

# **Isolierung und Strukturaufklärung von marinen Sekundärmetaboliten aus Kaltwasserschwämmen und Korallen**

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades  
des Fachbereichs Chemie  
der Universität Hamburg

vorgelegt von

**Karsten Fehler**

aus Lübeck

Hamburg 2005

1. Gutachter: Herr Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Wittko Francke

2. Gutachter: Herr Prof. Dr. Chris Meier

Tag der Disputation: 15. Juli 2005

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von September 2000 bis Februar 2005 am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg angefertigt.

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Wittko Francke, danke ich sehr herzlich für die Überlassung des Themas, die stets interessanten Anregungen und Diskussionen, die freundschaftliche Betreuung während dieser Arbeit und die angenehme Zeit in seiner Arbeitsgruppe.



Für meine Eltern



# Danksagung

Meinen Eltern möchte ich von ganzem Herzen danken, die mich während meiner gesamten Studien- und Promotionszeit tatkräftig unterstützt haben. Für den Beistand und die liebevollen Aufmunterungen beim Zusammenschreiben dieser Arbeit bin ich ihnen sehr dankbar.

Allen derzeitigen und ehemaligen Mitgliedern des Arbeitskreises danke ich für die vielen schönen Stunden innerhalb und außerhalb des Laborbetriebs.

Allen Kolleginnen und Kollegen des BOSMAN-Projektes danke ich für eine sehr gute interdisziplinäre Zusammenarbeit, insbesondere Herrn Prof. Dr. W. Michaelis und Herrn Dr. Thomas Pape für die professionelle Koordination des Projektes. Des Weiteren danke ich dem Hamburger BOSMAN-Team Frau Dr. Susanne Sölter, Herrn Dr. Sven Possner, Herrn Dr. Martin Blumenberg, Herrn Michael Holzwarth und Herrn Dr. Thomas Pape für eine vorbildliche Zusammenarbeit im Projekt. Ebenso gilt der Dank Frau Ines Kaesler und Frau Dr. Ingeborg Graeber. Danken möchte ich weiterhin Frau Dr. Friederike Hoffmann für die gute Zusammenarbeit und Einblicke in die Schwamntaxonomie sowie Herrn Dr. Hans Tore Rapp (Universität Bergen, Norwegen) für den Aufenthalt in der Meeresbiologischen Station, seine Hilfe bei der taxonomischen Zuordnung des Probenmaterials und seiner Gasfreundschaft während des Aufenthaltes in Bergen, Norwegen.

Letztlich sei dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) als Geldgeber des BOSMAN-Projektes gedankt. Einen weiteren Dank richte ich an die *Marine Biological Station* der Universität Bergen, Norwegen für den gastfreundschaftlichen Aufenthalt und an das IHP-Programm (*Improving Human Research Potential*) für die finanziellen und materiellen Unterstützungen.

Herrn Dr. Volker Sinnwell und dem NMR-Service-Team möchte ich ganz herzlich für die professionelle Durchführung der NMR-Messungen, insbesondere der 700 MHz-Spektren, danken. Weiterhin sei Herrn Dr. V. Sinnwell für die anregenden Diskussionen der NMR-Spektren und Ergebnisse gedankt.

Mein Dank geht an Herrn Dr. Stephan Franke für seine intensiven und aufschlussreichen Unterweisungen auf den Gebieten der Gaschromatographie und Massenspektrometrie (LC-MS) sowie für seine stete Bereitschaft zur Diskussion der Ergebnisse.

Herrn Prof. Dr. W. A. König († 2004) und seiner Mitarbeiterin Frau Dr. Simla Basar möchte ich sehr herzlich für die Unterstützung bei präparativ-gaschromatographischen Trennungen und den MassFinder-Auswertungen danken.

Frau Prof. Dr. H. Anke und Mitarbeitern des IBWF, vor allem Frau A. Meffert, sei für die Durchführung der Biotests und den angenehmen Aufenthalt in Kaiserslautern gedankt.

Allen Praktikantinnen und Praktikanten möchte ich für ihren tatkräftigen Einsatz bei der Durchführung von Extraktionen und Synthesen danken.

Für das Korrekturlesen der Arbeit möchte ich Frau Jenny Haftmann, Frau Claudia Schulz, Frau Dr. Susanne Sölter und Herrn Dr. Sven Possner danken.

Meinen Freunden Mark und Oliver Berger, Lars-Olaf Jessen, Sabine Kossak, Martin Leistner, Hanko Onken, Matthias Rietdorf, Mirjam Rose, Torsten Stempel und Jochen Titze danke ich ganz herzlich für die Unterstützung in allen Lebenslagen.

Für die Laufeinheiten im Stadtpark und an der Alster sowie für anregende Gespräche möchte ich mich bei Gunnar Weibchen bedanken.



# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1. Historische Entwicklung	1
1.2. Die Vielfalt mariner Naturstoffe	3
1.3. Marine Naturstoffe in der Pharmaforschung	4
1.4. Chemische Ökologie	7
1.5. Ausblick	9
<b>2. Aufgabenstellung</b>	<b>10</b>
<b>3. Materialien und Methoden</b>	<b>11</b>
<b>4. Über die Biologie von Schwämmen</b>	<b>16</b>
<b>5. Haloazulene aus <i>Hymedesmia paupertas</i> (BOWERBANK)</b>	<b>18</b>
5.1. Einleitung	18
5.2. Isolierung und Identifizierung neuer Haloazulene	20
5.2.1. Übersicht	20
5.2.2. Anreicherung	21
5.2.3. Strukturaufklärung isolierter Verbindungen	23
5.2.3.1. Lactarazulene ( <b>24</b> )	23
5.2.3.2. 3,7-Dihydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethyliden)azulene ( <b>23</b> )	30
5.2.3.3. 5-Acetoxyethyl-1-chlor-3,8-dimethylazulene ( <b>27</b> )	38
5.2.3.4. Strukturvorschlag für die Verbindung <b>26</b>	46
5.2.3.5. 5-Acetoxyethylmethoxymethylen-1-chlor-3,8-dimethylazulene ( <b>28</b> )	50
5.3. Strukturvorschläge für Haloazulene als Nebenkomponenten	59
5.3.1. 1-Chlor-3,8-dimethyl-5-vinylazulene ( <b>25</b> )	62
5.3.2. 1-Brom-3,8-dimethyl-5-isopropenylazulene (3-Bromlactarazulene) ( <b>36</b> )	63
5.3.3. 1-Chlor-5-formyl-3,8-dimethylazulene ( <b>35</b> )	64
5.3.4. 5-Acetyl-1-chlor-3,8-dimethylazulene ( <b>37</b> )	65
5.3.5. 1-Chlor-5-hydroxymethyl-3,8-dimethylazulene ( <b>38</b> )	66
5.3.6. 5-(1-Acetoxyethyl)-1-chlor-3,8-dimethylazulene ( <b>39</b> )	68
5.3.7. 5-(1-Acetoxyethyl)-1-brom-3,8-dimethylazulene ( <b>40</b> )	69
5.3.8. 5-Acetoxyethyl-1-brom-3,8-dimethylazulene ( <b>41</b> )	70
5.3.9. 5-Acetoxyethylmethoxymethylen-1-chlor-3,8-dimethylazulene ( <b>42</b> )	71
5.3.10. 5-(2-Acetoxy-1-carbomethoxyethyl)-1-chlor-3,8-dimethylazulene ( <b>43</b> )	72
5.3.11. 5-(1,2-Diacetoxyethyl)-1-chlor-3,8-dimethylazulene ( <b>44</b> )	73
5.3.12. 5-Acetoxyethylmethoxymethylen-1-brom-3,8-dimethylazulene ( <b>45</b> )	74
5.4. Inhaltsstoffe von <i>Hymedesmia</i> sp.	76
5.5. Diskussion	78
5.5.1. Darstellung von Referenzsubstanzen	83
<b>6. Bromierte Tyrosinalkaloide aus <i>Aplysilla sulphurea</i> (SCHULZE)</b>	<b>84</b>
6.1. Einleitung	84
6.2. Isolierung und Identifizierung von bromierten Tyrosinalkaloiden	86
6.3. Flüchtige Komponenten des Dichlormethanextraktes	87

6.3.1.	Strukturaufklärung der Hautkomponente (82)	88
6.3.2.	Strukturvorschlag für 76	94
6.3.3.	Strukturvorschlag für 77	96
6.3.4.	Strukturvorschlag für 78	96
6.3.5.	Strukturvorschlag für 79	96
6.3.6.	Strukturvorschlag für 80	97
6.3.7.	Strukturvorschlag für 81	97
6.3.8.	Strukturvorschlag für 83	97
6.3.9.	Strukturvorschlag für 84	98
6.4.	Polare Komponenten im <i>n</i> -Butanolextrakt	99
6.4.1.	ESI-MS Untersuchungen	100
6.4.2.	APCI-MS Untersuchungen	104
6.4.3.	Isolierung und Identifizierung der Hauptkomponente des <i>n</i> -Butanolextraktes	109
6.4.4.	NMR-Diskussion der Hauptkomponente (89)	112
6.5.	Strukturvorschläge für unvollständig charakterisierte Spurenkomponenten	118
6.6.	Diskussion	119
<b>7.</b>	<b>(15Z)-Docosenal aus <i>Mycale lingua</i> (BOWERBANK)</b>	<b>124</b>
7.1.	Einleitung	124
7.2.	Bekannte Strukturen aus der Gattung <i>Mycale</i>	125
7.3.	Flüchtiges Inventar des Pentanextraktes	127
7.4.	Synthese von (15Z)-Docosenal (159)	132
7.5.	Diskussion	133
<b>8.</b>	<b>Über die Biologie und Chemie von Korallen</b>	<b>134</b>
<b>9.</b>	<b>Sesquiterpene aus <i>Primnoa resedaeformis</i> (GUNNERUS)</b>	<b>138</b>
9.1.	Einleitung	138
9.2.	Sesquiterpenoides Inventar von <i>P. resedaeformis</i>	140
9.2.1.	Isolierung und Identifizierung von zwei bekannten Kohlenwasserstoffen	143
9.3.	Strukturaufklärung des Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffs 200	145
9.4.	Oxygenierte Verbindungen aus <i>P. resedaeformis</i>	154
9.4.1.	Strukturaufklärung des Sesquiterpenalkohols 201	155
9.4.2.	Massenspektrum und NMR-Daten eines unbekanntes tricyclischen Sesquiterpenalkohols 202	166
9.4.3.	Strukturaufklärung des Sesquiterpenalkohols 203	169
9.4.4.	Strukturaufklärung des Sesquiterpenalkohols 204	177
9.4.5.	Strukturaufklärung des Acetates 205	183
9.5.	Diskussion	189
<b>10.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>191</b>
<b>11.</b>	<b>Summary</b>	<b>193</b>
<b>12.</b>	<b>Experimenteller Teil</b>	<b>195</b>
<b>13.</b>	<b>Sicherheitshinweise</b>	<b>205</b>
<b>14.</b>	<b>Literatur</b>	<b>211</b>



## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
abs.	absolut (wasserfrei)
APCI	atmospheric pressure chemical ionisation
arom.	aromatisch
br.	breit
BSTFA	<i>N,O</i> -bis-Trimethylsilyltrifluoracetamid
CI	chemische Ionisation
COSY	correlated spectroscopy
$\delta$	chemische Verschiebung
d	Dublett
DC	Dünnschichtchromatogramm; Dünnschichtchromatographie
dest.	destilliert
DMDS	Dimethyldisulfid
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EE	Essigsäureethylester
EI	Elektronenstoß-Ionisation
ESI	Elektrospray-Ionisation
Et	Ethyl
et al.	( <i>lat.</i> ) und weitere
EtOH	Ethanol
eV	Elektronenvolt
FD	Filmdicke
FID	Flammenionisationsdetektor
fl.	flüssig
FTIR	Fourier-Transform-Infrarot
GC	Gaschromatographie; Gaschromatogramm
ges.	gesättigt
ggf.	gegebenenfalls
HMBC	heteronuclear multiple bond correlation
HMQC	heteronuclear multiple quantum correlation
HPLC	high performance liquid chromatography
HR-MS	high resolution mass spectrometry (hochaufgelöste Massenspektrometrie)
HSQC	heteronuclear single quantum correlation
Hz	Hertz
ID	Innendurchmesser
INADEQUATE	incredible natural abundance double quantum transfer experiment
Int.	Intensität
<i>J</i>	Kopplungskonstante
KW	Kohlenwasserstoff
Lsg.	Lösung
m	Multipllett
m/z	Masse pro Ladung
Me	Methyl
MHz	Megahertz
MNNG	1-Methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidin

MS	Massenspektrum; Massenspektrometer
NMR	Kernmagnetische Resonanz
NOE	nuclear Overhauser enhancement
NOESY	nuclear Overhauser enhancement and exchange spectroscopy
Pd/C	Palladium auf Aktivkohle
PDC	Pyridiniumdichromat
PE	Petrolether
PENDANT	polarization enhancement during attached nucleus testing
Pos.	Position
Ph	Phenyl
q	Quartett
RIC	reconstructed ion chromatogramm
rt	retention time, Retentionszeit
s	Singulett
SCUBA	self contained underwater breathing apparatus
t	Triplett
Tab.	Tabelle
TFA	Trifluoressigsäure
TFAA	Trifluoressigsäureanhydrid
THF	Tetrahydrofuran
TIC	total ion current; Totalionenstromchromatogramm
TMCS	Trimethylchlorosilan
TMS	Tetramethylsilan
U/min	Umdrehungen pro Minute
UV	Ultraviolett

# 1. Einleitung

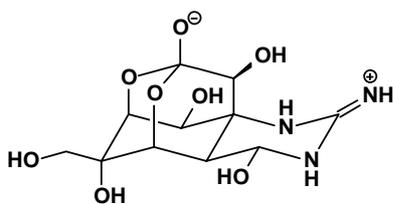
## 1.1. Historische Entwicklung

Menschen verwenden Naturstoffe bereits seit Jahrtausenden in Form von Pflanzen- und Tierextrakten zur Heilung von Krankheiten, für den täglichen Bedarf (Duftstoffe, Färbemittel) oder für die Jagd. Wissen über die medizinische Verwendung pflanzlichen Materials ist aus verschiedenen Kulturen überliefert und reicht weit in die vorchristliche Zeit zurück.

Seit Anfang des 19. Jahrhunderts sind die terrestrische Flora und Fauna Gegenstand chemischer Untersuchungen; die Hauptzahl der bis heute bekannten Naturstoffe stammt aus diesem Bereich.

Das marine Habitat (Halobios) galt im Gegensatz dazu bis in die 50er und 60er Jahre des letzten Jahrhunderts als chemisch nahezu unerforscht.

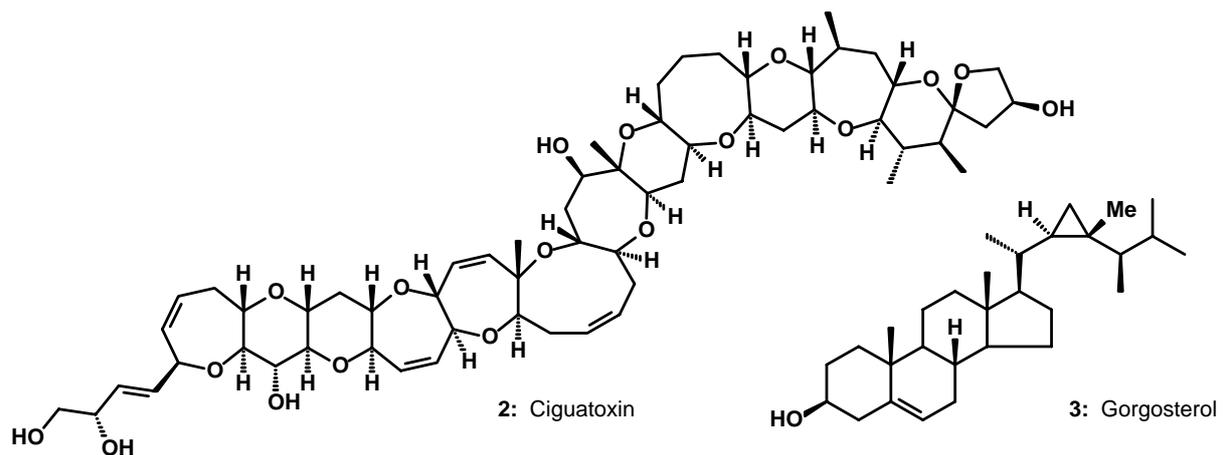
Wie bei den terrestrischen Quellen ist das Wissen über die pharmazeutische Wirksamkeit oder die Verwendung von marinen Substanzen bzw. Mischextrakten für den täglichen Gebrauch überliefert und dokumentiert. So wurde z. B. den *Actinarien* (Seerosen) eine verdauungsfördernde Wirkung zugeschrieben. Purpur (aus Purpurschnecken) und Sepiaschwarz (aus Tintenfischen) wurden für die Herstellung von Färbemitteln und Tinten verwendet.



**Abbildung 1:** Tetrodotoxin (1) aus dem Kugelfisch

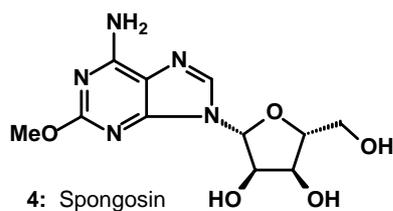
Die toxischen Eigenschaften der Kugelfische oder das Auftreten der „Red Tide“ („Algenblüten“; die explosionsartige Vermehrung von Dinoflagellaten) sind seit dem Altertum bekannte Phänomene, die erhebliche Risiken für Mensch und Tier darstellen. In beiden Fällen werden von den Organismen Toxine produziert, die über die Nahrungskette in

den menschlichen oder tierischen Organismus gelangen und schwere Vergiftungen hervorrufen können. Erst in den vergangenen Jahrzehnten wurde mit der Isolierung und Identifizierung von Tetrodotoxin (1) aus Kugelfischen (Abbildung 1) und den von verschiedenen Dinoflagellaten-Arten<sup>1,2</sup> produzierten Polyethern wie Ciguatoxin (2) (Abbildung 2) Ursachen für diese Vergiftungen enträtselt.



