6 Inhaltsstoffe aus *Ganoderma lipsiense*

Die in dieser Arbeit untersuchten Fruchtkörper von *Ganoderma lipsiense* wurden in Hamfelde und Aumühle (beide bei Hamburg) gesammelt. Extraktion und Trennung wurden analog der Vorgehensweise bei *Fomitopsis pinicola* durchgeführt (s. Kap. 4.1 und 4.2).

4.6.1 Inhaltsstoffe aus der Kruste

4.6.1.1 Identifizierung bereits beschriebener Verbindungen

In dieser Spezies konnte ebenfalls ein Gemisch aus Ergosta-7,22-dien-3-on (**37**) und Ergost-7-en-3-on (Fungisteron) (**112**) isoliert werden (vgl. Kap. 4.5.2.2). Ergosta-7,22-dien-3-on konnte bereits von *Protiva et al.* aus dieser Spezies isoliert werden ^[87].

4.6.1.2 Ergosta-7,22-dien-3 β -ol (**26**) und Ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol (Ergosterol) (**1**)

Eine Fraktion enthielt ein Gemisch zweier Verbindungen, die nach Vergleich ihrer ¹³C-NMR-Daten mit Literaturwerten und mit den Daten von Ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol, das als Standard vorlag, als Ergosta-7,22-dien-3 β -ol (**26**) und Ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol (Ergosterol) (**1**) identifiziert werden konnten ^[12,97], die beide als häufig auftretende Pilzinhaltsstoffe bekannt sind ^[9] und auch zuvor aus dieser Spezies isoliert wurden ^[87].

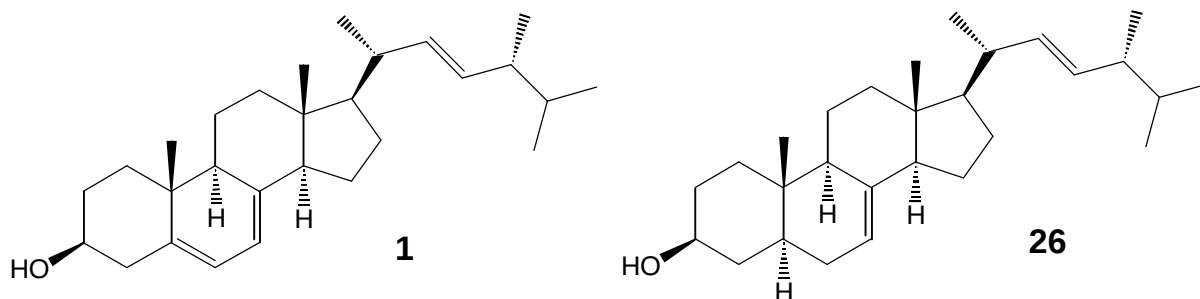


Abbildung 4-53: Ergosta-7,22-dien-3 β -ol (**26**) und Ergosterol (**1**)

4.6.2 Inhaltsstoffe aus den Fruchtkörpern ohne Kruste

4.6.2.1 (*E*)-7 β ,15 α -Dihydroxy-3,11,23-trioxolanosta-8,20(22)-dien-26-carbonsäure (Ganoderensäure A) (**42**)

Das ¹H-NMR-Spektrum dieser Verbindung zeigt sieben Methylgruppen (6 x s, 1 x d), zwei Hydroxymethinprotonen (δ 4.65 [dt], 4.89 [dd]) sowie ein olefinisches Proton (δ 6.11 [s]). Im ¹³C-NMR-Spektrum sind vier olefinische Kohlenstoffe (δ 124.21 [d], 140.25 [s], 157.10 [s], 158.94 [s]), drei Ketokohlenstoffe (δ 198.63 [s], 199.08 [s], 217.36 [s]), zwei Hydroxymethinkohlenstoffe (δ 68.89 [d], 72.67 [d]) sowie eine Carbonsäureeinheit (δ 180.18 [s]) zu erkennen. Die Kohlenstoffanzahl beträgt 30. Vergleich dieser Daten mit denen aus der

Literatur zeigte, dass es sich bei dieser Verbindung um die bereits von Nishitoba et al. aus *G. lipsiense* ^[88] und von Komoda et al. aus *Ganoderma lucidum* ^[68] isolierte (*E*)-7 β ,15 α -Dihydroxy-3,11,23-trioxolanosta-8,20(22)-dien-26-carbonsäure (Ganoderensäure A) (**42**) handelt.

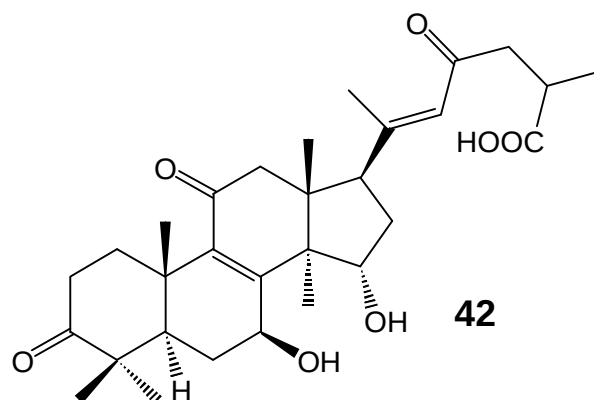


Abbildung 4-54: Ganoderensäure A (**42**)

4.6.2.2 (*E*)-7 β -Hydroxy-3,11,15,23-tetraoxolanosta-8,20(22)-dien-26-carbonsäure (Ganoderensäure D) (**113**)

Das ¹H-NMR-Spektrum dieser Verbindung zeigt sieben Methylgruppen (6 x *s*, 1 x *d*), ein Hydroxymethinproton (δ 4.89 [*dd*]) sowie ein olefinisches Proton (δ 6.05 [*s*]). Im ¹³C-NMR-Spektrum sind vier olefinische Kohlenstoffe (δ 124.62 [*d*], 141.32 [*s*], 153.90 [*s*], 157.43 [*s*]), vier Ketokohlenstoffe (δ 196.97 [*s*], 197.96 [*s*], 216.52 [*s*], 216.60 [*s*]), ein Hydroxymethinkohlenstoff (δ 66.31 [*d*]) sowie eine Carbonsäureeinheit (δ 179.87 [*s*]) zu erkennen. Die Kohlenstoffanzahl beträgt 30. Vergleich dieser Daten mit denen aus der Literatur zeigte, dass es sich bei dieser Verbindung um die bereits von Komoda et al. aus *Ganoderma lucidum* isolierte (*E*)-7 β -Hydroxy-3,11,15,23-tetraoxolanosta-8,20(22)-dien-26-carbonsäure (Ganoderensäure D) (**113**) handelt ^[68]. Diese Verbindung wurde zuvor nicht in *G. lipsiense* gefunden.

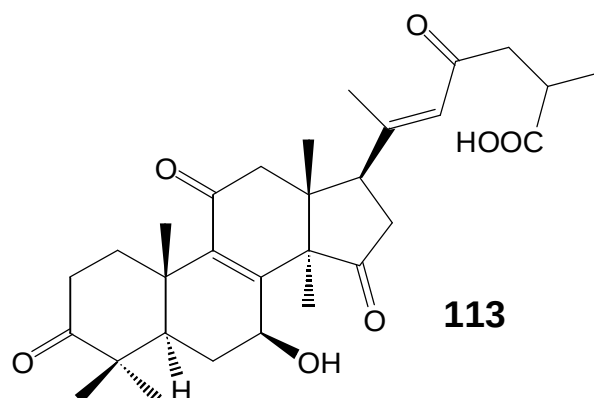


Abbildung 4-55: Ganoderensäure D (**113**)

4.6.2.3 7 β ,20-Dihydroxy-3,11,15,23-tetraoxolanost-8-en-26-carbonsäure (Ganodersäure N) (114)

Das ^1H -NMR-Spektrum dieser Verbindung zeigt sieben Methylgruppen (6 x s, 1 x d) und ein Hydroxymethinproton (δ 4.85 [dt]). Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind zwei olefinische Kohlenstoffe (δ 141.00 [s], 157.65 [s]), vier Ketokohlenstoffe (δ 197.79 [s], 210.36 [s], 216.88 [s], 217.86 [s]), ein Hydroxymethinkohlenstoff (δ 66.32 [d]), ein oxygenierter quartärer Kohlenstoff (δ 72.95 [s]) sowie eine Carbonsäureeinheit (δ 180.11 [s]) zu erkennen. Die Kohlenstoffanzahl beträgt 30. Vergleich dieser Daten mit denen aus der Literatur zeigte, dass es sich bei dieser Verbindung um die bereits von *Nishitoba et al.* aus *Ganoderma lucidum* als Methylester isolierte 7 β ,20-Dihydroxy-3,11,15,23-tetraoxolanost-8-en-26-carbonsäure (Ganodersäure N) (114) handelt ^[74]. Diese Verbindung wurde zuvor nicht in *G. lipsiense* gefunden und die NMR-Daten der freien Säure werden hier zum ersten Mal beschrieben.

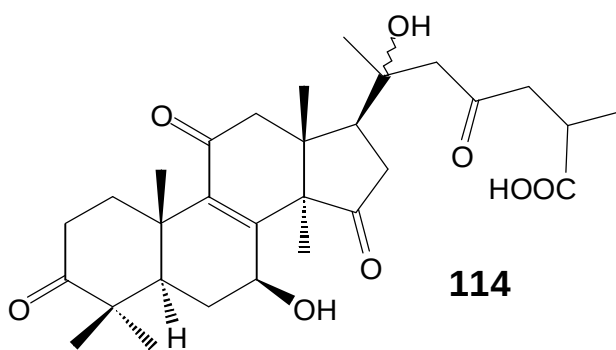


Abbildung 4-56: Ganodersäure N (114)

5 Zusammenfassung

Extrakte der Baumpilze *Fomitopsis pinicola*, *Daedalea quercina*, *Daedaleopsis confragosa* var. *tricolor*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma lipsiense* und *Gloeophyllum odoratum* wurden auf terpenartige und aromatische Inhaltsstoffe hin untersucht. Die Auftrennung in die einzelnen Komponenten erfolgte hauptsächlich durch Säulenchromatographie an Kieselgel und Gelpermeationschromatographie an Sephadex LH-20. Die Identifizierung der Verbindungen erfolgte mittels Massenspektrometrie und ein- und zweidimensionaler NMR-Spektroskopie. Dabei wurden insgesamt 13 bisher nicht beschriebene Triterpen-Derivate, sowie zahlreiche bekannte Verbindungen, von denen einige noch nicht als Naturstoffe bekannt sind, identifiziert.

Aus dem Baumpilz *Fomitopsis pinicola* wurden neben drei Linolsäuresterylestern und sechs bekannten Triterpenen die acht neuen Naturstoffe Pinicolsäure B-E, Pinicolol B und C, Fomitopssäure B sowie Agnosteron isoliert und identifiziert. Des weiteren wurden im Wasserdampfdestillat zahlreiche Sesquiterpene, die vier Diterpene Cembren A, (Z)-Biformen, Abietatrien und 7,13-Abietadien, sowie einige aliphatische und aromatische Ketone, Alkohole und Aldehyde gefunden. Letztere waren bereits als Pilzinhaltsstoffe bekannt. Es konnte mittels geeigneter Extraktionsexperimente sowie HPLC-Untersuchungen der Extrakte gezeigt werden, dass in dieser Spezies die Triterpene in einer wachsartigen Kruste auf der Oberseite älterer Fruchtkörper akkumuliert werden, die beinahe vollständig aus Triterpenen besteht.

Aus der Spezies *Daedalea quercina* wurden neben den bekannten Inhaltsstoffen 3 α -Carboxyacetoxyquercinsäure und Ergosterolperoxid die Triterpenderivate 16-O-Acetylpolyporensäure C, 16 α -Acetoxy-24-methylen-3-oxolanost-8-en-21-carbonsäure, Polyporensäure C und 16 α -Hydroxy-24-methylen-3-oxolanost-8-en-21-carbonsäure sowie die drei neuen Naturstoffe Quercinsäure B+C und 3 α -Oxepanoquercinsäure C isoliert und identifiziert. Des weiteren konnten die (*E*)- und (*Z*)-*p*-Methoxyzimtsäuremethylester isoliert werden, die ebenfalls als Pilzinhaltsstoffe bekannt sind.

Aus der Spezies *Daedaleopsis confragosa* var. *tricolor*, die zuvor nicht auf Triterpenderivate hin untersucht worden ist, wurden die bekannten Naturstoffe 3 α -Carboxyacetoxyquercinsäure und 3 α -Carboxyacetoxy-24-methylen-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure als Hauptkomponenten identifiziert.

Neben dem bekannten Inhaltsstoff Ergosta-7,22-dien-3-on und drei Linolsäuresterylestern konnte in dem Baumpilz *Fomes fomentarius* der neue Naturstoff

Fungisteron identifiziert werden. In der Kruste von *F. fomentarius* konnten keine Triterpene oder Steroide nachgewiesen werden.

Aus der Spezies *Gloeophyllum odoratum* wurden neben drei Linolsäurestereylestern und den bekannten Inhaltsstoffen 4-Methoxyphenylelessigsäuremethylester, 4-Methoxyphenylelessigsäure, Dehydroeburiconsäure und Trametenolsäure B das bisher nicht als Naturstoff bekannte 1-(4'-Methoxyphenyl)-1,2-ethandiol und der neue Naturstoff Gloeophyllsäure A-Dimethylacetal isoliert und identifiziert.

Aus der Spezies *Ganoderma lipsiense* konnten neben drei Linolsäurestereylestern und den bekannten Inhaltsstoffen Ergosta-7,22-dien-3 β -ol und Ergosterol die Triterpene Ganoderensäure A, die bereits in dieser Spezies gefunden wurde, Ganoderensäure D und Ganoderensäure N isoliert werden, von denen die beiden letzten zuvor in der eng verwandten Spezies *Ganoderma lucidum* gefunden wurden. Es stellte sich heraus, dass in der Kruste lediglich einfache Steroide wie Ergosterol zu finden waren. Die komplexeren Triterpene sind nur in den Fruchtkörpern zu finden.

6 Summary

Extracts of the wood-rotting fungi *Fomitopsis pinicola*, *Daedalea quercina*, *Daedaleopsis confragosa* var. *tricolor*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma lipsiense* and *Gloeophyllum odoratum* were investigated for terpenoid and aromatic constituents. Separation into the single components was carried out using mainly silica gel chromatography and gel permeation chromatography on Sephadex LH-20. Identification of compounds was performed by mass spectrometry and one- and two-dimensional NMR spectroscopy. A total of 13 triterpene derivatives, which were not described before, as well as numerous known compounds, of which some are unknown as natural products, were identified.

From the wood-rotting fungus *Fomitopsis pinicola*, amongst three linoleic acid steryl esters and six known triterpenes, the eight new natural products pinicolic acid B-E, pinicolol B and C, fomitopsic acid B as well as agnosterone were isolated and identified. Furthermore, numerous sesquiterpenes, the four diterpenes cembrene A, (Z)-biformene, abietatriene and 7,13-abietadiene, as well as some aliphatic and aromatic ketones, alcohols and aldehydes were found in the hydrodistillate. The latter ones were known to be fungal constituents. Using applicable extraction experiments and HPLC investigations of the extracts, it was shown, that in this species the triterpenes are accumulated in a waxy crust on top of mature fruiting bodies, which almost completely consists of triterpenes.

From the species *Daedalea quercina*, amongst the known constituents 3 α -carboxyacetoxiquercinic acid and ergosterol peroxide, the triterpene derivatives 16-O-acetylpolyporenic acid C, 16 α -acetoxy-24-methylen-3-oxolanost-8-en-21-oic acid, polyporenic acid C and 16 α -hydroxy-24-methylen-3-oxolanost-8-en-21-oic acid, as well as the three new natural products quercinic acid B+C and 3 α -oxepanoquercinic acid C were isolated and identified. Furthermore, (E)- and (Z)-methyl *p*-methoxycinnamate, which are known to be fungal constituents, were isolated.

From the species *Daedaleopsis confragosa* var. *tricolor*, which was not investigated for triterpene derivatives before, the known natural products 3 α -carboxyacetoxiquercinic acid and 3 α -carboxyacetox-24-methylen-23-oxolanost-8-en-26-oic acid were identified as major constituents.

Amongst the known constituent ergosta-7,22-dien-3-one and three linoleic acid steryl esters, the new natural product fungisterone could be identified in the wood-rotting fungus *Fomes fomentarius*. Neither triterpenes nor steroids could be found in the crust of *F. fomentarius*.

In addition to three linoleic acid steryl esters and the known constituents methyl 4-methoxyphenylacetate, 4-methoxyphenylacetic acid, dehydroeburiconic acid and trametenolic acid B, 1-(4'-methoxyphenyl)-1,2-ethandiol, which was not known to be a natural product and the new natural product gloeophyllic acid A dimethylacetal were isolated from the species *Gloeophyllum odoratum*.

From the species *Ganoderma lipsiense*, in addition to three linoleic acid steryl esters and the known constituents ergosta-7,22-dien-3 β -ol and ergosterol, the triterpenes ganoderenic acid A, which was found before in this species, ganoderenic acid D and ganoderic acid N were isolated, of which the latter two were found before in the closely related species *Ganoderma lucidum*. It is emphasized, that only simple steroids like ergosterol can be found in the crust. The more complex triterpenes can only be found in the fruiting bodies.

7 Experimenteller Teil

7.1 Chemikalien, Messgeräte und Methoden

7.1.1 Reagenzien und Lösungsmittel

Alle Lösungs- bzw. Laufmittel wurden von den Firmen Biesterfeld (technische Lösungsmittel), Merck und Sigma-Aldrich bezogen. Zur Verwendung in der Säulenchromatographie wurden technische Lösungsmittel zuvor bei reduziertem Druck einmal destilliert. Für die HPLC wurden „p.a.“- oder „HPLC grade“-Lösungsmittel verwendet. Extrakte und Untersuchungslösungen wurden stets mit „p.a.“-Lösungsmitteln angefertigt. Handelsübliche Reagenzien sowie deuterierte Lösungsmittel wurden ausschließlich von den Firmen Merck und Sigma-Aldrich bezogen.

7.1.2 Dünnschichtchromatographie

Für die Dünnschichtchromatographie wurden beschichtete Platten der Firma Merck verwendet (Aluminium mit Kieselgel 60 F₂₅₄ bzw. RP-18 Kieselgel F₂₅₄, Schichtdicke jeweils 0,25 mm; Glas mit Kieselgel 60 F₂₅₄, Schichtdicken 0,25 und 2 mm). Die Detektion erfolgte mittels UV-Licht und durch Ansprühen mit 10% ethanolischer Schwefelsäure.

7.1.3 Flüssigchromatographie

Für die flüssigchromatographischen Trennungen wurden Glassäulen verschiedener Größen verwendet. Als stationäre Phasen wurden Kieselgel (0,040-0,063 mm) der Firma Macherey-Nagel bzw. Sephadex LH-20 der Firma Pharmacia Fine Chemicals verwendet. Trennungen an Kieselgel wurden bei 0,2 bar Überdruck und Trennungen an Sephadex bei Normaldruck durchgeführt.

7.1.4 Hochleistungsflüssigchromatographie

Für analytische und präparative HPLC-Trennungen wurde eine Gradientenpumpe L-6200-Intelligent-Pump, ein UV-Detektor 655 A und ein Integrator D-2500 (alle Merck-Hitachi) sowie ein Injektorsystem der Firma Rheodyne verwendet. Vor Verwendung wurden alle Laufmittel ca. 5 min. im starken Heliumstrom (20 ml/min.) entgast. Danach wurde der Heliumstrom auf ein Minimum reduziert, um ein nachträgliches Eindringen von Luft zu verhindern. Als Trennsäulen kamen zum Einsatz:

- Phenomenex „Prodigy“ ODS, Partikelgröße 5 µm, Porengröße 10 nm, Länge: 250 mm, Innendurchmesser: 4,6 mm

- Bischoff "Prontosil 200-3-C30", Partikelgröße 3 μm , Porengröße 20 nm, Länge: 250 mm, Innendurchmesser: 4,6 mm

7.1.5 Kapillargaschromatographie

Für die gaschromatographischen Untersuchungen wurde ein mit einem Splitinjektor und einer 10 m langen DB5- oder einer 25 m langen CPSil-5CB-Säule bestückter Fractovap 4160 der Firma Carlo Erba verwendet. Die Detektion erfolgte mittels eines Flammenionisationsdetektors und die Auswertung mit Hilfe eines Integrators D-2500 der Firma Merck-Hitachi. Als Trägergas wurde Wasserstoff bei einem Druck von 0,5 bar verwendet.

7.1.6 Enantioselektive Kapillargaschromatographie

Für die durchgeführte enantioselektive Gaschromatographie wurde ein mit einem Splitinjektor und einer 25 m langen „fused silica“ Kapillare, die mit Heptakis(6-O-*tert*-butyldimethylsilyl-2,3-di-O-methyl)- β -cyclodextrin (6T-2,3-Me-CD, 50% in Polysiloxan OV1701, w/w) belegt war, bestückter Fractovap 4160 der Firma Carlo Erba verwendet. Die Detektion erfolgte mittels eines Flammenionisationsdetektors und die Auswertung mit Hilfe eines Integrators D-2500 der Firma Merck-Hitachi. Als Trägergas wurde Wasserstoff bei einem Druck von 0,5 bar verwendet.

7.1.7 Massenspektrometrie und GC-MS-Kopplung

GC-MS-Messungen wurden mit einem Sektorfeld-Gerät VG Analytical VG 70-250S, das mit einem Hewlett-Packard Gaschromatographen HP 5890 gekoppelt war, durchgeführt. Als Trägergas diente Helium. Massenspektren von schwer verdampfenden Verbindungen sowie hochauflösende Massenspektren wurden mittels Direkteinlass am gleichen Gerät aufgenommen. Alle Ionisierungen erfolgten durch Elektronenstoß bei 70 eV.

7.1.8 Wasserdampfdestillation

Pflanzenmaterial wurde mit flüssigem Stickstoff eingefroren und in einem Mörser zerkleinert. Das erhaltene Pulver wurde in 1 l Wasser aufgeschlämmt und zum Kochen gebracht. Der austretende Wasserdampf wurde kondensiert und durch 1 ml *n*-Hexan geleitet, bevor das Wasser wieder zurückgeführt wurde.

7.1.9 NMR-Spektroskopie

Sämtliche NMR-Spektren wurden an den Geräten WM 400 (^1H : 400,13 MHz; ^{13}C : 100,61 MHz) und DRX 500 (^1H : 500,13 MHz; ^{13}C : 125,76 MHz) der Firma Bruker aufgenommen und mit Hilfe der Programme „WIN-NMR 6.1“ und „2D-WIN-NMR“ der

Firma Bruker sowie „CHEMSKETCH 4.0“ und „Spectrum-Viewer“ der Firma ACDLabs ausgewertet. Als interne Referenz diente in allen Fällen ein Lösungsmittelsignal dessen chemische Verschiebung auf TMS bezogen wurde (Chloroform: ^1H δ 7.27 ppm, ^{13}C δ 77.04 ppm; Pyridin: ^1H δ 8.72 ppm, ^{13}C δ 149.50 ppm [H-1 bzw. C-1]).

7.1.10 Polarimetrie

Drehwertbestimmungen wurden am Polarimeter 241 der Firma Perkin-Elmer in einer 1 dm-Küvette bei 589 nm durchgeführt.

7.1.11 Schmelzpunktbestimmung

Schmelzpunktbestimmungen wurden am „Schmelzpunktbestimmer“ der Firma apotech durchgeführt. Alle angegebenen Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

7.1.12 Herkunft und Identifizierung des Pflanzenmaterials

Die in dieser Arbeit untersuchten Baumpilzfruchtkörper wurden in Hamfelde bei Hamburg (*Fomitopsis pinicola* und *Ganoderma lipsiense*, beide im Sommer 1998; *Gloeophyllum odoratum*, Frühjahr 1999), in Salzgitter, Niedersachsen (*Daedalea quercina*, Sommer 1998), in Hamburg-Harburg (*Fomes fomentarius*, Sommer 1998), im Ilsetal bei Ilmenstein, Niedersachsen (*Fomitopsis pinicola*, Sommer 1999) und in Aumühle bei Hamburg (*Ganoderma lipsiense*, Sommer 1998) gesammelt. Fruchtkörper der gleichen Art, die an verschiedenen Orten im selben Monat gesammelt wurden, wurden vereinigt und gemeinsam analysiert. Die Fruchtkörper von *F. pinicola* aus dem Sommer 1999 zeigten eine große Altersdiversität und wurden teilweise einzeln untersucht. Alle Arten wurden anhand von Literaturdaten bestimmt ^[4].

7.1.13 Aufarbeitung und Extraktion des Pflanzenmaterials

Material, das nicht sofort untersucht werden konnte, wurde bei -18°C zwischengelagert. Im ersten Schritt wurde von den Arten *F. pinicola*, *G. lipsiense* und *F. fomentarius* die Kruste auf der Oberseite ihrer Fruchtkörper mit herkömmlichen Werkzeugen (Säge, Messer, Grobfeile) abgetrennt. Da diese Krusten auf den Arten *F. pinicola* und *G. lipsiense* allerdings sehr dünn und weich sind, wurde immer etwas des unter der Kruste liegenden Tramas mit abgetrennt. Sämtliche so erhaltenen Materialien wurden daraufhin in flüssigem Stickstoff eingefroren und in einem Mörser zu Pulver zerrieben. Diese Pulver wurden daraufhin zweimal je 6 Tage mit *n*-Hexan extrahiert. Nach Abfiltration des Pilzmaterials wurde es 6 Tage mit Methanol extrahiert. Die so erhaltenen Lösungen wurden bei reduziertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Die Methanolextrakte, die allesamt Feststoffgemische waren,

wurden einen Tag unter Rühren mit Dichlormethan und der darin unlösliche Feststoff nochmals mit Ethylacetat extrahiert. Alle Hexanextrakte waren Öle. Die so erhaltenen Öle und Feststoffe wurden bei -18°C gelagert. Die erhaltenen Massen sind in Tabelle 7-1 aufgeführt.

Tabelle 7-1: Massen des Materials und der erhaltenen Extrakte (1)					
Spezies	Material	<i>n</i> -Hexanextrakt [g]	Dichlormethan-extrakt [g]	Ethylacetat-extrakt [g]	Unlöslicher Rückstand [g]
<i>F. pinicola</i> , Kruste	150 g	4,5	4,8	nicht angefertigt	0,5
<i>F. pinicola</i> , Fruchtkörper	~2 kg	7,5	0,9	0,5	5,6
<i>G. lipsiense</i> , Kruste	100 g	2,5	1,5	1,3	1,7
<i>G. lipsiense</i> , Fruchtkörper	~2 kg	8,1	1,2	1,0	4,6
<i>F. fomentarius</i> , Kruste	300 g	nicht angefertigt	0,3	0,3	1,6
<i>F. fomentarius</i> , Fruchtkörper	~3 kg	6,3	0,3	0,2	4,6
<i>G. odoratum</i>	~4 kg	8,0	2,0	2,6	5,5
<i>D. quercina</i>	~2 kg	5,0	4,9	0,5	0,5

Die sehr harte Kruste auf *F. fomentarius* wurde in einer Charge sehr sorgfältig mit einer Feile abgetrennt, so dass eine vollständige Trennung erreicht werden konnte. Dieses Material wurde bei Raumtemperatur zunächst mit *n*-Hexan und dann mit Methanol extrahiert. Von einem Fruchtkörper von *F. pinicola* wurde vorsichtig nur die Kruste entfernt und das erhaltene Material mit Dichlormethan extrahiert. Fruchtkörper der Spezies *Daedaleopsis confragosa* var. *tricolor* wurden in flüssigem Stickstoff eingefroren, zermörsert und das erhaltene Pulver mit *n*-Hexan, Dichlormethan und zuletzt mit Methanol extrahiert. Die erhaltenen Massen sind in Tabelle 7-2 aufgeführt.

Tabelle 7-2: Massen des Materials und der erhaltenen Extrakte (2)				
Spezies	Material	<i>n</i> -Hexan-extrakt	Dichlormethan-extrakt	Methanol-extrakt
<i>F. pinicola</i> , Kruste (rein)	500 mg	-	400 mg	-
<i>F. fomentarius</i> , Kruste (rein)	10 g	2,0 g	-	1,2 g
<i>D. confragosa</i> var <i>tricolor</i>	400 g	1,2 g	6,7 g	3,2 g

Bei allen untersuchten Extrakten werden nur solche Fraktionen erwähnt, die zur Isolierung reiner Substanzen führten. Die Reinheitskontrolle erfolgte in allen Fällen dünnschichtchromatographisch an Kieselgelplatten hauptsächlich mit dem Laufmittel CHCl₃:2-Propanol 9:1, mittels HPLC und in wenigen Fällen gaschromatographisch.

7.2 Isolierung von Inhaltsstoffen aus *Fomitopsis pinicola*

Da in *F. pinicola* triterpenoide Verbindungen in der Kruste konzentriert sind, wurde auf eine eingehende Analyse der Fruchtkörper verzichtet.

7.2.1 *n*-Hexanextrakt der Kruste

Der rohe *n*-Hexanextrakt wurde zunächst an 300 g Kieselgel säulenchromatographisch vorgetrennt (LM: CHCl₃ [500 ml], CHCl₃:MeOH 39:1 [400 ml], 9:1 [500 ml], 2:1 [500 ml], 1:1 [300 ml], MeOH [600 ml]). Hierbei wurden vier Fraktionen erhalten.

7.2.1.1 Fraktion 1

Diese Fraktion wurde an 50 g Kieselgel (LM: PE:EE 19:1 [150 ml]) in zwei Fraktionen aufgetrennt (1.1 + 1.2). Fraktion 1.1 bestand aus einem Gemisch der drei Linolsäurestereylester 3 β -Linolyloxyergost-7-en (**43**), -ergosta-7,22-dien (**44**) und ergosta-7,24(28)-dien (**45**). Die ¹³C-NMR-Daten sind in Tabelle 7-3 aufgeführt.

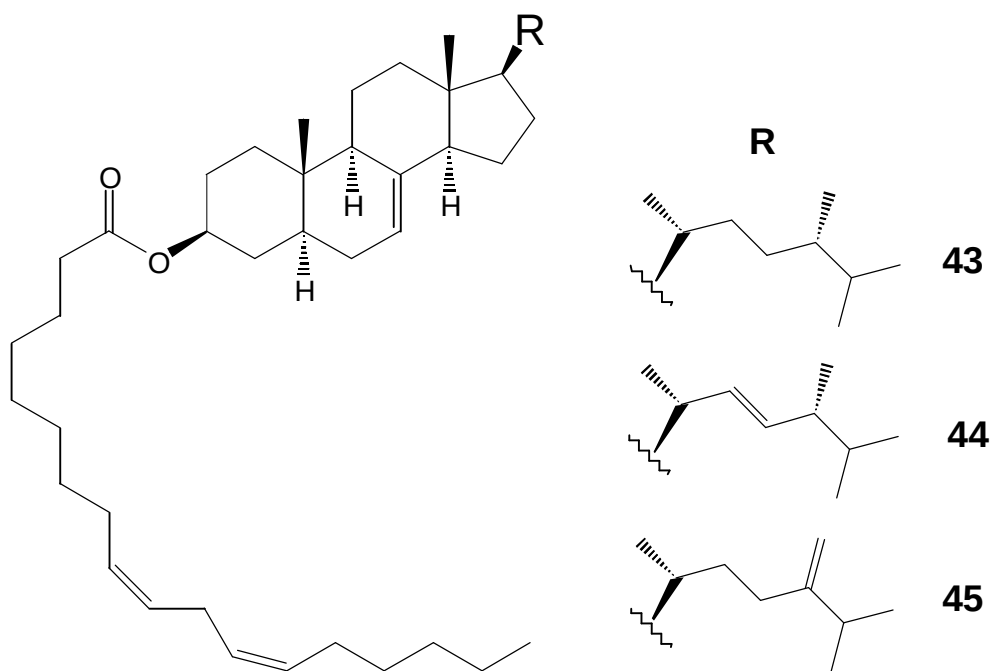


Tabelle 7-3: ^{13}C -Verschiebungen der identifizierten Linolsäuresterylester

C	43 (CDCl ₃)	44 (CDCl ₃)	45 (CDCl ₃)	C	43 (CDCl ₃)	44 (CDCl ₃)	45 (CDCl ₃)
1	36.89 <i>t</i>	36.89 <i>t</i>	36.89 <i>t</i>	24	39.10 <i>d</i>	42.85 <i>d</i>	156.87 <i>s</i>
2	34.79 <i>t</i>	34.79 <i>t</i>	34.79 <i>t</i>	25	31.49 <i>d</i>	33.13 <i>d</i>	33.84 <i>d</i>
3	73.21 <i>d</i>	73.21 <i>d</i>	73.21 <i>d</i>	26	17.62 <i>q</i>	17.62 <i>q</i>	22.03 <i>q</i>
4	31.56 <i>t</i>	31.56 <i>t</i>	31.56 <i>t</i>	27	20.55 <i>q</i>	19.67 <i>q</i>	21.90 <i>q</i>
5	40.11 <i>d</i>	40.11 <i>d</i>	40.11 <i>d</i>	28	15.48 <i>q</i>	19.98 <i>q</i>	106.00 <i>t</i>
6	29.63 <i>t</i>	29.63 <i>t</i>	29.63 <i>t</i>	1'	173.47 <i>s</i>	173.47 <i>s</i>	173.47 <i>s</i>
7	117.32 <i>d</i>	117.36 <i>d</i>	117.36 <i>d</i>	2'	33.89 <i>t</i>	33.89 <i>t</i>	33.89 <i>t</i>
8	139.60 <i>s</i>	139.60 <i>s</i>	139.53 <i>s</i>	3'	25.11 <i>t</i>	25.11 <i>t</i>	25.11 <i>t</i>
9	49.31 <i>d</i>	49.31 <i>d</i>	49.31 <i>d</i>	4'	29.13 <i>t</i>	29.13 <i>t</i>	29.13 <i>t</i>
10	34.25 <i>s</i>	34.25 <i>s</i>	34.25 <i>s</i>	5'	29.13 <i>t</i>	29.13 <i>t</i>	29.13 <i>t</i>
11	21.51 <i>t</i>	21.51 <i>t</i>	21.51 <i>t</i>	6'	29.13 <i>t</i>	29.13 <i>t</i>	29.13 <i>t</i>
12	39.53 <i>t</i>	39.43 <i>t</i>	39.53 <i>t</i>	7'	29.13 <i>t</i>	29.13 <i>t</i>	29.13 <i>t</i>
13	43.39 <i>s</i>	43.31 <i>s</i>	43.43 <i>s</i>	8'	27.22 <i>t</i>	27.22 <i>t</i>	27.22 <i>t</i>
14	55.02 <i>s</i>	55.09 <i>s</i>	55.02 <i>s</i>	9'	130.10 <i>d</i>	130.10 <i>d</i>	130.10 <i>d</i>
15	22.98 <i>t</i>	22.98 <i>t</i>	22.95 <i>t</i>	10'	128.07 <i>d</i>	128.07 <i>d</i>	128.07 <i>d</i>
16	27.94 <i>t</i>	28.12 <i>t</i>	27.94 <i>t</i>	11'	25.67 <i>t</i>	25.67 <i>t</i>	25.67 <i>t</i>
17	56.04 <i>d</i>	55.97 <i>d</i>	56.04 <i>d</i>	12'	127.95 <i>d</i>	127.95 <i>d</i>	127.95 <i>d</i>
18	11.89 <i>q</i>	12.13 <i>q</i>	11.89 <i>q</i>	13'	130.25 <i>d</i>	130.25 <i>d</i>	130.25 <i>d</i>
19	12.98 <i>q</i>	12.98 <i>q</i>	12.98 <i>q</i>	14'	27.22 <i>t</i>	27.22 <i>t</i>	27.22 <i>t</i>
20	36.67 <i>d</i>	40.52 <i>d</i>	36.22 <i>d</i>	15'	29.20 <i>t</i>	29.20 <i>t</i>	29.20 <i>t</i>
21	19.05 <i>q</i>	21.15 <i>q</i>	18.87 <i>q</i>	16'	31.56 <i>t</i>	31.56 <i>t</i>	31.56 <i>t</i>
22	33.70 <i>t</i>	135.70 <i>d</i>	34.67 <i>t</i>	17'	22.61 <i>t</i>	22.61 <i>t</i>	22.61 <i>t</i>
23	30.74 <i>t</i>	131.92 <i>d</i>	31.12 <i>t</i>	18'	14.11 <i>q</i>	14.11 <i>q</i>	14.11 <i>q</i>

7.2.1.2 Fraktion 2

Diese Fraktion bestand aus einem Gemisch aus mindestens vier Triacylglycerolen, was durch DC an RP-18-Kieselgel bewiesen werden konnte (LM: EE:Acetonitril 1:1, zweifache Entwicklung im Becherglas ohne Kammersättigung, Laufstrecke: 2 x 8 cm, Zwischentrocknung durch Fönen) ^[117].

7.2.1.3 Fraktion 3

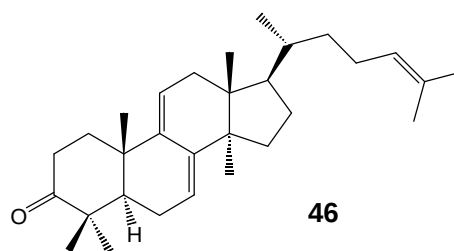
Diese komplexe Fraktion wurde an 130 g Kieselgel weiter aufgetrennt (LM: PE:EE 4:1 [1000 ml], 1:1 [500 ml], EE [250 ml], EtOH [500 ml]). Hierbei wurden zehn Fraktionen erhalten (3.1-3.10). Fraktion 3.1 bestand wie schon Fraktion 2 aus dem bekannten Gemisch aus mindestens vier nicht identifizierten Triacylglycerolen. Fraktion 3.2 wurde an 30 g Kieselgel gereinigt (LM: PE:EE 39:1 [400 ml]). Hierbei wurden drei neue Fraktionen erhalten (3.2.1-3.2.3). Fraktion 3.2.2 enthielt nur die neue Verbindung Lanosta-7,9(11),24-trien-3-on (Agnosteron) (**46**). Nach erneuter Auftrennung von Fraktion 3.4 an 40 g Kieselgel (LM: PE:EE 5:1 [500 ml]) wurden zwei Fraktionen erhalten. Aus Fraktion 3.4.2 kristallisierte nach einigen Wochen (+)-3 α -Acetoxylanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (**22**) aus. Aus Fraktion 3.5 kristallisierte schnell (+)-3-Oxolanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (Pinicolsäure A) (**2**) aus.

Durch weiteres Einengen der Lösung und anschließende Kristallisation konnten 500 mg dieser Verbindung erhalten werden. Durch Auftrennung von Fraktion 3.6 an 100 g Kieselgel konnten zwei neue Fraktionen erhalten werden. Fraktion 3.6.1 enthielt 40 mg eines Gemisches aus 21-Hydroxylanosta-8,24-dien-3-on (**23**) und 21-Hydroxylanosta-7,9(11),24-trien-3-on (**24**) im Verhältnis von ca. 3:1 und Fraktion 3.6.2 ein Gemisch aus **2** und **23**. Nach Einengen der Lösungsmittels kristallisierten aus Fraktion 3.8 40 mg (+)-3 β -Hydroxylanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (Trametenolsäure B) (**21**) aus.

Lanosta-7,9(11),24-trien-3-on (Agnosteron) (**46**)

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3):

δ 0.60 (3H, s, H-18), 0.88 (3H, s, H-30), 0.92 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-21), 1.10 (3H, s, H-29), 1.14 (3H, s, H-28), 1.21 (3H, s, H-19), 1.62 (3H, s, H-26), 1.70 (3H, s, H-27), 2.78 (1H, dt, $J = 14.3, 5.6$ Hz, H-2_a), 5.11 (1H, t, $J = 7.1$ Hz, H-24), 5.40 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, H-11), 5.51 (1H, d, $J = 6.7$ Hz, H-7).



$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, CDCl_3):

Tabelle 7-5

$\text{EI-MS } m/z$ (rel. Int.):

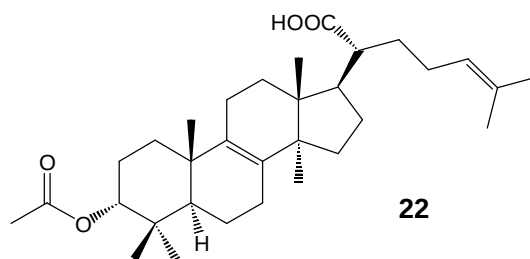
422 $[\text{M}]^+$ (28), 407 $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$ (9), 309 (15), 269 (17), 257 (15), 69 (100).

(+)-3 α -Acetoxylanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (**22**)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} +5.4$ (CHCl_3 ; c 1.31)

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3):

δ 0.77 (3H, s, H-18), 0.86 (3H, s, H-28), 0.92 (3H, s, H-29), 0.94 (3H, s, H-30), 0.98 (3H, s, H-19), 1.59 (3H, s, H-26), 1.68 (3H, s, H-27), 2.07 (3H, s, H-2'), 4.67 (1H, br.s, H-3_f), 5.10 (1H, t, $J = 4.1$ Hz, H-24).



$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, CDCl_3):

Tabelle 7-4

EI-MS m/z (rel. Int.):

498 $[M]^+$ (19), 483 $[M-CH_3]^+$ (10), 437 $[M-H_2O-MeCO]^+$ (18), 424 (35), 423 $[M-CH_3-AcOH]^+$ (100), 281 (27), 187 (42), 95 (56), 69 (69), 40 (72).

(+)-3-Oxolanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (Pinicolsäure A) (2)

Mp 197-201°

$[\alpha]_D^{20} +63$ (CHCl₃; c0.66)

Elementaranalyse

Gefunden: C: 79.16%, H: 10.37%, O: 10.47% (berechnet für C₃₀H₄₆O₃: C: 79.25%, H: 10.20%, O: 10.56%).

¹H-NMR (400.13 MHz, Pyridin-d₅):

δ 0.98 (3H, s, H-30), 0.99 (3H, s, H-19), 1.04 (3H, s, H-28), 1.05 (3H, s, H-18), 1.14 (3H, s, H-29), 1.62 (3H, s, H-26), 1.67 (3H, s, H-27), 2.64 (1H, dt, $J = 11.1, 3.0$ Hz, H-20), 5.33 (1H, t, H-24).

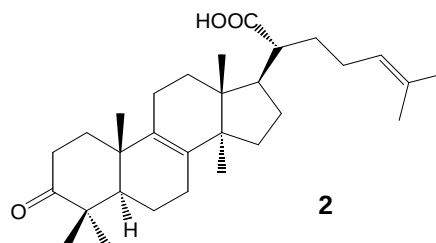
¹³C-NMR (100.61 MHz, Pyridin-d₅):

Tabelle 7-4

EI-MS m/z (rel. int.):

454 $[M]^+$ (57), 439 $[M-CH_3]^+$ (100), 421 $[M-CH_3-H_2O]^+$ (33), 393 (43), 297 (48), 95 (38), 69 (43).

(+)-3 β -Hydroxylanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (Trametenolsäure B) (21)

Mp 255-261°

$[\alpha]_D^{20} +39.7$ (MeOH; c0.23)

¹H-NMR (400.13 MHz, Pyridin-d₅):

δ 1.01 (3H, s, H-18), 1.01 (3H, s, H-28), 1.07 (3H, s, H-19), 1.07 (3H, s, H-30), 1.24 (3H, s, H-29), 1.62 (3H, s, H-26), 1.66 (3H, s, H-27), 2.65 (1H, dt, $J = 10.7, 3.6$ Hz, H-20), 3.43 (1H, dd, $J = 8.7, 7.1$ Hz, H-3_a), 5.32 (1H, t, $J = 7.1$ Hz, H-24).

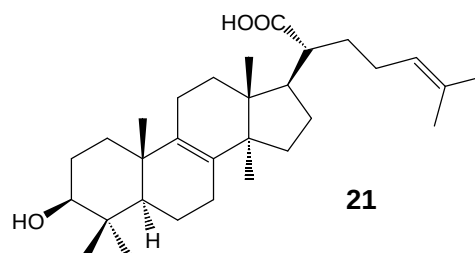
¹³C-NMR (100.61 MHz, Pyridin-d₅):

Tabelle 7-4

EI-MS m/z (rel. Int.):

456 $[M]^+$ (20), 441 $[M-CH_3]^+$ (31), 423 $[M-CH_3-H_2O]^+$ (61), 28 (26), 187 (42), 95 (100), 69 (96).

21-Hydroxylanosta-8,24-dien-3-on (23)

Mp 105-110°

$[\alpha]_D^{20} +66.2$ ($CHCl_3$; $c 0.19$)

 1H -NMR (400.13 MHz, $CDCl_3$):

δ 0.73 (3H, s, H-18), 0.89 (3H, s, H-30), 1.05 (3H, s, H-29), 1.08 (3H, s, H-28), 1.10 (3H, s, H-19), 1.59 (3H, s, H-26), 1.67 (3H, s, H-27), 2.39 (1H, *ddd*, $J = 15.8, 6.6, 3.6$ Hz), 2.56 (1H, *ddd*, $J = 15.8, 11.2, 7.2$ Hz), 2.75 (1H, *dt*, $J = 14.7, 6.1$ Hz, H-20), 3.66 (1H, *dd*, $J = 11.2, 4.6$ Hz, H-21_a), 3.72 (1H, *dd*, $J = 11.2, 3.0$ Hz, H-21_b), 5.10 (1H, *t*, $J = 6.6$ Hz, H-24).

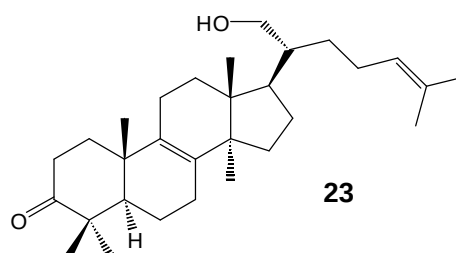
 ^{13}C -NMR (100.61 MHz, $CDCl_3$):

Tabelle 7-4

EI-MS m/z (rel. Int.):

440 $[M]^+$ (8), 425 $[M-CH_3]^+$ (11), 407 $[M-CH_3-H_2O]^+$ (14), 271 (14), 245 (15), 109 (100), 69 (63).

21-Hydroxylanosta-7,9(11),24-trien-3-on (24) 1H -NMR (500.13 MHz, $CDCl_3$):

δ 0.62 (3H, s, H-18), 0.91 (3H, s, H-30), 1.10 (3H, s, H-29), 1.14 (3H, s, H-28), 1.21 (3H, s, H-19), 1.63 (3H, s, H-26), 1.70 (3H, s, H-27), 2.78 (1H, *dt*, $J = 14.8, 6.0$ Hz, H-20), 3.66 (1H, *dd*, $J = 11.0, 4.7$ Hz, H-21_a), 3.75 (1H, *dd*, $J = 11.0, 2.3$ Hz, H-21_b), 5.13 (1H, *t*, $J = 6.9$ Hz, H-24), 5.41 (1H, *d*, $J = 6.3$ Hz, H-11), 5.53 (1H, *d*, $J = 6.3$ Hz, H-7).

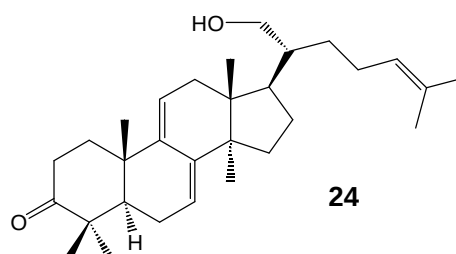
 ^{13}C -NMR (100.61 MHz, $CDCl_3$):

Tabelle 7-4

7.2.1.4 Fraktion 4

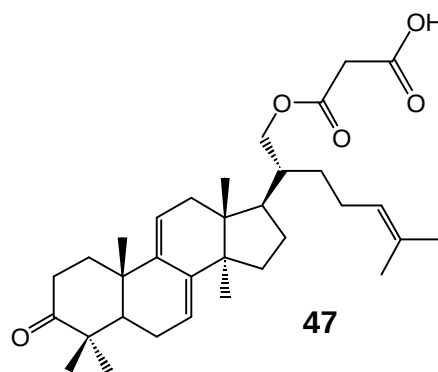
Nach erneuter Auftrennung an 50 g Kieselgel (LM: PE:EE 1:1 [500 ml], MeOH [100 ml]) und anschließender Reinigung an Sephadex LH-20 (LM: CHCl₃:MeOH 1:1) konnten 20 mg 21-Carboxyacetoxylanosta-7,9(11),24-trien-3-on (Fomitopssäure B) (**47**) aus dieser Fraktion gewonnen werden.

(+)-21-Carboxyacetoxylanosta-7,9(11),24-trien-3-on (Fomitopssäure B) (**47**)

$[\alpha]_D^{20} +36.2$ (CHCl₃; c1.36).

¹H-NMR (400.13 MHz, CDCl₃):

δ 0.61 (3H, s, H-18), 0.88 (3H, s, H-30), 1.08 (3H, s, H-29), 1.12 (3H, s, H-28), 1.19 (3H, s, H-19), 1.59 (3H, s, H-26), 1.68 (3H, s, H-27), 2.77 (1H, dt, J = 14.3, 5.6 Hz, H-2_a), 3.41 (2H, s, H-2'), 4.07 (1H, dd, J = 11.2, 5.6 Hz, H-21_a), 4.33 (1H, dd, J = 11.1, 2.6 Hz, H-21_b), 5.08 (1H, t, J = 6.7 Hz, H-24), 5.37 (1H, d, J = 5.6 Hz, H-11), 5.51 (1H, d, J = 6.1 Hz, H-7).



¹³C-NMR (100.61 MHz, CDCl₃):

Tabelle 7-4

EI-MS m/z (rel. Int.):

480 [M-CO₂]⁺ (42), 407 [M-CO₂-C₃H₅O₂]⁺ (34), 309 (52), 269 (38), 109 (50), 95 (48), 69 (100).

HR-MS m/z:

480.3615 [M-CO₂]⁺ (C₃₂H₄₈O₃ erfordert 480.3603).

7.2.2 Dichlormethanextrakt der Kruste

Der rohe Dichlormethanextrakt wurde zunächst an 200 g Kieselgel säulenchromatographisch vorgetrennt (LM: PE:EE 4:1 [500 ml], 3:1 [1000 ml], 2:1 [500 ml], 1:1 [500 ml], 1:2 [500 ml], EE [500 ml], MeOH [500 ml]). Hierbei wurden acht Fraktionen erhalten (1-8). Aus den Fraktionen 3, 5 und 6 kristallisierten nach einem Tag weiße Feststoffe aus, die getrennt untersucht wurden (3K, 5K und 6K). Aus Fraktion 4 kristallisierten schnell 200 mg Pinicolsäure A (**2**) aus.

7.2.2.1 Fraktion 3

Nach Auftrennung an 40 g Kieselgel (LM: PE:EE 5:1 [1000 ml]) wurden vier Fraktionen erhalten. Fraktion 3.1 enthielt ein Gemisch aus 21-Hydroxylanosta-8,24-dien-3-on (23) und 21-Hydroxylanosta-7,9(11),24-trien-3-on (24) und Fraktion 3.3 enthielt reine Pinicolsäure A (2) (vgl. Kap. 6.2.1.3).

7.2.2.2 Fraktion 3K

Aufreinigung dieser Fraktion an 100 g Kieselgel (LM: PE:EE 6:1 [1000 ml]) lieferte 21-Hydroxylanosta-7,9(11),24-trien-3-on (24) (vgl. Kap. 6.2.1.3).

7.2.2.3 Fraktion 5

Diese Fraktion wurde erneut an 140 g Kieselgel (LM: PE:EE 3:1 [2000 ml], 2:1 [1000 ml], 1:1 [500 ml]) in 11 Unterfraktionen aufgetrennt. Fraktion 5.1 enthielt Pinicolsäure A (2) (vgl. Kap. 6.2.1.3) und Fraktion 5.3 15 mg (+)-Lanosta-7,9(11),24-trien-3 β ,21-diol (Pinicolol A) (25).

(+)-Lanosta-7,9(11),24-trien-3 β ,21-diol (Pinicolol A) (25)

Mp 192-194°

$[\alpha]_D^{20} +66.9$ (CHCl₃; c0.53)

¹H NMR (400.13 MHz, CDCl₃):

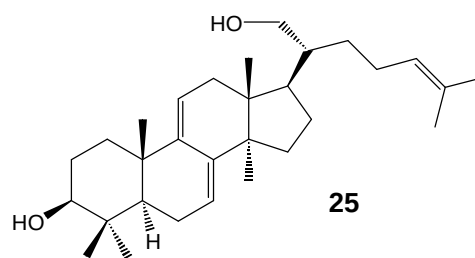
δ 0.59 (3H, s, H-18), 0.90 (3H, s, H-28), 0.99 (3H, s, H-19), 1.01 (3H, s, H-29), 1.26 (3H, s, H-30), 1.62 (3H, s, H-26), 1.69 (3H, s, H-27), 3.26 (1H, dd, $J = 11.2, 4.6$ Hz, H-3_a), 3.65 (1H, dd, $J = 11.7, 5.1$ Hz, H-21_a), 3.74 (1H, dd, $J = 11.2, 2.6$ Hz, H-21_b), 5.13 (1H, t, $J = 6.6$ Hz, H-24), 5.32 (1H, d, $J = 6.1$ Hz, H-11), 5.49 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, H-7).

¹³C NMR (100.61 MHz, CDCl₃):

Tabelle 7-4

EI-MS m/z (rel. Int.):

440 [M]⁺ (28), 409 [M-CH₂OH]⁺ (6), 311 (11), 271 (15), 109 (75), 69 (100).



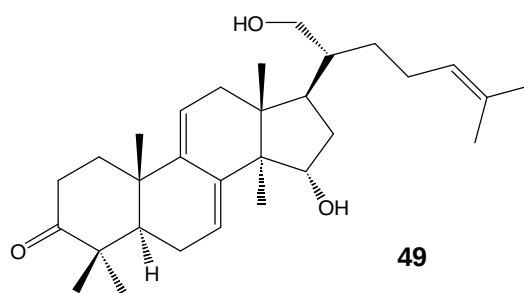
7.2.2.4 Fraktion 6

Eine Auftrennung an 70 g Kieselgel (LM: PE:EE 3:1 [1000 ml], 2:1 [1000 ml], 1:1 [1500 ml], EE [500 ml]) lieferte acht Fraktionen. Fraktion 6.2 enthielt 4 mg der leicht verunreinigten Verbindung 3-Oxolanosta-7,9(11),24-trien-15 α ,21-diol (Pinicolol C) (**49**). Aus Fraktion 6.4 kristallisierte nach einigen Wochen 3 β -Hydroxylanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (Trametenolsäure B) (**21**) in farblosen Nadeln aus (vgl. Kap. 6.2.1.3). Fraktion 6.6 wurde aus Methanol umkristallisiert. Das lieferte 28 mg 3,16-Dioxolanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (Pinicolsäure B) (**50**). Fraktion 6.7 wurde an 140 g Kieselgel (LM: PE:EE 3:1 [1200 ml], 2:1 [1500 ml], 1:1 [1500 ml], EE [600 ml]) in drei Unterfraktionen weiter aufgetrennt. Fraktion 6.7.3 enthielt 4 mg der leicht verunreinigten Verbindung 16 α -Hydroxy-3-oxo-lanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (Pinicolsäure E) (**53**).

3-Oxolanosta-7,9(11),24-trien-15 α ,21-diol (Pinicolol C) (**49**)

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3):

δ 0.66 (3H, s, H-18), 0.96 (3H, s, H-30), 1.09 (3H, s, H-28), 1.13 (3H, s, H-19), 1.20 (3H, s, H-29), 1.62 (3H, s, H-26), 1.70 (3H, s, H-27), 2.77 (1H, dt, $J = 14.2, 6.1$ Hz), 3.62 (1H, dd, $J = 11.2, 4.1$ Hz, H-21_a), 3.72 (1H, dd, $J = 11.2, 2.5$ Hz, H-21_b), 4.31 (1H, dd, $J = 9.1, 6.1$ Hz, H-15), 5.11 (1H, tt, $J = 7.1, 1.5$ Hz, H-24), 5.39 (1H, d, $J = 6.1$ Hz, H-11), 5.92 (1H, d, $J = 6.1$ Hz, H-7).



$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, CDCl_3):

Tabelle 7-5

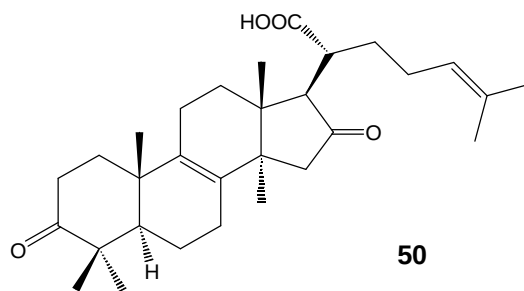
(-)-3,16-Dioxolanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (Pinicolsäure B) (**50**)

Mp 202-204°

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} -34.6$ (CHCl_3 ; $c 0.15$).

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, Pyridin-d_5):

δ 0.99 (3H, s, H-19), 1.04 (3H, s, H-28), 1.11 (3H, s, H-30), 1.12 (3H, s, H-18), 1.14 (3H, s, H-29), 1.62 (3H, s, H-26), 1.64 (3H, s, H-27), 2.95 (4H, m, H-17, H-20, H-22), 5.36 (1H, t, $J = 7.1$ Hz, H-24).



^{13}C -NMR (100.61 MHz, Pyridin- d_5):

Tabelle 7-5

EI-MS m/z (rel. Int.):

468 $[\text{M}]^+$ (2), 453 $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$ (2), 451 (4), 407 (26), 339 (36), 272 (22), 69 (100).

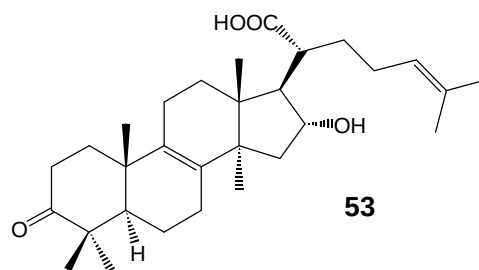
16 α -Hydroxy-3-oxolanosta-8,24-dien-21-carbonsäure (Pinicolsäure E) (53)

^1H -NMR (400.13 MHz, CDCl_3):

δ 0.78 (3H, s, H-18), 0.96 (3H, s, H-30), 1.07 (3H, s, H-29), 1.09 (3H, s, H-28), 1.10 (3H, s, H-19), 1.61 (3H, s, H-26), 1.69 (3H, s, H-27), 4.14 (1H, t, $J = 6.1$ Hz, H-16), 5.13 (1H, t, $J = 7.1$ Hz, H-24).

^{13}C -NMR (100.61 MHz, CDCl_3):

Tabelle 7-5



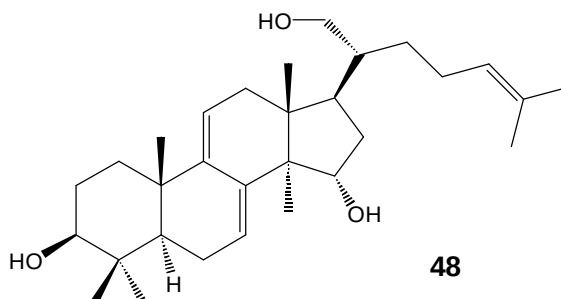
7.2.2.5 Fraktion 7

Eine Auftrennung an 70 g Kieselgel (LM: PE:EE 2:1 [1500 ml], 1:1 [500 ml], EE [500 ml]) lieferte acht Fraktionen. Fraktion 7.3 enthielt 7 mg der leicht verunreinigten Verbindung Lanosta-7,9(11),24-trien-3 β ,15 α ,21-triol (Pinicolol B) (48). Fraktion 7.5 wurde aus Methanol umkristallisiert. Es konnten 16 mg 3 β -Hydroxy-16-oxolanosta-7,9(11),24-trien-21-carbonsäure (Pinicolsäure D) (52) gewonnen werden. Fraktion 7.8 enthielt 4 mg 3,4-secoLanosta-4(28),8,24-trien-3,21-dicarbonsäure (Pinicolsäure C) (51).

Lanosta-7,9(11),24-trien-3 β ,15 α ,21-triol (Pinicolol B) (48)

^1H -NMR (400.13 MHz, CDCl_3):

δ 0.66 (3H, s, H-18), 0.96 (3H, s, H-30), 1.09 (3H, s, H-28), 1.13 (3H, s, H-19), 1.20 (3H, s, H-29), 1.62 (3H, s, H-26), 1.70 (3H, s, H-27), 2.77 (1H, dt, $J = 14.2, 6.1$ Hz), 3.25 (1H, dd, $J = 11.3, 4.0$ Hz, H-3), 3.62 (1H, dd, $J = 11.2, 4.1$ Hz, H-21_a), 3.72 (1H, dd, $J = 11.2, 2.5$ Hz, H-21_b), 4.31 (1H, dd, $J = 9.1, 6.1$ Hz, H-15), 5.11 (1H, tt, $J = 7.1, 1.5$ Hz, H-24), 5.39 (1H, d, $J = 6.1$ Hz, H-11), 5.92 (1H, d, $J = 6.1$ Hz, H-7).



^{13}C -NMR (100.61 MHz, CDCl_3):

Tabelle 7-5

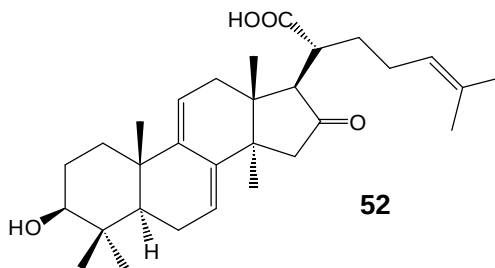
(-)-3 β -Hydroxy-16-oxolanosta-7,9(11),24-trien-21-carbonsäure (Pinicolsäure D) (52)

Mp 226-228°.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -67.5 (CH_2Cl_2 ; c 0.06).

^1H -NMR (400.13 MHz, Pyridin- d_5):

δ 1.03 (3H, s, H-19), 1.05 (3H, s, H-29), 1.12 (3H, s, H-18), 1.15 (3H, s, H-30), 1.22 (3H, s, H-28), 1.61 (3H, s, H-26), 1.63 (3H, s, H-27), 3.01 (2H, *m*, H-17, H-20), 3.45 (1H, *dd*, $J = 9.1, 6.6$ Hz, H-3_a), 5.37 (1H, *t*, $J = 7.1$ Hz, H-24), 5.41 (1H, *d*, $J = 6.1$ Hz, H-11), 5.51 (1H, *d*, $J = 5.6$ Hz, H-7).