**Abbildung 2:** Ciguatoxin (2) aus den Dinoflagellaten *Gymnodinium breve* bzw. *Gambierdiscus toxicus* und das bereits 1943 aus einer Koralle isolierte Gorgosterol (3)

Vereinzelte, zu Beginn des letzten Jahrhunderts erschienene Publikationen, die sich mit der Isolierung von Steroiden aus marinen Schwämmen beschäftigten, sind bekannt.<sup>3,4</sup> 1943 folgte die Isolierung von Gorgosterol (3) (Abbildung 2) aus einer Koralle<sup>5</sup> und in den 50er Jahren



die Identifizierung erster Alkaloide wie Spongiosin (4) und Spongothymidin aus dem Schwamm *Cryptotethia crypta*.<sup>6</sup> Mit der Entwicklung und Einführung der SCUBA-Tauchtechnologie in den 1960er Jahren begann ein rasanter Aufschwung der marinen Naturstoffforschung, da sie den

Forschern die Meere für die Suche nach neuen Verbindungen und Leitstrukturen mit unbekanntem biologischem und pharmazeutischem Potential öffnete.

Einen ersten Durchbruch erzielten 1969 Weinheimer und Spraggins, die in der Koralle *Plexaura homomalla* Prostaglandine entdeckten, die für die pharmazeutische Industrie auch heute noch wichtige Produkte darstellen.<sup>7</sup>

Bis in die 80er Jahre des vorigen Jahrhunderts wurde zwar eine Vielzahl neuer Strukturen identifiziert, doch erreichten diese meist nicht den Status eines neuen potentiellen Pharmazeutikums. Dieses Bild hat sich in den letzten 20 Jahren weitgehend geändert. Durch die sprunghafte Entwicklung neuer analytischer Techniken (NMR, HPLC/MS) sowie ausgereifter Testmethoden (High Throughput Screening - HTS) können heute biologisch aktive Substanzen sehr schnell im Screeningverfahren erkannt und auch in immer geringeren Mengen isoliert und strukturell bestimmt werden.

## 1.2. Die Vielfalt mariner Naturstoffe

Die Erdoberfläche ist von mehr als 70 % Wasser bedeckt und weist eine Vielzahl unterschiedlicher Lebensräume auf.<sup>8</sup> Hinzu kommt, dass der Wasserkörper über dem Meeresgrund (bis zu 10.000 Meter tief) im Gegensatz zum Luftraum in allen Zonen besiedelt ist. Die Tiefsee ist bis heute so gut wie unerforscht und Lebensraum vieler bisher nicht bekannter Tierarten. Über 80 % der Tiere sind Meeresbewohner.<sup>9</sup> In den Ozeanen liegt die höchste Artenvielfalt vor. Dort existieren Organismen fast aller Stämme, wobei 15 von ihnen ausschließlich im Meer zu finden sind. Über die Jahrtausende haben sich diese Lebewesen an ihre z. T. extremen Lebensräume durch verschiedenste Strategien angepasst.

Hinzu kommt, dass sich die Bedingungen in marinen grundlegend von terrestrischen oder limnischen Systemen unterscheiden. Die chemischen und physikalischen Eigenschaften des Meerwassers erfordern eine andere Adaption der Lebewesen an ihre Umgebung, da marine Organismen extremen Unterschieden in Druck (der hydrostatische Druck steigt alle 10 m um 1 bar), Temperatur ( $-1.5\text{ °C} < T < 300 - 400\text{ °C}$  (geothermale Quellen)), Salinität (0.1 - 4 %), pH-Wert und unterschiedlichen Lichtverhältnissen ausgesetzt sind.<sup>10</sup>

Die Konzentrationen im Meerwasser gelöster Halogenide nimmt von Chloriden (ca. 0.5 M) über Bromide (ca. 1 mM) zu Iodiden (ca. 1  $\mu\text{M}$ ) hin ab. Dagegen nehmen die Oxidationspotentiale ( $X^- \rightarrow X^\bullet + e^-$ ) in umgekehrter Reihenfolge zu. In marinen Sekundärmetaboliten sind daher bromierte Verbindungen häufig anzutreffen, die durch entsprechende Enzyme (Haloperoxidasen) inkorporiert werden.<sup>11,12,13</sup> Daraus resultiert, dass über die Hälfte von 3200 natürlich bekannten Organohalogenverbindungen Brom enthalten.<sup>14</sup>

Daher ist nicht verwunderlich, dass gerade in sessilen (festsitzenden), marinen Invertebraten (Wirbellose) wie z. B. Schwämme, Nesseltiere, Moos- und Manteltierchen, Seescheiden oder Algen die größte Anzahl und Diversität an marinen Naturstoffen gefunden wird. Ursache dafür sind chemische Verteidigungsstrategien, die die Organismen im Laufe der Evolution entwickelt haben, um das Überleben ihrer Art zu sichern.

Bis heute wurden mehr als 7000 Verbindungen marinen Ursprungs isoliert. Viele weisen keinerlei Strukturanalogien zu terrestrischen Naturstoffen auf.<sup>15</sup> Sie enthalten z. T. ungewöhnliche Substrukturen oder funktionelle Gruppen sowie Halogensubstituenten. Weiterhin sind komplexe Terpenoide, Makrocyclen, Alkaloide und Peptide identifiziert worden. Die Letztgenannten zeichnen sich vielfach durch ausgefallene Aminosäuren aus.<sup>16</sup>

Mittlerweile werden insbesondere auch marine Bakterien und Pilze als Produzenten pharmakologisch interessanter Wirkstoffe untersucht.

### 1.3. Marine Naturstoffe in der Pharmaforschung

Die Evolution hat eine Vielzahl neuer Leitstrukturen hervorgebracht, die umfangreiche biologische Informationen tragen und beispielsweise als Pharmazeutika eingesetzt werden bzw. als Vorlage für synthetische Derivate dienen können. Wegen ihrer komplexen Strukturen sind Totalsynthesen häufig nur von akademischem Wert, so dass man sich bis heute ihrer natürlichen Quellen bedient (nachwachsende Rohstoffe).

Es wurden bisher Substanzen mit ganz unterschiedlichen Wirkungsspektren isoliert, die sich vor allem durch ihre fungiziden, antiviralen, nematiziden, antibakteriellen, antiinflammatorischen, zytotoxischen und immunsuppressiven Eigenschaften auszeichnen.<sup>17,18</sup>

Hier soll ein kurzer Überblick über die wichtigsten marinen Naturstoffe gegeben werden, die sich derzeit in den klinischen Studienphasen I, II und III befinden. Diese Wirkstoffe durchlaufen auf ihrem Weg zur Arzneimittelzulassung und Markteinführung fünf verschiedene klinische Studienphasen. Dabei werden wirksame Substanzen nach der präklinischen Phase (Tierversuch) in den Phasen I und II einer Verträglichkeitsprüfung am Menschen in verschiedenen Dosierungen unterzogen. In Phase III wird der Nachweis über die Wirksamkeit und Unbedenklichkeit durchgeführt. Vor der Markteinführung erfolgt in Phase IV die Prüfung auf Wirksamkeit und Unbedenklichkeit unter therapeutischen Routinebedingungen.<sup>19</sup>

Zu diesen Stoffen gehören u. a. (s. Abbildung 3):

- **Bryostatin 1 (5)**

Bryostatin 1 (5) (aus Bryozoen, Moostierchen) wurde 1981 von der Arbeitsgruppe Pettit als das erste Polyketid, ein 20-gliedriges Macrolacton, aus *Bugula neritina* isoliert.<sup>20</sup> Es besitzt eine breite Antitumorwirkung, fördert die Bildung roter Blutkörperchen und zeigt antineoplastische Eigenschaften. Eine Wirkung gegen das HI-Virus wird nicht ausgeschlossen. Es befindet sich in der klinischen Phase II.

- **Ecteinascidin 743 (6)**

Aus der Tunikate (Manteltierchen) *Ecteinascidia turbinata* wurde das Tetrahydroisochinolinalkaloid Ecteinascidin 743 (6) isoliert<sup>21</sup>, das zur Therapie bei Weichteilsarkomen eingesetzt wird und sich derzeit in der klinischen Phase II befindet.

- **Halichondrin B (7)**

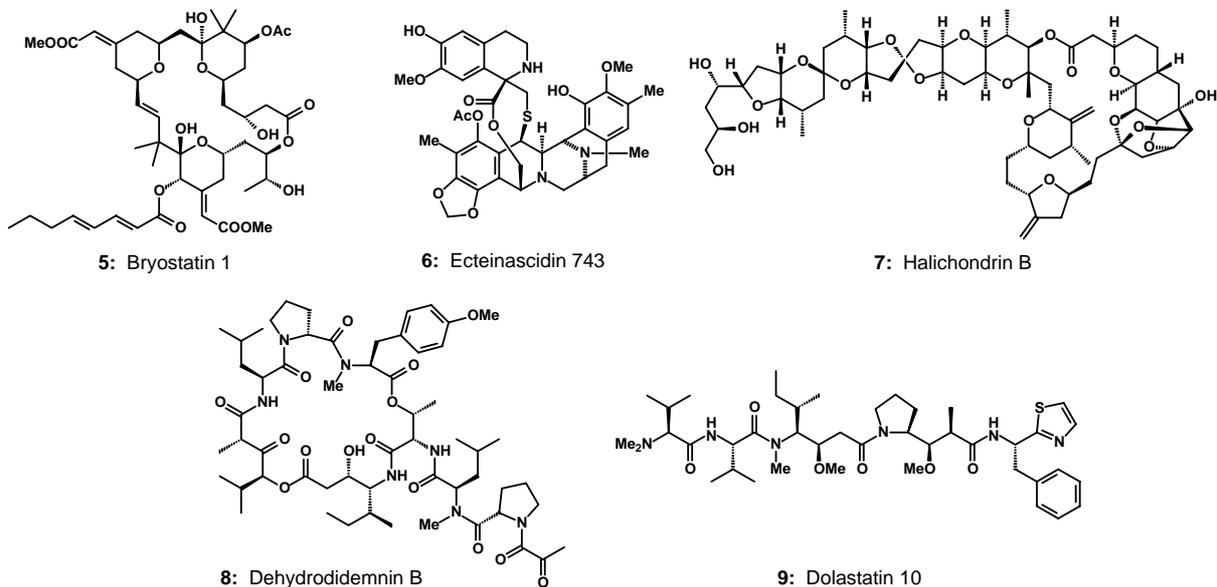
Halichondrin B (7) wurde ursprünglich aus dem Schwamm *Halichondria okada* isoliert.<sup>22</sup> Dabei handelt es sich um ein makrolides Polyetherlacton mit starker Antitumorwirkung. 7 wird heute entweder synthetisch hergestellt<sup>23</sup> oder in Aquakulturen aus dem Tiefseeschwamm *Lissodendoryx* sp. gewonnen.<sup>24</sup> Dieser zeichnet sich einerseits durch seine beträchtlichen Wachstumsraten aus<sup>25</sup> und andererseits produziert er quantitativ ein Vielfaches an Halichondrinen als vergleichbare *Halichondria*-Arten.<sup>26</sup>

- **Dehydrodidemnin B (Aplidin) (8)**

Im Gegensatz zu Didemnin B aus *Trididemnum solidum*<sup>27</sup>, das aus toxischen Gründen aus klinischen Studien genommen wurde, ist das Aplidin (8) aus *Aplidium albicans* weit weniger giftig, dafür aber fünf- bis siebenmal wirksamer gegen verschiedene Krebsarten. 8 befindet sich bereits in klinischen Studien der Phasen I und II.

- **Dolastatin 10 (9)**

Aus der Muschel *Dolabella auricularia* ist das gegen fortgeschrittene Melanome wirksame Dolastatin 10 (9) isoliert worden.<sup>28,29</sup>



**Abbildung 3:** Eine Auswahl der wichtigsten, z. Zt. in der klinischen Erprobung befindlichen marinen Naturstoffe.

Es zeigt sich, dass marine Naturstoffe ihr Hauptanwendungsgebiet in der medizinisch-pharmazeutischen bzw. kosmetischen Industrie finden. Trotz hoher Risiken in der Entwicklung neuer Medikamente (Kosten- und Zeitfaktor) scheint die Zukunft viel versprechend, da sich zum einen zahlreiche potentielle Wirkstoffe in der klinischen Testphase auf dem Weg zum marktreifen Medikament befinden und zum anderen bis heute viele Geheimnisse des Meeres noch unentdeckt sind.

Es sind aber auch schon marine Naturstoffe kommerziell erhältlich. Die Produkte Ara-A und Ara-C, isoliert aus dem marinen Schwamm *Cryptotethia crypta*, werden als antiviral wirksame Medikamente eingesetzt. Die Okadainsäure sowie das Manoalid werden in geringen Mengen für neurologische Zwecke vertrieben.

Die breite Anwendbarkeit mariner Naturstoffe als Pharmazeutika, Nahrungsmittelzusätze, Antifoulingwirkstoffe, Enzyme oder Kosmetika sowie die Verwendung biomolekularer Materialien ist durch die begrenzte Verfügbarkeit mariner Makroorganismen (Schwämme, Bryozoen etc.) beschränkt. Wie bereits erwähnt, sind aufgrund der Komplexität biologisch aktiver Substanzen die Möglichkeiten eines synthetischen Zugangs aus Zeit- und Kostengründen deutlich beschränkt.

## 1.4. Chemische Ökologie

Sekundärmetabolite spielen für Organismen eine lebensnotwendige Rolle. Bis heute ist über deren ökologische Bedeutung wenig bekannt. Man geht aber davon aus, dass sie entweder von den Organismen selbst oder von symbiontisch lebenden Mikroorganismen produziert werden.

Im Gegensatz zum terrestrischen Bereich, in dem die chemische Ökologie bereits seit längerer Zeit ein etabliertes Forschungsgebiet darstellt, ist sie auf dem marinen Sektor noch wenig entwickelt, da aufgrund der Schwierigkeiten bei Biotests im Wasser bisher nur vereinzelnde Ergebnisse erzielt worden sind.

Sekundärmetabolite mariner Invertebraten haben ebenfalls ökologische Funktionen, meist den von Wehrsubstanzen, mit denen sessile Tiere ihr Überleben sichern.<sup>30,31</sup>

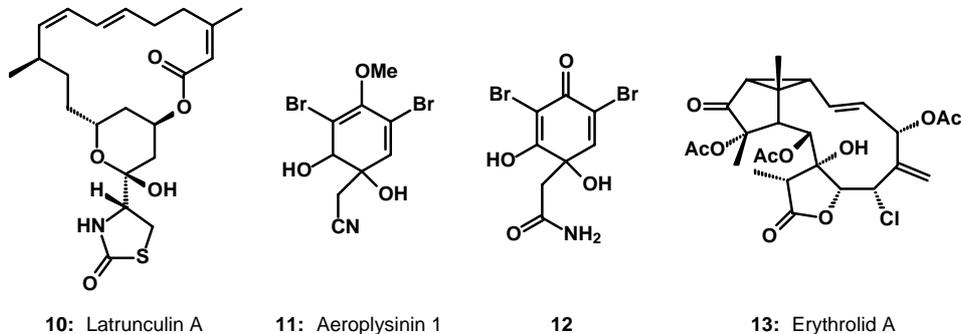
Es gibt verschiedene Gründe für die Produktion von Sekundärmetaboliten:

- Abwehr gegen Fraßfeinde wie Schnecken oder Fische (Repellentien)
- Mikroorganismen wie Bakterien, Pilze oder Viren können am Wachstum und der Vermehrung gehindert werden (Antifouling)
- Inter- oder intraspezifische chemische Kommunikation in Form von Pheromonen, Kairomonen, Allomonen etc.
- Schutzfunktion vor ultravioletter Strahlung im photischen Bereich<sup>30</sup>

Die Hauptrolle der chemischen Verteidigung mariner Invertebraten durch Sekundärmetabolite spielt der Schutz gegen Fraßfeinde. Aus den verschiedensten Organismen sind Beispiele für eine chemische Abwehr dokumentiert, wobei Verbindungen der unterschiedlichsten Stoffklassen eine Rolle spielen (Terpene, Alkaloide etc.).

Beispielsweise setzt sich der im Roten Meer beheimatete Schwamm *Latrunculia magnifica* bei Fraßangriffen durch Fische mittels Abgabe eines auf Fische toxisch wirkenden Sekretes zur Wehr (Ichthyotoxizität), das u. a. das makrocyclische Lacton Latrunculin A (**10**) enthält<sup>32</sup>. Schwämme der Ordnung Verongida sind Quelle einer Vielzahl bromierter Sekundärmetabolite, die sich vom Bromtyrosin ableiten. Eine wichtige Antifraß-Wirkung zeigen z. B. Aeroplysinin 1 (**11**) und ein davon abgeleitetes Dienon (**12**) aus *Verongia aerophoba*.<sup>33</sup>

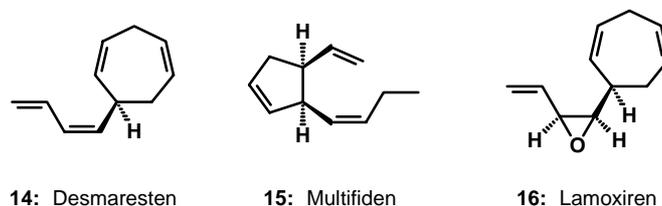
Auch Korallen müssen sich gegen Fraßfeinde durchsetzen. Das gelingt z. B. der karibischen Oktokoralle *Erythropodium caribaeorum* gegen im Riff lebende Fische mit der Produktion chlorhaltiger Diterpene (z. B. Erythrolid A (**13**)).<sup>34</sup>



**Abbildung 4:** Unterschiedliche aus marinen Invertebraten isolierte Repellentien, die eine Antifraßwirkung auf Predatoren ausüben.

Im Gegensatz zu den Fraßinhibitoren sind im Zusammenhang mit einer Pheromon-Funktion bis heute nur wenige Naturstoffe in Erscheinung getreten, was mit den deutlich schwerer durchführbaren Biotests zusammenhängt.

Bei der geschlechtlichen Reproduktion von Braunalgen hat eine Reihe von ungesättigten Kohlenwasserstoffen bzw. deren Epoxide Pheromonfunktion. Dabei handelt es sich beispielsweise um das sog. Desmaresten (**14**), Multifiden (**15**) oder Lamoxiren (**16**).<sup>35,36</sup>

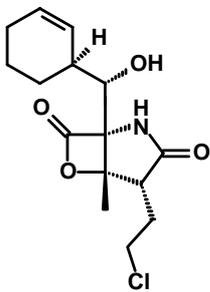


**Abbildung 5:** Desmaresten (**14**) aus *Desmarestia aculeata*, Multifiden (**15**) aus *Cutleria multifida* und Lamoxiren (**16**) aus *Laminaria digita*, die bei der chemischen Kommunikation von Braunalgen eine Rolle spielen.