^{13}C -NMR (100.61 MHz, Pyridin- d_5):

Tabelle 7-5

$\text{EI-MS } m/z$ (rel. Int.):

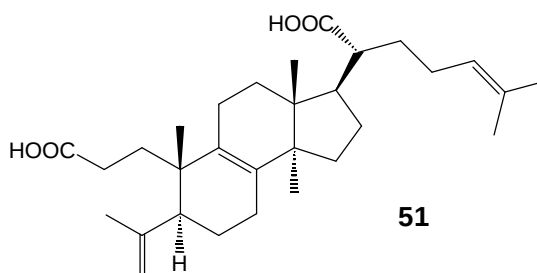
468 $[\text{M}]^+$ (2), 453 $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$ (9), 435 $[\text{M}-\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O}]^+$ (16), 407 (24), 339 (29), 132 (43), 69 (100).

(+)-3,4-secoLanosta-4(28),8,24-trien-3,21-dicarbonsäure (Pinicolsäure C) (51)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ +27.9 (CHCl_3 ; c 0.66).

^1H -NMR (400.13 MHz, CDCl_3):

δ 0.81 (3H, s, H-18), 0.97 (3H, s, H-30), 0.99 (3H, s, H-19), 1.59 (3H, s, H-26), 1.68 (3H, s, H-27), 1.77 (3H, s, H-29), 4.69 (1H, *br.s*, H-28(*Z*)), 4.90 (1H, *br.s*, H-28(*E*)), 5.08 (1H, *t*, $J = 7.1$ Hz, H-24).



^{13}C -NMR (100.61 MHz, CDCl_3):

Tabelle 7-5

$\text{EI-MS } m/z$ (rel. Int.):

470 $[\text{M}]^+$ (46), 397 $[\text{M}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}]^+$ (78), 255 (30), 161 (83), 69 (100).

Tabelle 7-4: ¹³ C-Verschiebungen der aus <i>Fomitopsis pinicola</i> isolierten Verbindungen (1)							
C	2 (pyr)	21 (pyr)	22 (CDCl₃)	23 (CDCl₃)	24 (CDCl₃)	25 (CDCl₃)	47 (CDCl₃)
1	35.78 t	35.72 t	30.39 t	36.02 t	36.56 t	35.73 t	36.61 t
2	34.50 t	28.31 t	23.42 t	34.53 t	34.76 t	27.79 t	34.84 t
3	215.78 s	77.60 d	77.93 d	217.73 s	216.66 s	78.98 d	216.90 s
4	47.33 s	39.14 s	36.80 s	47.32 s	47.41 s	38.68 s	47.49 s
5	50.90 d	50.50 d	45.39 d	51.16 d	50.63 d	49.11 d	50.69 d
6	19.22 t	18.31 t	17.99 t	19.39 t	23.63 t	23.04 t	23.67 t
7	26.14 t	26.42 t	26.00 t	26.29 t	120.06 d	120.53 d	120.20 d
8	133.25 s	133.89 s	134.54 s	133.10 s	142.73 s	142.52 s	142.59 s
9	134.77 s	134.77 s	133.92 s	135.23 s	144.61 s	146.14 s	144.54 s
10	36.70 s	37.00 s	36.93 s	36.87 s	37.17 s	37.41 s	37.22 s
11	20.93 t	20.86 t	20.88 t	21.04 t	117.00 d	115.96 d	117.04 d
12	28.93 t	29.00 t	28.99 t	30.42 t	37.12 t	37.21 t	36.92 t
13	44.46 s	44.50 s	44.29 s	44.19 s	43.48 s	43.55 s	43.48 s
14	49.52 s	49.45 s	49.60 s	49.95 s	50.35 s	50.43 s	50.38 s
15	30.52 t	30.48 t	30.92 t	30.81 t	31.36 t	31.45 t	31.38 t
16	27.06 t	27.10 t	27.06 t	27.64 t	27.43 t	27.53 t	27.52 t
17	46.96 d	47.34 d	47.20 d	44.38 d	44.87 d	44.92 d	45.19 d
18	16.04 q	15.99 q	16.01 q	16.11 q	15.97 q	15.80 q	15.94 q
19	18.28 q	19.01 q	18.87 q	18.64 q	21.99 q	22.75 q	22.03 q
20	48.64 d	48.63 d	47.68 d	42.81 d	42.66 d	42.73 d	39.67 d
21	178.22 s	178.24 s	182.93 s	62.47 t	62.43 t	62.59 t	65.88 t
22	32.90 t	32.91 t	32.53 t	29.74 t	29.71 t	29.77 t	30.15 t
23	26.35 t	26.34 t	25.94 t	24.99 t	24.93 t	25.00 t	24.72 t
24	124.49 d	124.50 d	123.62 d	124.85 d	124.82 d	124.85 d	124.41 d
25	131.36 s	131.32 s	132.27 s	131.31 s	131.36 s	131.51 s	131.63 s
26	17.35 q	17.33 q	17.67 q	17.67 q	17.67 q	17.74 q	17.68 q
27	25.40 q	25.38 q	25.71 q	25.67 q	25.67 q	25.66 q	25.71 q
28	20.83 q	15.95 q	21.89 q	21.24 q	22.40 q	15.98 q	22.46 q
29	26.00 q	28.24 q	27.59 q	26.17 q	25.32 q	28.16 q	25.32 q
30	24.11 q	24.11 q	24.58 q	24.39 q	25.48 q	25.72 q	25.45 q
1'			170.84 s				167.47 s
2'			21.36 q				41.04 t
3'							169.02 s

Tabelle 7-5: ¹³ C-Verschiebungen der aus <i>Fomitopsis pinicola</i> isolierten Verbindungen (2)							
C	46 (CDCl₃)	48 (CDCl₃)	49 (CDCl₃)	50 (pyr)	51 (CDCl₃)	52 (pyr)	53 (CDCl₃)
1	36.66 t	35.75 t	36.62 t	35.49 t	31.48 t	35.69 t	36.04 t
2	34.89 t	27.78 t	34.81 t	34.26 t	29.34 t	28.19 t	34.55 t
3	216.88 s	78.89 d	216.60 s	215.60 s	181.38 s	77.56 d	217.52 s
4	47.52 s	38.70 s	47.44 s	47.00 s	147.46 s	38.95 s	47.41 s
5	50.75 d	48.95 d	50.51 d	50.78 d	47.25 d	49.32 d	51.21 d
6	23.70 t	22.98 t	23.64 t	19.12 t	24.00 t	23.13 t	19.35 t
7	119.85 d	121.61 d	121.27 d	26.56 t	26.62 t	122.45 d	26.25 t
8	142.98 s	140.76 s	140.97 s	132.46 s	138.98 s	139.65 s	133.24 s
9	144.52 s	146.37 s	144.90 s	134.51 s	129.44 s	146.38 s	135.08 s
10	37.23 s	37.46 s	37.29 s	36.83 s	40.33 s	37.59 s	36.97 s
11	117.37 d	115.77 d	116.82 d	20.05 t	21.67 t	116.05 d	20.56 t
12	37.86 t	37.88 t	37.86 t	28.67 t	28.49 t	35.10 t	28.99 t
13	43.78 s	44.16 s	44.12 s	43.47 s	44.10 s	42.64 s	46.33 s
14	50.34 s	52.06 s	52.03 s	44.11 s	50.32 s	44.13 s	48.34 s
15	31.62 t	74.66 d	74.57 d	46.35 t	30.62 t	46.45 t	42.64 t
16	27.91 t	39.63 t	39.62 t	217.37 s	25.99 t	216.81 s	77.04 d
17	50.95 d	42.98 d	42.99 d	57.46 d	47.47 d	57.32 d	56.96 d
18	15.73 q	16.30 q	16.37 q	16.86 q	15.97 q	16.24 q	17.52 q
19	22.09 q	22.87 q	22.17 q	18.15 q	22.44 q	22.54 q	18.64 q
20	36.07 d	42.36 d	42.38 d	44.85 d	47.07 d	44.64 d	46.06 d
21	18.46 q	62.45 t	62.46 t	176.85 s	184.04 s	176.76 s	181.01 s
22	36.30 t	29.76 t	29.78 t	31.57 t	32.15 t	31.58 t	32.16 t
23	24.97 t	25.01 t	25.01 t	26.44 t	25.92 t	26.40 t	26.42 t
24	125.19 d	124.61 d	124.57 d	124.50 d	123.58 d	124.45 d	123.41 d
25	131.04 s	131.73 s	131.77 s	131.42 s	132.32 s	131.41 s	132.47 s
26	17.67 q	17.77 q	17.76 q	17.40 q	17.68 q	17.36 q	17.71 q
27	25.76 q	25.74 q	25.72 q	25.47 q	25.70 q	25.53 q	25.74 q
28	22.49 q	15.84 q	22.47 q	20.99 q	113.70 t	16.49 q	21.30 q
29	25.38 q	28.17 q	25.01 q	25.96 q	22.83 q	28.43 q	26.10 q
30	25.47 q	17.25 q	25.45 q	24.59 q	25.40 q	25.42 q	25.29 q

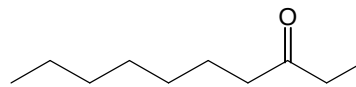
7.2.3 Wasserdampfdestillat

500 g der zerkleinerten Fruchtkörper von *F. pinicola* wurden einer Wasserdampfdestillation unterzogen. Das erhaltene ätherische Öl wurde einer Kieselgelfiltration an 10 g trockenem Kieselgel mit *n*-Hexan (60 ml) als Eluent unterzogen. Dabei wurden zwei Fraktionen erhalten. Polare Verbindungen wurden daraufhin mit 20 ml Ethylacetat eluiert. Alle drei erhaltenen Fraktionen wurden dann mittels GC-MS untersucht und die Komponenten durch Vergleich ihrer Massenspektren und Retentionszeiten mit Literaturdaten identifiziert ^[101]. Die identifizierten Verbindungen sind in Tabelle 7-6 aufgeführt.

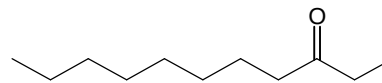
Tabelle 7-6: Flüchtige Inhaltsstoffe aus <i>Fomitopsis pinicola</i>					
Verbindung	Identifikation durch	% in den Fraktionen	Verbindung	Identifikation durch	% in den Fraktionen
Aliphatische Alkohole, Ketone und Aldehyde			Terpene		
3-Decanon (54)	MS	0.2	α -Copaen (74)	MS, R _i	1.9
3-Undecanon (55)	MS	0.4	6-Protoilluden (75)	MS, R _i	1.6
3-Dodecanon (56)	MS	1.1	Sativen (76)	MS, R _i	0.6
<i>n</i> -Heptanal (57)	MS	1.5	Longifolen (77)	MS, R _i	6.3
1-Octen-3-ol (58)	MS	49.6	α -Barbaten (78)	MS, R _i	6.2
3-Octanol (59)	MS	1.5	β -Caryophyllen (79)	MS, R _i	0.9, 0.7
(<i>Z</i>)-2-Octen-1-ol (60)	MS	2.9	β -Copaen (80)	MS, R _i	1.1
1-Octanol (61)	MS	3.2	β -Barbaten (81)	MS, R _i	6.0, 0.4
(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal (62)	MS	0.5	(<i>E</i>)- β -Farnesen (82)	MS, R _i	14.7
Aromatische Verbindungen			γ -Muurolen (83)	MS, R _i	2.0
2-Pentylfuran (63)	MS	3.4	γ -Amorphen (84)	MS, R _i	0.6
Furfural (64)	MS	1.3	α -Muurolen (85)	MS, R _i	2.0
Benzaldehyd (65)	MS	4.0	γ -Cadinen (86)	MS, R _i	1.0
Phenylacetaldehyd (66)	MS	3.3	δ -Cadinen (87)	MS, R _i	6.0, 2.1
4-Methoxyphenylelessigsäure-methylester (33)	MS	0.1	<i>trans</i> -Calamenen (88)	MS, R _i	4.0
Terpene			α -Calacoren (89)	MS, R _i	1.6
α -Pinen (67)	MS, R _i	11.5	<i>trans</i> -Nerolidol (90)	MS, R _i	1.7
Camphen (68)	MS, R _i	5.5	1- <i>epi</i> -Cubenol (91)	MS, R _i	0.5
Limonen (69)	MS, R _i	0.8	α -Cadinol (92)	MS, R _i	0.2
Campher (70)	MS, R _i	0.2	Cembren A (93)	MS, R _i	0.4
α -Cubeben (71)	MS, R _i	0.5	(<i>Z</i>)-Biformen (94)	MS, R _i	1.0
α -Longipinen (72)	MS, R _i	0.9	Abietatrien (95)	MS, R _i	0.4
α -Ylangen (73)	MS, R _i	0.5	7,13-Abietadien (96)	MS, R _i	0.1

3-Decanon (54)EI-MS m/z (rel. Int.):

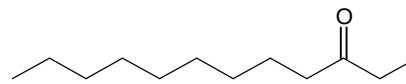
156 [M]⁺ (4), 127 [M-Et]⁺ (4), 119 (4), 113 (4), 99 (6), 85 (21),
71 (42), 57 [H₃CCH₂C=O]⁺ (96), 43 (100)

**54****3-Undecanon (55)**EI-MS m/z (rel. Int.):

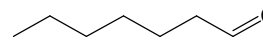
170 [M]⁺ (4), 141 [M-Et]⁺ (3), 127 (4), 113 (4), 98 (5), 85
(25), 71 (50), 57 [H₃CCH₂C=O]⁺ (100), 43 (97)

**55****3-Dodecanon (56)**EI-MS m/z (rel. Int.):

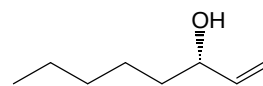
184 [M]⁺ (5), 155 [M-Et]⁺ (2), 141 (4), 127 (4), 113 (5), 99
(8), 85 (33), 71 (58), 57 [H₃CCH₂C=O]⁺ (100), 43 (88)

**56****n-Heptanal (57)**EI-MS m/z (rel. Int.):

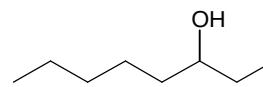
124 [M]⁺ (4), 96 (13), 86 (16), 81 (24), 71 (19), 70 (90), 57 (48), 55
(60), 44 (93), 41 (100)

**57****1-Octen-3-ol (58)**EI-MS m/z (rel. Int.):

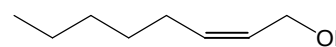
110 (2), 99 (3), 85 (5), 72 (16), 57 (100), 43 (20), 41 (20)

**58****3-Octanol (59)**EI-MS m/z (rel. Int.):

129 (1), 112 (4), 101 (20), 83 (50), 59 (100), 55 (50), 41 (37)

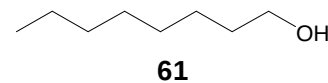
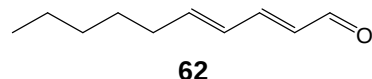
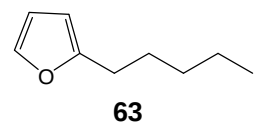
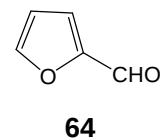
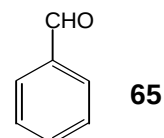
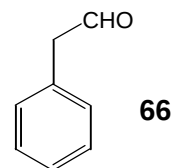
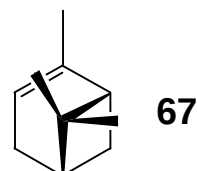
**59****(Z)-2-Octen-1-ol (60)**EI-MS m/z (rel. Int.):

110 (20), 95 (10), 82 (18), 81 (33), 67 (35), 57 (100), 55 (57), 43
(37), 41 (80)

**60**

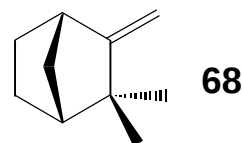
1-Octanol (61)EI-MS m/z (rel. Int.):

112 (3), 97 (3), 84 (48), 70 (57), 69 (57), 56 (90), 43 (72), 41 (100)

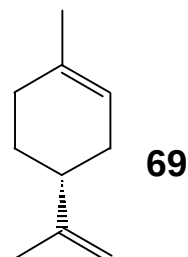
**(E,E)-2,4-Decadienal (62)**EI-MS m/z (rel. Int.):152 [M]⁺ (2), 123 [M-CHO]⁺ (6), 109 (5), 95 (20), 91 (18), 81 (100), 67 (48), 55 (48), 41 (83), 39 (52)**2-Pentylfuran (63)**EI-MS m/z (rel. Int.):138 [M]⁺ (18), 123 (2), 109 (2), 95 (4), 82 (23), 81 (100), 53 (20), 41 (15)**Furfural (64)**EI-MS m/z (rel. Int.):96 [M]⁺ (100), 95 [M-H]⁺ (97), 67 (10), 51 (3), 39 (59)**Benzaldehyd (65)**EI-MS m/z (rel. Int.):106 [M]⁺ (80), 105 [M-H]⁺ (85), 78 (24), 77 (100), 51 (75), 39 (21)**Phenylacetaldehyd (66)**EI-MS m/z (rel. Int.):120 [M]⁺ (20), 92 (25), 91 [C₇H₇]⁺ (100), 65 (20), 39 (15)**α-Pinen (67)**EI-MS m/z (rel. Int.):136 [M]⁺ (5), 121 [M-Me]⁺ (16), 105 (10), 93 (100), 79 (20), 77 (25), 67 (10), 57 (17), 41 (30)

Camphen (68)EI-MS m/z (rel. Int.):

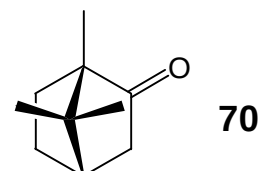
136 $[M]^+$ (11), 121 $[M-Me]^+$ (40), 107 (18), 93 (100), 91 (37), 79 (37), 77 (25), 67 (21), 53 (16), 41 (34), 39 (24)

**Limonen (69)**EI-MS m/z (rel. Int.):

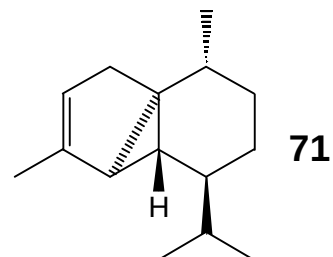
136 $[M]^+$ (20), 121 $[M-Me]^+$ (18), 119 (20), 107 (15), 93 (100), 91 (38), 79 (38), 77 (35), 68 (86), 67 (47), 53 (22), 41 (42), 39 (38)

**Campher (70)**EI-MS m/z (rel. Int.):

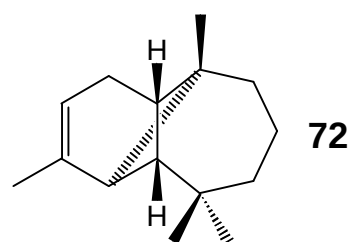
152 $[M]^+$ (26), 110 (13), 109 (38), 108 (38), 95 (100), 83 (37), 81 (72), 79 (10), 77 (10), 69 (25), 67 (29), 55 (40), 41 (75), 39 (40)

 **α -Cubeben (71)**EI-MS m/z (rel. Int.):

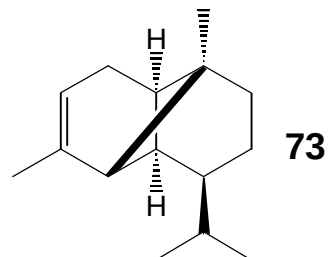
204 $[M]^+$ (20), 189 $[M-Me]^+$ (1), 174 (3), 162 (15), 161 $[M-C_3H_7]^+$ (100), 133 (12), 121 (10), 120 (26), 119 (90), 105 (97), 93 (31), 91 (43), 81 (33), 79 (20), 77 (22), 69 (30), 55 (37), 43 (33), 41 (70)

 **α -Longipinen (72)**EI-MS m/z (rel. Int.):

204 $[M]^+$ (18), 189 $[M-Me]^+$ (10), 161 $[M-C_3H_7]^+$ (20), 147 (10), 133 (43), 119 (100), 107 (35), 105 (55), 93 (40), 91 (40), 79 (22), 77 (20), 69 (20), 55 (29), 41 (42)

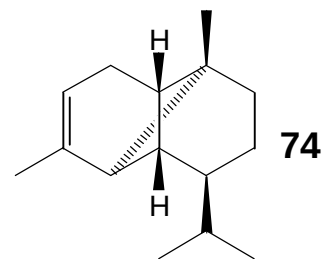
 **α -Ylangen (73)**EI-MS m/z (rel. Int.):

204 $[M]^+$ (50), 189 $[M-Me]^+$ (20), 175 (3), 161 $[M-C_3H_7]^+$ (67), 147 (19), 133 (27), 120 (50), 119 (66), 107 (48), 105 (100), 94 (72), 93 (52), 91 (64), 79 (38), 69 (22), 55 (39), 41 (68)

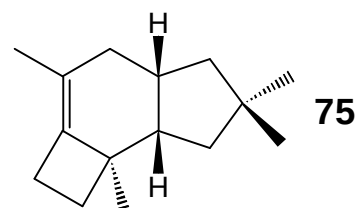


α -Copaen (74)EI-MS m/z (rel. Int.):

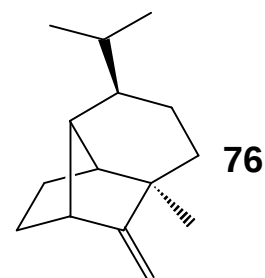
204 $[M]^+$ (21), 189 $[M-Me]^+$ (6), 161 $[M-C_3H_7]^+$ (87), 147 (5), 136 (10), 133 (18), 121 (20), 120 (25), 119 (100), 117 (10), 107 (22), 106 (17), 105 (98), 94 (22), 93 (58), 91 (58), 81 (30), 79 (36), 69 (23), 67 (20), 55 (41), 43 (42), 41 (75)

**6-Protoilluden (75)**EI-MS m/z (rel. Int.):

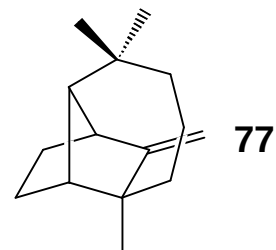
204 $[M]^+$ (30), 189 $[M-Me]^+$ (25), 175 (100), 161 (29), 147 (18), 133 (38), 119 (84), 105 (55), 91 (34), 77 (21), 69 (21), 67 (10), 55 (27), 41 (53)

**Sativen (76)**EI-MS m/z (rel. Int.):

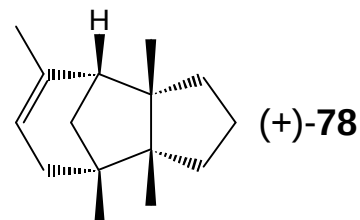
204 $[M]^+$ (37), 189 $[M-Me]^+$ (25), 175 (10), 161 (76), 147 (18), 133 (43), 119 (45), 108 (100), 105 (57), 93 (63), 91 (63), 79 (40), 67 (27), 55 (35), 41 (61)

**Longifolen (77)**EI-MS m/z (rel. Int.):

204 $[M]^+$ (38), 189 $[M-Me]^+$ (55), 175 (20), 161 (100), 147 (35), 135 (44), 133 (49), 119 (50), 107 (60), 105 (64), 95 (50), 94 (63), 93 (61), 91 (67), 79 (50), 67 (28), 55 (36), 41 (64)

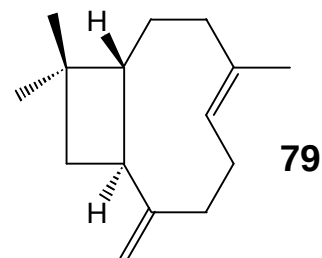
**(+)- α -Barbaten (78)**EI-MS m/z (rel. Int.):

204 $[M]^+$ (10), 189 $[M-Me]^+$ (6), 175 (2), 161 (3), 147 (3), 136 (5), 123 (19), 109 (30), 108 (83), 107 (48), 96 (38), 95 (63), 94 (37), 93 (100), 91 (35), 91 (35), 77 (19), 67 (13), 55 (20), 39 (56)

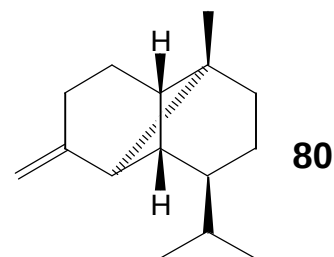


β -Caryophyllen (79)EI-MS m/z (rel. Int.):

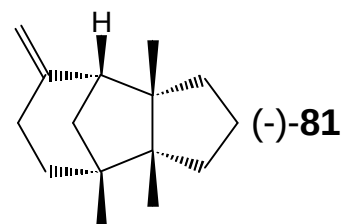
204 $[M]^+$ (4), 189 $[M-Me]^+$ (7), 176 (3), 175 (5), 161 (18), 148 (18), 147 (18), 134 (12), 133 (45), 121 (19), 120 (21), 119 (21), 109 (13), 107 (29), 105 (33), 95 (17), 94 (15), 93 (63), 91 (47), 81 (30), 79 (48), 77 (30), 69 (68), 55 (38), 41 (100), 39 (40)

 **β -Copaen (80)**EI-MS m/z (rel. Int.):

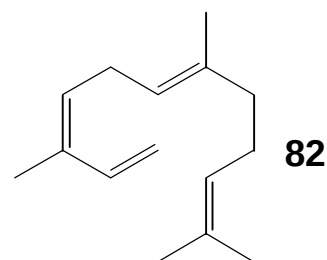
204 $[M]^+$ (17), 189 $[M-Me]^+$ (5), 161 $[M-C_3H_7]^+$ (100), 147 (8), 133 (18), 119 (30), 105 (44), 91 (40), 81 (24), 79 (23), 77 (18), 55 (20), 41 (38)

**(-)- β -Barbaten (81)**EI-MS m/z (rel. Int.):

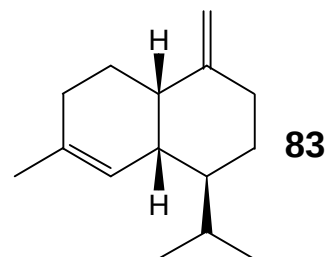
204 $[M]^+$ (6), 189 $[M-Me]^+$ (10), 175 (4), 161 (10), 133 (10), 119 (15), 111 (35), 108 (75), 96 (85), 95 (68), 94 (46), 93 (100), 81 (75), 79 (43), 77 (24), 69 (26), 55 (37), 41 (42)

**(E)- β -Farnesen (82)**EI-MS m/z (rel. Int.):

204 $[M]^+$ (7), 189 $[M-Me]^+$ (2), 161 (19), 133 (20), 120 (16), 109 (4), 107 (6), 105 (10), 93 (52), 81 (20), 79 (18), 69 (100), 67 (20), 55 (20), 41 (72)

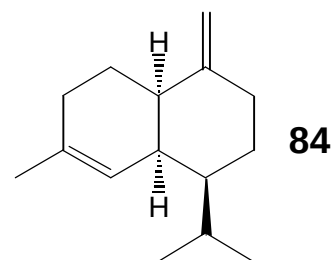
 **γ -Muurolen (83)**EI-MS m/z (rel. Int.):

204 $[M]^+$ (22), 189 $[M-Me]^+$ (6), 161 $[M-C_3H_7]^+$ (100), 133 (23), 119 (44), 105 (57), 93 (47), 91 (40), 79 (38), 55 (20), 41 (42)

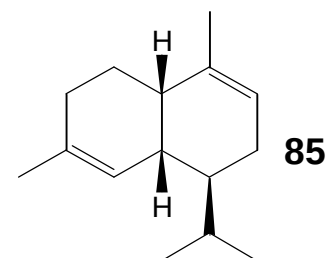


γ -Amorphen (84)EI-MS m/z (rel. Int.):

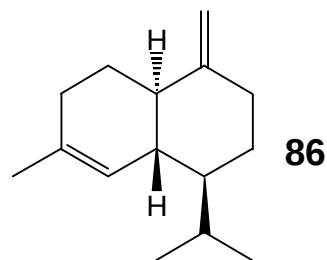
204 $[M]^+$ (33), 189 $[M-Me]^+$ (20), 175 (9), 161 $[M-C_3H_7]^+$ (100), 133 (33), 119 (62), 105 (83), 91 (68), 79 (52), 65 (30), 67 (32), 55 (48), 41 (86)

 **α -Muurolen (85)**EI-MS m/z (rel. Int.):

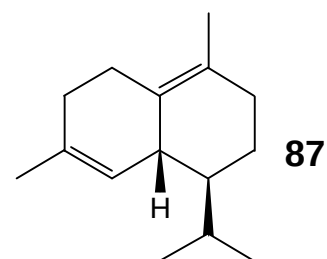
204 $[M]^+$ (28), 189 $[M-Me]^+$ (8), 161 $[M-C_3H_7]^+$ (49), 147 (8), 133 (17), 119 (24), 105 (100), 93 (41), 81 (28), 79 (21), 77 (20), 55 (19), 41 (37)

 **γ -Cadinen (86)**EI-MS m/z (rel. Int.):

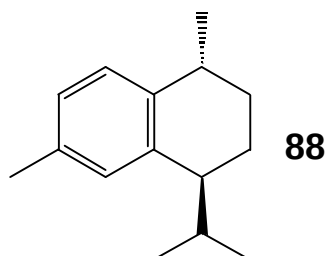
204 $[M]^+$ (14), 189 $[M-Me]^+$ (4), 176 (2), 162 (16), 161 (100), 148 (5), 135 (10), 134 (12), 133 (20), 121 (10), 120 (12), 119 (37), 105 (52), 93 (38), 91 (40), 81 (28), 79 (33), 77 (19), 69 (15), 55 (20), 41 (39)

 **δ -Cadinen (87)**EI-MS m/z (rel. Int.):

204 $[M]^+$ (41), 189 $[M-Me]^+$ (16), 161 $[M-C_3H_7]^+$ (100), 134 (58), 119 (52), 109 (33), 105 (50), 95 (55), 93 (46), 91 (48), 81 (31), 79 (28), 77 (31), 69 (41), 55 (41), 41 (77)

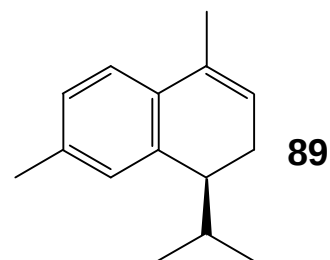
***trans*-Calamenen (88)**EI-MS m/z (rel. Int.):

202 $[M]^+$ (9), 160 (12), 159 $[M-C_3H_7]^+$ (100), 144 (6), 131 (8), 129 (8), 128 (8), 115 (3), 105 (7), 91 (4)

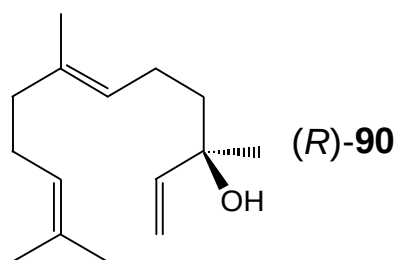


α -Calacoren (89)EI-MS m/z (rel. Int.):

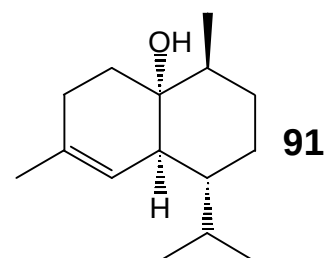
200 $[M]^+$ (20), 183 (9), 157 $[M-C_3H_7]^+$ (100), 142 (45), 141 (22),
115 (10), 105 (2), 91 (3)