## 1.5. Ausblick

Es hat sich gezeigt, dass die für die Pharmaindustrie relevanten Naturstoffe in marinen Organismen nur in äußerst geringen Konzentrationen vorliegen. Für deren Vermarktung müssten daher sehr große Mengen tierischen oder pflanzlichen Materials „geerntet“ werden, was einen massiven Raubbau oder ein potentiell Aussterben bestimmter Lebensformen zur Folge hätte. Abhilfe kann dabei z. B. das Aquafarming schaffen, bei dem z. B. gezielt Schwämme zur Vermehrung gehältert und je nach Bedarf verarbeitet werden können.

Hinzu kommt, dass in den letzten Jahren neue zusätzliche Forschungsgebiete bzw. Habitate durch die marine Naturstoffforschung erschlossen wurden. So konnte die



Existenz von obligat marinen Actinomyceten (*Salinospora*), von der Gruppe W. Fenical anhand ihres Genoms als neue Gattung mariner Bakterien nachgewiesen werden. *Salinospora* wurden aus Sedimentproben, welche in tropischen Gewässern vor den Bahamas in über 1000 m Wassertiefe entnommen werden, isoliert. Obwohl deren Kultivierung lange Zeit als unmöglich angesehen wurde, gelang deren Anzucht auf marinen Nährmedien. Sie wurden schnell als potente Naturstoffproduzenten, z. B. der Salinosporamide (Salinosporamid A (**16a**)), erkannt.<sup>37,38</sup>

Mittlerweile mehren sich die Anzeichen, dass nicht marine Makro-, sondern symbiontisch lebende Mikroorganismen für die Produktion der relevanten Sekundärmetabolite verantwortlich sind, da strukturverwandte Verbindungen aus sehr unterschiedlichen Organismen isoliert wurden.

Es müssen daher in Zukunft schwammassoziierte Mikroorganismen oder andere Symbionten als Quelle bioaktiver Naturstoffe in den Mittelpunkt der Forschung gerückt werden. Im Gegensatz zu Invertebraten ist die Isolierung und Kultivierung zusätzlich mit großen Problemen behaftet, so dass bei deren Anzucht neue Wege beschritten werden müssen.

Wahrscheinlich wird in Zukunft der Ansatz verfolgt, die für die Produktion der aktiven Sekundärmetabolite verantwortlichen Gensequenzen in den marinen Mikroorganismen zu identifizieren und in leichter kultivierbare Organismen (*E. coli*) zu transferieren.<sup>39</sup> Die gezielte Produktion der gewünschten Naturstoffe kann dann in unterschiedlichen Ansätzen in Bioreaktoren erfolgen.

## 2. Aufgabenstellung

Der Fokus der marinen Naturstoffchemie liegt heute auf der Erforschung von Wirbellosen in tropischen und subtropischen Habitaten, wohingegen Untersuchungen von Inhaltsstoffen von Schwämmen, Korallen und anderer Invertebraten aus borealen Gewässern erst am Anfang stehen.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten Schwämme und Korallen aus Norwegen auf neue Naturstoffe hin untersucht werden. Dafür wurde zum einen Probenmaterial vom Sula-Rücken, einem Korallenriff vor der norwegischen Westküste, und zum anderen aus Fjorden in der Nähe von Bergen aus unterschiedlichen Tiefenzonen gesammelt. Dabei bildeten drei bzw. vier Schwammarten verschiedenster Gattungen sowie eine Koralle den Mittelpunkt der chemischen Untersuchungen.

Auf dem Weg zur isolierten Reinsubstanz waren eine Reihe Arbeitsschritte nötig, bei dem im ersten Schritt die Extraktion der Tiere erfolgte. Bei den unterschiedlichen Extraktionsschritten sollte zudem gleichzeitig darauf geachtet werden, ein möglichst breites Naturstoffspektrum für die anschließende chemische Analytik zu erfassen.

Der Extraktion war ein sog. Screening angeschlossen, bei dem durch unterschiedliche analytische Methoden ein Überblick über die Art und Quantität der Inhaltsstoffe gewonnen wurde. Für die Extraktion und die Analytik sollten geeignete Verfahren erprobt und etabliert werden.

Bei Hinweisen auf interessante Verbindungen durch spezielle Voruntersuchungen, sollten diese sukzessiv durch weitere geeignete Aufreinigungsschritte möglichst als Reinsubstanz gewonnen werden. Liegt diese Verbindung in ausreichenden Mengen vor, kann deren Struktur mit Hilfe verschiedener analytischer Methoden (z. B. NMR-Spektroskopie oder Massenspektrometrie) aufgeklärt werden.

Dabei sollte neben den analytischen Messmethoden auch auf geeignete Mikro- und Derivatisierungsreaktionen zurückgegriffen und ggf. die Struktur der jeweiligen Zielverbindung durch eine Teil- oder vollständige Synthese bestimmt werden.

Der Ergebnisteil der vorliegenden Arbeit ist in vier Abschnitte gegliedert, die die Identifizierung neuer Naturstoffe aus drei verschiedenen Schwämmen und einer Koralle beschreiben.

### 3. Materialien und Methoden

Im Rahmen des durch das BMBF geförderten BOSMAN-Projektes (BOSMAN = **B**oreale Schwämme als **M**arine Naturstoffquelle) wurden im Sommer 1999 bei einer Ausfahrt mit dem Forschungsschiff FS „POSEIDON“ und dem bemannten Tauchboot „JAGO“ (s. Abbildung 6\*) Schwämme vom Sula-Rücken am mittelnorwegischen Tiefschelf gesammelt.



**Abbildung 6:** Bemanntes Tauchboot „JAGO“ an Bord des FS „POSEIDON“ für die Beprobung am Sula-Rücken.

Der Sula-Rücken (ca. 64°N, 8°E) ist Teil des nord-europäischen Schelfhangs, der sich von der iberischen Halbinsel bis zum nordnorwegischen Tiefschelf erstreckt. Er liegt ca. 80 km vor Trondheim (s.

Abbildung 7\*) in 250 bis 320 m Wassertiefe und wird durch eines der größten bekannten Tiefwasserkorallenriffe im Nordostatlantik gebildet (Länge: 13 km, Breite 0.3 km, rel. Höhe: 15 bis 35 m).<sup>40,41,42,43</sup>

Die Kaltwasserkoralle *Lophelia pertusa* stellt den Hauptriffbildner am Sula-Rücken. Sie ist in der Lage, ihr Kalkskelett ohne Beteiligung photosynthetischer, endodermaler Mikrobionten aufzubauen, was dazu führt, dass *L. pertusa* in

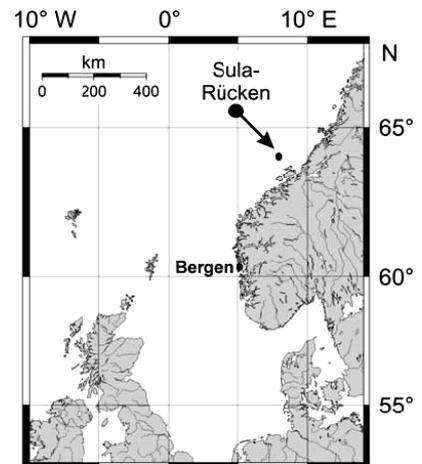


**Abbildung 8:** Dreiecks-Dredsche für die Probenahme im Korsfjord.

allen Weltmeeren und besonders im Nordatlantik in Wassertiefen von 250 bis 500 m (aphotisch) anzutreffen ist.<sup>43,44,45</sup>

Eine weitere Probenahme fand im Herbst 2001 im Korsfjord bei Bergen, Norwegen (60°09'12''N, 05°08'52''E) bei drei Ausfahrten statt. Dabei wurde umfangreiches Schwamm- und Korallenmaterial mit Hilfe einer Dreiecks-Dredsche dem örtlichen Fjord entnommen (s. Abbildung 8\*).

Diese Probenahme wurde durch die Europäische Union in Form des IHP (Improving Human Research Potential; Contract No. HPRI-CT-1999-00056) gefördert.



**Abbildung 7:** Lage des Sula-Rückens und des Korsfjords bei Bergen in Norwegen.

\* Bildmaterial: Koordination (Prof. Dr. W. Michaelis, Dr. T. Pape) des Verbundprojektes BOSMAN

Mit dem bemannten Unterseeboot „JAGO“ kann die Probennahme gezielt videoüberwacht und ferngesteuert mit einem Greifarm erfolgen. Eine Beschädigung des Korallenriffes wird dadurch weitestgehend vermieden. Das Dredschen ist dagegen weniger schonend. Die Triangel wird an den Fjordwänden hinter dem Schiff hergezogen und reißt die festsitzenden Tiere und Pflanzen (Schwämme, Korallen, Algen etc.) in den Fangkorb.

Aufgrund der modernen Fischfangmethoden mit Trawlern sowie großen, bis an den Meeresboden reichenden Schleppnetzen sind vielerorts Korallenriffe bereits stark beschädigt oder vollständig zerstört worden. Das Dredschen wurde nur dreimal durchgeführt, da danach ausreichend Probenmaterial zur Verfügung stand. Es stellte sich heraus, dass sich das Probeninventar vom Sula-Rücken mit dem des Korsfjords größtenteils deckte.

Bei der Korsfjord-Beprobung wurden zunächst die Proben taxonomisch durch Frau Dr. Friederike Hoffmann und Herrn Dr. Hans Tore Rapp bestimmt, in Wasserbehältern aufbewahrt und anschließend zur weiteren Verwendung bei - 25 °C tief gefroren.

Da marine Invertebraten ein umfangreiches Spektrum an Sekundärmetaboliten enthalten, muss, bevor die Isolierung und Identifizierung von Reinsubstanzen erfolgen kann, ein geeignetes Extraktions- und Aufarbeitungsverfahren angewendet werden, bei dem in wenigen Schritten der Großteil der enthaltenen Naturstoffe zugänglich wird. Dieses Verfahren sollte reproduzierbare Ergebnisse liefern und zu möglichst geringer Artefaktbildung führen.

In der Literatur zur marinen Naturstoffforschung sind u. a. die unterschiedlichen, klassischen Aufarbeitungsmethoden beschrieben worden. Es handelt sich dabei um mehr oder weniger schonende Verfahren (z. B. Gefriertrocknung, Soxhlett-Extraktion).

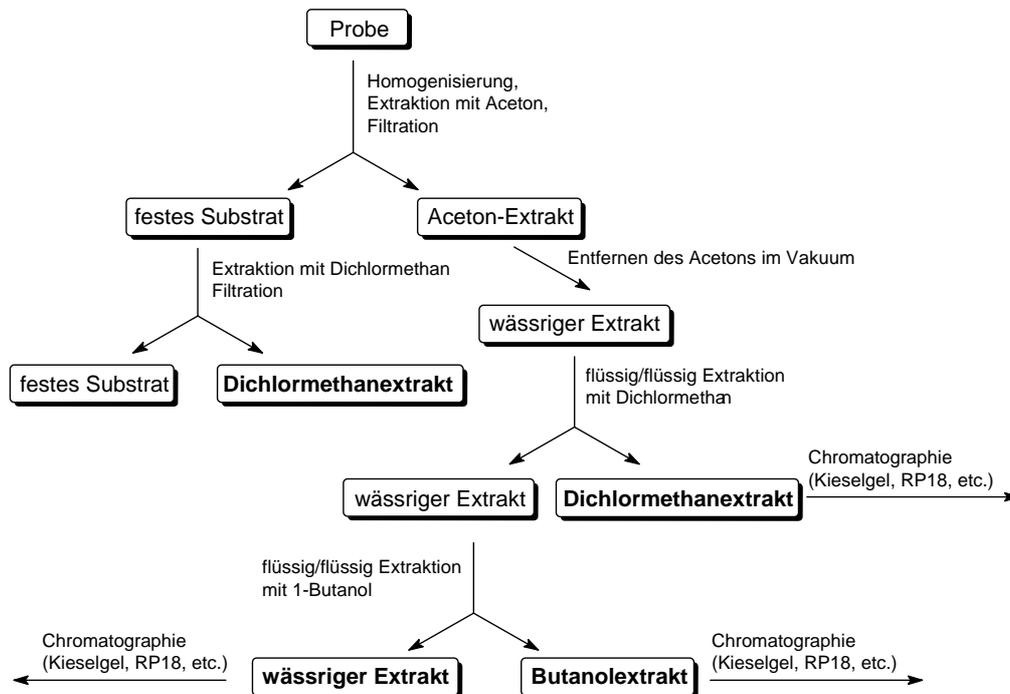
Obwohl marine Invertebraten ein erhebliches Maß Wasser enthalten, das bei der Analytik von Naturstoffen als störender Faktor auftritt, wird im Rahmen dieser Arbeit ein von Sölter entwickeltes Extraktionsverfahren angewendet (Abbildung 9), bei dem im ersten Extraktionsschritt die Naturstoffe gemeinsam mit dem in den Proben enthaltenen Wasser extrahiert werden.<sup>46</sup>

Für diesen ersten Extraktionsschritt wird Aceton gewählt, das ein breites Polaritätsspektrum von Naturstoffen erfasst, chemisch relativ inert ist und leicht aus dem Wasser entfernt werden kann. Es wird von nassem, tief gefrorenem Probenmaterial ausgegangen, das bereits in Gegenwart des Lösungsmittels homogenisiert wird.

Nach der Extraktion wird das Aceton im Vakuum entfernt und die wässrige Phase anschließend in mehreren Flüssig-Flüssig-Extraktionsschritten mit Lösungsmitteln extrahiert,

welche nicht mit Wasser mischbar sind und unterschiedliche Polarität aufweisen, wie Pentan, Ethylacetat oder Dichlormethan.

Im letzten Schritt wird zur Abtrennung polarer Komponenten der zuvor erhaltene wässrige Extrakt wiederum mit einem mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmittel (1-Butanol) extrahiert.



**Abbildung 9:** Extraktionsschema zur Herstellung von Extrakten aus marinen Invertebraten

Abbildung 9 zeigt das Extraktionsschema für die Aufarbeitung der in dieser Arbeit verwendeten Invertebraten. Die gewonnenen Extrakte werden primär durch chromatographische Methoden getrennt. Neben diesem Verfahren wird auch die zur Aufarbeitung von pflanzlichem Material genutzte Wasserdampfdestillation angewendet.

Ein Screening der leichtflüchtigen Komponenten erfolgt durch die Kopplung von Gaschromatographie und Massenspektrometrie (GC-MS), welche die direkte Analyse von Substanzgemischen erlaubt.

Mit Hilfe massenspektrometrischer Daten und/oder dem elektronischen Abgleich von Bibliothekseinträgen kann einer Substanz eine Struktur zugeordnet werden. Reichen die so gewonnenen Daten nicht für einen eindeutigen Beweis aus, kann deren Struktur auf zwei unterschiedlichen Wegen aufgeklärt werden. Eine Variante stellt die Isolierung der betreffenden unbekanntes Substanz und deren Strukturaufklärung z. B. mittels Kernresonanzspektroskopie dar. Andererseits kann ein indirekter Strukturbeweis durch Synthese dieser

Verbindung mit anschließendem Vergleich der Retentionszeiten und Massenspektren mit der jeweiligen Naturprobe erfolgen.

Um weitere Informationen über flüchtige Verbindungen zu erhalten, besteht die Möglichkeit der chemischen Ionisation der durch Gaschromatographie aufgetrennten Verbindungen, um deren Molmasse zu bestimmen. Weiterhin kann durch hochauflösende Massenspektrometrie durch Zuführung einer Referenzsubstanz (PFK, Perfluorkerosin) die elementare Zusammensetzung des Molekülions sowie die von Tochterionen bestimmt werden.

Bei polaren Extrakten treten wegen der geringen Flüchtigkeit der enthaltenen Substanzen Probleme auf, so dass eine gaschromatographisch-massenspektrometrische Untersuchung nur nach vorheriger Derivatisierung (z. B. Acetylierung, Silylierung, Methylierung) sinnvoll erscheint. Eine andere Methode, polare, nicht flüchtige Komponenten zu untersuchen ist die Kopplung von Flüssigkeitschromatographie und Massenspektrometrie (LC-MS oder HPLC-MS), wobei der Vorteil dieser Methode darin besteht, dass im Gegensatz zur GC-MS-Methodik z. B. wässrige Extrakte direkt vermessen werden können. Im Unterschied zur GC-MS (EI) erfolgt bei der Flüssigchromatographie die Ionisation durch Elektrospray (ESI) oder APCI (atmospheric pressure chemical ionisation) und liefert nur Molekülionen. Es besteht die Möglichkeit, sowohl im positiven als auch im negativen Ionisationsmodus zu messen. Zusätzlich kann mit Hilfe einer Ionenfalle eine nachträgliche Fragmentierung der detektierten Molekülionen durchgeführt werden.

Die Zuführung des Analyten oder eines Substanzgemisches zur Ionisationsquelle kann auf zwei unterschiedlichen Weisen erfolgen. Die eine Variante enthält eine vorgeschaltete HPLC-Apparatur, die eine Fraktion aus mehreren Substanzen unter geeigneten Bedingungen vorzutrennen vermag und anschließend die aufgetrennten Einzelsubstanzen ionisiert und detektiert. Bei der anderen Methode erfolgt die Zuführung eines Extraktes oder bereits anderweitig vorgetrennter Fraktionen mittels Spritzenpumpe zur Ionisationsquelle. Analog zur GC-MS kann bei dem verwendeten LC-MS-Gerät (Sektorfeld-Ionenfallen-MS-MS-Kopplung) durch Zusatz geeigneter Standards (Polyethylen- oder Polypropylenglycol) die Summenformel von Molekülionen bestimmt werden. Mit Hilfe dieser Methode können vorab massenspektrometrische Informationen über die einzelnen Komponenten gewonnen werden, deren Gehalt aber letztendlich für die Strukturaufklärung einer wissenschaftlich neuen Substanz nicht ausreicht.

Zur präparativen Trennung der Extrakte wurden die gängigen chromatographischen Verfahren (Normaldruck- und Flash-Chromatographie) an Normalphasen, modifizierten Kieselgelen

(RP18, Aminopropyl) oder Sephadex LH-20 sowie die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) an modifizierten Kieselgelen (RP18 und Aminopropyl) angewendet.

Die Strukturaufklärung erfolgte mittels NMR-Spektroskopie, anhand einer Reihe ein- und zweidimensionaler Experimente, über die an dieser Stelle ein kurzer Überblick gegeben werden soll:

1D-Experimente:  $^1\text{H}$ -NMR

$^{13}\text{C}$ -NMR (PENDANT-, Breitband entkoppelte sowie DEPT-Spektren)

2D-Experimente:

$^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY      Kopplungen benachbarter Protonen ( $^2J$ - oder  $^3J$ -Kopplungen) sowie weitreichende  $^4J$ -Kopplungen (Allyl- und W-Kopplungen)

$^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -COSY      zeigt die direkte Kopplung ( $^1J$ -Kopplung) zwischen einem Proton und seinem unmittelbar gebundenen Kohlenstoffatom

HMQC/HSQC      liefern identische Informationen wie das  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -COSY-Spektrum, sind aber protonensensitiv, was von Vorteil ist, wenn Substanzmengen vorliegen, die nicht für  $^{13}\text{C}$ -Experimente ausreichen

HMBC      protonensensitives, heteronukleares NMR-Experiment, das die  $^2J$ - und  $^3J$ -Kopplungen (teilweise auch weiter entfernte Kopplungen) von Protonen mit Kohlenstoffatomen in seiner chemischen Umgebung detektiert

NOESY      homonukleares 2D-NMR-Experiment, das Kopplungen aufgrund des durch den Raum wirkenden Kern-Overhauser-Effekts von miteinander wechselwirkenden Protonen zeigt

## 4. Über die Biologie von Schwämmen<sup>47,48,49</sup>

Schwämme (Porifera) sind die primitivsten, multizellulären Tiere. Sie existieren bereits seit ungefähr 600 Millionen Jahren und sind heute in allen aquatischen Lebensräumen anzutreffen, von marinen Flachwassergebieten bis in tiefste Ozeangraben. Schätzungen gehen von etwa 8000 Arten aus, die bis auf wenige Süßwasserschwämme alle in marinen Bereichen leben.

Die Porifera werden in drei gut von einander unterscheidbare Gruppen unterteilt: die Hexactinellida (Glasschwämme), die Calcarea (Kalkschwämme) und die Demospongiae.

Schwämme sind sessile und ausschließlich im Wasser lebende Vielzeller, die zum Leben das Umgebungswasser filtrieren. Diese Filteraktivität liefert dem Schwamm Sauerstoff und Nahrung in Form von Pico- und Nanoplankton, sowie kolloidale organische Makromoleküle. Sie sind übersät mit mikroskopisch kleinen Poren (Porifera = Porenträger) über die das Wasser aufgenommen und über Kanäle an die Choanocytenkammern weitergeleitet wird. Die Schwammzellen übernehmen dann den Nahrungstransport in alle Regionen des Körpers, z. B. steuern sie die Skelettbildung. Das filtrierte Wasser, angereichert mit Stoffwechselprodukten, verlässt anschließend den Schwamm über eine oder mehrere Öffnungen (Osculum).

Schwämme verfügen über keine Organe, Gonaden, kein Nervensystem und keine Blutgefäße. Ihr Aufbau besteht meist aus einem inneren Kiesel- oder Kalkskelett (sog. Spiculae, Nadeln oder Skleren) sowie Kollagen-Fasern. Aufgrund des z. T. äußerst unterschiedlichen morphologischen Aufbaus können Schwämme die verschiedensten Wuchsformen annehmen. Auch in ihrer Größe und ihrem Gewicht sind sie sehr variabel und weisen oftmals intensive Färbungen auf.

In den letzten Jahren sind die mit den Schwämmen mehr oder weniger eng in Symbiose lebenden Mikroorganismen (Bakterien, Cyanobakterien, einzellige Grünalgen) intensiv untersucht worden.

Es sind Schwämme beschrieben worden, die sich nicht allein durch das Wasserfiltrieren, sondern sich zusätzlich von Nährstoffen ernähren, die durch symbiontisch lebende Mikroorganismen bereitgestellt werden.

Hinzu kommt, dass Schwämme weder vor Fraßfeinden (Fische, Schildkröten etc.) fliehen, noch sich anderweitig physikalisch gegen Feinde zur Wehr setzen können. Daher ist es möglich, dass sie über eine chemische Abwehr verfügen und ihre Symbionten zu ihrem

Schutz beitragen. Hier stellt sich die Frage, ob der Schwamm oder die Mikroorganismen die eigentlichen Produzenten relevanter Naturstoffe sind.

Die Nutzung des Genoms der Mikroorganismen in Bio- oder Gentechnologie zur Herstellung von geeigneten Sekundärmetaboliten und deren langfristiger Einsatz in der Pharmaindustrie steht momentan am Anfang der Entwicklung.

## 5. Haloazulene aus *Hymedesmia paupertas* (BOWERBANK)

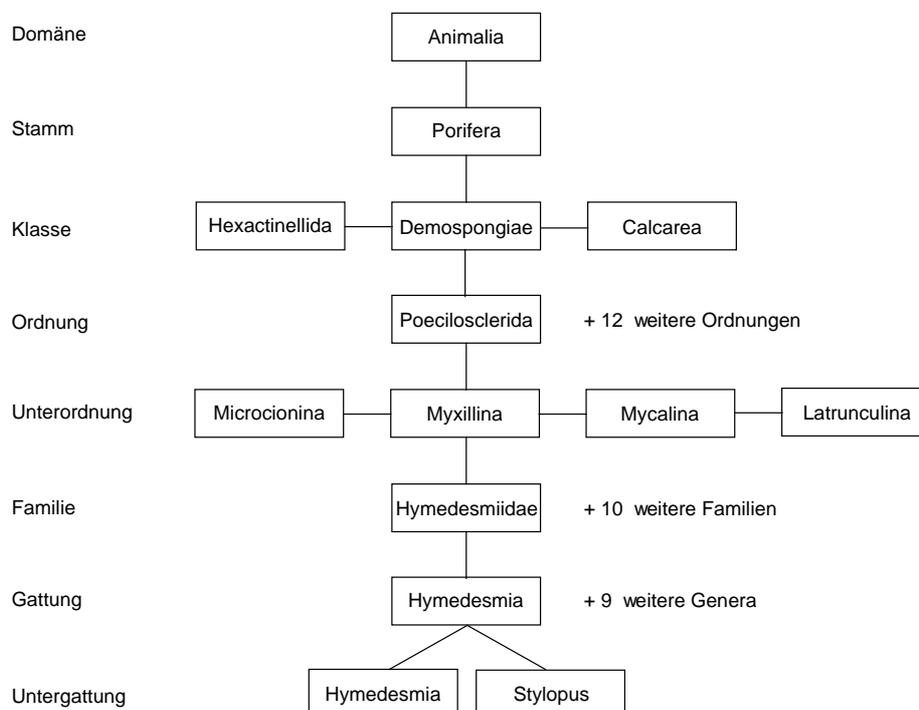
### 5.1. Einleitung

Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Schwämme *Hymedesmia paupertas* (BOWERBANK, 1866) und *Hymedesmia* sp. gehören der Familie der Hymedesmiidae (TOPSENT, 1928; Demospongiae, Poecilosclerida, Myxillina) an. Die Unterordnung Myxillina wird zusätzlich in elf Familien (u. a. Hymedesmiidae, Myxillidae, Crellidae, Tedaniidae) unterteilt. Die Familien Anchinoidea und Hymedesmiidae *sensu* Topsent, 1928c:54 werden neuerdings in der Familie Hymedesmiidae zusammengefasst, die u. a. die Gattungen *Hymedesmia*, *Hemimycale*, *Kirkpatrickia*,



**Abbildung 10:** *Hymedesmia paupertas* auf festem Substrat und Dichlormethan-extrakt (kl. Bild)

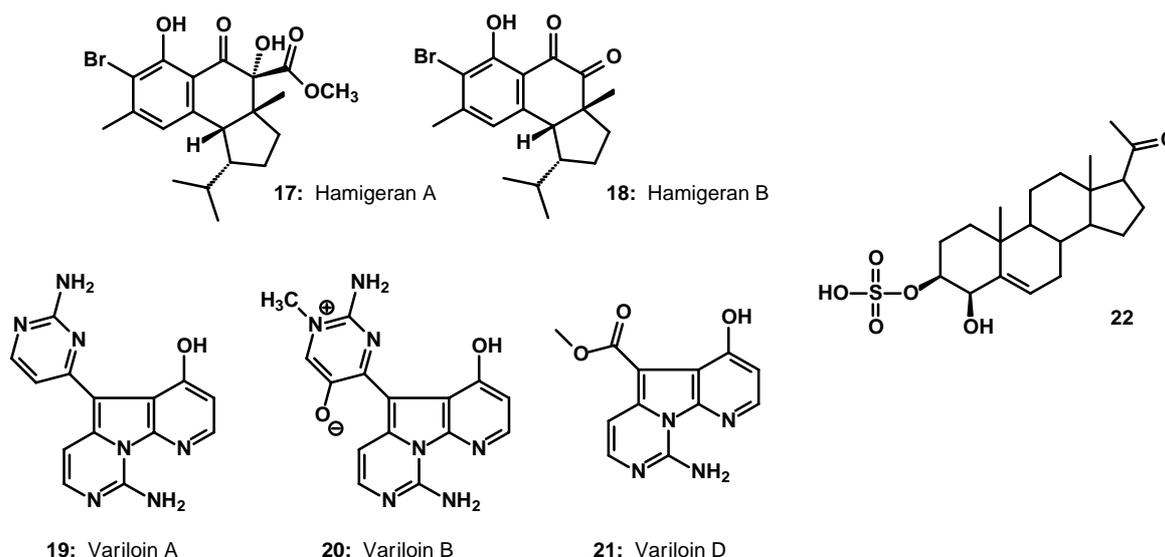
Die Gattung *Hymedesmia* (BOWERBANK, 1864) gliedert sich wiederum in die zwei Unter-gattungen *Hymedesmia* (BOWERBANK, 1864) und *Sytlopus* (FRISTEDT, 1885).<sup>47</sup>



**Abbildung 11:** Phylogenetische Einteilung von *H. paupertas*

Es handelt sich bei Vertretern der Gattung *Hymedesmia* um inkrustierende Schwämme, die in unregelmäßigen Formen als dünner Überzug kolonieartig (als „Flecken“ mit einem Durchmesser von je ca. 1 - 2 cm) auf festem Substrat wachsen. *H. paupertas* und das nicht näher bestimmte *Hymedesmia*-Exemplar fallen durch ihre intensive blaue Färbung auf (s. Abbildung 10)\*. Die Oberfläche der Schwämme zeichnet sich durch die Anwesenheit von kleinen, siebartigen Poren aus. Sie sind in borealen Gewässern heimisch und an den Küsten Irlands, Schottlands, Schwedens und Norwegens bis in Wassertiefen von 400 m anzutreffen.<sup>50</sup> *H. paupertas* wurde bei der Beprobung am Korsfjord als dünner Überzug auf dem Schwamm *Geodia barretti* vorgefunden.

Die Chemie der Familie Hymedesmiidae mit ihren zehn Gattungen ist Gegenstand zahlreicher Publikationen. So konnten beispielsweise aus den Schwämmen *Hamigera tarangaensis* die Hamigerane A und B<sup>51</sup> (**17**, **18**) und aus *Kirkpatrickia variolosa* u. a. die Varioline A, B und D<sup>52,53</sup> (**19** - **21**) isoliert werden.



**Abbildung 12:** Aus Arten der Familie Hymedesmiidae bekannte Verbindungen Hamigeran A und B (**17**, **18**) sowie Variolin A, B und D (**19** - **21**). Ein neues Sterolsulfat aus *Stylopus australis* (**22**).

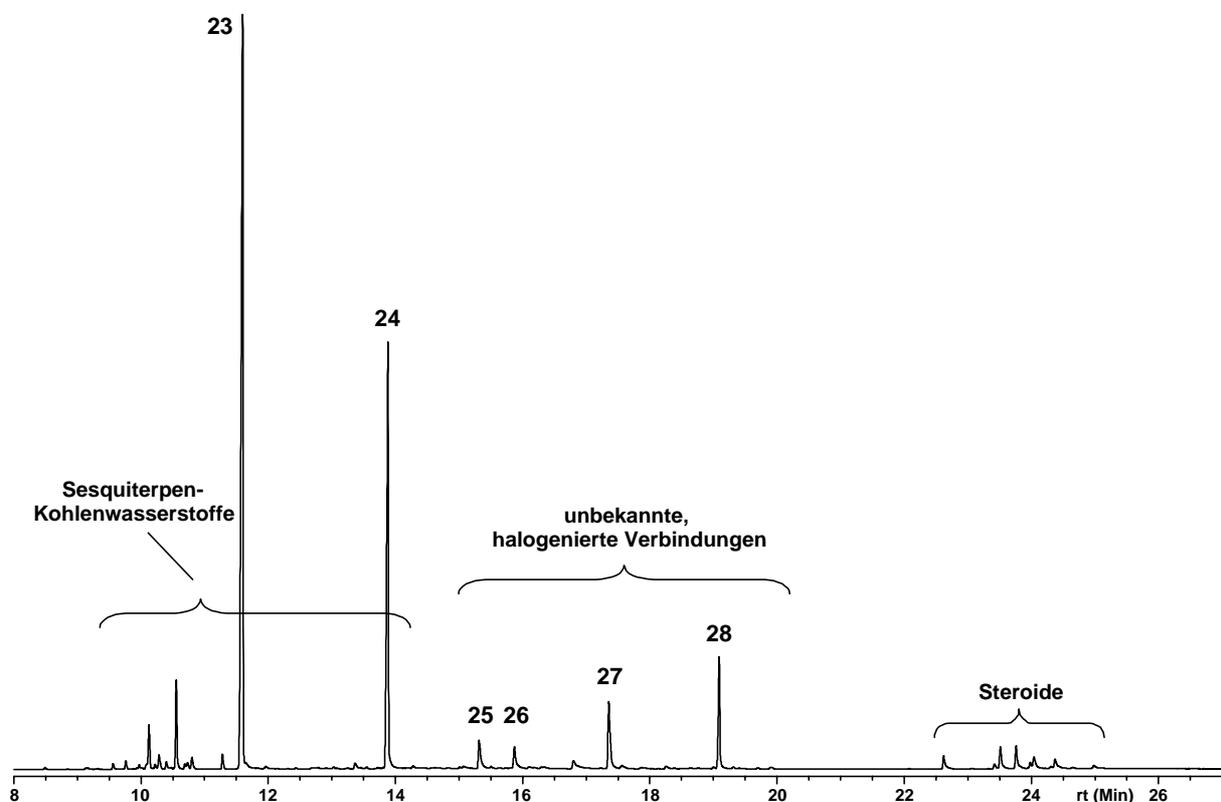
Dagegen sind bisher keine Arbeiten, über Inhaltsstoffe oder Sekundärmetabolite aus *Hymedesmia*-Arten in der Literatur bekannt. Lediglich aus *Stylopus australis* wurde das Sterolsulfat **22** isoliert.<sup>54</sup>

\* Bildmaterial: Koordination (Prof. Dr. W. Michaelis, Dr. T. Pape) des Verbundprojektes BOSMAN (großes Foto); kleines Foto: eigene Aufnahme

## 5.2. Isolierung und Identifizierung neuer Haloazulene

### 5.2.1. Übersicht

Die Aufarbeitung von 3 g *H. paupertas* erfolgte in leicht abgewandelter Form nach dem im Kapitel 3 beschriebenen Extraktionsverfahren. Auf die Extraktion mit Pentan wurde verzichtet und gleich die Flüssig-Flüssig-Extraktion mit Dichlormethan durchgeführt, wodurch die intensiv blauen Verbindungen quantitativ in der organischen Phase abgetrennt und eine klare, wässrige Phase erhalten werden konnte. Das Gaschromatogramm der flüchtigen Komponenten des Dichlormethanextraktes zeigt Abbildung 13.



**Abbildung 13:** Gaschromatogramm des Dichlormethanextraktes von *H. paupertas* [Säule: HP-1, 30 m, Temperaturprogramm: 50 °C, 10 °C/min, 300 °C, 40 min. isotherm]

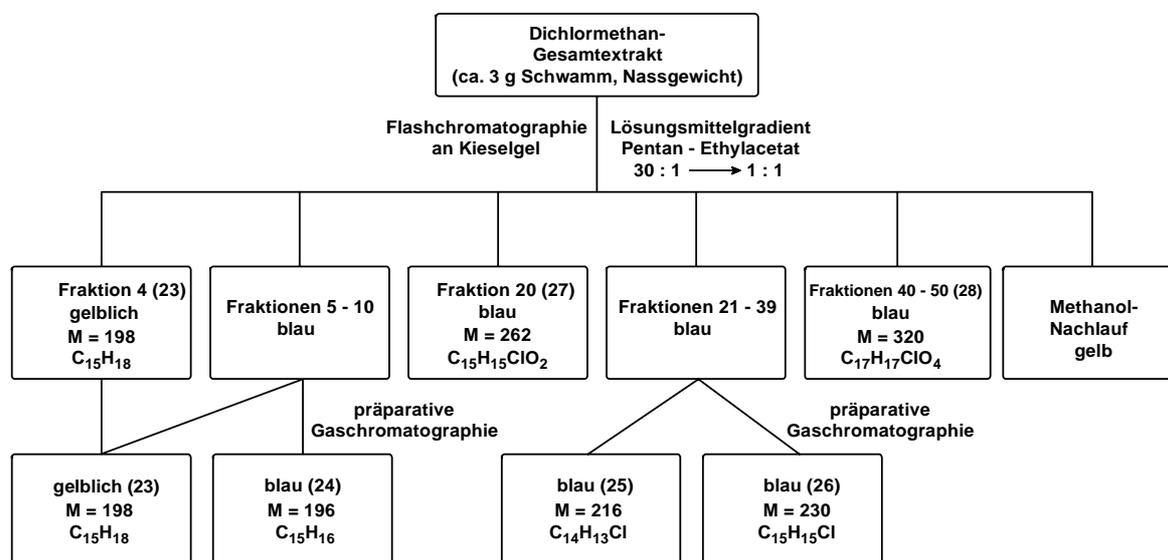
Das Gaschromatogramm des Dichlormethanextraktes kann formal in drei Bereiche unterteilt werden. Im leicht flüchtigen Teil bis 15 min. können anhand ihrer Massenspektren un-funktionalisierte Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffe detektiert werden. Darauf folgt eine Reihe halogenerter Komponenten (chloriert bzw. bromiert) sowie abschließend ein Bereich mit Steroid-Alkoholen. Die beiden Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffe **23** und **24** stellen die Hauptkomponenten des Extraktes dar. Von beiden Verbindungen sowie zahlreichen in diesem Extrakt vorhandenen halogenierten Substanzen wurde mittels hochaufgelöster Massen-

spektrometrie die Summenformel bestimmt. **23** (Summenformel:  $C_{15}H_{18}$ ;  $M = 198$  g/mol, 7 Doppelbindungsäquivalente\*) und **24** (Summenformel:  $C_{15}H_{16}$ ;  $M = 196$  g/mol, 8 DBE) sowie die halogenierten Verbindungen (u. a. **25 - 28**) zeichnen sich durch einen sehr hohen Unsättigungsgrad aus. Die intensiv blaue Färbung des Extraktes sowie charakteristische Massenspektren weisen bei diesen Substanzen auf Azulenderivate hin.