***trans*-Nerolidol (90)**EI-MS m/z (rel. Int.):

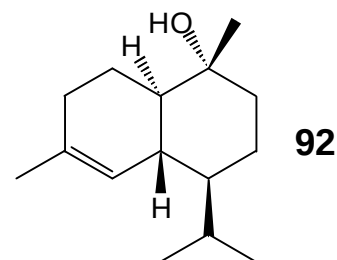
204 $[M-H_2O]^+$ (1), 189 $[M-H_2O-Me]^+$ (2), 161 (8), 136 (16),
123 (10), 107 (26), 93 (55), 81 (24), 71 (40), 69 (100), 55 (28),
43 (37), 41 (78)

**1-*epi*-Cubenol (91)**EI-MS m/z (rel. Int.):

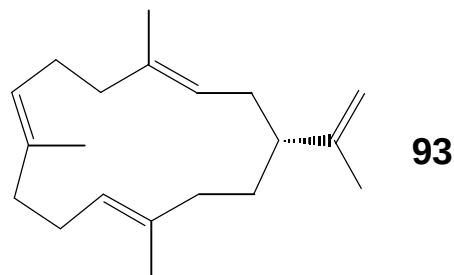
204 $[M-H_2O]^+$ (23), 189 $[M-H_2O-Me]^+$ (7), 179 (21), 161 $[M-H_2O-C_3H_7]^+$ (68), 119 (100), 105 (55), 95 (25), 81 (37), 69 (35), 55 (38),
41 (63)

 **α -Cadinol (92)**EI-MS m/z (rel. Int.):

222 $[M]^+$ (2), 207 $[M-Me]^+$ (5), 204 $[M-H_2O]^+$ (30), 189 $[M-H_2O-Me]^+$ (7), 164 (23), 161 $[M-H_2O-C_3H_7]^+$ (41), 137 (19), 121 (70),
109 (38), 108 (20), 105 (40), 95 (100), 81 (48), 79 (38), 69 (33),
55 (42), 43 (77), 41 (58)

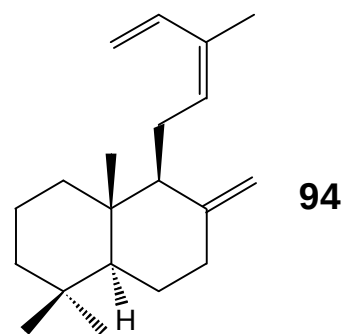
**Cembren A (93)**EI-MS m/z (rel. Int.):

272 $[M]^+$ (6), 257 $[M-Me]^+$ (14), 229 (3), 215 (3), 201 (4), 189 (10), 175 (7), 161 (16), 147 (20), 133 (29), 121 (44), 107 (55), 93 (80), 81 (67), 68 (100), 67 (63), 55 (38), 53 (34), 41 (55)

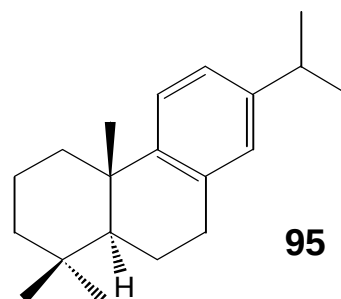


(Z)-Biformen (94)EI-MS m/z (rel. Int.):

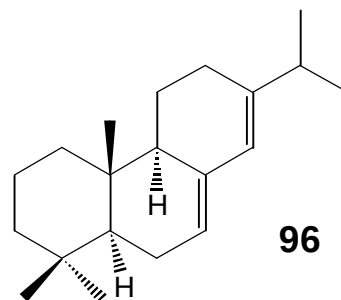
272 $[M]^+$ (17), 257 $[M-Me]^+$ (23), 243 (3), 229 (3), 216 (11), 201 (15), 191 (7), 177 (8), 175 (8), 161 (10), 147 (20), 135 (55), 121 (40), 119 (43), 109 (41), 107 (53), 105 (45), 95 (78), 93 (70), 91 (53), 81 (100), 79 (81), 69 (65), 55 (63), 41 (89)

**Abietatrien (95)**EI-MS m/z (rel. Int.):

270 $[M]^+$ (24), 255 $[M-Me]^+$ (100), 239 (1), 227 (5), 213 (10), 199 (14), 185 (43), 173 (80), 159 (81), 143 (23), 129 (30), 117 (23), 69 (59), 55 (20), 43 (36), 41 (39)

**7,13-Abietadien (96)**EI-MS m/z (rel. Int.):

272 $[M]^+$ (40), 257 $[M-Me]^+$ (23), 229 (60), 207 (10), 201 (9), 187 (13), 173 (14), 159 (15), 148 (37), 136 (58), 105 (78), 91 (65), 81 (62), 69 (50), 55 (68), 44 (76), 43 (80), 41 (100)



7.3 Isolierung von Inhaltsstoffen aus *Daedalea quercina*

7.3.1 *n*-Hexanextrakt

Der rohe *n*-Hexanextrakt wurde zunächst an 400 g Kieselgel säulenchromatographisch vorgetrennt (LM: $CHCl_3$ [2000 ml], $CHCl_3$:MeOH 39:1 [800 ml], 19:1 [800 ml], 9:1 [500 ml]) Hierbei wurden zwölf Fraktionen erhalten.

7.3.1.1 Fraktion 4

Diese Fraktion wurde an 40g Sephadex LH-20 (LM: $CHCl_3$:MeOH, 1:1) gelpermeationschromatographisch gereinigt. Dabei wurde ein 15:1-Gemisch von (*E*)- und (*Z*)-*p*-Methoxyzimtsäuremethylester (**97**, **98**) erhalten. Das (*E*)-Isomer wurde zur eindeutigen Strukturaufklärung zusätzlich synthetisiert.

(E)-p-Methoxyzimtsäuremethylester (97) $^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3):

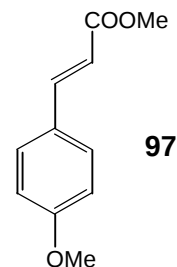
δ 3.80 (3H, s, OMe), 3.85 (3H, s, COOMe), 6.32 (1H, d, $J = 16.2$ Hz, H-8), 6.92 (2H, dt, $J = 9.1, 1.6$ Hz, H-3, H-5), 7.49 (2H, dt, $J = 9.1, 1.6$ Hz, H-2, H-6), 7.66 (1H, d, $J = 16.2$ Hz, H-7).

 $^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, CDCl_3):

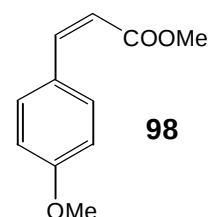
δ 51.61 (q, COOMe), 55.41 (q, OMe), 114.36 (d, C-3, C-5), 115.31 (d, C-8), 127.16 (s, C-1), 129.75 (d, C-2, C-6), 144.56 (d, C-7), 153.74 (s, C-4), 161.43 (s, C-9).

EI-MS m/z (rel. Int.):

192 $[\text{M}]^+$ (72), 161 $[\text{M-OMe}]^+$ (100), 133 $[\text{M-COOMe}]^+$ (38), 118 (13), 89 (18).

**97****(Z)-p-Methoxyzimtsäuremethylester (98)** $^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3):

δ 3.80 (3H, s, OMe), 3.85 (3H, s, COOMe), 5.85 (1H, d, $J = 12.7$ Hz, H-8), 6.86 (1H, d, $J = 12.7$ Hz, H-7), 6.90 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3, H-5), 7.70 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2, H-6).

**98**EI-MS m/z (rel. Int.):

192 $[\text{M}]^+$ (69), 161 $[\text{M-OMe}]^+$ (100), 133 $[\text{M-COOMe}]^+$ (44), 118 (21), 89 (32).

7.3.1.2 Herstellung von Diazomethanlösungen

Alle in dieser Arbeit verwendeten Diazomethanlösungen wurden durch Unterschichten von Diethylether mit 1M wässriger KOH-Lösung und vorsichtigem Zugeben von kommerziell erhältlichem *N*-Methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidin dargestellt. Die organische Phase mit dem gelösten Diazomethan wurde daraufhin abdekantiert und entweder sofort eingesetzt oder zur späteren Verwendung bei -18°C gelagert.

7.3.1.3 Synthese von (E)-p-Methoxyzimtsäuremethylester (97)

Kommerziell erhältliche (*E*)-*p*-Methoxyzimtsäure wurde aus Chloroform umkristallisiert. 5 mg der erhaltenen farblosen Nadeln wurden in wenig Diethylether gelöst und solange mit etherischer Diazomethanlösung umgesetzt, bis eine schwache Gelbfärbung bestehen blieb. Zuletzt wurde das Lösungsmittel im schwachen Stickstoffstrom entfernt und der erhaltene (*E*)-*p*-Methoxyzimtsäuremethylester im Vakuum getrocknet. Die spektroskopischen und spektrometrischen Daten stimmten mit denen des isolierten Naturstoffes überein.

7.3.2 Dichlormethanextrakt

Der rohe Dichlormethanextrakt wurde zunächst an 500 g Kieselgel säulenchromatographisch vorgetrennt (LM: PE:EE 6:1 [1500 ml], 4:1 [1000 ml], 2:1 [1000 ml], 1:1 [2000 ml]) Hierbei wurden neun Fraktionen erhalten.

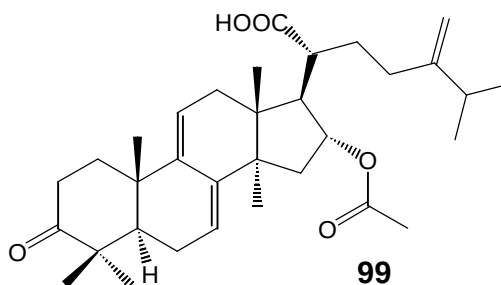
7.3.2.1 Fraktion 5

Fraktion 5 wurde an 140 g Kieselgel weiter aufgetrennt (LM: PE:EE 2:1 [1500 ml]). Hierbei wurden sieben Unterfraktionen erhalten. Fraktion 5.3 enthielt ein Gemisch aus 16 α -Acetoxy-24-methylen-3-oxolanost-7,9(11)-dien-21-carbonsäure (16-O-Acetylpolyporensäure C) (**99**) und 16 α -Acetoxy-24-methylen-3-oxolanost-8-en-21-carbonsäure (**100**), Fraktion 5.5 55 mg 5 α ,8 α -Epidioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol (Ergosterolperoxid) (**31**) und Fraktion 5.7 ein Gemisch aus Polyporensäure C (**30**) und 16 α -Hydroxy-24-methylen-3-oxolanost-8-en-21-carbonsäure (**101**).

16 α -Acetoxy-24-methylen-3-oxolanosta-7,9(11)-dien-21-carbonsäure (16-O-Acetylpolyporensäure C) (**99**)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, CDCl_3):

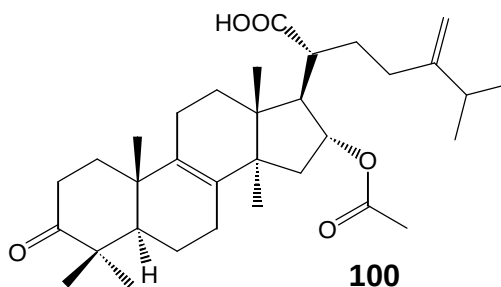
Tabelle 7-7



16 α -Acetoxy-24-methylen-3-oxolanost-8-en-21-carbonsäure (**100**)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, CDCl_3):

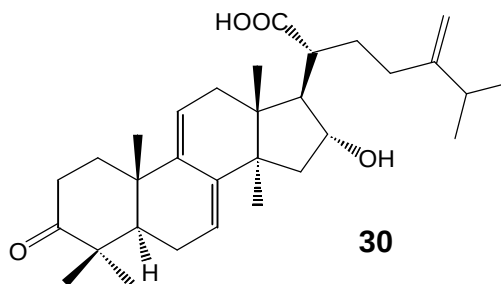
Tabelle 7-7



**16 α -Hydroxy-24-methylen-3-oxolanosta-7,9(11)-dien-21-carbonsäure
(Polyporensäure C) (30)**

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, Pyridin- d_5):

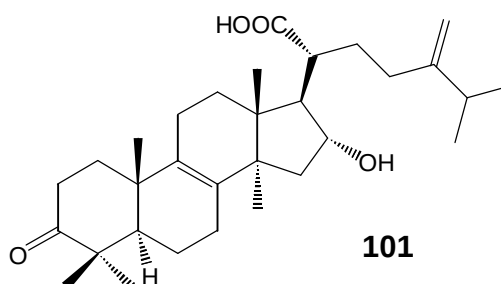
Tabelle 7-7



16 α -Hydroxy-24-methylen-3-oxolanost-8-en-21-carbonsäure (101)

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, Pyridin- d_5):

δ 0.98 (3H, *d*, $J = 3.1$ Hz), 0.99 (3H, *d*, $J = 3.1$ Hz), 1.00 (3H, *s*, H-29), 1.05 (3H, *s*, H-18), 1.13 (3H, *s*, H-19), 1.14 (3H, *s*, H-28), 1.46 (3H, *s*, H-30), 4.53 (1H, *dd*, $J = 7.6, 6.6$ Hz, H-16), 4.85 (1H, *s*, H-31_a), 4.98 (1H, *s*, H-31_b).



$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, Pyridin- d_5):

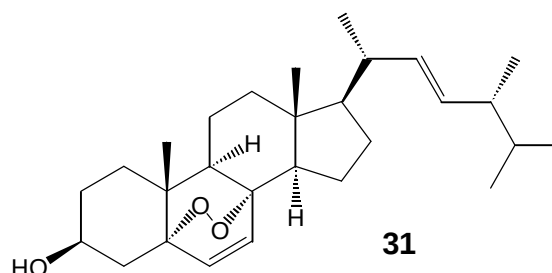
Tabelle 7-7

(-)-5 α ,8 α -Epidioxysterosta-6,22-dien-3 β -ol (Ergosterolperoxid) (31)

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} -20.0$ (CHCl_3 , $c 0.2$).

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3):

δ 0.82 (3H, *d*, $J = 12.6$ Hz, H-26), 0.82 (3H, *s*, H-18), 0.83 (3H, *d*, $J = 17.1$ Hz, H-27), 0.88 (3H, *s*, H-19), 0.91 (3H, *d*, $J = 6.6$ Hz, H-21), 1.00 (3H, *d*, $J = 6.6$ Hz, H-28), 3.97 (1H, *m*, H-3), 5.14 (1H, *dd*, $J = 15.3, 8.2$ Hz, H-23), 5.22 (1H, *dd*, $J = 15.2, 7.6$ Hz, H-22), 6.24 (1H, *d*, $J = 8.7$ Hz, H-7), 6.51 (1H, *d*, $J = 8.7$ Hz, H-6).



$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, CDCl_3):

Tabelle 7-9

$\text{EI-MS } m/z$ (rel. Int.):

396 $[\text{M-O}_2]^+$ (30), 363 (15), 81 (41), 69 (100).

7.3.2.2 Fraktion 8

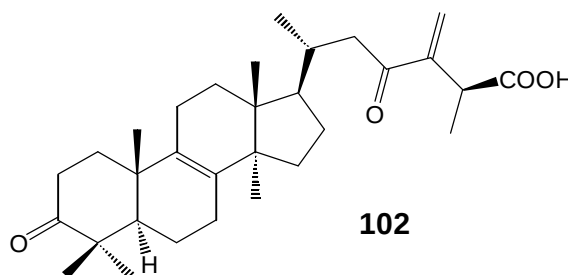
Fraktion 8 wurde an 140 g Kieselgel weiter aufgetrennt (LM: PE:EE 1:1 [1500 ml], EE [1000 ml]). Hierbei wurden 8 Unterfraktionen erhalten. Fraktion 8.2 wurde an 40 g Kieselgel weiter aufgetrennt (LM: CHCl_3 :MeOH 49:1 [400 ml], 1:1 [100 ml]). Fraktion 8.2.3 enthielt 14 mg 24-Methylen-3,23-dioxolanost-8-en-26-carbonsäure (Quercinsäure B) (**102**) und Fraktion 8.2.7 50 mg der leicht verunreinigten Verbindung 12 β ,23-Epoxy-3 α ,23-dihydroxy-24-methyllanost-8-en-26-carbonsäure (3 α -Oxepanoquercinsäure C) (**104**). Fraktion 8.5 enthielt 30 mg der leicht verunreinigten Verbindung 3 α -Carboxyacetoxy-24-methyl-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure (3 α -Carboxyacetoxyquercinsäure) (**3**) und Fraktion 8.8 10 mg 3 β ,12 β -Dihydroxy-24-methyl-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure (Quercinsäure C) (**103**).

(+)-24-Methylen-3,23-dioxolanost-8-en-26-carbonsäure (Quercinsäure B) (**102**)

$[\alpha]^{20} +37.5$ (CHCl_3 , c 1.0).

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3):

δ 0.77 (3H, s, H-18), 0.90 (3H, d, J = 8.1 Hz, H-21), 0.91 (3H, s, H-30), 1.07 (3H, s, H-28), 1.10 (3H, s, H-29), 1.13 (3H, s, H-19), 1.36 (3H, d, J = 7.2 Hz, H-27), 5.95 (1H, s, H-31_a), 6.20 (1H, s, H-31_b).



$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, CDCl_3):

Tabelle 7-7

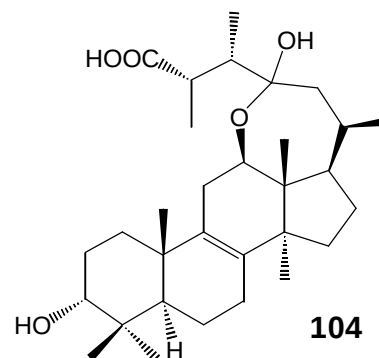
$\text{EI-MS } m/z$ (rel. Int.):

482 $[\text{M}]^+$ (8), 467 $[\text{M-Me}]^+$ (23), 449 $[\text{M-Me-H}_2\text{O}]^+$ (13), 325 (87), 151 (100), 69 (94).

12 β ,23-Epoxy-3 α ,23-dihydroxy-24-methyllanost-8-en-26-carbonsäure (3 α -Oxepanoquercinsäure C) (**104**)

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3):

δ 0.76 (3H, s, H-18), 0.84 (3H, s, H-29), 0.89 (3H, s, H-28), 0.98 (3H, d, J = 8.2 Hz, H-21), 0.99 (3H, s, H-19), 0.99 (3H, s, H-30), 1.10 (3H, d, J = 6.7 Hz, H-31), 1.24 (3H, d, J = 7.1 Hz, H-27), 2.65 (1H, m, H-17), 4.34 (1H, t, J = 8.1 Hz, H-12), 4.74 (1H, br. s, H-3).



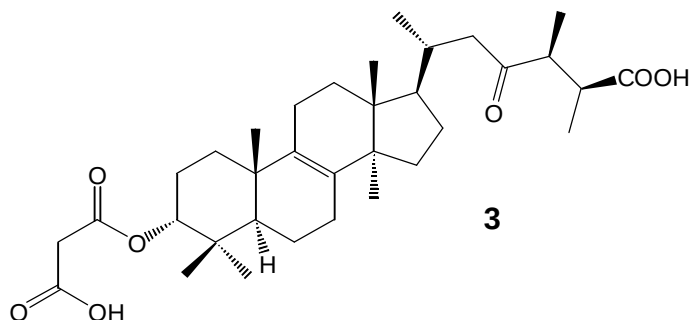
$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, CDCl_3):

Tabelle 7-7

**3 α -Carboxyacetoxy-24-methyl-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure
(3 α -Carboxyacetoxyquercinsäure) (3)**

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3):

δ 0.74 (3H, s, H-18), 0.87 (3H, d, J = 7.6 Hz, H-21), 0.89 (3H, s, H-29), 0.93 (3H, s, H-30), 0.94 (3H, s, H-28), 1.00 (3H, s, H-19), 1.09 (3H, d, J = 7.1 Hz, H-31), 1.21 (3H, d, J = 6.9 Hz, H-27), 3.45 (2H, s, H-2'), 4.76 (1H, br. s, H-3).



$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, CDCl_3):

Tabelle 7-7

$\text{EI-MS } m/z$ (rel. Int.):

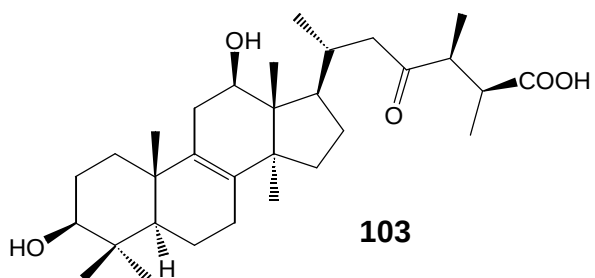
528 $[\text{M-CO}_2]^+$ (9), 513 $[\text{M-CO}_2\text{-Me}]^+$ (13), 453 (80), 435 (21), 309 (52), 153 (71), 43 (100).

**(+)-3 β ,12 β -Dihydroxy-24-methyl-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure
(Quercinsäure C) (103)**

$[\alpha]^{20}_D + 86.0$ (CH_2Cl_2 , c 0.05).

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, Pyridin-d_5):

δ 0.92 (3H, s, H-28), 0.94 (3H, s, H-30), 1.05 (3H, s, H-18), 1.08 (3H, s, H-19), 1.15 (3H, d, J = 6.9 Hz, H-31), 1.23 (3H, s, H-29), 1.34 (3H, d, J = 7.2 Hz, H-27), 1.35 (3H, d, J = 7.3 Hz, H-21), 2.57 (1H, dd, J = 17.3, 10.1 Hz, H-20), 2.86 (1H, dd, J = 17.6, 6.9 Hz, H-22_a), 3.17 (2H, m, H-24, H-25), 3.63 (1H, br. s, H-3), 4.39 (1H, t, J = 7.9 Hz, H-12).



$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, Pyridin-d_5):

Tabelle 7-7

EI-MS m/z (rel. Int.):

502 $[M]^+$ (7), 484 $[M-H_2O]^+$ (11), 469 $[M-H_2O-Me]^+$ (100), 451 $[M-2 H_2O-Me]^+$ (47), 325 (38), 309 (31), 69 (74).

Tabelle 7-7: ^{13}C-Verschiebungen der aus <i>Daedalea quercina</i> isolierten Verbindungen								
C	3 (CDCl ₃)	30 (pyr)	99 (CDCl ₃)	100 (CDCl ₃)	101 (pyr)	102 (CDCl ₃)	103 (pyr)	104 (CDCl ₃)
1	30.70 t	36.38 t	36.70 t	36.07 t	35.72 t	36.10 t	30.55 t	31.79 t
2	23.23 t	34.54 t	34.75 t	34.50 t	34.29 t	34.63 t	26.49 t	23.18 t
3	80.50 d	214.79 s	216.47 s	217.48 s	215.83 s	217.90 s	74.64 d	79.73 d
4	36.86 s	47.08 s	47.48 s	47.42 s	46.95 s	47.43 s	37.76 s	36.78 s
5	45.36 d	50.64 d	50.67 d	51.18 d	50.90 d	51.28 d	44.18 d	45.21 d
6	18.01 t	23.47 t	23.66 t	19.30 t	19.22 t	19.44 t	18.17 t	17.81 t
7	25.97 t	120.31 d	121.16 d	26.30 t	26.27 t	26.35 t	25.83 t	25.58 t
8	134.17 s	142.43 s	141.29 s	133.45 s	133.00 s	133.31 s	133.33 s	134.85 s
9	134.49 s	144.35 s	144.48 s	134.63 s	135.26 s	135.16 s	136.74 s	133.84 s
10	36.86 s	37.13 s	37.28 s	36.95 s	36.69 s	36.94 s	36.89 s	36.78 s
11	20.93 t	117.24 d	116.51 d	20.58 t	20.51 t	21.08 t	34.62 t	29.45 t
12	30.89 t	35.85 t	35.43 t	28.95 t	29.25 t	30.90 t	71.57 d	75.79 d
13	44.59 s	44.63 s	43.82 s	45.12 s	45.82 s	44.69 s	52.04 s	52.65 s
14	50.03 s	48.96 s	48.55 s	48.16 s	48.48 s	50.06 s	49.36 s	49.18 s
15	30.82 t	43.95 t	40.92 t	40.28 t	43.31 t	28.40 t	31.27 t	30.94 t
16	28.37 t	75.98 d	78.71 d	78.98 d	76.17 d	21.08 t	25.61 t	23.62 t
17	50.26 d	57.20 d	53.06 d	52.91 d	56.93 d	50.72 d	50.38 d	42.99 d
18	15.80 q	17.20 q	17.11 q	17.38 q	17.44 q	15.94 q	10.44 q	11.79 q
19	18.97 q	21.96 q	22.00 q	18.63 q	18.22 q	19.73 q	19.01 q	18.86 q
20	32.68 d	48.12 d	46.07 d	46.20 d	48.27 d	33.96 d	29.91 d	28.07 d
21	13.45 q	178.24 s	180.53 s	180.77 s	178.37 s	18.71 q	22.55 q	19.65 q
22	48.76 t	31.04 t	29.94 t	30.05 t	31.18 t	44.69 t	48.21 t	40.74 t
23	213.53 s	32.83 t	31.66 t	31.66 t	32.83 t	201.83 s	213.31 s	109.96 q
24	48.13 d	155.64 s	154.82 s	154.82 s	155.69 s	148.05 s	48.46 d	50.61 d
25	40.79 d	33.73 d	34.02 d	34.02 d	33.73 d	40.19 d	41.58 d	42.25 d
26	181.41 s	21.63 q	21.85 q	21.85 q	21.63 q	178.31 s	178.04 s	177.36 s
27	14.26 q	21.48 q	21.90 q	21.90 q	21.48 q	15.89 q	14.41 q	13.68 q
28	21.78 q	21.63 q	22.42 q	21.27 q	20.93 q	21.32 q	22.21 q	21.82 q
29	27.64 q	25.95 q	25.33 q	26.19 q	26.00 q	26.20 q	28.68 q	27.58 q
30	24.29 q	25.24 q	25.65 q	24.85 q	25.00 q	24.41 q	23.82 q	24.71 q
31	19.82 q	106.64 t	106.85 t	106.85 t	106.64 t	125.46 t	13.26 q	13.01 q
1'	166.74 s		170.79 s	170.79 s				
2'	40.78 t		21.33 q	21.33 q				
3'	171.49 s							

7.4 Isolierung von Inhaltsstoffen aus *Daedaleopsis confragosa* var. *tricolor*

7.4.1 Dichlormethanextrakt

Der rohe Dichlormethanextrakt wurde zunächst an 450 g Kieselgel säulenchromatographisch vorgetrennt (LM: CHCl_3 [1500 ml], CHCl_3 :MeOH 39:1 [800 ml], 19:1 [800 ml], 9:1 [1000 ml], 1:1 [1000 ml]) Hierbei wurden 13 Fraktionen erhalten.

7.4.1.1 Fraktion 1

Fraktion 1 enthielt ein Gemisch der drei Linolsäurestereylester 3 β -Linoleoyloxyergost-7-en, -ergosta-7,22-dien und -ergosta-7,24(28)-dien (**43-45**) (vgl. Kap 6.2.1.1).

7.4.1.2 Fraktion 2

Diese Fraktion enthielt ein Gemisch aus mindestens vier Triacylglycerolen (vgl. Kap 6.2.1.2).

7.4.1.3 Fraktion 7

Fraktion 7 bestand aus 5 α ,8 α -Epidioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol (Ergosterolperoxid) (**31**) (vgl. Kap 6.3.2.1).

7.4.1.4 Fraktion 9

Fraktion 9 wurde an 75 g Kieselgel weiter aufgetrennt (LM: CHCl_3 :MeOH 49:1 [1000 ml], 19:1 [800 ml]). Hierbei wurden sechs Unterfraktionen erhalten. Fraktion 9.6 lieferte 10 mg reine 3 α -Carboxyacetoxy-24-methyl-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure (3 α -Carboxyacetoxyquercinsäure) (**3**) (vgl. Kap 6.3.2.2).

7.4.1.5 Fraktion 10

Fraktion 10 wurde an 75 g Kieselgel weiter aufgetrennt (LM: CHCl_3 :MeOH 14:1 [1000 ml]). Hierbei wurden drei Unterfraktionen erhalten. Fraktion 10.3 enthielt 110 mg eines Gemisches aus 3 α -Carboxyacetoxy-24-methyl-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure (3 α -carboxyacetoxyquercinsäure) (**3**) und 3 α -Carboxyacetoxy-24-methylen-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure (**105**) im Verhältnis 1:2,5.

3 α -Carboxyacetoxy-24-methylen-23-oxolanost-8-en-26-carbonsäure (105) $^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3):

δ 0.74 (3H, s, H-18), 0.89 (3H, s, H-29),
 0.90 (3H, d, $J = 7.6$ Hz, H-21), 0.93 (3H,
 s, H-30), 0.94 (3H, s, H-28), 1.00 (3H, s,
 H-19), 1.36 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-27),
 3.46 (2H, s, H-2'), 4.76 (1H, *br. s*, H-3),
 5.94 (1H, s, H-31_a), 6.20 (1H, s, H-31_b).

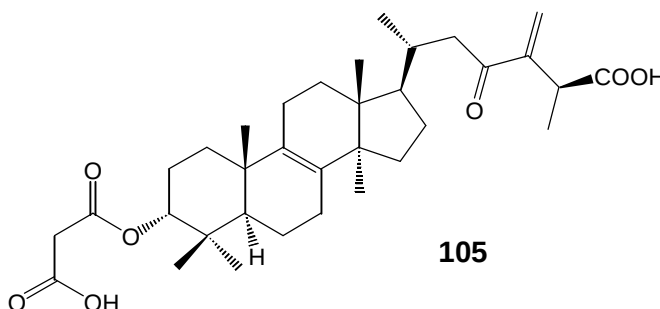
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, CDCl_3):

Tabelle 7-8

7.5 Isolierung von Inhaltsstoffen aus *Gloeophyllum odoratum***7.5.1 *n*-Hexanextrakt**

Der rohe *n*-Hexanextrakt wurde zunächst an 400 g Kieselgel säulenchromatographisch vorgetrennt (LM: PE:EE 24:1 [1000 ml], 15:1 [1000 ml], 9:1 [1000 ml], 4:1 [500 ml], 3:1 [500 ml], 2:1 [500 ml], 1:1 [500 ml], EE [300 ml]) Hierbei wurden 15 Fraktionen erhalten.

7.5.1.1 Fraktionen 3 und 4

Diese Fraktionen enthielten ein Gemisch aus mindestens vier Triacylglycerolen (vgl. Kap 6.2.1.2).

7.5.1.2 Fraktion 8

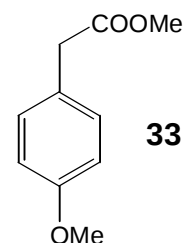
Diese Fraktion enthielt 15 mg 4-Methoxyphenylelessigsäuremethylester (**33**).

4-Methoxyphenylelessigsäuremethylester (33) $^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3):

δ 3.58 (2H, s), 3.69 (3H, s), 3.80 (3H, s), 6.87 (2H, *dt*, $J = 8.6$ Hz, 2.5 Hz),
 7.21 (2H, *dt*, $J = 8.6$, 2.5 Hz).

 $\text{EI-MS } m/z$ (*rel. Int.*):

180 $[\text{M}]^+$ (18), 121 $[\text{C}_7\text{H}_6(\text{OMe})]^+$ (100), 91 (5), 77 (10).

**7.5.1.3 Fraktion 12**

Diese Fraktion enthielt 800 mg eines Gemisches aus verschiedenen freien Fettsäuren. Diese Fraktion wurde mit etherischer Diazomethanlösung umgesetzt und das erhaltene

Substanzgemisch mittels GC-MS untersucht. Die Auswertung der Massenspektren der Fettsäuremethylester ergab, dass es sich hauptsächlich um (Z,Z)-9,12-Octadecadiensäure (Linolsäure) (**106**), (Z)-9-Octadecensäure (Ölsäure) (**107**) und Hexadecansäure (Palmitinsäure) (**108**) handelt.