Für die halogenierten Verbindungen können auf der Basis der durch hochauflösende Massenspektrometrie bestimmten Summenformeln in der Literatur keine Vergleichssubstanzen oder Massenspektren gefunden werden.

### 5.2.2. Anreicherung

Die Auftrennung der einzelnen Inhaltsstoffe dieses Dichlormethanextraktes erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit einem Lösungsmittelgradienten. Dazu wurde anfänglich ein Pentan:Ethylacetat-Gemisch im Verhältnis 30:1 verwendet. Die polareren Verbindungen eluierten abschließend mit einem Pentan: Ethylacetat-Gemisch im Verhältnis 1:1. Es wurden 50 Fraktionen und ein Methanol-Nachlauf erhalten. Auf diese Weise konnte die Komponenten **23**, **27** und **28** als Reinsubstanzen erhalten werden. Die Reinigung der Verbindungen **24**, **25** und **26** erfolgte mit Hilfe präparativer Gaschromatographie.



**Abbildung 14:** Aufarbeitungsschema zur Isolierung einzelner Komponenten

\* Die Anzahl Doppelbindungsäquivalente X (Ringe, Doppel- und Dreifachbindungen; kurz DBE; engl.: double bond equivalents) kann aus der Summenformel anhand folgender Gleichung bestimmt werden:  $X = \frac{2a + 2 + d - b}{2}$ , wobei a die Anzahl vierwertiger (C, Si), b einwertiger (H, Halogene) und d dreiwertiger (N, P) Atome darstellen.

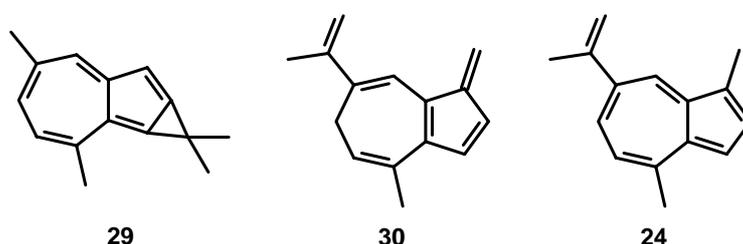
Fraktion 4 enthielt die Hauptkomponente **23** des Extraktes, eine leicht gelblich ölige Substanz, gefolgt von einer blauen Mischfraktion, die die Substanzen **23** und **24** enthielt. Das Gemisch wurde durch präparative Gaschromatographie aufgetrennt, wobei **24** als blaues Öl abgetrennt wurde. Fraktion 20 enthielt die blaue, einfach chlorierte Substanz **27** mit der Zusammensetzung  $C_{15}H_{15}ClO_2$  (8 DBE). Auf zehn Fraktionen (40 - 50) verteilte sich **28**, als eine ebenfalls blaue Substanz mit der Summenformel  $C_{17}H_{17}ClO_4$  (9 DBE). **27** und **28** wurden in ausreichenden Mengen isoliert, so dass deren Strukturen mittels ein- und zwei-dimensionaler NMR-Spektroskopie aufgeklärt werden konnten.

Das Gemisch der Fraktionen 21 - 39 aus zwei einfach chlorierten Kohlenwasserstoffen mit den Zusammensetzungen  $C_{14}H_{13}Cl$  (8 DBE, **25**) sowie  $C_{15}H_{15}Cl$  (8 DBE, **26**) wurde ebenfalls mittels präparativer Gaschromatographie getrennt. Es zeigte sich, dass es sich bei beiden Substanzen ebenfalls um kornblumenblaue Verbindungen handelte. Von beiden Isolaten wurde ein  $^1H$ -NMR-Spektrum angefertigt, wobei von **26** im Gegensatz zu **25**, dessen isolierte Substanzmenge nicht für ein aussagekräftiges Spektrum ausreichte, ein Protonenspektrum erhalten werden konnte.

## 5.2.3. Strukturaufklärung isolierter Verbindungen

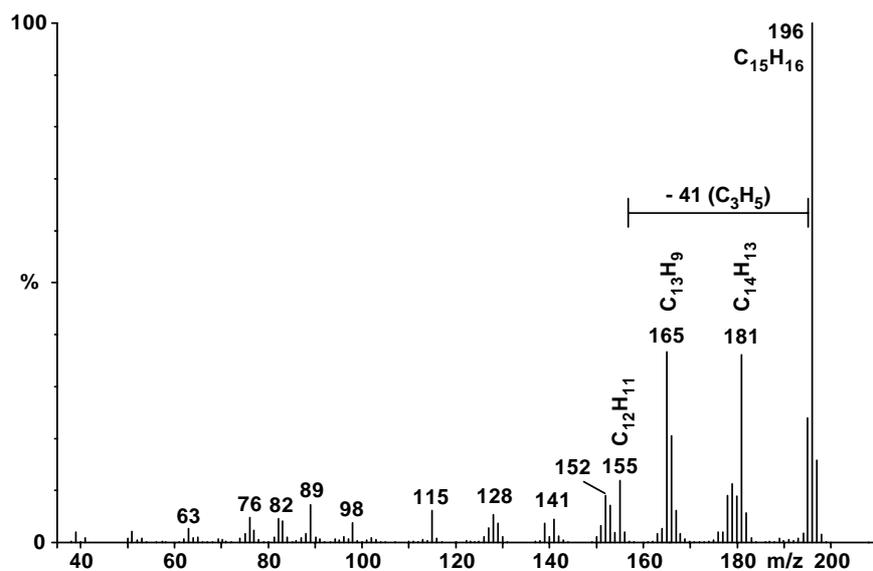
### 5.2.3.1. Lactarazulen (24)

Einleitend soll der tiefblaue Sesquiterpen-Kohlenwasserstoff **24** mit der Zusammensetzung  $C_{15}H_{16}$  diskutiert werden. Eine Literaturrecherche ergab, dass drei natürlich vorkommende Kohlenwasserstoffe mit dieser Summenformel existieren. Es handelt sich dabei um 1,1,2,5-Tetramethyl-1*H*-cycloprop[*a*]azulen (**29**) aus dem Bambus *Chimonocalamus pallens* (HSUCH & YI)<sup>55</sup> und Lactarofulven<sup>56,57</sup> (**30**) bzw. Lactarazulen<sup>73</sup> (**24**) aus dem Echten Reizker *Lactarius deliciosus* (weitere Erläuterungen in der Diskussion (Kapitel 5.5., Seite 79)).



**Abbildung 15:** Natürlich vorkommende Kohlenwasserstoffe mit der Zusammensetzung  $C_{15}H_{16}$ : 1,1,2,5-Tetramethyl-1*H*-cycloprop[*a*]azulen (**29**) (links), Lactarofulven (**30**) (Mitte) und Lactarazulen (**24**) (rechts)

Abbildung 16 und Tabelle 1 zeigen das Massenspektrum sowie die Zusammensetzung des Molekülions bzw. wichtiger Fragmente von **24**.

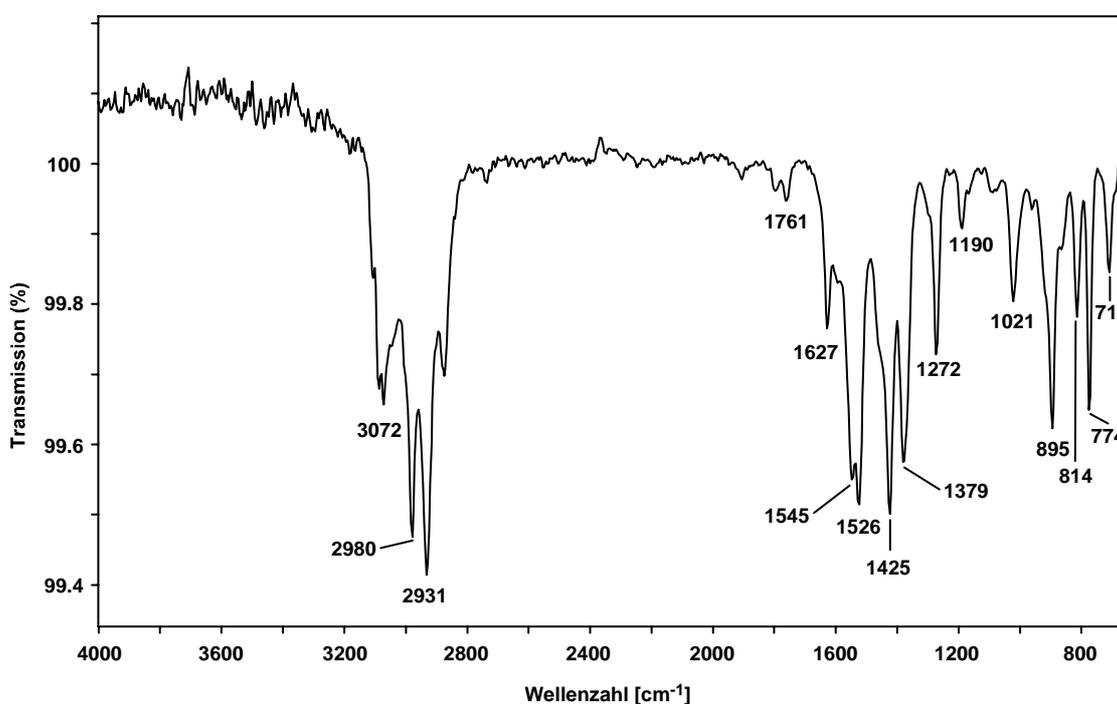


**Abbildung 16:** Massenspektrum von **24** (EI, 70 eV)

[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungsäquivalente
196	196.125	196.125	C <sub>15</sub> H <sub>6</sub>	1.7	0.3	8
181	181.101	181.102	C <sub>14</sub> H <sub>13</sub>	4.5	0.8	8.5
165	165.069	165.070	C <sub>13</sub> H <sub>9</sub>	10.5	1.7	9.5
155	155.086	155.086	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub>	- 2.2	- 0.3	7.5
128	128.062	128.063	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub>	- 5.9	- 0.8	7

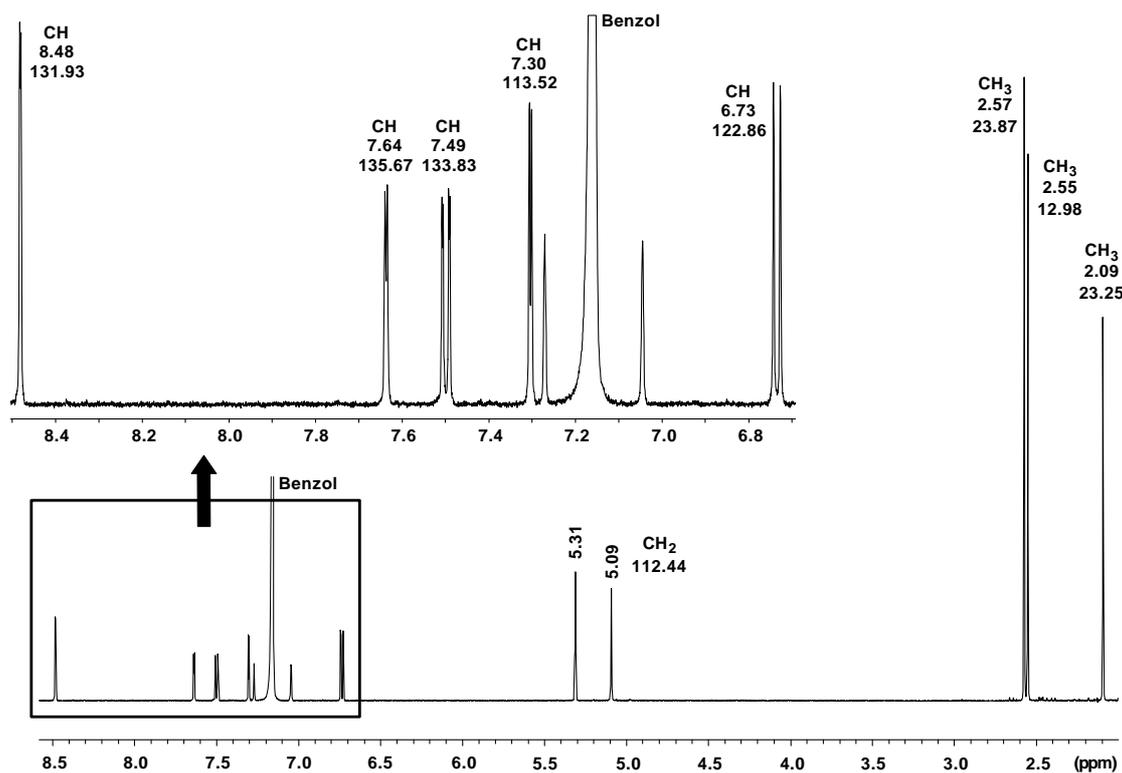
**Tabelle 1:** Atomare Zusammensetzung des Moleküliions und wichtiger Fragmentionen von **24**

Es handelt sich hierbei um eine stark ungesättigte Verbindung mit 8 DBE. Die Fragmente m/z 181 und m/z 165 erklären sich durch Abspaltungen von Methylgruppen aus dem Moleküliion bzw. dem ersten Tochterion m/z 181.



**Abbildung 17:** GC-FTIR-Spektrum von **24**

Diese Verbindung zeigt typische Absorptionsbanden eines aromatischen Kohlenwasserstoffs im GC-FTIR-Spektrum. So ist die Valenzschwingung der aromatisch gebundenen Wasserstoffatome bei 3072 cm<sup>-1</sup>, gefolgt von den starken Valenzschwingungen der Methylgruppen bei 2931 und 2980 cm<sup>-1</sup>, sehr gut zu erkennen. Die Methylgruppen lassen sich daneben auch anhand ihrer CH-Deformationsschwingungen bei 1379 und 1425 cm<sup>-1</sup> charakterisieren. Das konjugierte aromatische Ringsystem ist deutlich an den C=C-Valenzbanden bei 1526, 1545 und 1627 cm<sup>-1</sup> auszumachen. Der Fingerprintbereich (711, 774, 814 und 895 cm<sup>-1</sup>) lässt auf die Deformationsschwingungen aromatisch gebundener Wasserstoffatome schließen.



**Abbildung 18:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **24** [700 MHz,  $\text{Benzol-}d_6$ ]. Die chemischen Verschiebungen der Protonen und Kohlenstoffatome sind angegeben. Der Ausschnitt von 6.7 - 8.5 ppm ist vergrößert dargestellt.

Abbildung 18 zeigt das 700 MHz Protonenspektrum von **24**. Korreliert mit dem HSQC-Spektrum lassen sich darin im Hochfeldbereich drei Methylgruppen ( $\delta_{\text{H}} = 2.09, 2.55$  und  $2.57$  ppm) als Singulets, eine an einem quartären Kohlenstoffatom gebundene Methylen-Gruppe ( $\delta_{\text{CH}_2} = 5.09$  und  $5.31$  ppm) im olefinischen Bereich sowie fünf Methinprotonen im aromatischen Tieffeld von  $6.73$  bis  $8.48$  ppm erkennen. Durch das Protonen- bzw. das  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-Spektrum können bereits vier aromatische Methinprotonen in zwei verschiedenen Spinsystemen anhand ihrer Kopplungskonstanten und charakteristischer Dacheffekte zugeordnet werden: Das Proton mit der chemischen Verschiebung von  $\delta_{\text{H}} = 6.73$  ppm ist dem bei  $\delta_{\text{H}} = 7.49$  ppm benachbart sowie das Proton bei  $\delta_{\text{H}} = 7.30$  ppm dem bei  $\delta_{\text{H}} = 7.64$  ppm. Da die drei Methylgruppen lediglich als Singulets auftreten, liegt die Vermutung nahe, dass diese an quartäre Kohlenstoffatome gebunden sind.

Aufgrund zu geringer Substanzmenge konnte kein  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von dieser Substanz erhalten werden, so dass die chemischen Verschiebungen der Kohlenstoffatome anhand zweidimensionaler HSQC- und HMBC-Spektren ermittelt wurden. Das HMBC-Spektrum gibt Auskunft über sechs quartäre Kohlenstoffatome, von denen eins olefinischer Natur ( $\delta_{\text{C}} =$

147.64 ppm) ist und mit der Methylengruppe bei  $\delta_C = 112.44$  ppm sowie einer Methylgruppe ( $\delta_H = 23.25$  ppm) zu einer Isopropenylgruppe verknüpft ist.

In **24** sind 8 Doppelbindungsäquivalente enthalten, wovon sich eines auf eine olefinische und fünf auf aromatische Doppelbindungen verteilen. Für die verbleibenden zwei Äquivalente bleiben damit nur Carbocyclen, so dass sich für **24** eine bicyclische Struktur ergibt. Auch angesichts der blauen Farbe der Substanz kann möglicherweise von einem Azulen-Grundkörper ausgegangen werden.

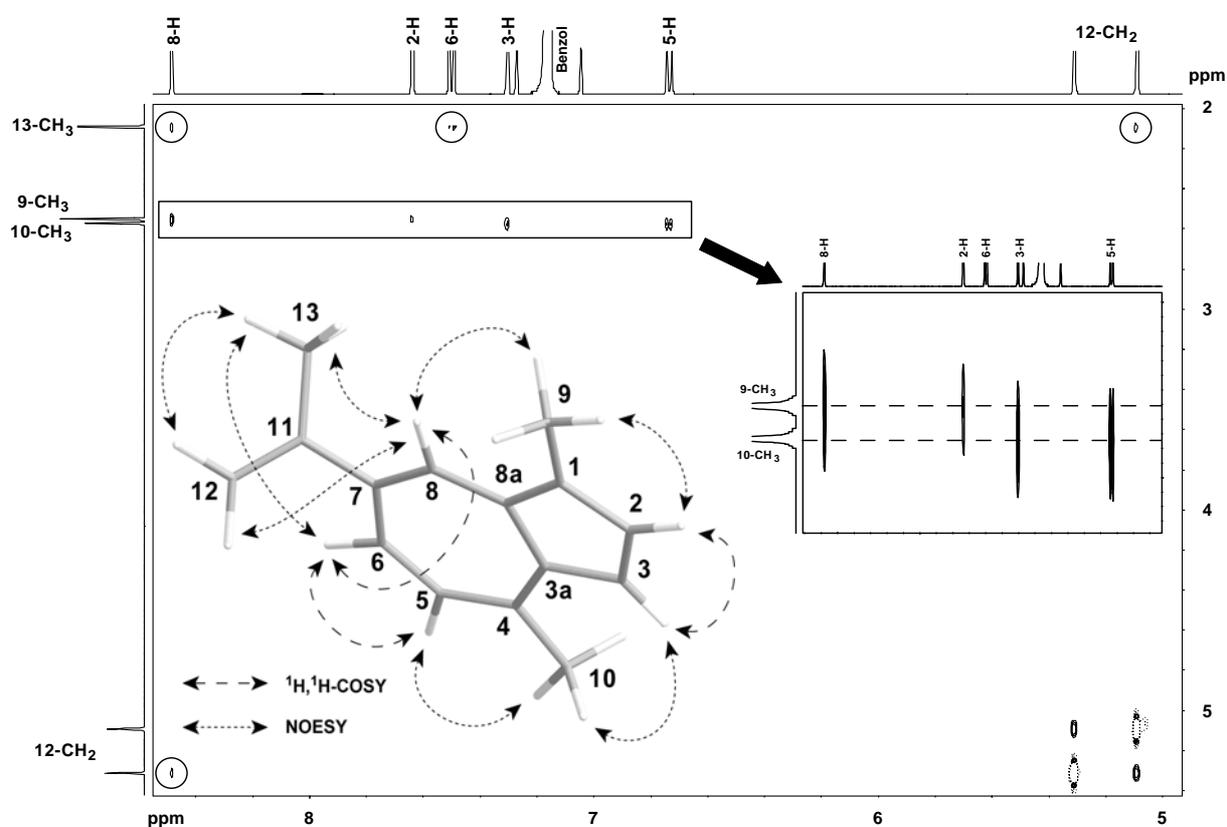
Pos.	$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ ) [ppm]	$\delta$ ( $^1\text{H}$ ) [ppm]	Int.	$J$ [Hz]	$^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY	HMBC	NOESY
1	127.66	-	-	-	-	-	-
2	135.67	7.64	1H	d, $J = 3.8$	3-H	-	9- $\text{CH}_3$
3	113.52	7.30	1H	d, $J = 3.8$	2-H	-	10- $\text{CH}_3$
3a	137.97	-	-	-	-	-	-
4	145.08	-	-	-	-	-	-
5	122.86	6.73	1H	d, $J = 10.6$	6-H	C-3a, C-6, C-10	10- $\text{CH}_3$
6	133.83	7.49	1H	dd, $J_1 = 10.8, J_2 = 2$	5-H, 8-H	C-4, C-7, C-11	13- $\text{CH}_3$
7	132.47	-	-	-	-	-	-
8	131.93	8.48	1H	d, $J = 1.9$	6-H	C-1, C-3a, C-6, C-11	9- $\text{CH}_3$ , 13- $\text{CH}_3$ , 12- $\text{CH}_3$ (b)
8a	124.68	-	-	-	-	-	-
9	12.98	2.55	3H	s	-	C-1	2-H, 8-H
10	23.87	2.57	3H	s	-	C-3a, C-8a, C-12	3-H, 5-H
11	147.64	-	-	-	-	-	-
12	112.44	5.09 (a) 5.31 (b)	1H 1H	s s	13- $\text{CH}_3$ , 12- $\text{CH}_2$ (b) 13- $\text{CH}_3$ , 12- $\text{CH}_2$ (a)	C-6 C-6, C-11	13- $\text{CH}_3$ 8-H
13	23.25	2.09	3H	s	12- $\text{CH}_2$ (a/b)	C-6, C-11	12- $\text{CH}_2$ (a), 6-H, 8-H

**Tabelle 2:** Chemische Verschiebungen der Kohlenstoffatome und Protonen sowie enthaltene Kopplungskonstanten [ $^1\text{H}$ : 700 MHz bzw.  $^{13}\text{C}$ : 100.6 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Die Kopplungen im  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-, HMBC- und NOESY-Spektrum sind angegeben.

Vergleicht man die erhaltenen NMR-Daten mit denen des käuflichen Guajazulens<sup>\*58</sup> (**31**), so findet sich das aromatische Proton mit charakteristischer Tieffeldverschiebung von über  $\delta_H = 8$  ppm (in **31**: 8-H mit  $\delta_H = 8.22$  ppm (s. Fußnote)) wieder. Dieses Proton ist Ausgangspunkt für die Strukturaufklärung von **24**, wobei das NOESY-Spektrum entscheidende Hinweise auf die Position der Isopropenylgruppe sowie der weiteren zwei Methylgruppen am

\*  $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ):  $\delta$  [ppm] = 8.22 (d,  $J = 1.9$ , 1H, 8-H), 7.69 (d,  $J = 3.5$ , 1H, 2-H), 7.31 (d,  $J = 3.8$ , 1H, 3-H), 7.21 (dd,  $J_1 = 10.7$  Hz,  $J_2 = 1.9$ , 1H, 6-H), 6.78 (d,  $J = 10.7$ , 1H, 5-H), 2.78 - 2.87 (m,  $J = 6.9$ , 1H, 11-H), 2.62 (s, 3H, 9- $\text{CH}_3$ ), 2.61 (s, 3H, 10- $\text{CH}_3$ ), 1.22 (d,  $J = 6.9$  Hz, 6H, 12- $\text{CH}_3$ , 13- $\text{CH}_3$ )  
 $^{13}\text{C}$ -NMR (100.6 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ):  $\delta$  [ppm] = 144.14 (C-4,  $\text{C}_q$ ), 139.76 (C-7,  $\text{C}_q$ ), 138.12 (C-8a,  $\text{C}_q$ ), 137.25 (C-3a,  $\text{C}_q$ ), 136.79 (C-2, CH), 134.66 (C-6, CH), 133.32 (C-8, CH), 125.41 (C-1,  $\text{C}_q$ ), 125.26 (C-5, CH), 113.57 (C-3, CH), 38.53 (C-11, CH), 24.88 (C-12, C-13, 2  $\text{CH}_3$ ), 24.02 (C-10,  $\text{CH}_3$ ), 13.07 (C-9,  $\text{CH}_3$ )

Ringsystem liefert. Die daraus abgeleitete Struktur und die Nummerierung der einzelnen Atome ist zur Verdeutlichung bereits in Abbildung 19 dargestellt.



**Abbildung 19:** Ausschnitt aus dem NOESY-Spektrum von **24** [700 MHz, Benzol-*d*<sub>6</sub>]. Wichtige Kopplungen für die Bestimmung des Substitutionsmusters des Azulensystems sind markiert. Der Kopplungsbereich der Methylgruppen mit den aromatischen Protonen ist z. T. vergrößert dargestellt.

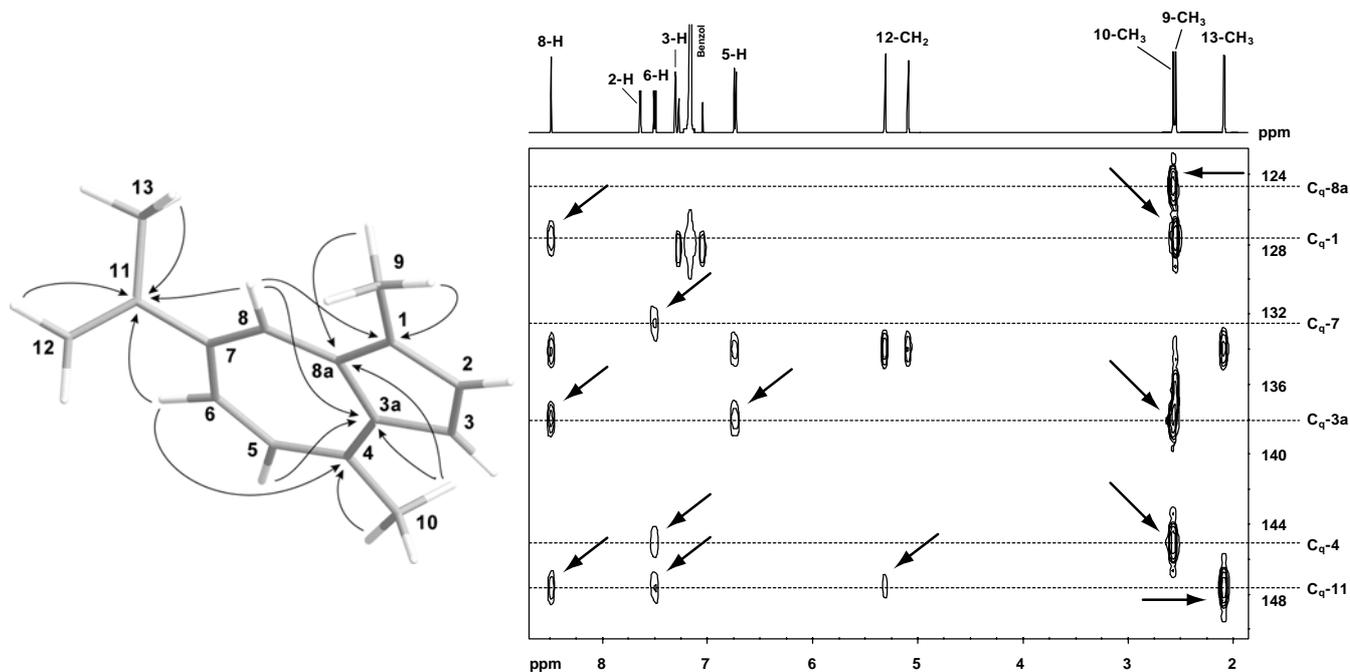
Das NOESY-Spektrum verdeutlicht, dass die drei Methylgruppen der Verbindung jeweils zwei aromatische Methinprotonen des Ringsystems als Kopplungspartner besitzen (Markierungen in Abbildung 19). So koppelt die Methylgruppe 13-CH<sub>3</sub> des Isopropenyl-Substituenten mit dem tieffeldverschobenen Proton 8-H und 6-H und ein olefinisches Proton der Doppelbindung (12-CH<sub>2</sub>;  $\delta_{\text{H}} = 5.31$  ppm) mit dem tieffeldverschobenen Proton 8-H.

Analog verhalten sich die Methylgruppen 9-CH<sub>3</sub> und 10-CH<sub>3</sub>, die mit den Protonen 8-H und 2-H bzw. 5-H und 3-H einen NOE zeigen (s. Abbildung 19, vergrößerter Ausschnitt).

Anhand dieser Daten können eindeutig die Stellung der Isopropenylgruppe und der zwei weiteren Methylgruppen am Azulenkörper geklärt werden. Es handelt sich bei der isolierten Verbindung um das 1,4-Dimethyl-7-(1-methylethenyl)azulen, das auch den Trivialnamen Lactarazulen (**24**) trägt.

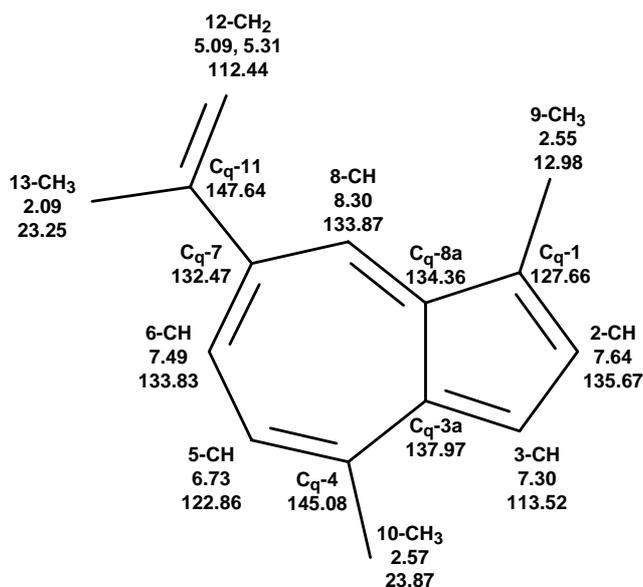
Im  $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY-Spektrum ist neben den Kreuzsignalen der unmittelbar benachbarten Protonen eine allylische  $^4J_{\text{H,H}}$ -Kopplung (W-Kopplung) zwischen 6-H und 8-H mit einer Kopplungskonstante von 2 Hz sichtbar.

Mit Hilfe des HMBC-Spektrums können u. a. die quartären Kohlenstoffatome eindeutig zugeordnet werden (Abbildung 20).



**Abbildung 20:** Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum von **24** zur Aufklärung der Verknüpfung der quartären Kohlenstoffatome [700 MHz, Benzol- $d_6$ ].

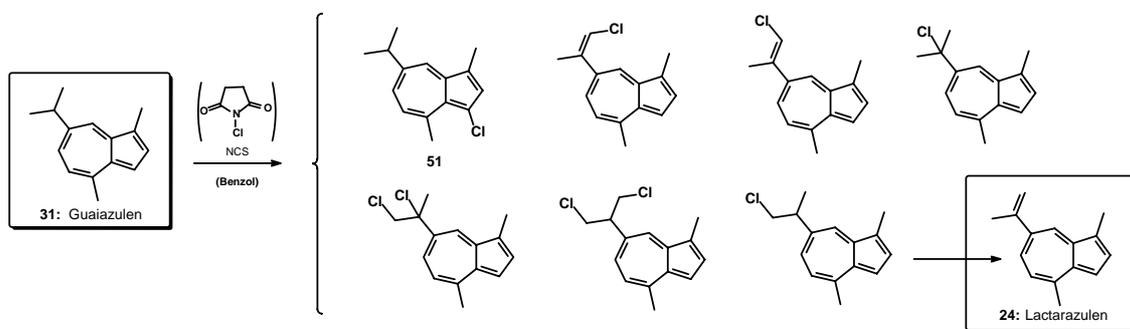
Das quartäre Kohlenstoffatom C<sub>q</sub>-11 ist gleichzeitig Kopplungspartner von zwei Protonen (6-H, 8-H), der Methylen- (12-CH<sub>2</sub>) und einer Methylgruppe (13-CH<sub>3</sub>). Daneben sind einige  $^2J_{\text{H,C}}$ -Kopplungen sichtbar, z. B. koppelt 6-H mit C<sub>q</sub>-7 und die Methylgruppen 9-CH<sub>3</sub> und 10-CH<sub>3</sub> mit ihren unmittelbar benachbarten quartären Kohlenstoffatomen C<sub>q</sub>-1 und C<sub>q</sub>-4. Ferner liegt zusätzlich eine Reihe von  $^3J_{\text{H,C}}$ -Kopplungen innerhalb des Ringsystems vor. So koppelt 5-H mit C<sub>q</sub>-3a, 8-H mit C<sub>q</sub>-1 und C<sub>q</sub>-3a sowie die Protonen der Methylgruppe 10-CH<sub>3</sub> mit C<sub>q</sub>-3a. Weiterhin liegen  $^4J_{\text{H,C}}$ -Kopplungen zwischen 6-H und C<sub>q</sub>-4 sowie zwischen den Protonen der Methylgruppe 10-CH<sub>3</sub> und dem Brückenkopfatom C<sub>q</sub>-8a vor. Da die  $^2J_{\text{H,C}}$ -Kopplungskonstanten innerhalb des aromatischen Ringsystems sehr klein oder gleich null sind, können Kopplungen von Methinprotonen mit benachbarten Kohlenstoffatomen im HMBC-Spektrum nicht detektiert werden.



**Abbildung 21:** Chemische Verschiebungen der Protonen und Kohlenstoffatome im Lactarazulen (**24**)

Abschließend wurde die vorliegende Struktur anhand einer Derivatisierungsreaktion verifiziert:

Guajazulen (**31**) wird in Gegenwart von 1.2 Äquivalenten *N*-Chlorsuccinimid (**32**) in Toluol bei Raumtemperatur umgesetzt.<sup>59</sup> Dabei entsteht neben Lactarazulen (**24**) und 3-Chlorguajazulen (**51**) eine Reihe von in der Isopropylgruppe einfach- oder mehrfach halogenierten Azulenderivaten (Abbildung 22).



**Abbildung 22:** Bei der Umsetzung von Guajazulen (**31**) mit *N*-Chlorsuccinimid (NCS) entsteht neben einer Reihe mono- und dichlorierter Azulenderivate das Lactarazulen (**24**).

Unter Eliminierung von Salzsäure entsteht aus seitenkettensubstituierten, monochlorierten Verbindungen **24**, das mittels Säulenchromatographie und anschließender präparativer Gaschromatographie als Reinsubstanz isoliert und spektroskopisch untersucht wurde. Die Struktur wurde eindeutig zugeordnet und mit Literaturdaten<sup>59</sup> verglichen.

Der Dichlormethanextrakt von *H. paupertas* wurde mit dem synthetisierten **24** auf verschiedenen gaschromatographischen Phasen coinjiziert, so dass dessen Identität zweifelsfrei bewiesen werden konnte.

### 5.2.3.2. 3,7-Dihydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethyliden)azulen (23)

Bereits in Fraktion 4 der säulenchromatographischen Trennung konnte ein gelblicher Sesquiterpenkohlenwasserstoff mit der Summenformel  $C_{15}H_{18}$  und dem Molekulargewicht 198 g/mol abgetrennt werden. Diese Substanz wurde zusätzlich bei der präparativen Gaschromatographie zur Isolierung von **24** erhalten. Abbildung 23 zeigt das Massenspektrum und Tabelle 3 die Zusammensetzung des Moleküliions sowie die wichtiger Fragmente von **23**.