(Z,Z)-9,12-Octadecadiensäuremethylester (Linolsäuremethylester)

EI-MS m/z (rel. Int.):

294 $[M]^+$ (5), 263 $[M-OMe]^+$ (3), 95 (41), 81 (69), 67 (100), 55 (69), 41 (83).

(Z)-9-Octadecensäuremethylester (Ölsäuremethylester)

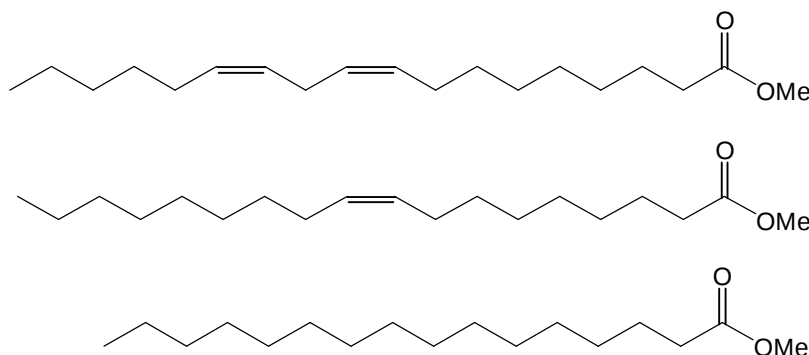
EI-MS m/z (rel. Int.):

296 $[M]^+$ (2), 265 $[M-OMe]^+$ (8), 264 $[M-OMe-H]^+$ (19), 222 (9), 87 $[C_4H_7O_2]^+$ (38), 83 (42), 74 $[C_3H_6O_2]^+$ (61), 69 (65), 55 (100), 41 (95).

Hexadecansäuremethylester (Palmitinsäuremethylester)

EI-MS m/z (rel. Int.):

270 $[M]^+$ (5), 239 $[M-OMe]^+$ (3), 227 (5), 143 (10), 87 $[C_4H_7O_2]^+$ (63), 74 $[C_3H_6O_2]^+$ (100).



7.5.1.4 Fraktion 15

Aus dieser Fraktion kristallisierten innerhalb weniger Tage 12 mg 24-Methylen-3-oxolanosta-7,9(11)-dien-21-carbonsäure (Dehydroeburiconsäure) (**109**) in weißen Kristallen aus.

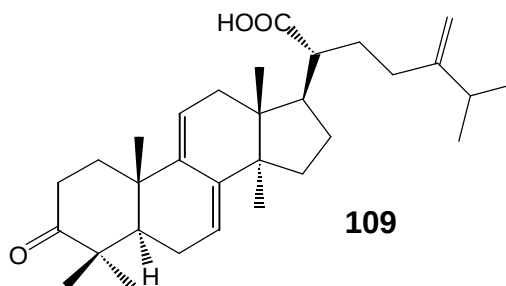
**24-Methylen-3-oxolanosta-7,9(11)-dien-21-carbonsäure
(Dehydroeburiconsäure) (109)**

Mp 220-225°

$[\alpha]^{20} +20.0$ (CHCl₃; c0.1)

¹H-NMR (400.16 MHz, Pyridin-d₅):

δ 0.99 (3H, s, H-18), 1.01 (3H, d, J = 3.6 Hz, H-26),
1.02 (3H, s, H-30), 1.03 (3H, d, J = 4.1 Hz, H-27),
1.06 (3H, s, H-29), 1.12 (3H, s, H-19), 1.13 (3H, s,
H-28), 4.89 (1H, s, H-31_a), 4.94 (1H, s, H-31_b), 5.36
(1H, d, J = 6.1 Hz, H-11), 5.53 (1H, d, J = 6.1 Hz,
H-7).



¹³C-NMR (100.61 MHz, Pyridin-d₅):

Tabelle 7-8

EI-MS m/z (rel. Int.):

466 [M]⁺ (25), 309 (49), 295 (22), 269 (29), 55 (100).

7.5.2 Dichlormethanextrakt

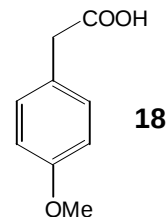
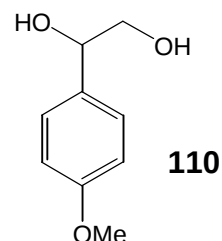
Der rohe Dichlormethanextrakt wurde zunächst an 350 g Kieselgel säulenchromatographisch vorgetrennt (LM: CHCl₃ [1500 ml], CHCl₃:MeOH 39:1 [800 ml], 19:1 [800 ml], 9:1 [1000 ml], 1:1 [800 ml]) Hierbei wurden 8 Fraktionen erhalten.

7.5.2.1 Fraktion 7

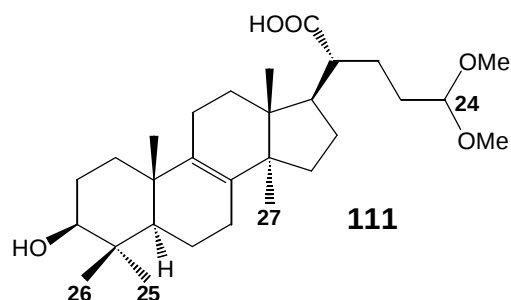
Fraktion 7 wurde an 75 g Kieselgel weiter aufgetrennt (LM: PE:EE 3:2 [1000 ml], 1:1 [500 ml], 1:2 [500 ml], EE [500 ml]). Hierbei wurden 6 Unterfraktionen erhalten. Fraktion 7.2 bestand aus 15 mg 4-Methoxyphenylelessigsäure (**18**). Fraktion 7.4 wurde an 16 g Kieselgel weiter aufgetrennt (LM: CHCl₃:MeOH 29:1 [300 ml]). Fraktion 7.4.3 enthielt ein Gemisch aus 4-Methoxyphenylelessigsäure (**18**) und 1-(4'-Methoxyphenyl)-1,2-ethandiol (**110**). Zum endgültigen Beweis wurde 1-(4'-Methoxyphenyl)-1,2-ethandiol synthetisiert (s. Kap. 6.5.2.2). Fraktion 7.4.1 wurde gelpermeationschromatographisch an Sephadex LH-20 gereinigt (LM: CHCl₃:MeOH 1:1). Dabei wurden 15 mg reines 4,4,14α-Trimethyl-24-oxo-5α-chol-8-en-21-carbonsäure-dimethylacetal (Gloeophyllsäure A-Dimethylacetal) (**111**) erhalten.

4-Methoxyphenylessigsäure (18)

Mp 80-83°.

 $^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3): δ 7.21 (2H, *dt*, $J = 8.6, 1.5$ Hz), 6.88 (2H, *dt*, $J = 8.6, 1.5$ Hz), 3.80 (3H, *s*), 3.60 (2H, *s*). $^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, CDCl_3): δ 178.05 (*s*, Ar-CH₂-C(=O)OH), 158.89 (*s*, C-4), 130.43 (*d*, C-2 + C-6), 125.37 (*s*, C-1), 114.11 (*d*, C-3 + C-5), 55.28 (*q*, Ar-OCH₃), 40.15 (*t*, Ar-CH₂-COOH). $\text{EI-MS } m/z$ (rel. Int.):166 $[\text{M}]^+$ (25), 121 $[\text{C}_7\text{H}_6(\text{OMe})]^+$ (100), 78 (16), 77 (16).**1-(4'-Methoxyphenyl)-1,2-ethandiol (110)** $^1\text{H-NMR}$ (500.13 MHz, CDCl_3): δ 7.31 (2H, *dt*, $J = 8.6, 1.5$ Hz), 6.91 (2H, *dt*, $J = 8.6, 1.5$ Hz), 4.79 (1H, *dd*, $J = 8.2, 3.8$ Hz), 3.82 (3H, *s*), 3.74 (1H, *dd*, $J = 11.4, 3.8$ Hz), 3.68 (1H, *dd*, $J = 11.4, 8.2$ Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, CDCl_3): δ 159.48 (*s*, C-4), 132.60 (*s*, C-1), 127.38 (*d*, C-2, C-6), 114.01 (*d*, C-3, C-5), 74.21 (*d*, C-1'), 68.09 (*t*, C-2'), 55.34 (*q*, OMe). $\text{EI-MS } m/z$ (rel. Int.):168 $[\text{M}]^+$ (4), 150 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (5), 137 $[\text{M}-\text{CH}_2\text{OH}]^+$ (100), 121 (27), 109 (21), 94 (22), 77 (30).**4,4,14 α -Trimethyl-24-oxo-5 α -chol-8-en-21-carbonsäure-dimethylacetal (Gloeophyllsäure A-Dimethylacetal) (111)**

Mp 205-210°.

 $^1\text{H-NMR}$ (500.13 MHz, CDCl_3): δ 1.01 (3H, *s*, H-27), 1.02 (3H, *s*, H-19), 1.06 (3H, *s*, H-18), 1.07 (3H, *s*, H-25), 1.24 (3H, *s*, H-26), 2.44 (1H, *m*, H-17), 2.61 (1H, *m*, H-20), 3.32 (3H, *s*, OMe), 3.33 (3H, *s*, OMe), 3.43 (1H, *dd*, $J = 8.5, 7.2$ Hz, H-3), 4.59 (1H, *t*, $J = 5.2$ Hz, H-24).

¹³C-NMR (125.76 MHz, CDCl₃):

Tabelle 7-8

EI-MS m/z (rel. Int.):

445 [M-OMe]⁺ (21), 444 [M-OMe-H]⁺ (61), 430 [M-OMe-Me]⁺ (34), 429 [M-OMe-Me-H]⁺ (100), 411 (61), 397 (45), 379 (66), 71 (98).

7.5.2.2 Synthese von (R,S)-1-(4'-Methoxyphenyl)-1,2-ethandiol (110)

50 mg (0,30 mmol) racemische 4-Hydroxymandelsäure wurden in CH₂Cl₂:MeOH (1:1) gelöst und so lange mit etherischer Diazomethanlösung umgesetzt bis über Nacht eine Gelbfärbung bestehen blieb. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der entstandene 4-Methoxymandelsäuremethylester (56 mg, 0,29 mmol, 97%) in 1 ml trockenem 1,2-Dimethoxyethan gelöst und bei Raumtemperatur zu einer gerührten Suspension von 14 mg (0,37 mmol) LiAlH₄ in 10 ml trockenem 1,2-Dimethoxyethan gegeben. Diese Suspension wurde 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurden zunächst 0,5 ml wässrige ges. NH₄Cl-Lösung und schließlich 1 ml 1,2 M Salzsäure hinzugegeben. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der feste Rückstand mit Dichlormethan extrahiert. Nach Abdekantieren der organischen Phase wurde der Rückstand in 1,2 M Salzsäure aufgenommen und dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Es wurden so 34 mg (0,20 mmol, 70%) 1-(4'-Methoxyphenyl)-1,2-ethandiol erhalten. Die spektroskopischen und spektrometrischen Daten stimmten mit denen des isolierten Naturstoffes überein.

Tabelle 7-8: ¹³C-Verschiebungen verschiedener Verbindungen			
C	105 (CDCl₃)	109 (pyr)	111 (pyr)
1	30.69 <i>t</i>	36.40 <i>t</i>	35.72 <i>t</i>
2	23.22 <i>t</i>	34.53 <i>t</i>	28.32 <i>t</i>
3	80.47 <i>d</i>	214.75 <i>s</i>	77.61 <i>d</i>
4	36.85 <i>s</i>	47.06 <i>s</i>	39.14 <i>s</i>
5	45.35 <i>d</i>	50.58 <i>d</i>	50.50 <i>d</i>
6	18.00 <i>t</i>	23.48 <i>t</i>	18.32 <i>t</i>
7	25.97 <i>t</i>	120.35 <i>d</i>	26.43 <i>t</i>
8	134.17 <i>s</i>	142.49 <i>s</i>	133.88 <i>s</i>
9	134.47 <i>s</i>	144.56 <i>s</i>	134.77 <i>s</i>
10	36.83 <i>s</i>	37.09 <i>s</i>	37.00 <i>s</i>
11	20.94 <i>t</i>	117.29 <i>d</i>	20.87 <i>t</i>
12	30.88 <i>t</i>	35.57 <i>t</i>	29.02 <i>t</i>
13	44.58 <i>s</i>	43.81 <i>s</i>	44.49 <i>s</i>
14	50.02 <i>s</i>	50.01 <i>s</i>	49.45 <i>s</i>
15	30.81 <i>t</i>	31.12 <i>t</i>	30.48 <i>t</i>
16	28.45 <i>t</i>	26.83 <i>t</i>	26.98 <i>t</i>
17	50.72 <i>d</i>	47.69 <i>d</i>	47.34 <i>d</i>
18	15.81 <i>q</i>	15.83 <i>q</i>	16.02 <i>q</i>
19	18.96 <i>q</i>	21.94 <i>q</i>	19.03 <i>q</i>
20	34.05 <i>d</i>	48.66 <i>d</i>	48.56 <i>d</i>
21	19.67 <i>q</i>	178.06 <i>s</i>	178.18 <i>s</i>
22	44.66 <i>t</i>	31.32 <i>t</i>	30.76 <i>t</i>
23	201.54 <i>s</i>	32.33 <i>t</i>	27.56 <i>t</i>
24	148.05 <i>s</i>	155.44 <i>s</i>	104.35 <i>d</i>
25	40.31 <i>d</i>	33.82 <i>d</i>	15.96 <i>q</i>
26	179.76 <i>s</i>	21.49 <i>q</i>	28.24 <i>q</i>
27	15.84 <i>q</i>	21.58 <i>q</i>	24.10 <i>q</i>
28	21.78 <i>q</i>	21.62 <i>q</i>	
29	27.65 <i>q</i>	25.23 <i>q</i>	
30	24.28 <i>q</i>	25.21 <i>q</i>	
31	125.34 <i>t</i>	106.69 <i>t</i>	
1'	166.74 <i>s</i>		
2'	40.78 <i>t</i>		
3'	171.49 <i>s</i>		
OMe^a			51.89 <i>q</i>
OMe^b			52.57 <i>q</i>

7.6 Isolierung von Inhaltsstoffen aus *Fomes fomentarius*

7.6.1 *n*-Hexanextrakt der Fruchtkörper

Der rohe *n*-Hexanextrakt wurde zunächst an 200 g Kieselgel säulenchromatographisch vorgetrennt (LM: PE:EE 49:1 [1000 ml], 24:1 [500 ml], 9:1 [500 ml], 6:1 [500 ml], 4:1 [500 ml], EE [400 ml]) Hierbei wurden acht Fraktionen erhalten.

7.6.1.1 Fraktion 1

Fraktion 1 enthielt ein Gemisch der drei Linolsäurestereylester 3 β -Linolyloxyergost-7-en (**43**), -ergosta-7,22-dien (**44**) und ergosta-7,24(28)-dien (**45**) (vgl. Kap 6.2.1.1).

7.6.1.2 Fraktion 4

Diese Fraktion enthielt ein Gemisch aus mindestens vier Triacylglycerolen (vgl. Kap 6.2.1.2).

7.6.1.3 Fraktion 6

Diese Fraktion enthielt als Hauptkomponente Ergosta-7,22-dien-3-on (**37**), das durch Kristallisation aus *n*-Hexan:Ethylacetat rein erhalten wurde. Eine kleine Menge einer zweiten Komponente wurde mittels RP-HPLC an einer RP-30 Phase (s. Kap. 6.1.4) aus dem Gemisch von der Hauptkomponente abgetrennt (LM: MeOH:2-Propanol 1:1, Flussgeschwindigkeit: 0,7 ml/min, Detektion: Brechungsindex), so dass ein Massenspektrum angefertigt werden konnte. Diese zweite Komponente konnte als Ergost-7-en-3-on (Fungisteron) (**112**) identifiziert werden.

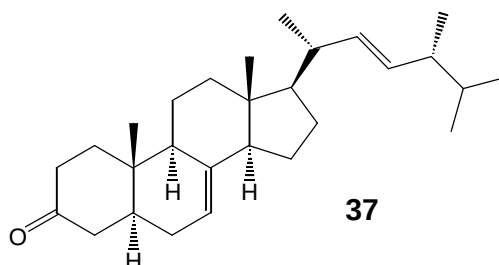
Ergosta-7,22-dien-3-on (**37**)

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3):

δ 0.58 (3H, s, H-18), 0.83 (3H, *d*, $J = 6.6$ Hz, H-26), 0.85 (3H, *d*, $J = 6.1$ Hz, H-27), 0.92 (3H, *d*, $J = 7.2$ Hz, H-28), 1.02 (3H, s, H-19), 1.03 (3H, *d*, $J = 7.1$ Hz, H-21), 2.43 (1H, *dt*, $J = 14.2, 6.1$ Hz), 5.19 (3H, *m*, H-22, H-23, H-7).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, CDCl_3):

Tabelle 7-9



EI-MS m/z (rel. Int.):

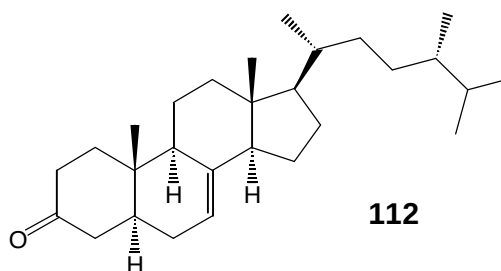
396 $[M]^+$ (28), 381 $[M-Me]^+$ (10), 353 $[M-C_3H_7]^+$ (13), 298 (22), 271 (44), 269 (100), 244 (16), 229 (20).

Ergost-7-en-3-on (Fungisteron) (112) ^{13}C -NMR (100.61 MHz, $CDCl_3$):

Tabelle 7-9

EI-MS m/z (rel. Int.):

398 $[M]^+$ (88), 383 $[M-Me]^+$ (24), 271 (84), 229 (51), 95 (76), 40 (100).

**7.6.1.4 Fraktion 7**

Diese Fraktion wurde an 60 g Kieselgel gereinigt (LM: PE:EE 2:1 [1200 ml]). Hierbei wurden 20 mg 5 α ,8 α -Epidioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol (Ergosterolperoxid) (**31**) erhalten (vgl. Kap 6.3.2.1).

7.7 Isolierung von Inhaltsstoffen aus *Ganoderma lipsiense***7.7.1 *n*-Hexanextrakt der Kruste**

Der rohe *n*-Hexanextrakt wurde zunächst an 200 g Kieselgel säulenchromatographisch vorgetrennt (LM: PE:EE 49:1 [1000 ml], 24:1 [500 ml], 9:1 [500 ml], 6:1 [500 ml], 4:1 [500 ml], EE [400 ml]) Hierbei wurden vier Fraktionen erhalten.

7.7.1.1 Fraktion 1

Nach Auftrennung an 40 g Kieselgel (LM: PE:EE 24:1 [500 ml]) wurden drei Fraktionen erhalten. Fraktion 1.1 enthielt ein Gemisch verschiedener Triacylglycerole (vgl. Kap 6.2.1.2). Fraktion 1.2 bestand aus einem Gemisch aus Ergosta-7,22-dien-3-on (**37**) und Ergost-7-en-3-on (**112**) (vgl. Kap. 6.6.1.3).

7.7.2 Dichlormethanextrakt der Kruste

Der rohe Dichlormethanextrakt wurde zunächst an 40 g Sephadex LH-20 gelpermeationschromatographisch vorgetrennt (LM: $CHCl_3$:MeOH 1:1 [1500 ml]). Dabei wurden vier Fraktionen erhalten.

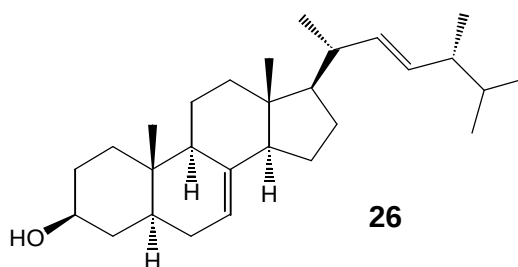
7.7.2.1 Fraktion 2

Nach Auftrennung an 40 g Kieselgel (LM: PE:EE 5:1 [500 ml], 4:1 [500 ml], 3:1 [500 ml], EE [200 ml]) wurden vier Fraktionen erhalten. Fraktion 2.3 enthielt 30 mg eines Gemisches der beiden Verbindungen Ergosta-7,22-dien-3 β -ol (**26**) und Ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol (Ergosterol) (**1**).

Ergosta-7,22-dien-3 β -ol (**26**)

¹³C-NMR (100.61 MHz, CDCl₃):

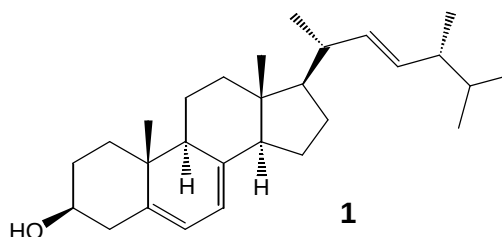
Tabelle 7-9



Ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol (Ergosterol) (**1**)

¹³C-NMR (100.61 MHz, CDCl₃):

Tabelle 7-9



7.7.3 Dichlormethanextrakt der Fruchtkörper

Der rohe Dichlormethanextrakt wurde zunächst an 140 g Kieselgel säulenchromatographisch vorgetrennt (LM: PE:EE 4:1 [1500 ml], 2:1 [500 ml], 1:1 [1000 ml], EE [500 ml]). Hierbei wurden elf Fraktionen erhalten.

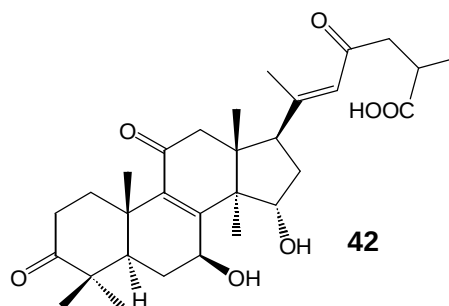
7.7.3.1 Fraktion 11

Nach Auftrennung an 120 g Kieselgel (LM: CHCl₃:MeOH 9:1 [1000 ml]) wurden elf Unterfraktionen erhalten. Fraktion 11.5 wurde daraufhin an 30 g Kieselgel gereinigt (LM: CHCl₃:MeOH 24:1 [500 ml], 9:1 [250 ml]). Dabei wurden 10 mg (*E*)-7 β -Hydroxy-3,11,15,23-tetraoxolanosta-8,20(22)-dien-26-carbonsäure (Ganoderensäure D) (**113**) erhalten. Fraktion 11.7 wurde an 35 g Kieselgel aufgereinigt (LM: CHCl₃:MeOH 39:1 [400 ml], 29:1 [300 ml]). Dabei wurden 15 mg 7 β ,20-Dihydroxy-3,11,15,23-tetraoxolanost-8-en-26-carbonsäure (Ganoderensäure N) (**114**) erhalten. Fraktion 11.8 enthielt 30 mg der reinen Substanz (*E*)-7 β ,15 α -Dihydroxy-3,11,23-trioxolanosta-8,20(22)-dien-26-carbonsäure (Ganoderensäure A) (**42**).

**(E)-7 β ,15 α -Dihydroxy-3,11,23-trioxolanosta-8,20(22)-dien-26-carbonsäure
(Ganoderensäure A) (42)**

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3):

δ 0.79 (3H, s, H-18), 1.09 (3H, s, H-29), 1.12 (3H, s, H-28), 1.23 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-27), 1.25 (3H, s, H-19), 1.33 (3H, s, H-30), 2.10 (3H, s, H-21), 4.65 (1H, dt, $J = 7.1, 2.0$ Hz, H-7), 4.89 (1H, dd, $J = 8.1, 7.7$ Hz, H-15), 6.11 (1H, s, H-22).



$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, CDCl_3):

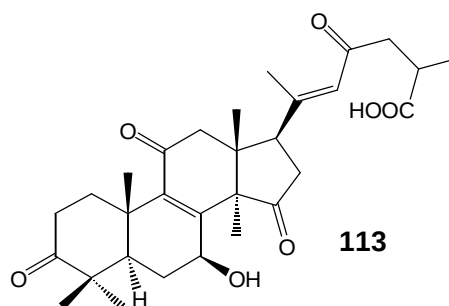
Tabelle 7-9

**(E)-7 β -Hydroxy-3,11,15,23-tetraoxolanosta-8,20(22)-dien-26-carbonsäure
(Ganoderensäure D) (113)**

$[\alpha]^{20} +94.1$ (CHCl_3 ; $c 0.8$)

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3):

δ 0.89 (3H, s, H-18), 1.11 (3H, s, H-29), 1.14 (3H, s, H-28), 1.25 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-27), 1.26 (3H, s, H-19), 1.41 (3H, s, H-30), 2.18 (3H, s, H-21), 4.89 (1H, dd, $J = 9.7, 8.2$ Hz, H-7), 6.05 (1H, s, H-22).



$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, CDCl_3):

Tabelle 7-9

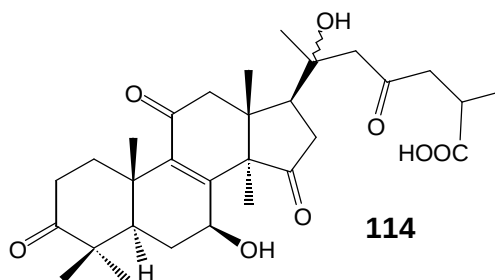
$\text{EI-MS } m/z$ (rel. Int.):

512 $[\text{M}]^+$ (9), 260 (34), 69 (56), 43 (100).

**7 β ,20-Dihydroxy-3,11,15,23-tetraoxolanost-8-en-26-carbonsäure
(Ganodersäure N) (114)**

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3):

δ 1.11 (3H, s, H-28), 1.12 (3H, s, H-29), 1.17 (3H, s, H-18), 1.24 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-27), 1.25 (3H, s, H-19), 1.35 (3H, s, H-30), 1.40 (3H, s, H-21), 4.85 (1H, dt, $J = 9.7, 8.1$ Hz, H-7).



¹³C-NMR (100.61 MHz, CDCl₃):

Tabelle 7-9

Tabelle 7-9: ¹³ C-Verschiebungen der aus <i>Fomes fomentarius</i> und <i>Ganoderma lisiense</i> isolierten Verbindungen								
C	1 (CDCl ₃)	26 (CDCl ₃)	31 (CDCl ₃)	37 (CDCl ₃)	112 (CDCl ₃)	42 (CDCl ₃)	113 (CDCl ₃)	114 (CDCl ₃)
1	38.41 <i>t</i>	37.17 <i>t</i>	34.69 <i>t</i>	38.80 <i>t</i>	38.80 <i>t</i>	35.47 <i>t</i>	35.62 <i>t</i>	35.67 <i>t</i>
2	32.03 <i>t</i>	29.67 <i>t</i>	30.08 <i>t</i>	38.14 <i>t</i>	38.14 <i>t</i>	34.23 <i>t</i>	34.27 <i>t</i>	34.29 <i>t</i>
3	70.50 <i>d</i>	71.10 <i>d</i>	66.46 <i>d</i>	211.98 <i>s</i>	211.98 <i>s</i>	217.36 <i>s</i>	216.60 <i>s</i>	216.88 <i>s</i>
4	40.83 <i>t</i>	38.02 <i>t</i>	36.90 <i>t</i>	44.27 <i>t</i>	44.27 <i>t</i>	46.63 <i>s</i>	46.79 <i>s</i>	46.79 <i>s</i>
5	139.82 <i>s</i>	40.30 <i>d</i>	82.16 <i>s</i>	42.90 <i>d</i>	42.90 <i>d</i>	48.70 <i>d</i>	48.90 <i>d</i>	48.88 <i>d</i>
6	119.63 <i>d</i>	31.51 <i>t</i>	135.42 <i>d</i>	30.08 <i>t</i>	30.08 <i>t</i>	28.91 <i>t</i>	27.67 <i>t</i>	27.59 <i>t</i>
7	116.32 <i>d</i>	117.49 <i>d</i>	130.73 <i>d</i>	117.02 <i>d</i>	116.98 <i>d</i>	68.89 <i>d</i>	66.31 <i>d</i>	66.32 <i>d</i>
8	141.41 <i>s</i>	139.61 <i>s</i>	79.43 <i>s</i>	139.53 <i>s</i>	139.60 <i>s</i>	158.94 <i>s</i>	157.43 <i>s</i>	157.65 <i>s</i>
9	46.28 <i>d</i>	49.48 <i>d</i>	51.08 <i>d</i>	48.88 <i>d</i>	48.88 <i>d</i>	140.25 <i>s</i>	141.32 <i>s</i>	141.00 <i>s</i>
10	37.06 <i>s</i>	34.25 <i>s</i>	36.96 <i>s</i>	34.43 <i>s</i>	34.43 <i>s</i>	38.04 <i>s</i>	38.36 <i>s</i>	38.23 <i>s</i>
11	21.15 <i>t</i>	21.57 <i>t</i>	23.40 <i>t</i>	21.72 <i>t</i>	21.72 <i>t</i>	199.08 <i>s</i>	197.96 <i>s</i>	197.79 <i>s</i>
12	39.11 <i>t</i>	39.49 <i>t</i>	39.74 <i>t</i>	39.35 <i>t</i>	39.45 <i>t</i>	50.39 <i>t</i>	48.93 <i>t</i>	50.45 <i>t</i>
13	42.85 <i>s</i>	43.33 <i>s</i>	44.56 <i>s</i>	43.29 <i>s</i>	43.38 <i>s</i>	48.13 <i>s</i>	45.96 <i>s</i>	45.29 <i>s</i>
14	54.59 <i>s</i>	55.14 <i>s</i>	51.68 <i>d</i>	55.03 <i>d</i>	54.96 <i>d</i>	53.36 <i>s</i>	58.64 <i>s</i>	59.71 <i>s</i>
15	23.03 <i>t</i>	22.96 <i>t</i>	20.63 <i>t</i>	22.94 <i>t</i>	22.98 <i>t</i>	72.67 <i>d</i>	216.52 <i>s</i>	217.86 <i>s</i>
16	28.33 <i>t</i>	28.13 <i>t</i>	28.64 <i>t</i>	28.11 <i>t</i>	27.92 <i>t</i>	31.77 <i>t</i>	37.84 <i>t</i>	36.20 <i>t</i>
17	55.77 <i>d</i>	55.99 <i>d</i>	56.20 <i>d</i>	55.96 <i>d</i>	55.96 <i>d</i>	52.15 <i>d</i>	49.73 <i>d</i>	49.29 <i>d</i>
18	12.08 <i>q</i>	12.12 <i>q</i>	12.87 <i>q</i>	12.17 <i>q</i>	11.92 <i>q</i>	19.00 <i>q</i>	19.05 <i>q</i>	19.24 <i>q</i>
19	16.31 <i>q</i>	13.07 <i>q</i>	18.17 <i>q</i>	12.47 <i>q</i>	12.47 <i>q</i>	19.86 <i>q</i>	18.14 <i>q</i>	18.12 <i>q</i>
20	40.46 <i>d</i>	40.52 <i>d</i>	39.74 <i>d</i>	40.49 <i>d</i>	36.65 <i>d</i>	157.10 <i>s</i>	153.90 <i>s</i>	72.95 <i>s</i>
21	21.15 <i>q</i>	21.15 <i>q</i>	20.88 <i>q</i>	21.14 <i>q</i>	19.03 <i>q</i>	21.30 <i>q</i>	21.01 <i>q</i>	26.58 <i>q</i>
22	135.60 <i>d</i>	135.71 <i>d</i>	135.20 <i>d</i>	135.59 <i>d</i>	33.66 <i>t</i>	124.21 <i>d</i>	124.62 <i>d</i>	52.56 <i>t</i>
23	131.91 <i>d</i>	131.91 <i>d</i>	132.30 <i>d</i>	132.00 <i>d</i>	30.71 <i>t</i>	198.63 <i>s</i>	196.97 <i>s</i>	210.36 <i>s</i>
24	42.85 <i>d</i>	42.85 <i>d</i>	42.77 <i>d</i>	42.84 <i>d</i>	39.08 <i>d</i>	47.50 <i>t</i>	47.53 <i>t</i>	47.45 <i>t</i>
25	33.12 <i>d</i>	33.12 <i>d</i>	33.06 <i>d</i>	33.11 <i>d</i>	31.49 <i>d</i>	35.47 <i>d</i>	34.64 <i>d</i>	34.33 <i>d</i>
26	19.67 <i>q</i>	19.67 <i>q</i>	19.64 <i>q</i>	19.66 <i>q</i>	20.54 <i>q</i>	180.18 <i>s</i>	179.87 <i>s</i>	180.11 <i>s</i>
27	19.98 <i>q</i>	19.98 <i>q</i>	19.95 <i>q</i>	19.97 <i>q</i>	17.61 <i>q</i>	17.06 <i>q</i>	17.04 <i>q</i>	16.87 <i>q</i>
28	17.63 <i>q</i>	17.63 <i>q</i>	17.56 <i>q</i>	17.62 <i>q</i>	15.47 <i>q</i>	20.67 <i>q</i>	20.78 <i>q</i>	20.76 <i>q</i>
29						27.43 <i>q</i>	27.05 <i>q</i>	27.00 <i>q</i>
30						19.38 <i>q</i>	24.70 <i>q</i>	25.08 <i>q</i>

8 Gefahrstoffanhang

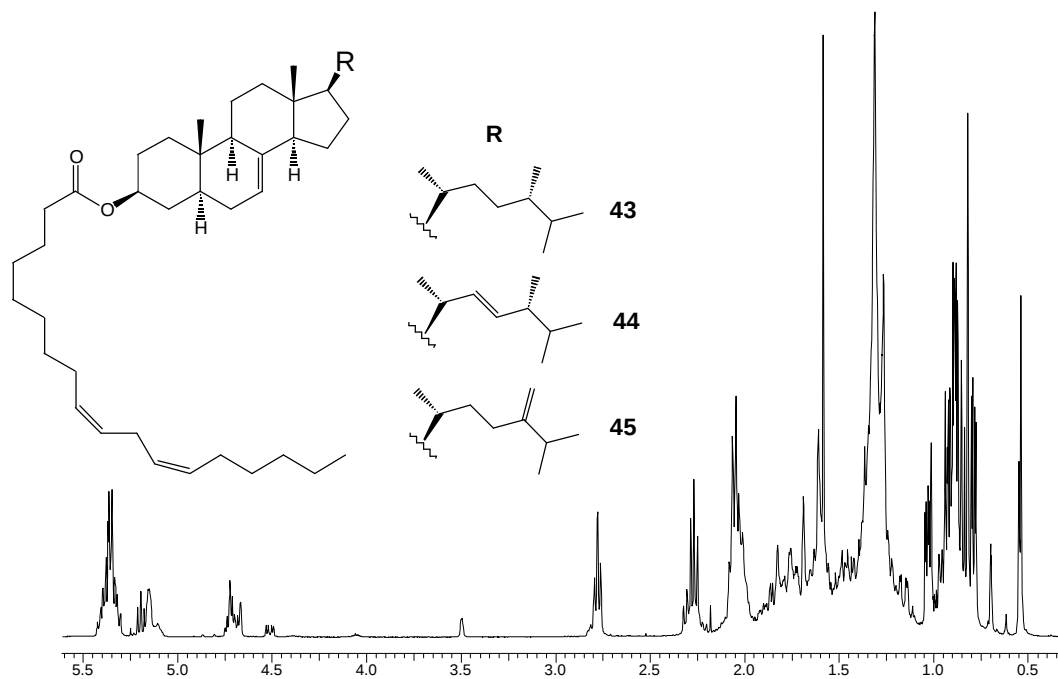
Tabelle 8-1: Gefahrenkennzeichnung verwendeter gefährlicher Substanzen

Substanz	Gefahrensymbol	R-Sätze	S-Sätze
Methanol	F, T	11-23/25	7-16-24-45
Chloroform	Xn	22-38-40-48/20/22	36/37
Ethylacetat	F, Xi	11-36-66-67	16-26-33
Petrolether 60-70°	F	11	9-16-29-33
<i>n</i> -Hexan	Xn, F, N	11-38-48/20-51/53-62-65-67	9-16-29-33-36/37-61-62
Acetonitril	F, T	11-23/24/25	16-27-45
2-Propanol	F	11	7-16
Essigsäure (100%)	C	10-35	23.2-26-45
Dichlormethan	Xn	20-40	24
Wasserstoff	F	12	9-16-33
Trifluoressigsäure (100%)	C	20-35	9-26-27-28.1-45
d-Chloroform	Xn	22-38-40-48/20/22	36/37
d ₅ -Pyridin	F, Xn	11-20/21/22	26-28.1
d ₄ -Methanol	F, T	11-23/25	7-16-24-45
Lithiumaluminiumhydrid	F	15	7/8-24/25-43.6
1,2-Dimethoxyethan	F, T	60-61-11-19-E20	53-16-24/25-37-45
Salzsäure (37%)	C	34-37	26-36/37/39-45
Ammoniumchlorid	Xn	22-36	22
Diazomethan	T, E	24/25-34-45	-
Diethylether	F+, Xn	12-19-22-66-67	9-16-29-33
<i>N</i> -Methyl- <i>N'</i> -nitro- <i>N</i> -nitrosoguanidin	Xi, N	5-36/38	18
Kaliumhydroxid	C	35	26-37/39-45

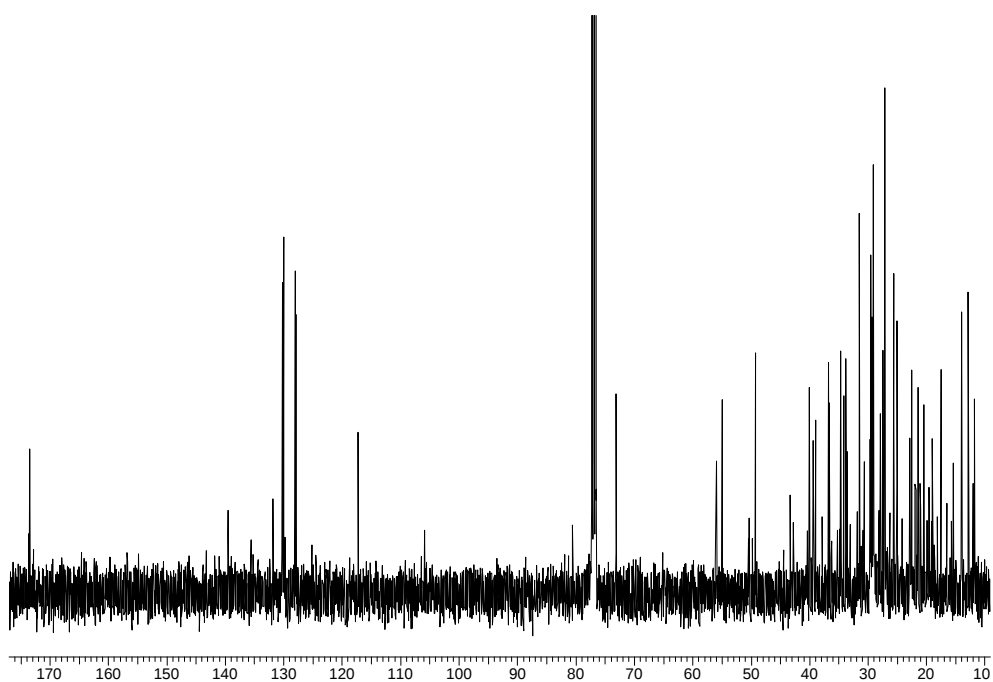
9 Spektrenanhang

3 β -Linolyloxyergost-7-en (43), 3 β -Linolyloxyergosta-7,22-dien (44) und
3 β -Linolyloxyergosta-7,24(28)-dien (45)

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3):

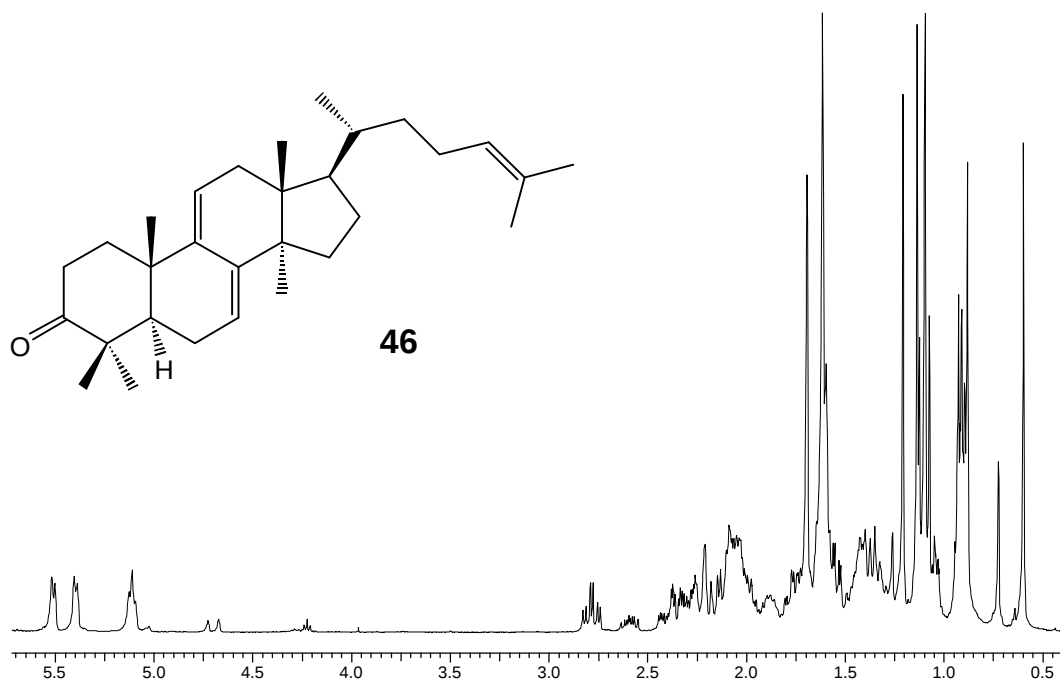


$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, CDCl_3):

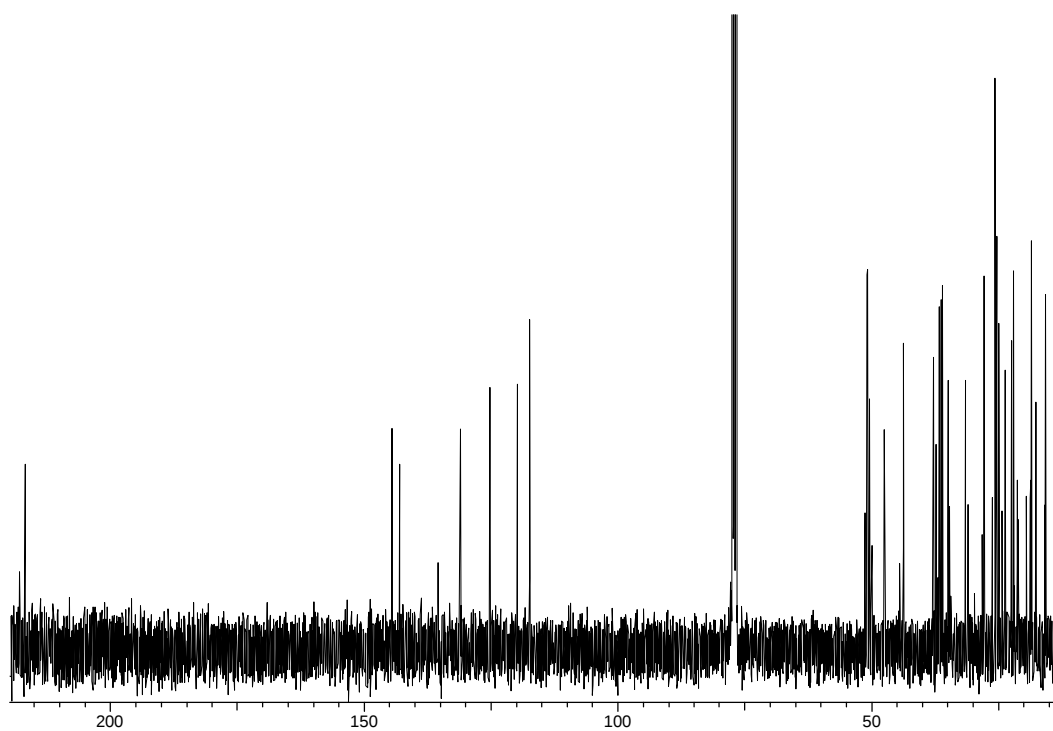


Agnosteron (46)

^1H -NMR (400.13 MHz, CDCl_3):

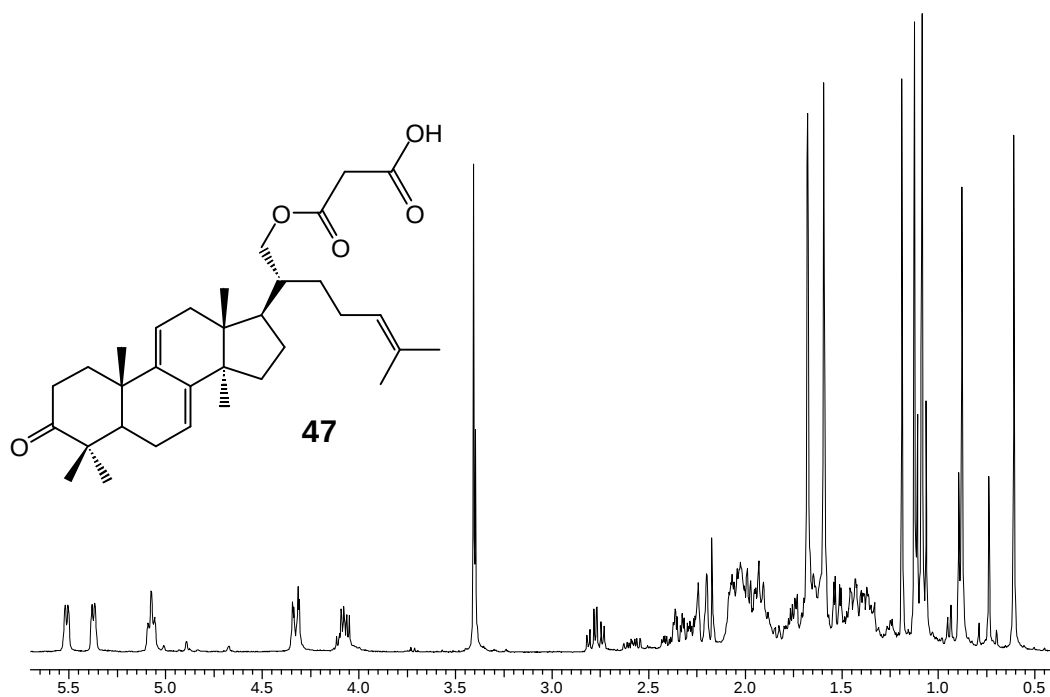


^{13}C -NMR (100.61 MHz, CDCl_3):

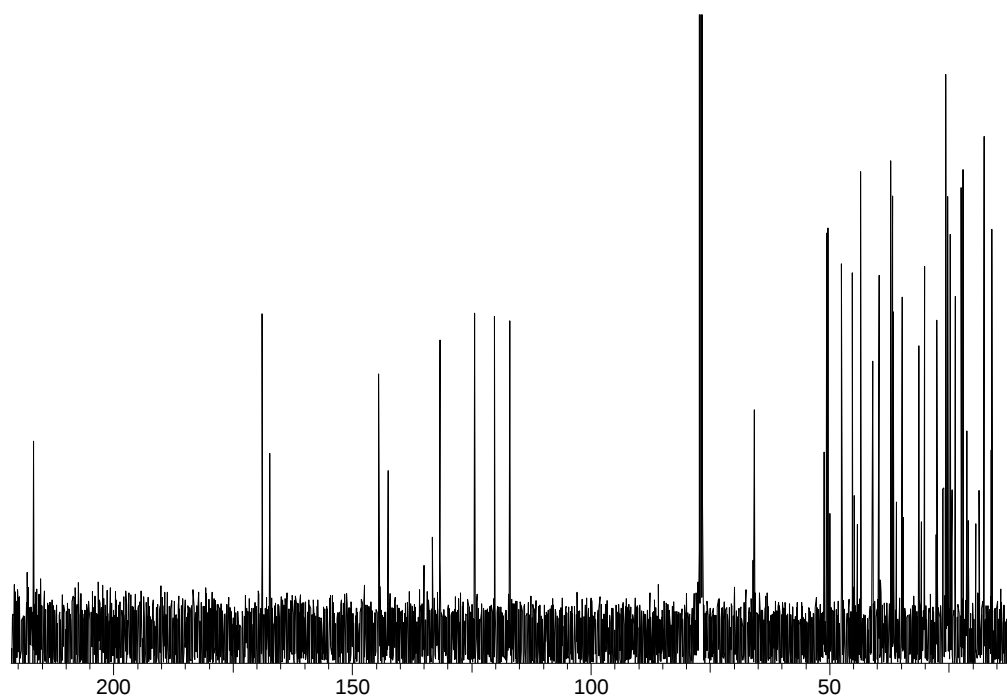


Fomitopssäure B (47)

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3):

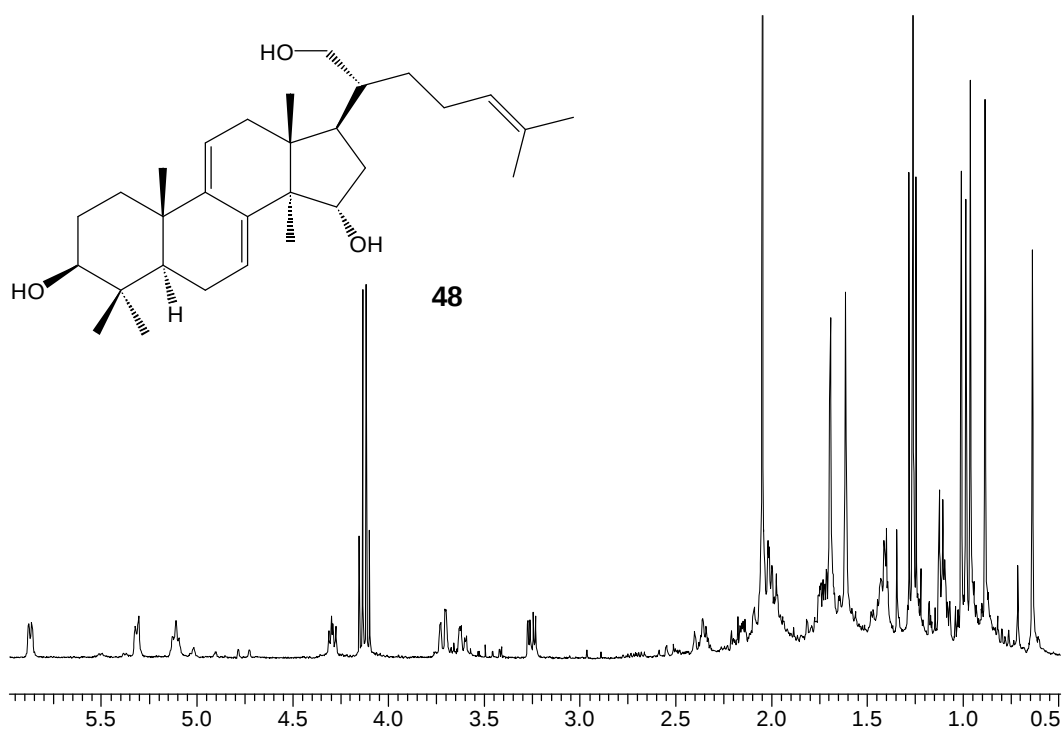


$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, CDCl_3):

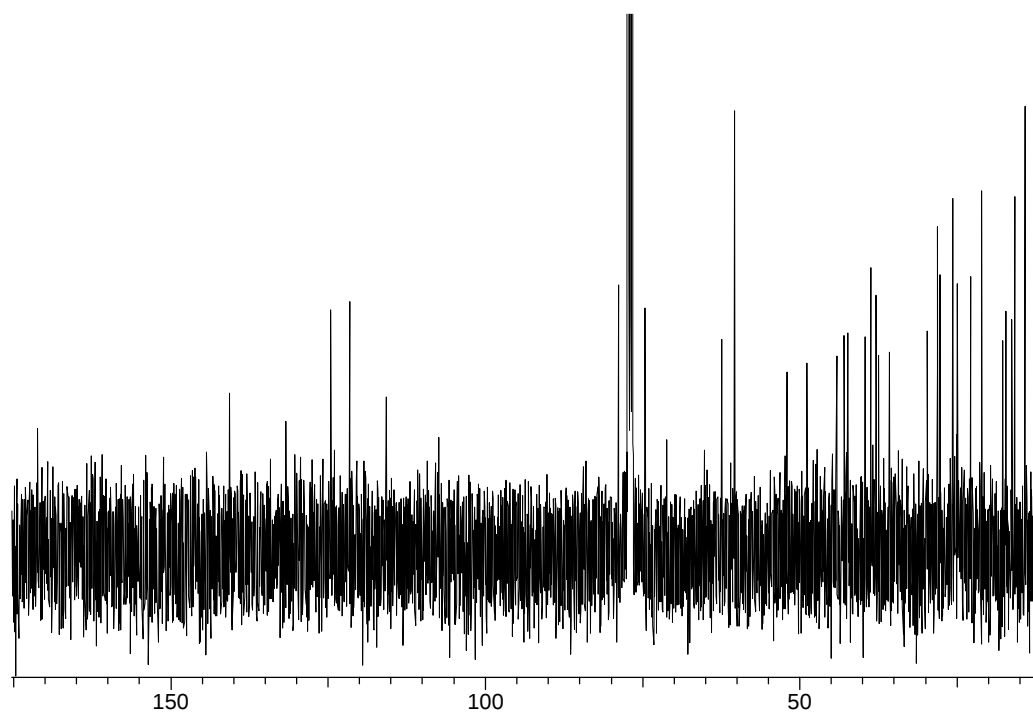


Pinicolol B (48)

^1H -NMR (400.13 MHz, CDCl_3):

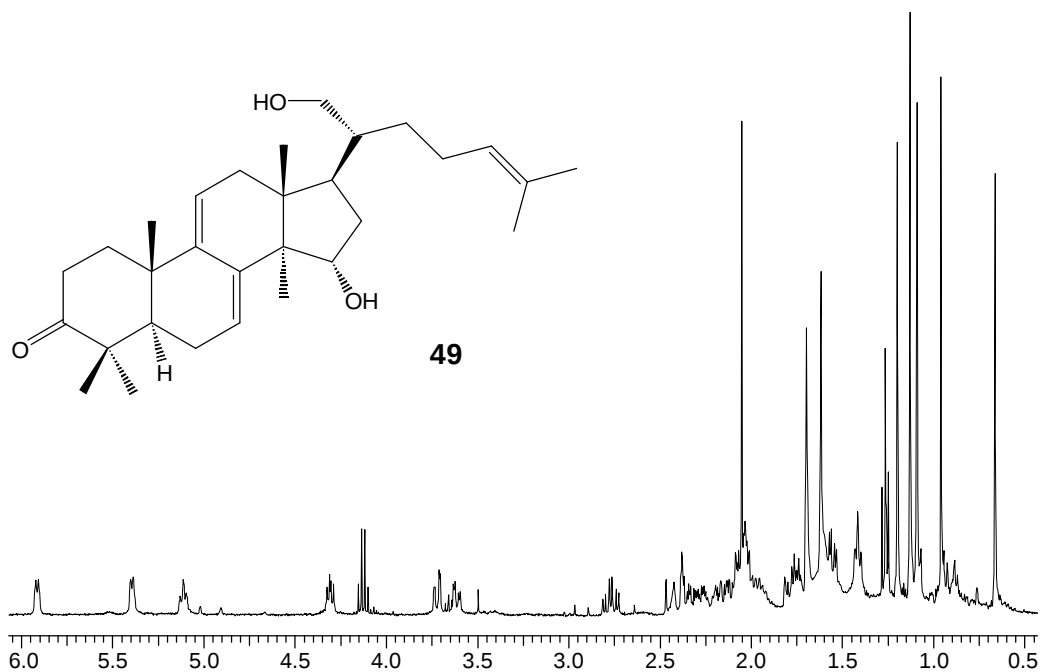


^{13}C -NMR (100.61 MHz, CDCl_3):

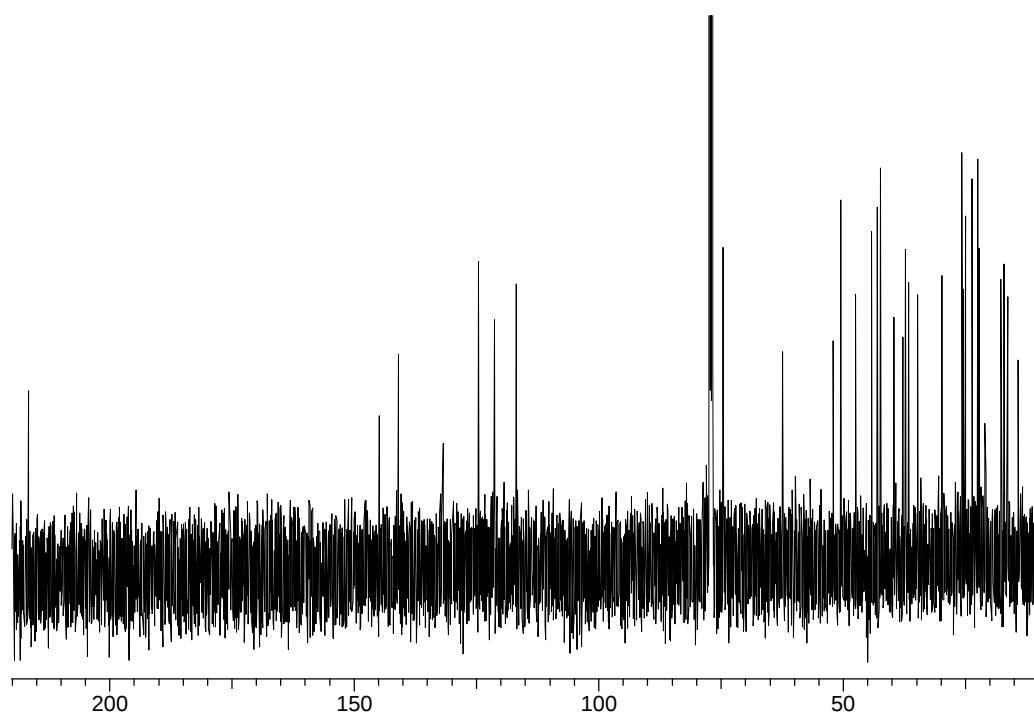


Pinicolol C (49)

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3):

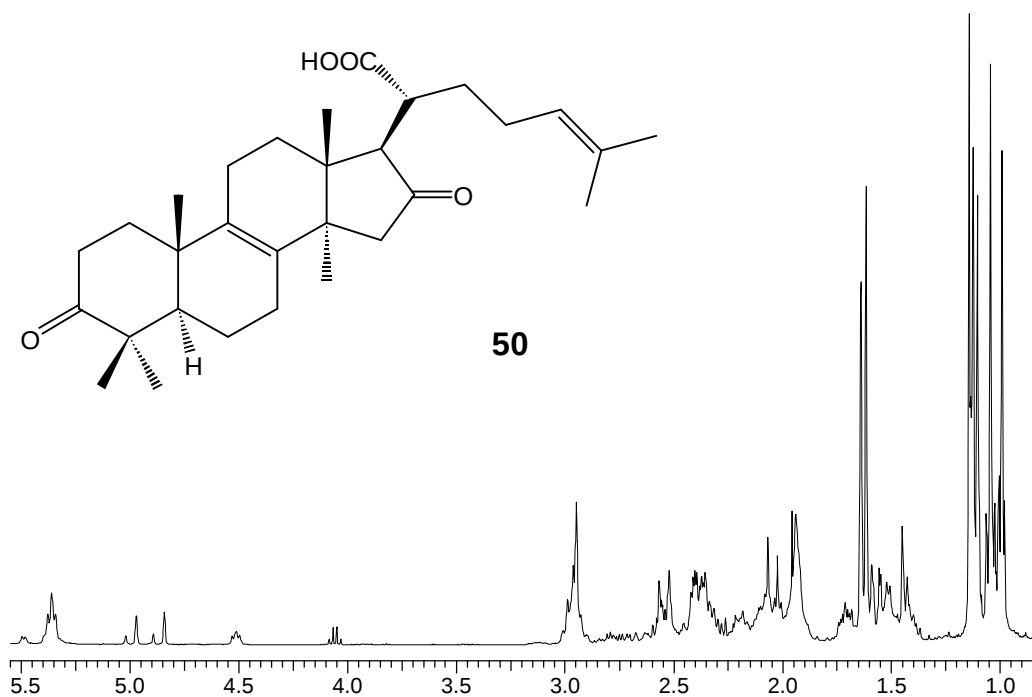


$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, CDCl_3):

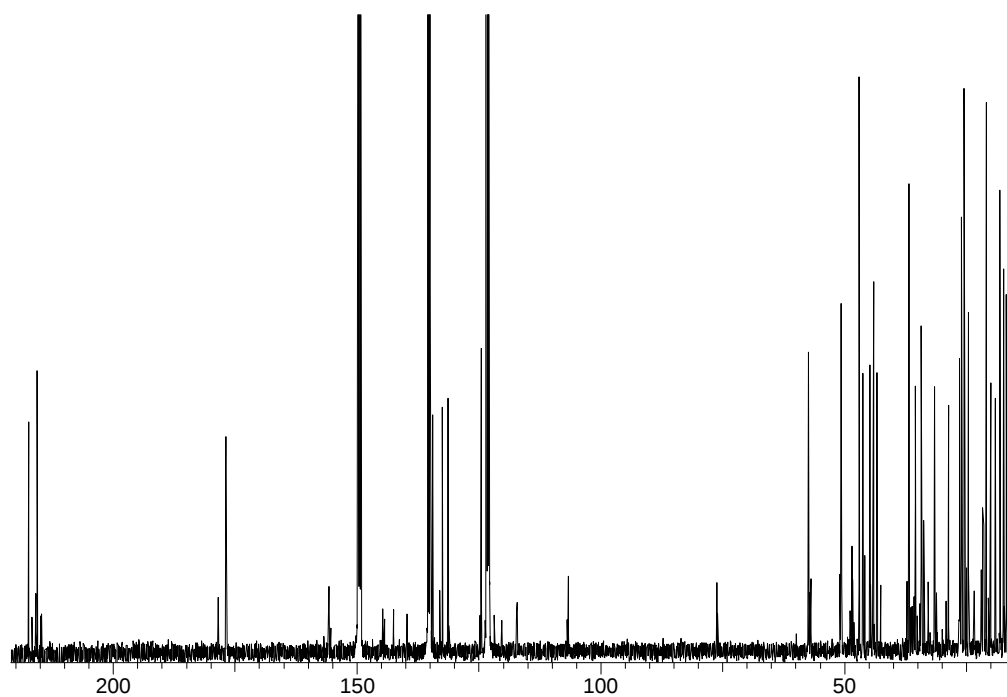


Pinicolsäure B (50)