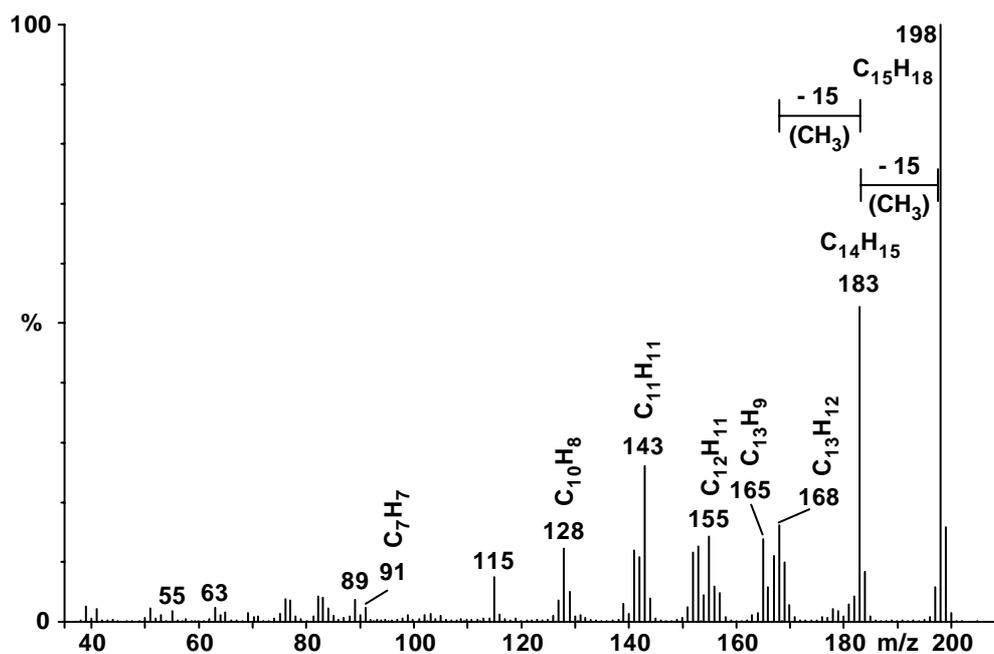


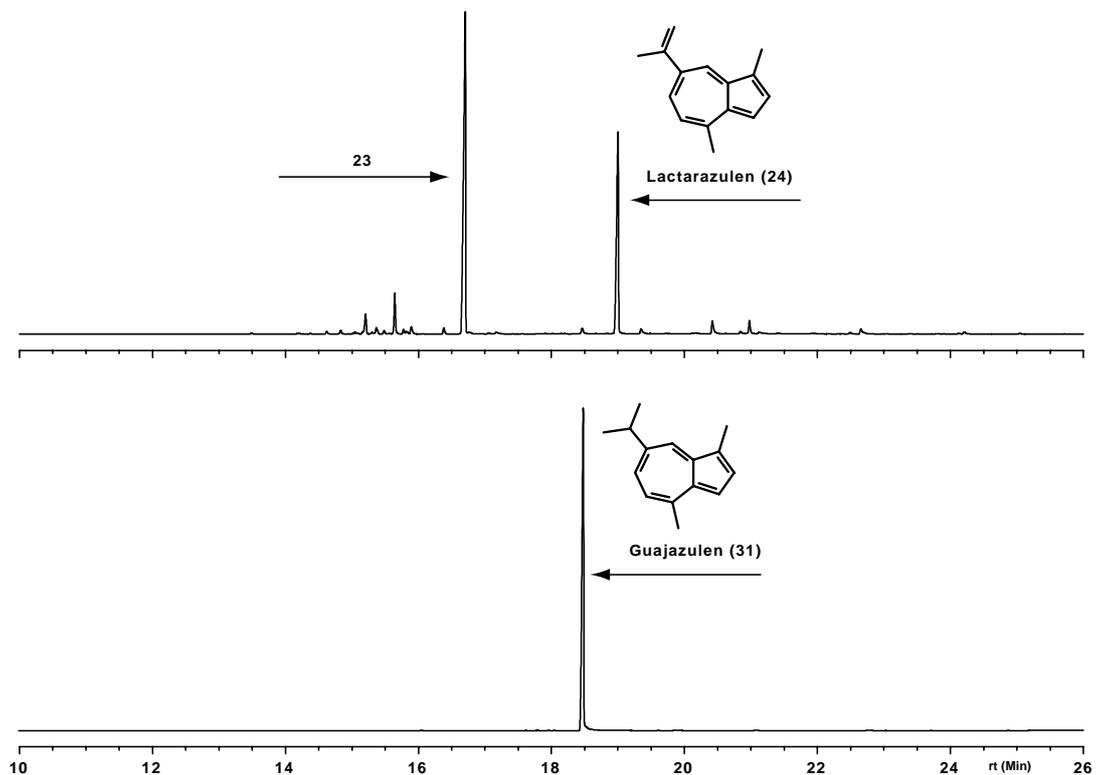
Abbildung 23: Massenspektrum von **23** (EI, 70 eV)

[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungsäquivalente
198	198.142	198.141	$C_{15}H_{18}$	- 7.7	- 1.5	7
183	183.115	183.117	$C_{14}H_{15}$	14.6	2.7	7.5
168	168.093	168.094	$C_{13}H_{12}$	5.4	0.9	8
165	165.067	165.070	$C_{13}H_9$	3.8	23	9.5
155	155.079	155.086	$C_{12}H_{11}$	7.4	47.6	7.5
152	152.059	152.063	$C_{12}H_8$	4.1	26.8	9
143	143.090	143.086	$C_{11}H_{11}$	- 29.8	- 4.3	6.5
128	128.063	128.0626	$C_{10}H_8$	- 5.9	- 0.8	7
115	115.055	115.055	$C_9H_7$	- 0.5	- 4.4	6.5
91	91.053	91.055	$C_7H_7$	1.3	14.5	4.5
89	89.037	89.039	$C_7H_5$	2.1	23.6	5.5
76	76.032	76.031	$C_6H_4$	- 1.2	- 15.5	5
63	63.023	63.023	$C_5H_3$	0.1	1.6	4.5
55	55.056	55.055	$C_4H_7$	- 0.7	- 13.2	1.5

Tabelle 3: Atomare Zusammensetzung des Moleküliions und wichtiger Fragmentationen von **23**

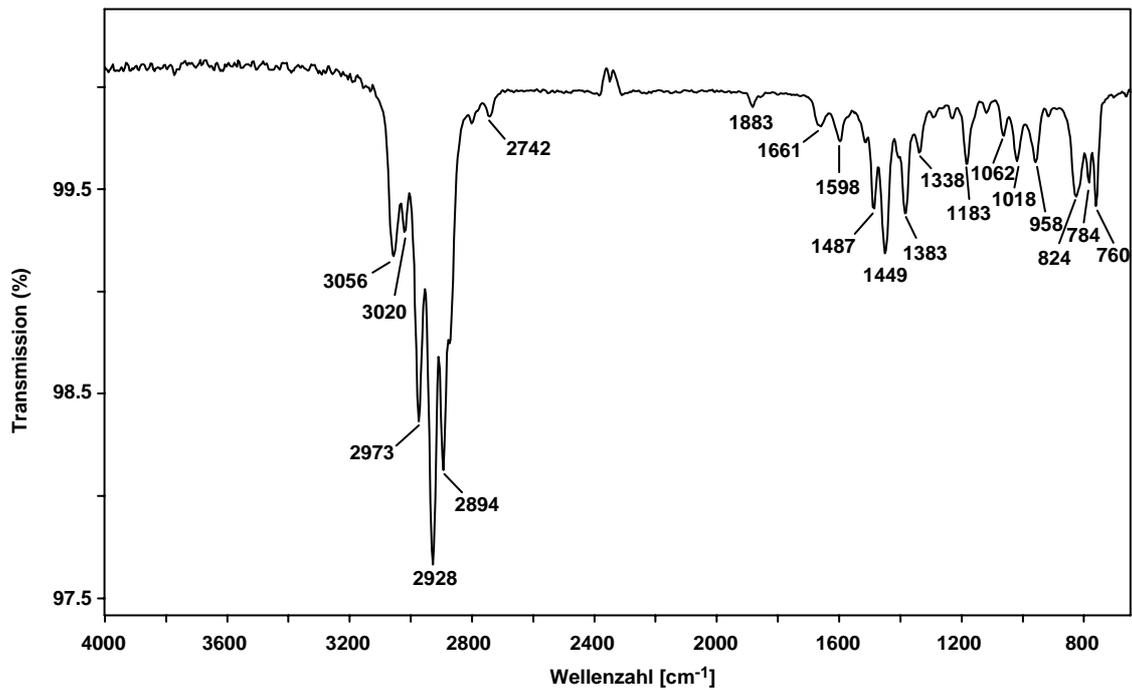
Es handelt sich bei **23** ebenfalls um eine stark ungesättigte Verbindung mit 7 Doppelbindungsäquivalenten, bei der auch, wie bei **24**, das Molekülion  $m/z$  198 den Basispeak des Massenspektrums bildet. Weiterhin sind nur unspezifische Abspaltungen wie die von Methylgruppen ( $M - 15$ ) aus dem Molekülion sowie aus dem Ion  $m/z$  183 zu erkennen.

Massenspektrenbibliotheken ergeben Guajazulen (**31**) als Strukturvorschlag. Das dies nicht zutreffen kann, ist bereits an der Farbe der isolierten Verbindung ersichtlich (gelb und nicht blau) und kann durch vergleichende Gaschromatographie des Dichlormethanextraktes von *H. paupertas* mit käuflichem **31**, als Referenzsubstanz, festgestellt werden (Abbildung 24).



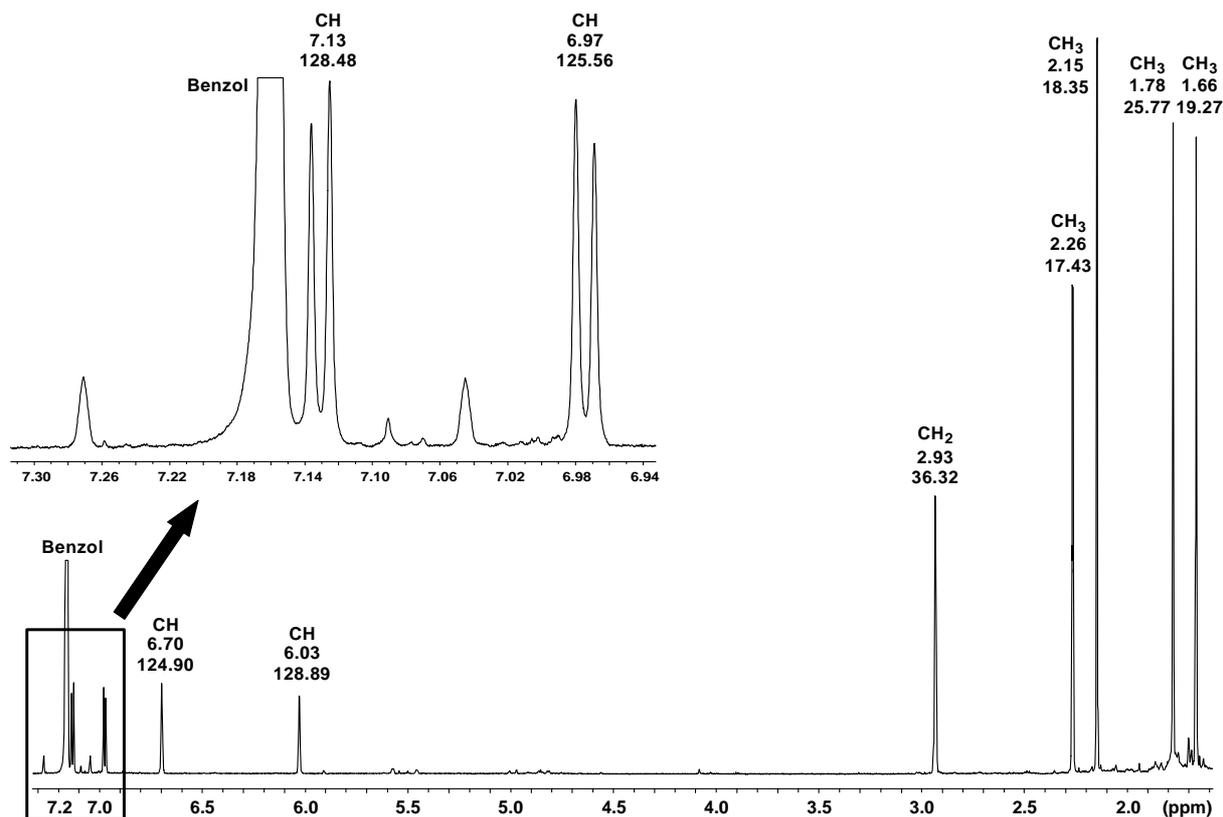
**Abbildung 24:** Anhand eines Vergleiches der Retentionszeiten des Naturextraktes mit käuflichem Guajazulen (**31**) kann festgestellt werden, dass es sich bei **23** nicht um Guajazulen (**31**) handeln kann. [Säule: HP-1, 30 m, Temperaturprogramm: 50 °C, 5 min. isotherm, 10 °C/min, 300 °C, 5 min. isotherm]

Anhand dieses Gaschromatogramms ist zu erkennen, dass im Dichlormethanextrakt dieses Schwammes ebenfalls geringe Mengen Guajazulen (**31**) enthalten sind.



**Abbildung 25:** GC-FTIR-Spektrum von **23**

Das GC-FTIR-Spektrum des Kohlenwasserstoffs **23** deutet darauf hin, dass es sich nicht um eine aromatische Verbindung handelt, da die charakteristischen, starken C=C-Valenzschwingungen im Bereich von 1500 - 1580 cm<sup>-1</sup>, im Gegensatz zum Lactarazulen (**24**), fehlen. Die stärksten Banden in diesem Spektrum machen wieder die Valenzschwingungen der Methylgruppen und der Methylengruppe (NMR-Spektrum) bei 2894, 2928 und 2973 cm<sup>-1</sup> aus. Die weiteren CH-Schwingungen im Bereich von 750 - 1500 cm<sup>-1</sup> sind unspezifische Alken-Schwingungen.



**Abbildung 26:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **23** [700 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Die chemischen Verschiebungen der Protonen und Kohlenstoffatome sind angegeben. Der Ausschnitt von 6.94 - 7.30 ppm ist vergrößert dargestellt.

Abbildung 26 zeigt das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **23**. Die Integration der Signale des Protonenspektrums und Abgleich mit dem HMQC-Spektrum ergab vier Methylgruppen bei  $\delta_{\text{H}} = 1.66$ , 1.78, 2.15 und 2.26 ppm. Die beiden Methylgruppen bei hohem Feld spalten jeweils zu einem Dublett auf ( $J$  ca. 1 Hz). Die Methylgruppe bei  $\delta_{\text{H}} = 2.15$  ppm liegt als Singulett und die bei  $\delta_{\text{H}} = 2.26$  ppm als Multipllett vor. Die Methylengruppe ( $\delta_{\text{H}} = 2.93$  ppm /  $\delta_{\text{C}} = 36.32$  ppm), deren NMR-Signal zu einem Multipllett aufgespalten ist, besitzt ein  $\text{sp}^3$ -hybridisiertes Kohlenstoffatom. Vier olefinische oder aromatische Methinprotonen mit Verschiebungen von  $\delta_{\text{H}} = 6.03$ , 6.70, 6.97 und 7.13 ppm sind zu erkennen, von denen zwei ( $\delta_{\text{H}} = 6.97$  und 7.13 ppm) direkt benachbart sind, was an dem Dacheffekt und an der Kopplungskonstanten (Dubletts,  $J = 7.7$  Hz) der Signale ersichtlich ist. Das Methinproton bei  $\delta_{\text{H}} = 6.03$  ppm liegt als Multipllett vor. Im Gegensatz zu **24** und **31** fehlt in diesem Protonenspektrum das charakteristische Signal bei  $\delta_{\text{H}} = 8$  ppm.

Anhand des HMBC-Spektrums können weiterhin sechs quartäre, olefinische oder aromatische Kohlenstoffatome identifiziert werden, die mit den vier  $\text{sp}^2$ -hybridisierten tertiären Kohlenstoffatomen fünf Doppelbindungen bilden. Da durch hochaufgelöste Massenspektrometrie

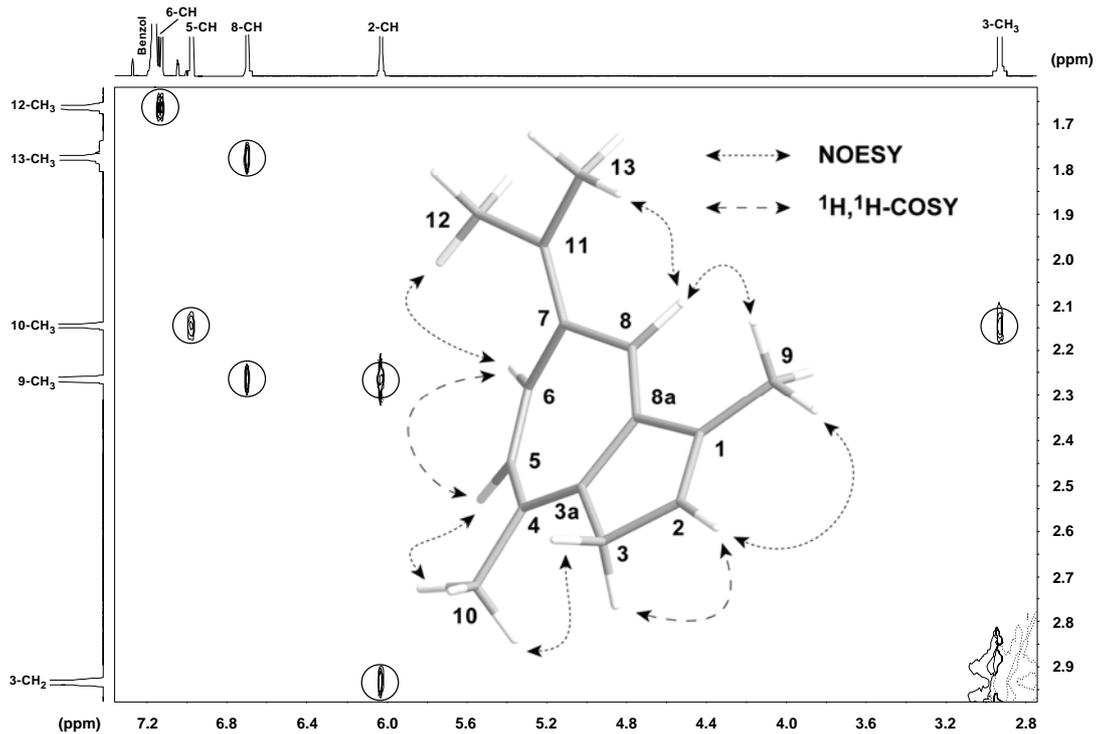
sieben Doppelbindungsäquivalente festgestellt wurden, liegt wiederum mit **23** eine bicyclische Verbindung vor. Tabelle 4 zeigt die Verschiebungen der im Molekül identifizierten Protonen und Kohlenstoffatome.