^1H -NMR (400.13 MHz, d_5 -Pyridin):

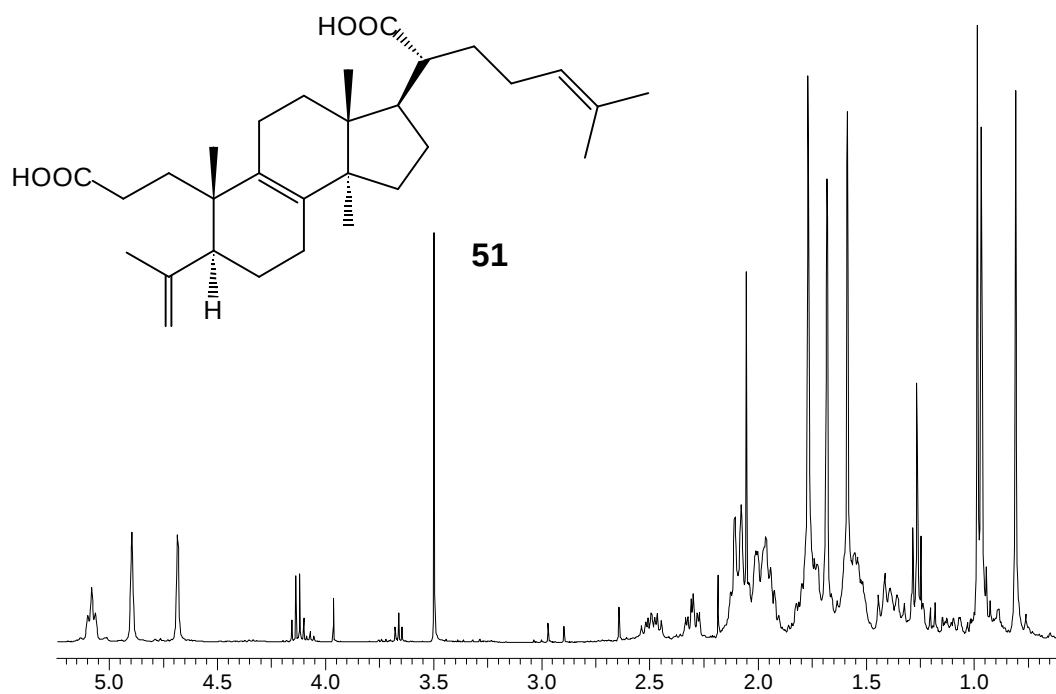


^{13}C -NMR (100.61 MHz, d_5 -Pyridin):

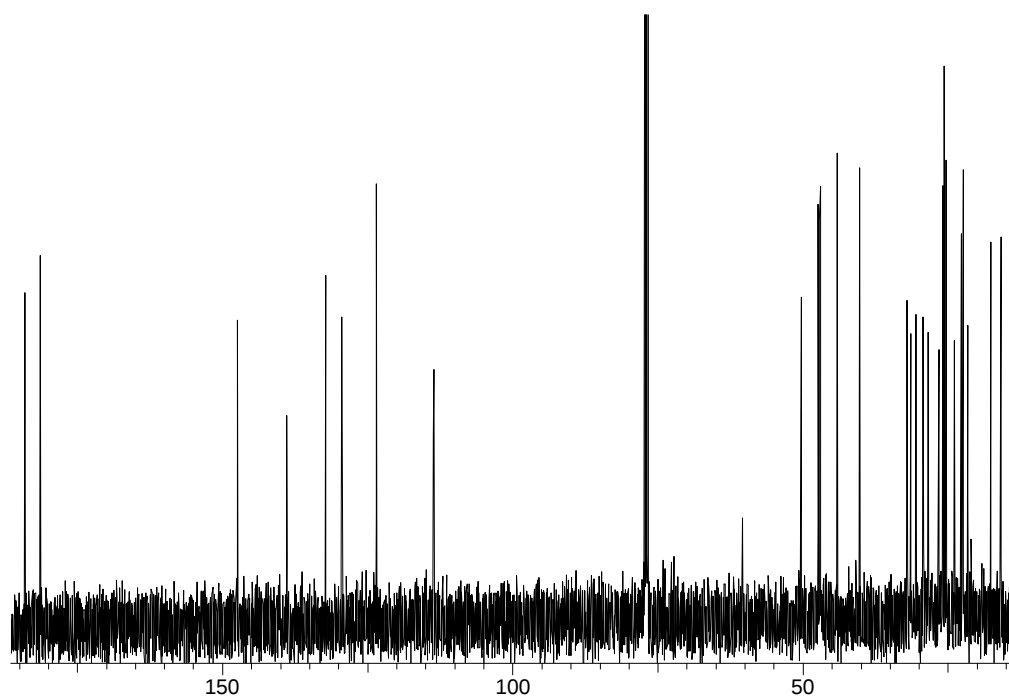


Pinicolsäure C (51)

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3):

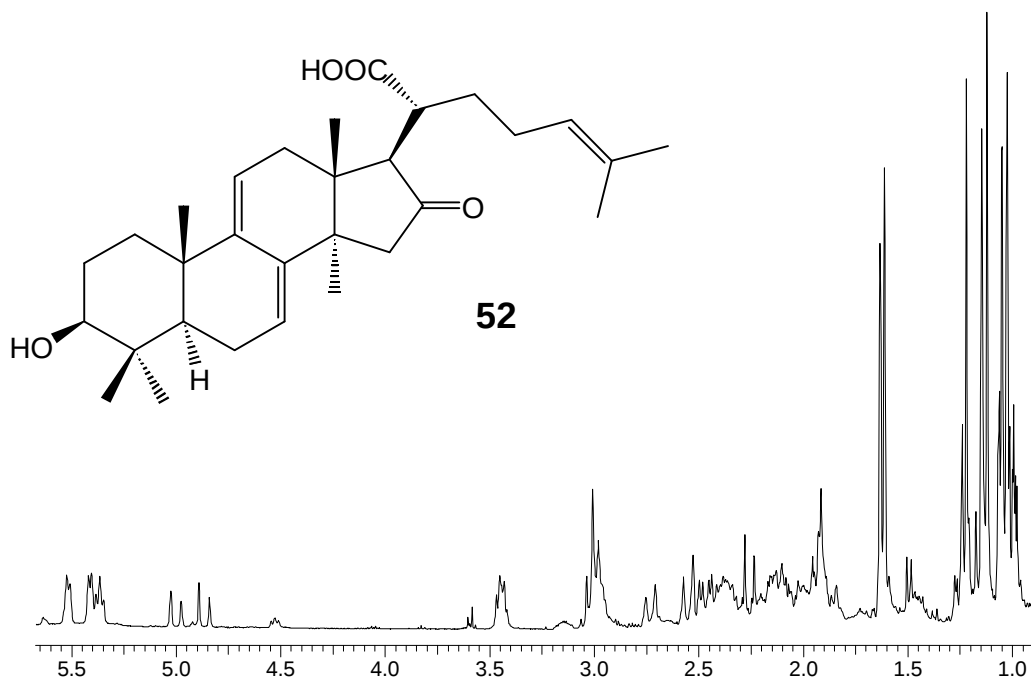


$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, CDCl_3):

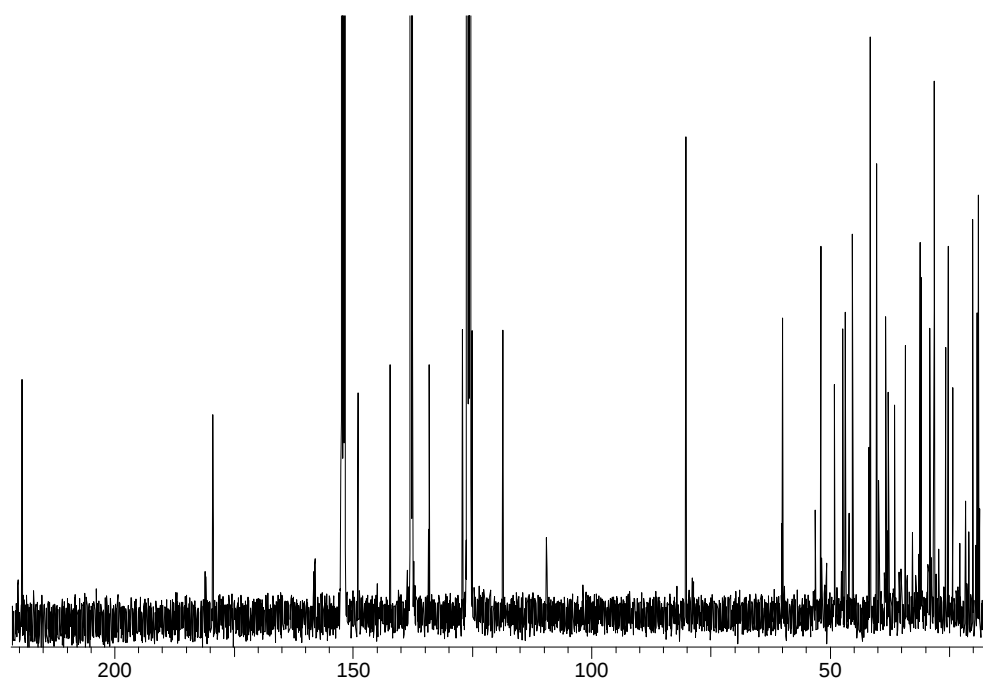


Pinicolsäure D (52)

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, d_5 -Pyridin):

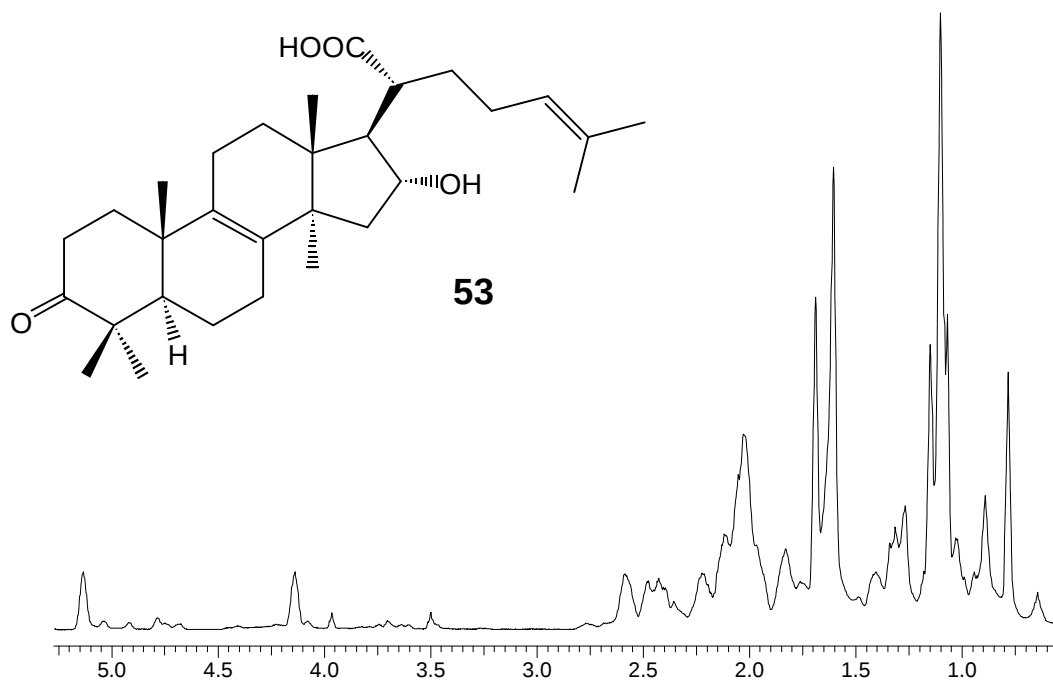


$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, d_5 -Pyridin):

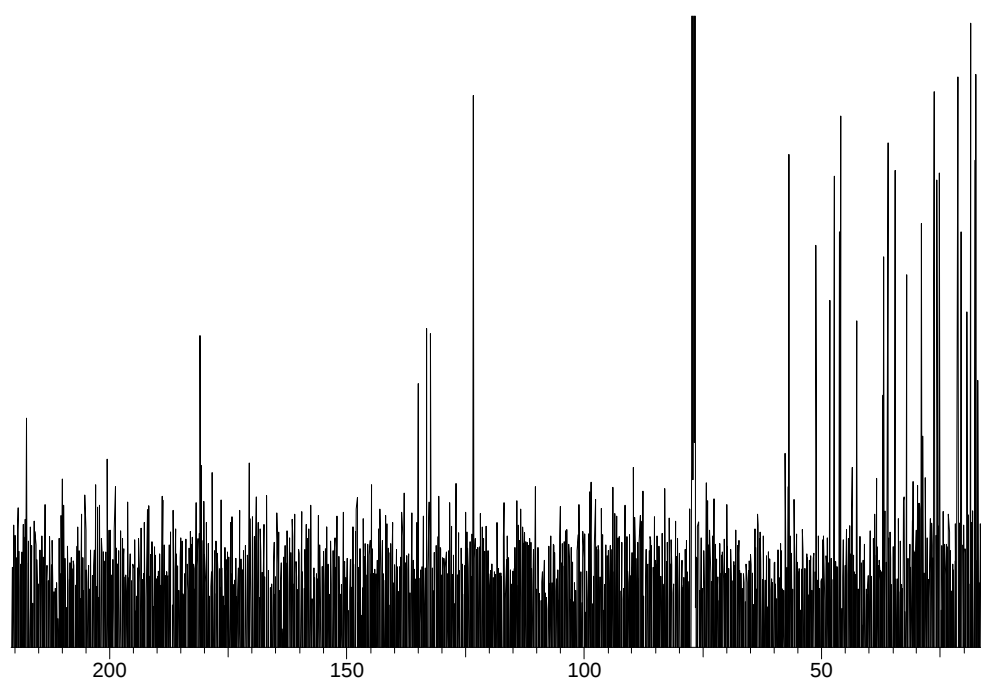


Pinicolsäure E (53)

$^1\text{H-NMR}$ (500.13 MHz, CDCl_3):

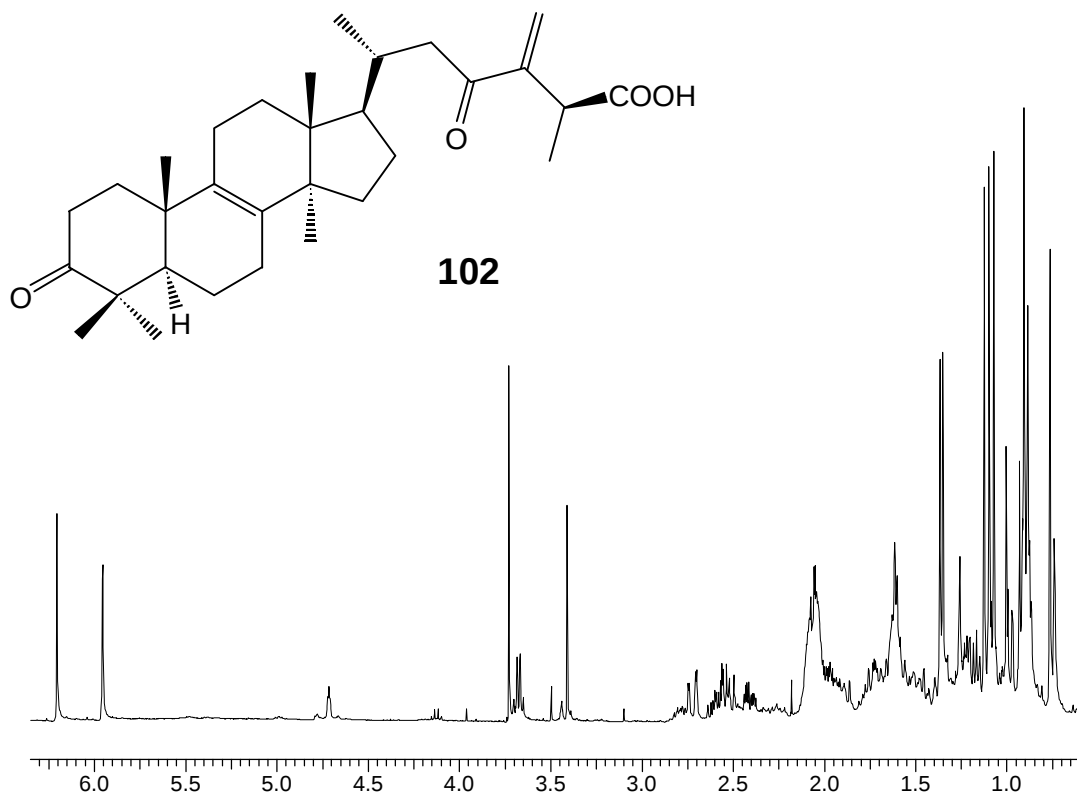


$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, CDCl_3):

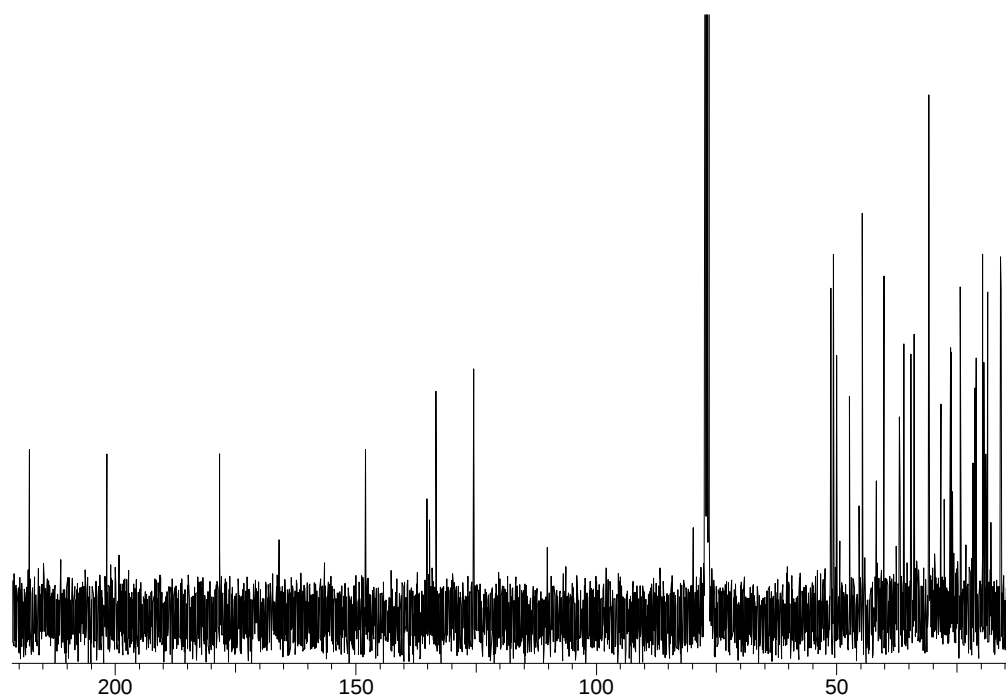


Quercinsäure B (102)

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3):

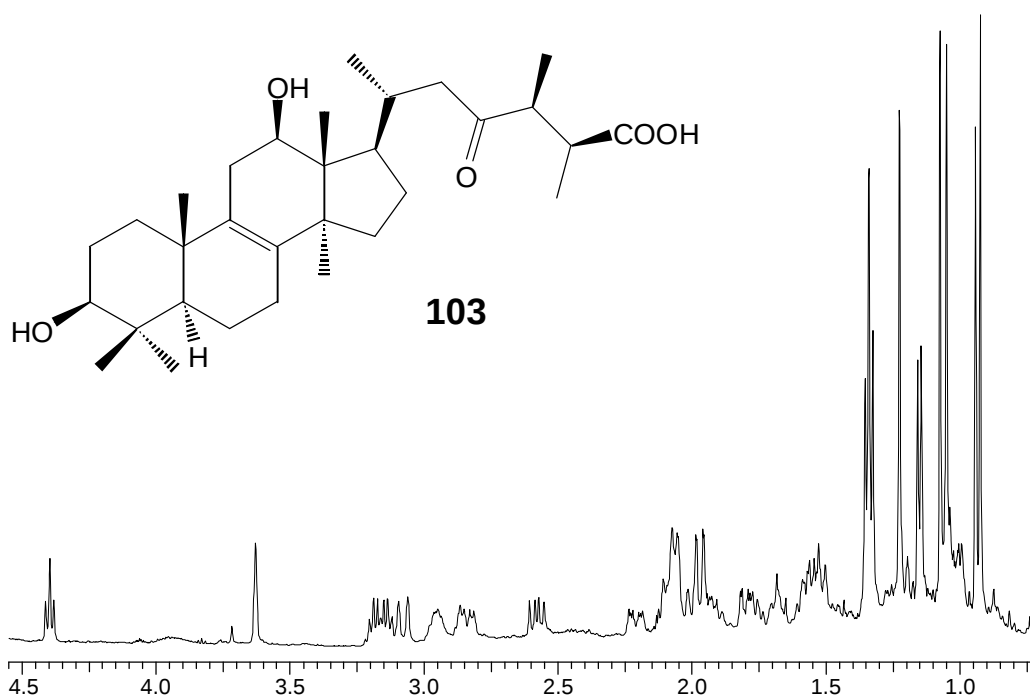


$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, CDCl_3):

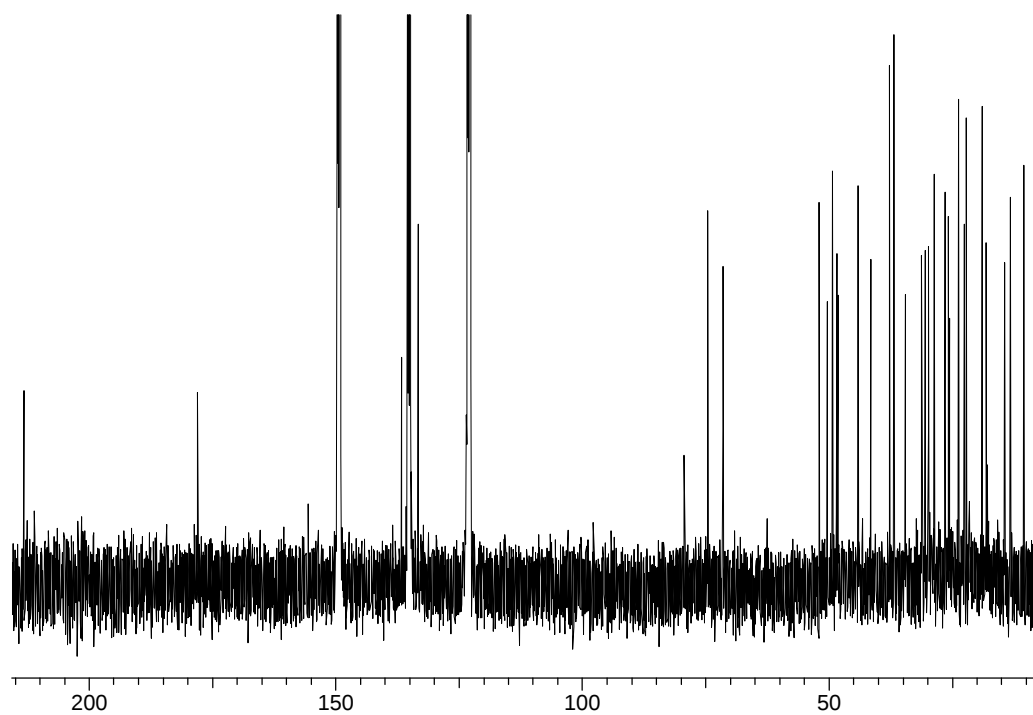


Quercinsäure C (103)

$^1\text{H-NMR}$ (500.13 MHz, d_5 -Pyridin):

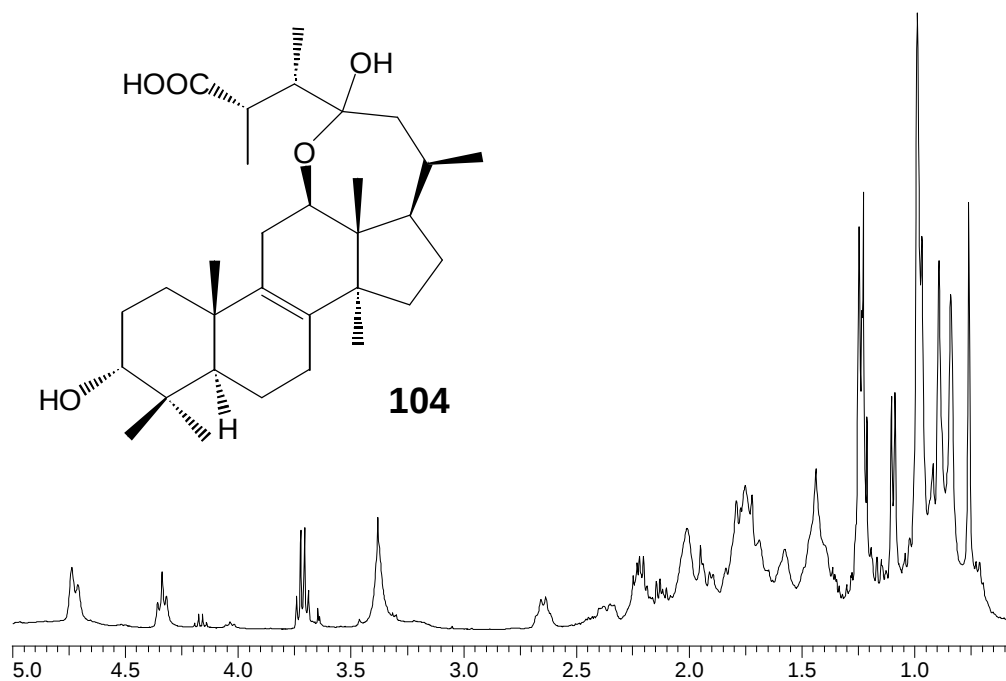


$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, d_5 -Pyridin):

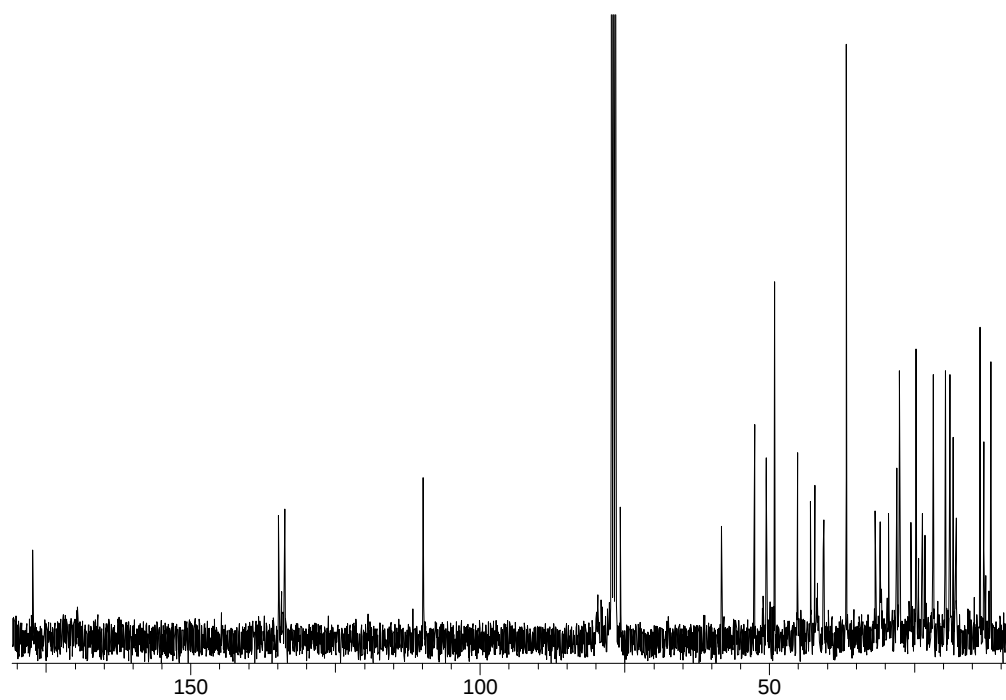


3 α -Oxepanoquercinsäure C (104)

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, CDCl_3):

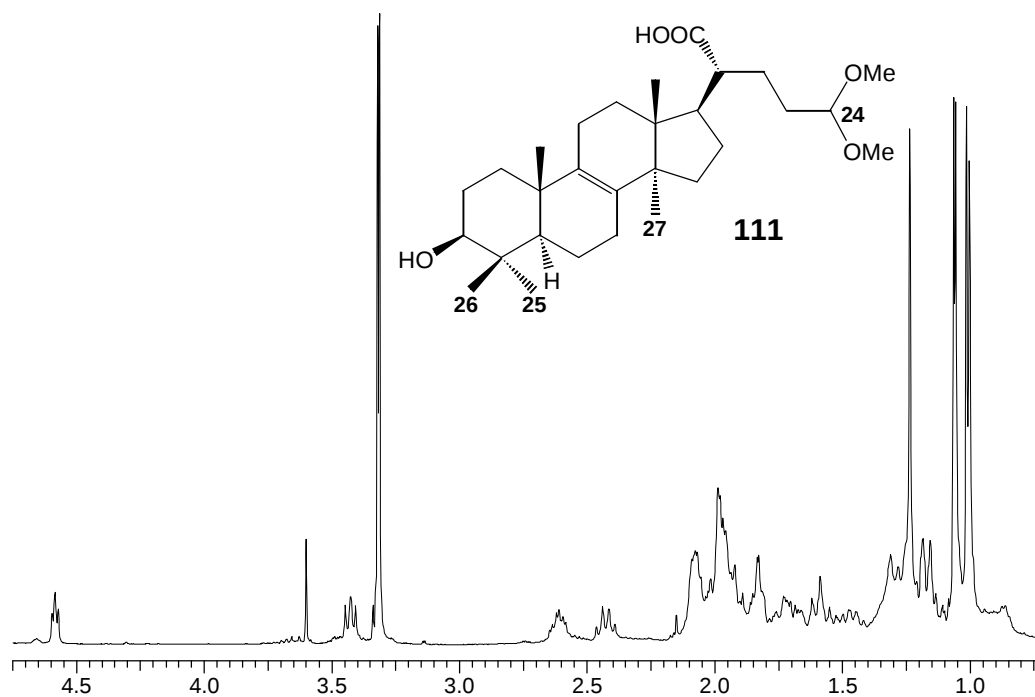


$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, CDCl_3):

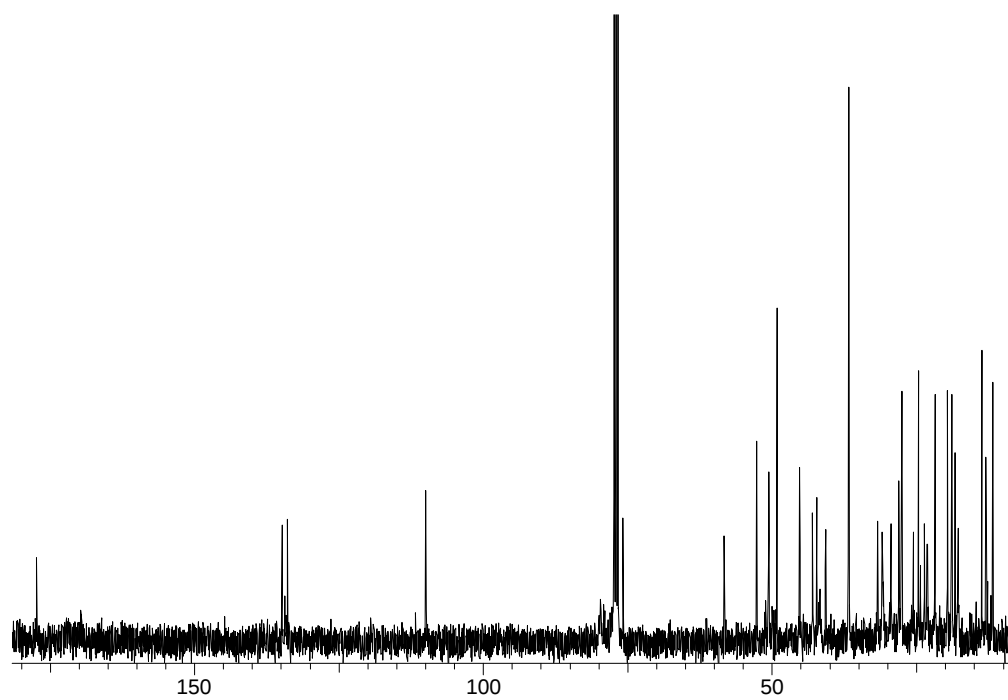


Gloeophyllsäure A – Dimethylacetal (111)

$^1\text{H-NMR}$ (400.13 MHz, d_5 -Pyridin):



$^{13}\text{C-NMR}$ (100.61 MHz, d_5 -Pyridin):



10 Literaturverzeichnis

- [1] R. Pöder, U. Peitner, T. Pümpel
Der Mann im Eis, Band 1, Bericht über das Internationale Symposium 1992 in Innsbruck
Uni Innsbruck (1992)
Mykologische Untersuchungen an den Pilz-Beifunden der Gletschermumie vom Hauslabjoch
- [2] E. Müller, W. Löffler
Mykologie – Grundriss für Naturwissenschaftler und Mediziner
5. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York (1992)
- [3] T. Anke
Fungal Biotechnology
Chapman & Hall, Weinheim (1997)
- [4] E. Gerhardt
BLV Handbuch: Pilze
2. Auflage, BLV Verlagsgesellschaft mbH, München (1996)
- [5] C. Hobbs
Medicinal Mushrooms – An Exploration of Tradition, Healing, & Culture
3rd Edition, Botanica Press, Santa Cruz (1996)
- [6] J.D. Weete
Adv. Lip. Res., 23 (1989) 115-166
Structure and Function of Sterols in Fungi
- [7] W.R. Nes, B.C. Sekula, W.D. Nes, J.H. Alder
J. Biol. Chem., 253(17) (1978) 6218-6225
The Functional Importance of Structural Features of Ergosterol in Yeast
- [8] M. Fryberg, A.C. Oehlschlager, A.M. Unrau
J. Am. Chem. Soc., 95(17) (1973) 5747-5757
Biosynthesis of Ergosterol in Yeast. Evidence for Multiple Pathways
- [9] W.B. Turner, D.C. Aldridge
Fungal Metabolites II
Academic Press, London (1983)
- [10] A. Yokoyama, S. Natori, K. Aoshima
Phytochemistry, 14 (1975) 487-497
Distribution of Tetracyclic Triterpenoids of Lanostane Group and Sterols in the Higher Fungi especially of the Polyporaceae and Related Families
- [11] J.M. Guider, T.G. Halsall, E.R.H. Jones
J. Chem. Soc., (1954) 4471-4475
The chemistry of the triterpenes and related compounds. Part XXVII. Pinicolic acid A.

- [12] A.C. Keller, M.P. Maillard, K. Hostettmann
Phytochemistry, 41(4) (1996) 1041-1046.
Antimicrobial steroids from the fungus *Fomitopsis pinicola*.
- [13] H.K. Adam, T.A. Bryce, I.M. Campbell, N.J. McCorkindale, A. Gaudemer, R. Gmelin, J. Polonsky
Tetrahedron Lett., 16 (1967) 1461-1465
Metabolites of the Polyporaceae II. Carboxyacetylquercinic Acid – A novel Triterpene Conjugate from *Daedalea quercina*
- [14] C.O. Schmidt
*Biosynthese der Sesquiterpene (+)-Germacren D, (-)-Germacren D und (-)- α -Gurjunen in *Solidago canadensis* – Enzymisolierungen und Aufklärung der Bildungsmechanismen*
Dissertation, Uni Hamburg (1998)
- [15] C.O. Schmidt, H.J. Bouwmeester, J.-W. De Kraker, W.A. König
Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 37 (1998) 1400-1402
Biosynthesis of (+)- and (-)-germacrene D in *Solidago canadensis*: Isolation and characterization of two enantioselective germacrene D synthases

Angew. Chem., 110 (1998) 1489-1481
Biosynthese von (+)- und (-)-Germacren D in *Solidago canadensis*: Isolierung und Charakterisierung zweier enantioselektiver Germacren D-Synthasen
- [16] H. Friebolin
Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie
2. Auflage, Verlag Chemie, Weinheim (1992)
- [17] S. Braun, H.-O. Kalinowski, S. Berger
150 and More Basic NMR Experiments – A Practical Course
2nd Expanded Edition, Wiley-VCH, Weinheim, New York (1998)
- [18] F. Lottspeich, H. Zorbas
Bioanalytik
Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin (1998)
- [19] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh
Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie
4. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York (1991)
- [20] V.R. Meyer
Praxis der Hochleistungs-Flüssigchromatographie
6. Auflage, Salle + Sauerländer, Frankfurt/Main (1990)
- [21] C. Gertz
HPLC – Tips und Tricks
Kemmerling, Brilon (1989)
- [22] V.R. Meyer
Fallstricke und Fehlerquellen der HPLC in Bildern
2. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, New York (1999)

- [23] M. Otto
Analytische Chemie
Verlag Chemie, Weinheim, New York (1995)
- [24] B. Behnke, G. Schlotterbeck, U. Tallarek, S. Strohschein, L.-H. Tseng, T. Keller, K. Albert, E. Bayer
Anal. Chem., 68 (1996) 1110-1115
Capillary HPLC-NMR Coupling: High-Resolution ^1H NMR Spectroscopy in the Nanoliter Scale
- [25] A. Höltzel, G. Schlotterbeck, K. Albert, E. Bayer
Chromatographia, 42(9/10) (1996) 499-505
Separation and Characterisation of Hop Bitter Acids by HPLC- ^1H NMR Coupling
- [26] O.W. Thiele
Lipide, Isoprenoide mit Steroiden
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1979)
- [27] C.O. Schmidt
Isolierung und Identifizierung von leichtflüchtigen Komponenten aus dem Baumpilz Fomes fomentarius
Diplomarbeit, Hamburg (1996)
- [28] J. Rösecke
Isolierung und Identifizierung von leichtflüchtigen und nichtflüchtigen Komponenten aus Basidiomyceten
Diplomarbeit, Hamburg (1998)
- [29] L. Ruzicka
Experientia, 9 (1953) 357-367
The Isoprene Rule and the Biogenesis of Terpenic Compounds
- [30] L. Stryer
Biochemie
4. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford (1996)
- [31] W. Steglich
Pure & Appl. Chem., 53 (1981) 1233-1240
Biologically active Compounds from higher Fungi
- [32] F.D. Gunstone, J.L. Harwood, F.B. Padley
The Lipid Handbook
2nd Edition, Chapman & Hall, London (1994)
- [33] M. Gill
J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, (1982) 1449-1453
Polyolefinic 18-Methyl-19-oxoicosenoic Acid Pigments from the Fungus *Piptoporus australiensis* (Wakefield) Cunningham
- [34] T. Rezanka, P. Mares
J. Chromatogr., 409 (1987) 390-395
Unusual and very long-chain fatty acids produced by Basidiomycetes

- [35] R. Tressl, D. Bahri, K.-H. Engel
J. Agric. Food Chem., 30 (1982) 89-93
Formation of Eight-Carbon and Ten-Carbon Components in Mushrooms (*Agaricus campestris*)
- [36] J. Rösecke, W.A. König
Flavour Fragr. J., (2000) (im Druck)
Odorous Compounds from the Fungus *Gloeophyllum odoratum*
- [37] F.W.M.R. Schwarze, J. Engels, C. Mattheck
Holzzersetzende Pilze in Bäumen – Strategien der Holzzersetzung
Rombach Ökologie, Freiburg (1999)
- [38] J.J. Beereboom, H. Fazakerley, T.G. Halsall
J. Chem. Soc., (1957) 3437-3441
The Chemistry of the Triterpenes and Related Compounds. Part XXXI. The Isolation of Further Triterpene Acids from *Polyporus pinicola* Fr.
- [39] A. Bowers, T.G. Halsall, G.C. Sayer
J. Chem. Soc., (1954) 3070-3084
The Chemistry of the Triterpenes and Related Compounds. Part XXV. Some Stereochemical Problems concerning Polyporenic Acid C.
- [40] T.G. Halsall, G.C. Sayer
J. Chem. Soc., (1959) 2031-2036
The Chemistry of the Triterpenes and Related Compounds. Part XXXV. Some Non-acidic Constituents of *Polyporus pinicola*, Fr.
- [41] K. Sheth, P. Catalfomo, L.A. Sciuchetti
J. Pharm. Sci., 56(12) (1967) 1656-1658
Isolation of Eburicoic Acid from *Fomes pinicola*
- [42] S. Striegler, E. Haslinger
Monatsh. Chem., 127(6/7) (1996) 755-762
Cerebrosides from *Fomitopsis pinicola* (Sw. Ex Fr.) Karst.
- [43] Y. Tanahashi, T. Takahashi
Bull. Chem. Soc. Jpn., 39 (1966) 848-849
Sterol Constituents of *Daedalea quercina* L. (Fr.)
- [44] H.K. Adam, I.M. Campbell, N.J. McCorkindale
Nature, 216 (1967) 397
Ergosterol Peroxide: a Fungal Artefact
- [45] A. Windaus, J. Brunken
Liebigs Ann. Chem., 460 (1928) 225
- [46] U. Lindequist, A. Lesnau, E. Teuscher, H. Pilgrim
Pharmazie, 44 (1989) 579-580
Untersuchungen zur antiviralen Wirksamkeit von Ergosterolperoxid
- [47] Chairul, T. Tokuyama, M. Nishizawa, M. Shiro, H. Tokuda, Y. Hayashi
Phytochemistry, 29(3) (1990) 923-928
Malonate Half-Esters of Homolanostanoid from an Asian *Ganoderma* Fungus

- [48] V.M. Dembitsky, T. Rezanka, E.E. Shubina
Phytochemistry, 34(4) (1993) 1057-1059
Unusual Hydroxy Fatty Acids from some Higher Fungi
- [49] T. Ikekawa
Cancer Res., 29 (1969) 734-735
Antitumor Activity of aqueous extracts of edible mushrooms
- [50] K. Kahlos, J.L.J. Kiviranta, V.K. Hiltunen
Phytochemistry, 36(4) (1994) 917-922
Volatile Constituents of Wild and *in vitro* Cultivated *Gloeophyllum odoratum*
- [51] A.F. Halim, R.P. Collins
Lloydia, 34 (1971) 451
- [52] H.-P. Hanssen, E. Sprecher
Aroma-Producing Fungi: Influence of Strain Specificity and Culture Conditions on Aroma Production
Aus: *Flavour '81*, Walter de Gruyter Verlag, Berlin, New York (1981)
- [53] H.P. Hanssen, W.-R. Abraham
Flavour Fragr. J., 2 (1987) 171-174
Odoriferous Compounds from Liquid Cultures of *Gloeophyllum odoratum* and *Lentinellus cochleatus* (Basidiomycotina)
- [54] H.P. Hanssen, V. Sinnwell, W.-R. Abraham
Z. Naturforsch., 41c (1986) 825-829
Volatile Fragrance Compounds from the Fungus *Gloeophyllum odoratum* (Basidiomycotina)
- [55] H.-P. Hanssen
GIT Fachz. Lab., 10 (1989) 996-1004
Fermentative Gewinnung von Duft- und Aromastoffen aus Pilzkulturen
- [56] U. Krings, B.G. Abraham, R.G. Berger
Perfumer & Flavourist, 20 (1995) 79-86
Plant Impact Volatiles from Higher Fungi: A Biotechnological Perspective
- [57] T.G. Halsall, R. Hodges, G.C. Sayer
J. Chem. Soc., (1959) 2036-2040
The Chemistry of Triterpenes and Related Compounds. Part XXXVI. Some Constituents of *Trametes odorata* (Wulf.) Fr.
- [58] N. Arpin, J. Favre-Bonvin, W. Steglich
Phytochemistry, 13 (1974) 1949-1952
Le Fomentariol: Nouvelle Benzotropolone isolée de *Fomes fomentarius*
- [59] W. Steglich, L. Zechlin
Chem. Ber., 111 (1978) 3939-3948
Synthese des Fomentariols. Eine neue Methode zur Darstellung von Zimtalkoholen
- [60] P. Singh, S. Rangaswami
Tetrahedron Lett., 2 (1967) 149-152
Fomentaric Acid, a Novel Type of Alkyl Succinic Acid from *Fomes fomentarius* (L.) Fr.

- [61] J.L. Belletire, D.F. Fry
J. Org. Chem., 52 (1987) 2549-2555
Oxidative Coupling of Carboxylic Acid Dianions: The Total Synthesis of (±)-Hinokinin and (±)-Fomentaric Acid
- [62] H.R. Arthur, T.G. Halsall, R.D. Smith
J. Chem. Soc., (1958) 2603-2605
The Chemistry of Triterpenes and Related Compounds. Part XXXIII. The Isolation of Ergosta-7:22-dien-3-one from *Fomes fomentarius*
- [63] P. Singh, S. Rangaswami
Indian J. Chem., 3 (1965) 575-576
Chemical Examination of *Fomes fomentarius* (L.) Fr.
- [64] T. Kikuchi, S. Matsuda, S. Katoda, Y. Murai, Z. Ogita
Chem. Pharm. Bull., 33(6) (1985) 2624-2627
Ganoderic Acid D, E, F, and H and Lucidenic Acid D, E, and F, new Triterpenoids from *Ganoderma lucidum*
- [65] T. Kikuchi, S. Matsuda, Y. Murai, Z. Ogita
Chem. Pharm. Bull., 33(6) (1985) 2628-2631
Ganoderic Acid G and I and Ganolucidic Acid A and B, new Triterpenoids from *Ganoderma lucidum*
- [66] T. Kikuchi, S. Kanomi, Y. Murai, S. Katoda, K. Tsubono, Z.-I. Ogita
Chem. Pharm. Bull., 34(10) (1986) 4018-4029
Constituents of the Fungus *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst. II. Structures of Ganoderic Acids F, G, and H, Lucidenic Acids D2 and E2, and Related Compounds
- [67] T. Kikuchi, S. Kanomi, Y. Murai, S. Katoda, K. Tsubono, Z.-I. Ogita
Chem. Pharm. Bull., 34(10) (1986) 4030-4036
Constituents of the Fungus *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst. III. Structures of Ganolucidic Acids A and B, New Lanostane-Type Triterpenoids
- [68] Y. Komoda, H. Nakamura, S. Ishihara, M. Uchida, H. Khoda, K. Yamasaki
Chem. Pharm. Bull., 33(11) (1985) 4829-4835
Structures of New Terpenoid Constituents of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst (Polyporaceae)
- [69] H. Khoda, W. Tokumoto, K. Sakamoto, M. Fujii, Y. Hirai, K. Yamasaki, Y. Komoda, H. Nakamura, S. Ishihara, M. Uchida
Chem. Pharm. Bull., 33(4) (1985) 1367-1374
The Biologically Active Constituents of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst. Histamine Release-Inhibitory Triterpenes
- [70] T. Kubota, Y. Asaka, I. Miura, H. Mori
Helv. Chim. Acta, 65(2) (1982) 611-619
62. Structures of Ganoderic Acid A and B, Two New Lanostane Type Bitter Triterpenes from *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst.
- [71] A. Morigiwa, K. Kitabatake, Y. Fujimoto, N. Ikekawa
Chem. Pharm. Bull., 34(7) (1986) 3025-3028
Angiotensin Converting Enzyme-Inhibitory Triterpenes from *Ganoderma lucidum*
- [72] M. Hirotani, C. Ino, T. Furuya, M. Shiro
Chem. Pharm. Bull., 34(5) (1986) 2282-2285
Ganoderic Acids T, S and R, New Triterpenoids from the Cultured Mycelia of *Ganoderma lucidum*

- [73] T. Kikuchi, S. Kanomi, S. Katoda, Y. Murai, K. Tsubono, Z.-I. Ogita
Chem. Pharm. Bull., 34(9) (1986) 3695-3712
Constituents of the Fungus *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst. I. Structures of Ganoderic Acids C2, E, I, and K, Lucidenic Acid F and Related Compounds
- [74] T. Nishitoba, H. Sato, S. Sakamura
Phytochemistry, 26(6) (1987) 1777-1784
Triterpenoids from the Fungus *Ganoderma lucidum*
- [75] M. Hirotani, I. Asaka, C. Ino, T. Furuya, M. Shiro
Phytochemistry, 26(10) (1987) 2797-2803
Ganoderic Acid Derivatives and Ergosta-4,7,22-triene-3,6-dione from *Ganoderma lucidum*
- [76] M.-S. Shiao, L.-J. Lin, S.-F. Yeh
Phytochemistry, 27(3) (1988) 873-875
Triterpenes in *Ganoderma lucidum*
- [77] M.-S. Shiao, L.-J. Lin, S.-F. Yeh
Phytochemistry, 27(9) (1988) 2911-2914
Triterpenes from *Ganoderma lucidum*
- [78] L.-J. Lin, M.-S. Shiao, S.-F. Yeh
Phytochemistry, 27(7) (1988) 2269-2271
Triterpenes from *Ganoderma lucidum*
- [79] L.-J. Lin, M.-S. Shiao, K.R. Lee
J. Nat. Prod., 52(3) (1989) 595-605
¹³C-NMR Correlation of Stereochemistry in Lanostanoid Triterpenes
- [80] M. Hirotani, T. Furuya
Phytochemistry, 29(12) (1990) 3767-3771
Changes of the Triterpenoid Patterns during Formation of the Fruit Body in *Ganoderma lucidum*
- [81] M. Hirotani, C. Ino, T. Furuya
Phytochemistry, 33(2) (1993) 379-382
Comparative Study on the Strain-Specific Triterpenoid Components of *Ganoderma lucidum*
- [82] S.Y. Lee, H.M. Rhee
Chem. Pharm. Bull., 38(5) (1990) 1359-1364
Cardiovascular Effects of Mycelium Extract of *Ganoderma lucidum*: Inhibition of Sympathetic Outflow as a Mechanism of Its Hypotensive Action
- [83] Y. Komoda, M. Shimizu, Y. Sonoda, Y. Sato
Chem. Pharm. Bull., 37(2) (1989) 531-533
Ganoderic Acid and its Derivatives as Cholesterol Synthesis Inhibitors
- [84] H. Kawagishi, F. Fukuhara, M. Sazuka, A. Kawashima, T. Mitsubori, T. Tomita
Phytochemistry, 32(2) (1993) 239-241
5'-Deoxy-5'-methylsulphinyladenoin, a Platelet Aggregation Inhibitor from *Ganoderma lucidum*

- [85] K. Saito, M. Nishijima, T. Miyazaki
Chem. Pharm. Bull., 37(11) (1989) 3134-3136
Structural Analysis of an Acidic Polysaccharide from *Ganoderma lucidum* (Studies on Fungal Polysaccharides. XXXV)
- [86] L.I. Strigina, Yu.N. Elkin, G.B. Elyakov
Phytochemistry, 10 (1971) 2361-2365
Steroid Metabolites of *Ganoderma applanatum* Basidiomycete
- [87] J. Protiva, H. Skorkovska, J. Urban, A. Vystrcil
Coll. Czech. Chem. Comm., 45 (1980) 2710-2713
Triterpenes and Steroids from *Ganoderma applanatum*
- [88] T. Nishitoba, S. Goto, H. Sato, S. Sakamura
Phytochemistry, 28(1) (1989) 193-197
Bitter Triterpenoids from the Fungus *Ganoderma applanatum*
- [89] Chairul, T. Tokuyama, Y. Hayashi, M. Nishizawa, H. Tokuda, S.M. Chairul, Y. Hayashi
Phytochemistry, 30(12) (1991) 4105-4109
Applanoxidic Acids A, B, C and D, Biologically Active Tetracyclic Triterpenes from *Ganoderma applanatum*
- [90] Chairul, S.M. Chairul, Y. Hayashi
Phytochemistry, 35(5) (1994) 1305-1308
Lanostanoid Triterpenes from *Ganoderma applanatum*
- [91] T. Koscielski, D. Sybilska, J. Jurczak
J. Chromatogr., 280 (1983) 131
Separation of α - and β -Pinene into Enantiomers in Gas-Liquid Chromatography Systems via α -Cyclodextrin Inclusion
- [92] V. Schurig, H.-P. Nowotny
J. Chromatogr., 441 (1988) 155
Separation of Enantiomers on Diluted Permethylated β -Cyclodextrin by High-Resolution Gas Chromatography
- [93] W.A. König
Gas Chromatographic Enantiomer Separation with Modified Cyclodextrins
Hüthig Verlag, Heidelberg (1992)
- [94] W.A. König, S. Lutz, G. Wenz
Angew. Chem., 100 (1988) 989
Modifizierte Cyclodextrine – neue, hochenantioselektive Trennphasen für die Gaschromatographie
- [95] H. Kessler, M. Gehrke, C. Griesinger
Angew. Chem., 100 (1988) 507
Zweidimensionale NMR-Spektroskopie, Grundlagen und Übersicht über die Experimente
- [96] M. S. F. Lie Ken Jie, J. Mustafa
Lipids, 32 (1997) 1019-1034
High-Resolution Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy – Applications to Fatty Acids and Triacylglycerols.

- [97] N. Shirane, H. Takenaka, K. Ueda, Y. Hashimoto, K. Katoh, H. Ishii
Phytochemistry, 41 (1996) 1301-1308
Sterol Analysis of DMI-Resistant and -Sensitive Strains of *Venturia inaequalis*
- [98] G.T. Emmons, W.K. Wilson, G.J. Schroepfer, Jr
Magn. Res. Chem., 27 (1989) 1012-1024
¹H and ¹³C NMR Assignments for Lanostan-3 β -ol Derivatives: Revised Assignments for Lanosterol
- [99] J.H. Jung, S. Pummangura, C. Chaichantipyuth, C. Patarapanich, J.L. McLaughlin
Phytochemistry, 29(5) (1990) 1667-1670
Bioactive constituents of *Melodorum fruticosum*
- [100] D.A. Mulholland, R. Osborne, S.L. Roberts, D.A.H. Taylor
Phytochemistry, 37(5) (1994) 1417-1420
Limonoids and triterpenoid acids from the bark of *Entandrophragma delevoiyi*
- [101] D. Joulain, W.A. König
The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons
E. B. Verlag, Hamburg (1998)
- [102] B. Dockerill, J.R. Hanson
J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, (1977) 324-327
Studies in Terpenoid Biosynthesis. Part 19. Formation of Pimara-8(9),15-diene by *Trichothecium roseum*
- [103] H.-P. Hanssen
Phytochemistry, 21(5) (1982) 1159-1160
Sesquiterpene Hydrocarbons from *Lentinus lepideus*
- [104] H.-P. Hanssen
Phytochemistry, 24(6) (1985) 1293-1294
Sesquiterpene Alcohols from *Lentinus lepideus*
- [105] H.-P. Hanssen, W.-R. Abraham
Tetrahedron, 44(8) (1988) 2175-2180
Sesquiterpene Alcohols with novel Skeletons from the Fungus *Ceratocystis piceae*
- [106] P.S. van Heerden, B.C.B. Bezuidenhoudt, D. Ferreira
Tetrahedron, 52(37) (1996) 12313-12322
Tetramethylethylene Diamine/Trimethylsilyl Chloride Mediated Addition of Benzyl Copper Reagents to α,β -Unsaturated Esters
- [107] G. Moyna, H.J.W. Williams, A.I. Scott
Synth. Comm., 26(11) (1996) 2235-2239
An Improved Procedure for the Epoxidation of Methyl Cinnamate Derivatives and Production of Acid Sensitive Epoxides
- [108] C.-K. Wat, G.H.N. Towers
Phytochemistry, 16 (1977) 290-291
Production of Methylated Phenolic Acids by Species of *Lentinus* (Basidiomycetes)
- [109] E.N. Jacobsen, Li Deng, Y. Furukawa, L.E. Martinez
Tetrahedron, 50(15) (1994) 4323-4334
Enantioselective Catalytic Epoxidation of Cinnamate Esters

- [110] H. Inouye, K. Tokura, T. Hayashi
Tetrahedron Lett., 32 (1970) 2811-2814
Über die Triterpenoide von *Trametes dickinsii*
- [111] H. Kawagishi, H. Li, O. Tanno, S. Inoue, S. Ikeda, M. Ohnishi-Kameyama, T. Nagata
Phytochemistry, 46(5) (1997) 959-961
A Lanostane-Type Triterpene from a Mushroom *Daedalea dickinsii*
- [112] R. W. Saalfrank, B. Weiß, K. Peters, H.G. von Schnering,
Chem. Ber., 118 (1985) 4026
- [113] T. Tai, T. Shingu, T. Kikuchi, Y. Tezuka, A. Akahori
Phytochemistry, 39 (1995) 1165-1169
Triterpenes from the Surface Layer of *Poria cocos*
- [114] K.E. Schulte, G. Rücker, H. Fachmann
Tetrahedron Lett., 48 (1967) 4823-4825
Zur Struktur der "Agaricolsäure"
- [115] P. Li, H. Alper
J. Org. Chem., 51 (1986) 4354-4356
Poly(ethylene glycol) Promoted Reactions of Vinylic Dibromides. Dehydrohalogenation and Palladium(0)-Catalyzed Formal Oxidative Homologation
- [116] A.C. Jain, S.K. Gupta
Phytochemistry, 23(3) (1984) 686-687
The Isolation of Lanosta-7,9(11),24-trien-3 β ,21-diol from the Fungus *Ganoderma australe*
- [117] J. Wolf
PZ-Schriftenreihe: Mikro-Dünnschichtchromatographie
GOVI-Verlag, Eschborn (1999)

Veröffentlichungen

- [I] J. Rösecke, W.A. König
Phytochemistry, 52 (1999) 1621-1627
Steroids from the Fungus *Fomitopsis pinicola*
- [II] J. Rösecke, M. Pietsch, W.A. König
Phytochemistry, 54 (2000) 747-750
Volatile Constituents of Wood-Rotting Basidiomycetes
- [III] J. Rösecke, W.A. König
Phytochemistry, 54 (2000) 757-762
Constituents of the Fungi *Daedalea quercina* and *Daedaleopsis confragosa* var. *tricolor*
- [IV] J. Rösecke, W.A. König
Phytochemistry, 54 (2000) 603-610
Constituents of various Wood-Rotting Basidiomycetes
- [V] J. Rösecke, W.A. König
Flavour Fragr. J., (2000) im Druck
Odorous Compounds from the Fungus *Gloeophyllum odoratum*

Vorträge

- [A] J. Rösecke, W.A. König
10. Chromatographie-Seminar der GDCh
09.-11. Januar 2000 in Hohenroda/Deutschland
Isolierung und Identifizierung triterpenoider Verbindungen aus verschiedenen Baumpilzen
- [B] J. Rösecke, W.A. König
Future Trends in Phytochemistry – A Young Scientists Symposium
07.-10. Mai 2000 in Rolduc/Niederlande
Isolation and Identification of Triterpene Derivatives from various Basidiomycetes

Poster

- [a] J. Rösecke, W.A. König
2000 Years of Natural Products Research – Past, Present and Future
26.-30. Juli 1999 in Amsterdam/Niederlande
Isolation of New Steroidal Compounds from various Basidiomycetes
- [b] J. Rösecke, W.A. König
International Symposium on Flavour and Fragrance Chemistry
13.-16. Januar 2000 in Campobasso/Italien
Odorous Compounds from the Wood-Rotting Fungus *Gloeophyllum odoratum* (Wulf. ex Fr.) Imazeki

Danksagungen

Der Stiftung Stipendien-Fonds im Verband der Chemischen Industrie e.V. danke ich für die Überlassung eines Promotionsstipendiums.

Für die Aufnahme der zahlreichen NMR-Spektren danke ich vor allem Frau I. Schult, Frau E. Juhas und Herrn Dr. V. Sinnwell.

Für die nette Atmosphäre und das angenehme Arbeiten danke ich allen Mitgliedern des Arbeitskreises. In diesem Sinne danke ich besonders Kolja Wihstutz (auch für die zahlreichen Tennis-Matches sowie für das schnelle Korrekturlesen dieser Arbeit), André Krüger, Verena Collazo, Ute Haker, Silke Atrott sowie meinem Labornachbarn Klaus Scharwächter.

Herrn Dr. Stefan Franke danke ich für die Einführung in die Bedienung der LC-MS/MS-Anlage.

Meinen Eltern danke ich für die fortwährende finanzielle Unterstützung während meiner gesamten Studienzeit und für das ungebrochene Interesse, Baumpilze zu sammeln. Speziell danke ich ihnen für das Sammeln des Baumpilzes *Daedalea quercina*, ohne das die Untersuchung dieser Spezies nicht möglich gewesen wäre.

Ich danke Aleksandra Lorenc für die andauernde moralische Unterstützung in allen Lebenslagen sowie für das große Interesse am gemeinsamen Sammeln der Pilze..

Herrn Manfred Preuße und Frau Annegret Meiners danke ich für die Aufnahme zahlreicher Massenspektren.

Curriculum Vitae

Persönliche Daten

Name:	Joachim Rösecke
Geburtsort:	Hamburg (Deutschland)
Geburtsdatum:	17. November 1971
Familienstand:	ledig
Staatsangehörigkeit:	deutsch

Schulbildung

1977 – 1982	Grundschule „Fritz-Köhne-Schule“, Hamburg
1982 – 1991	„Gymnasium Klosterschule“, Hamburg
13. Juni 1991	Erlangung der „Allgemeinen Hochschulreife“ (Abitur)

Grundwehrdienst

01. Juli – 30. September 1991	Grundausbildung zum Sanitätssoldaten 8./Sanitätsbatallion 3, Hamburg
01. Oktober 1991 – 30. Juni 1992	Sanitätsdienst 1./Instandsetzungsbattalion 610, Flensburg-Weiche

Hochschulausbildung

01. Oktober 1992	Immatrikulation an der Universität Hamburg für den Studiengang „Diplom-Chemie“
11. Oktober 1994	Vordiplom Chemie
04. Januar – 30. März 1996	Studienaufenthalt an der University of Newcastle upon Tyne im Rahmen des ERASMUS-Programmes der EU
12. März 1998	Diplom Chemie Diplomarbeit im Arbeitskreis von Prof. Dr. W.A. König Thema: Isolierung und Identifizierung von leichtflüchtigen und nichtflüchtigen Komponenten aus Basidiomyceten
März 1998	Beginn der vorliegenden Dissertation

Promotionsstellen

01. Juli 1998 – 30. Juni 2000	Promotionsstipendium der Stiftung Stipendien-Fonds im Verband der Chemischen Industrie e.V.
-------------------------------	---

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich diese Dissertation selbstständig angefertigt und dafür nur die angegebenen Hilfsmittel verwendet habe. Des weiteren erkläre ich, dass ich zuvor keine anderen Promotionsversuche unternommen habe.

Joachim Rösecke