Pos.	$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ ) [ppm]	$\delta$ ( $^1\text{H}$ ) [ppm]	Int.	$J$ [Hz]	$^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY	HMBC	NOESY
1	129.49	-	-	-	-	-	-
2	128.89	6.03	1H	m	3- $\text{CH}_2$	C-3, C-8a, C-9	9- $\text{CH}_3$ , 3- $\text{CH}_2$
3	36.32	2.93	2H	m	2-H	C-1, C-3a, C-8a	10- $\text{CH}_3$
3a	144.15	-	-	-	-	-	-
4	131.08	-	-	-	-	-	-
5	125.56	6.97	1H	d, $J = 7.7$	6-H	C-3a, C-4, C-10	10- $\text{CH}_3$
6	128.48	7.13	1H	d, $J = 7.7$	5-H	-	12- $\text{CH}_3$
7	134.23	-	-	-	-	-	-
8	124.90	6.70	1H	s	-	C-12, C-13	9- $\text{CH}_3$ , 13- $\text{CH}_3$
8a	142.47	-	-	-	-	-	-
9	17.43	2.26	3H	m	-	C-1, C-8a	2-H, 8-H
10	18.36	2.15	3H	s	-	C-3a, C-4, C-5	2- $\text{CH}_2$ , 5-H
11	125.95	-	-	-	-	-	-
12	19.27	1.66	3H	d, $J = 1.0$	-	C-7, C-11	6-H
13	25.77	1.78	3H	d, $J = 1.3$	-	C-7, C-11	8-H

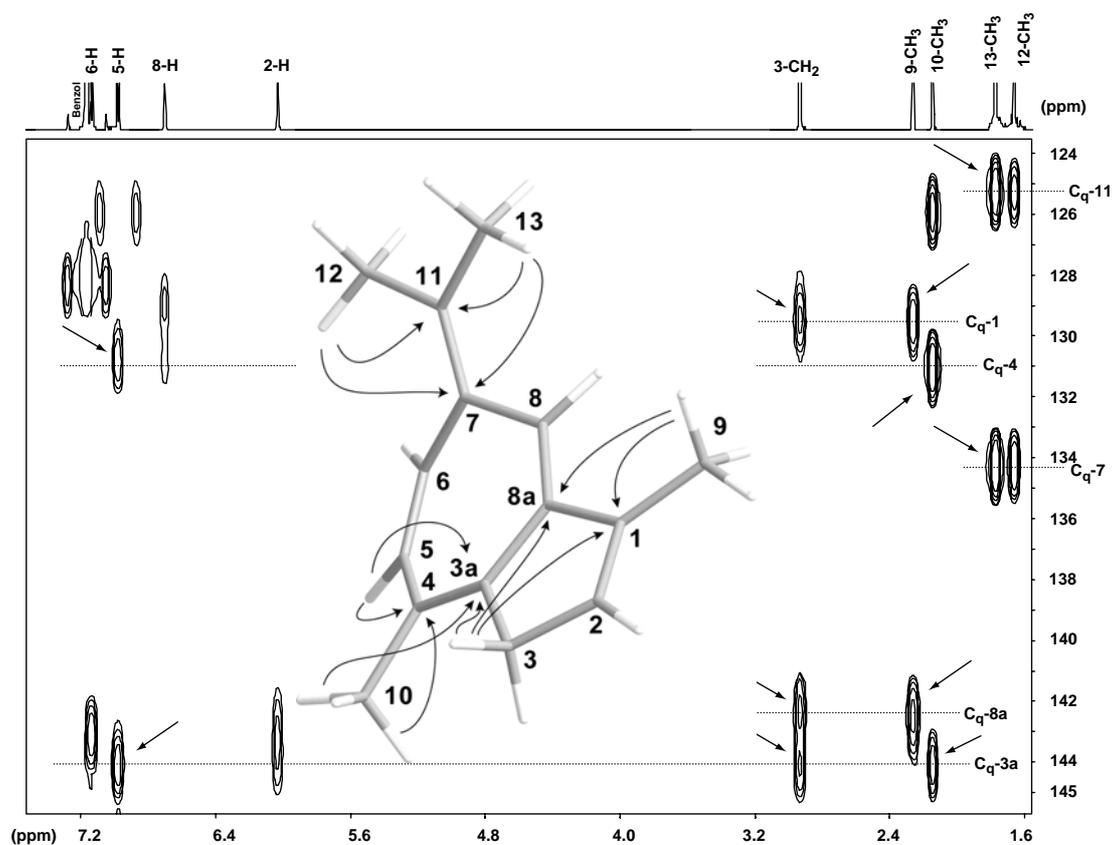
**Tabelle 4:** Chemische Verschiebungen der Kohlenstoffatome und Protonen sowie enthaltene Kopplungskonstanten [ $^1\text{H}$ : 700 MHz bzw.  $^{13}\text{C}$ : 100.6 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Die Kopplungen im  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-, HMBC- und NOESY-Spektrum sind angegeben.

Die folgende Diskussion der zweidimensionalen NMR-Spektren wird zeigen, dass es sich bei **23**, wie bei **24** um ein 1,4,7-trisubstituiertes Bicyclo[5.3.0]decan-Derivat handelt. Im Gegensatz zu seinem aromatischen Vertreter **24**, stellt **23** jedoch eine Dihydroazulenverbindung dar, deren aromatisches  $10\pi$ -Elektronensystem aufgehoben ist. Ursache dafür ist eine exocyclische Doppelbindung an Position 7, die mit einem quartären Kohlenstoffatom und zwei Methylgruppen eine Isopropylidengruppe bildet.

Das bereits erwähnte 1,4,7-Trisubstitutionsmuster kann analog zu **24** bei dieser Substanz mit Hilfe des NOESY-Experimentes (s. Abbildung 27) bestimmt werden. Zur Diskussion der Struktur wird zusätzlich das HMBC-Spektrum hinzugezogen.



**Abbildung 27:** Ausschnitt aus dem NOESY-Spektrum von **23** [700 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Die wichtigsten NOEs für die Bestimmung des Substitutionsmusters des bicyclischen Ringsystems sind markiert.

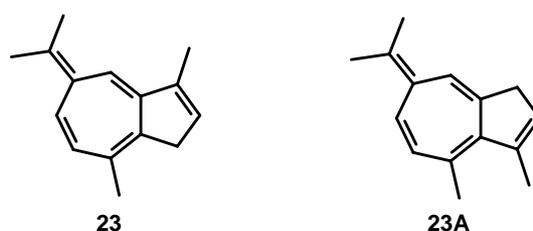


**Abbildung 28:** Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum von **23** [700 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Die Kopplung zu quartären Kohlenstoffatomen trägt zur Klärung des bicyclischen Ringsystems bei.

Aus dem in Abbildung 28 gezeigten HMBC-Spektrum lässt sich deutlich die bereits erwähnte Isopropylidengruppe ableiten. Die beiden Hochfeld verschobenen Methylgruppen 12-CH<sub>3</sub> und 13-CH<sub>3</sub> sind über eine Doppelbindung, gebildet durch die quartären Kohlenstoffatome C<sub>q</sub>-11 und C<sub>q</sub>-7, mit dem Ringsystem verknüpft. Weitere Kopplungspartner dieser Methylgruppen sind im HMBC-Spektrum nicht auszumachen. Sie weisen dagegen jeweils einen NOE-Partner in ihrer unmittelbaren räumlichen Umgebung auf: 12-CH<sub>3</sub> steht mit dem zum Dublett aufgespaltenen Proton 6-H und 13-CH<sub>3</sub> mit dem Methinproton 8-H (Singulett) in Wechselwirkung. 6-H und 5-H liegen benachbart zueinander, was neben der in beiden Signalen vorhandenen Kopplungskonstanten von  $J = 7.7$  Hz auch durch intensive Kreuzsignale im <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum festzustellen ist. Durch fehlende Kopplungen im HMBC-Spektrum trägt 6-H dagegen nicht zur Strukturaufklärung bei. Durch das Proton 5-H lässt sich neben zwei quartären Kohlenstoffatomen C<sub>q</sub>-3a und C<sub>q</sub>-4 auch die Methylgruppe 10-CH<sub>3</sub>, die an C<sub>q</sub>-4 gebunden ist, detektieren. Zusätzlich ist ein NOE zwischen 5-H und 10-CH<sub>3</sub> vorhanden. 10-CH<sub>3</sub> zeigt neben zwei NOEs zu 5-H und 3-CH<sub>2</sub> auch zwei Kopplungen im HMBC-Spektrum zum benachbarten Kohlenstoffatom C<sub>q</sub>-4 und zum verbrückenden Atom C<sub>q</sub>-3a. Die zu 2-H benachbarte, sp<sup>3</sup>-hybridisierte Methylengruppe gibt nahezu vollständigen Aufschluss über die Bindungsstruktur im Fünfring, da deren Protonen mit den drei quartären Kohlenstoffatomen C<sub>q</sub>-3a, C<sub>q</sub>-8a und C<sub>q</sub>-1 koppeln. 2-H zeigt einen NOE zur Methylgruppe 9-CH<sub>3</sub>, die wiederum an C<sub>q</sub>-1 gebunden ist und mit einem zweiten NOE auf das Methinproton 8-H verweist. Dieses zeigt, wie eingangs erwähnt, einen NOE zu 13-CH<sub>3</sub>, verfügt dagegen aber über keine nennenswerten Kopplungen im HMBC-Spektrum.

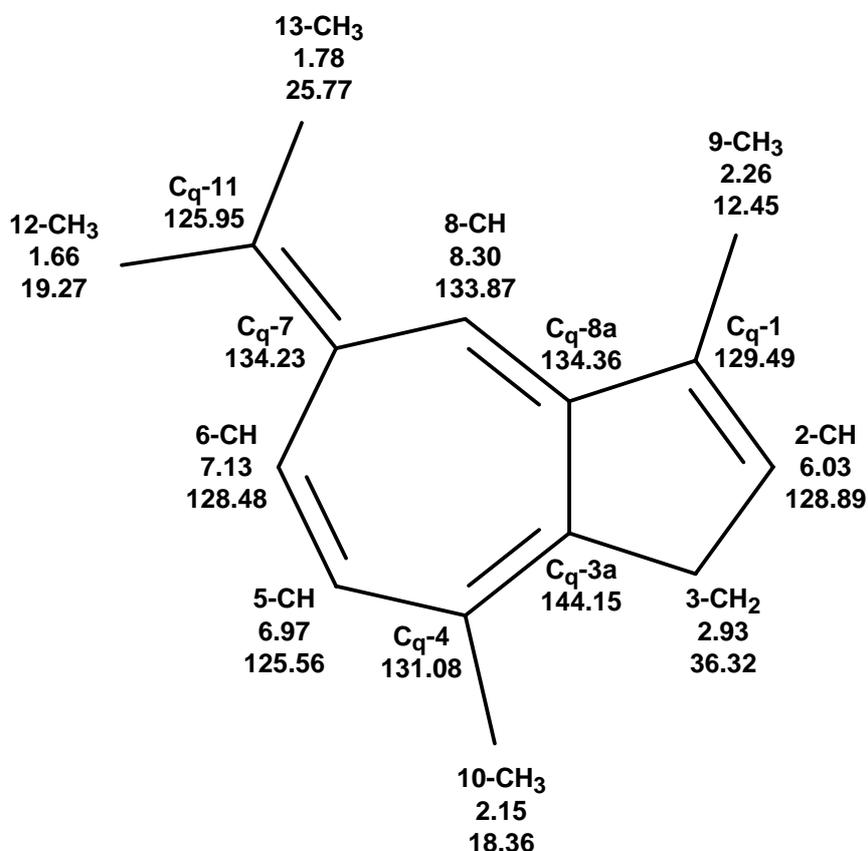
Anhand dieser Daten ist bewiesen, dass es sich bei **23** um eine bicyclische Verbindung mit einem anellierten 7-5-Ringsystem handelt, das über die quartären Kohlenstoffatome C<sub>q</sub>-3a ( $\delta_C = 144.15$  ppm) und C<sub>q</sub>-8a ( $\delta_C = 142.47$  ppm) miteinander verbrückt ist.

Anhand dieser NMR-Daten können weitere Verbindungen eindeutig ausgeschlossen werden, so z. B. das 1,7-Dihydro-3,4-dimethyl-7-(1-methylethyliden)azulen (**23A**).



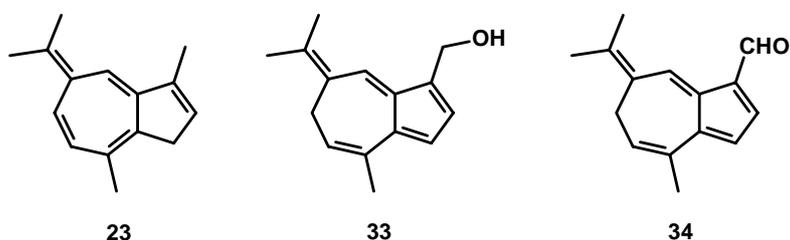
**Abbildung 29:** 1,7-Dihydro-3,4-dimethyl-7-(1-methylethyliden)azulen (**23A**) kann als weiterer Strukturvorschlag anhand der eindeutigen NMR-Daten ausgeschlossen werden.

Es handelt sich daher bei dieser Verbindung eindeutig um 3,7-Dihydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethyliden)azulen (**23**), dessen NMR-Daten in Abbildung 30 zugeordnet sind.



**Abbildung 30:** Chemische Verschiebungen der Protonen und Kohlenstoffatome von 3,7-Dihydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethyliden)azulen (**23**).

Zu **23** wurden bereits strukturverwandte Verbindungen aus Reizkern in Form eines Alkohol- (Sangol (**33**))<sup>60</sup> bzw. eines Aldehydderivates (1,3,5,7(11),9-Pentaenyl-14-guajanal (**34**))<sup>61</sup> isoliert.



**Abbildung 31:** Aus *H. paupertas* isoliertes 3,7-Dihydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethyliden)azulen (**23**) und strukturverwandte Verbindungen Sangol (**33**) sowie 1,3,5,7(11),9-Pentaenyl-14-guajanal (**34**).

### 5.2.3.3. 5-Acetoxymethyl-1-chlor-3,8-dimethylazulen (27)

27 wurde als zweite tiefblaue Substanz mit phenolähnlichem Geruch durch Chromatographie in der Fraktion 20 erhalten. Das Massenspektrum ist in Abbildung 32 dargestellt.

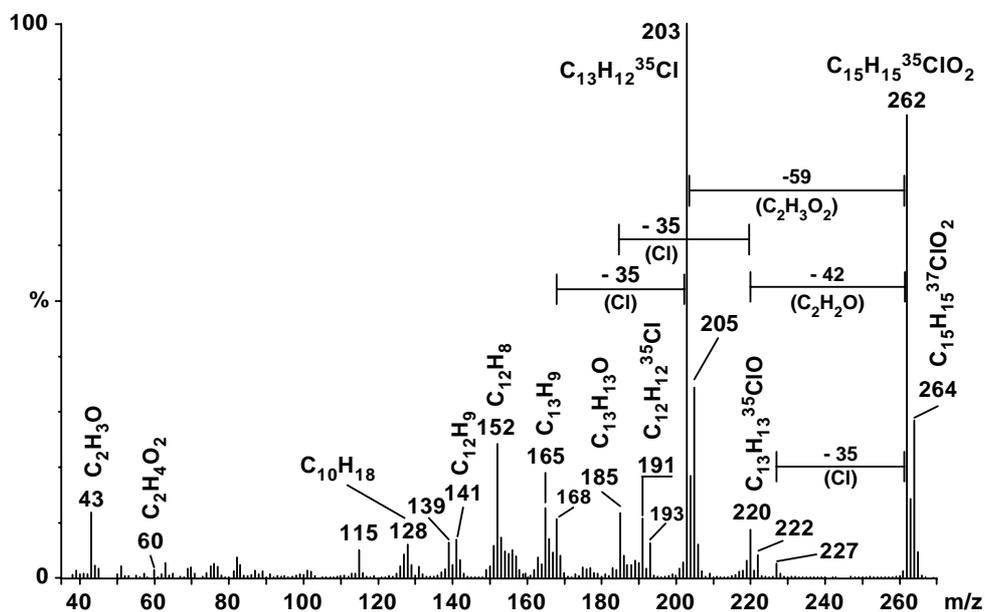


Abbildung 32: Massenspektrum von 27 (EI, 70 eV)

[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungsäquivalente
264	264.076	264.073	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> <sup>37</sup> ClO <sub>2</sub>	- 3.3	- 12.6	8
262	262.077	262.076	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> <sup>35</sup> ClO <sub>2</sub>	- 1.3	- 5.1	8
222	222.060	222.063	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> <sup>37</sup> ClO	2.8	12.6	7
220	220.068	220.065	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> <sup>35</sup> ClO	- 2.3	- 10.4	7
205	205.063	205.060	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> <sup>37</sup> Cl	- 2.9	- 13.9	7.5
203	203.065	203.063	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> <sup>35</sup> Cl	- 2.3	- 11.5	7.5
193	193.066	193.060	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> <sup>37</sup> Cl	- 6.1	- 31.8	6.5
191	191.062	191.063	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> <sup>35</sup> Cl	0.7	3.5	6.5
185	185.097	185.097	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> O	- 0.8	- 4.6	7.5
165	165.070	165.070	C <sub>13</sub> H <sub>9</sub>	0.7	4.4	9.5
152	152.062	152.063	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub>	0.9	5.7	9
141	141.071	141.070	C <sub>11</sub> H <sub>9</sub>	- 0.7	- 5.2	7.5
139	139.055	139.055	C <sub>11</sub> H <sub>7</sub>	- 0.3	- 2.0	8.5
128	128.063	128.063	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub>	- 0.4	- 3.0	7
115	115.053	115.055	C <sub>9</sub> H <sub>7</sub>	1.7	15.1	6.5
60	60.021	60.021	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	0.2	3.9	1
43	43.018	43.018	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	0.2	4.7	1.5

Tabelle 5: Atomare Zusammensetzung des Moleküliions und wichtiger Fragmentionen von 27

Durch hochauflösende Massenspektrometrie wurde die Zusammensetzung von **27** zu  $C_{15}H_{15}ClO_2$  bestimmt. Die Verbindung ist zweifach oxygeniert und enthält 8 Doppelbindungsäquivalente.

Auch anhand des Isotopenmusters des Molekülions ( $m/z$  262/264) ist deutlich zu erkennen, dass es sich bei **27** um eine monochlorierte Verbindung handelt. Dabei entspricht das Verhältnis des  $^{35}Cl$ - zum  $^{37}Cl$ - Isotopenpeaks einer Intensität von 100 % zu ca. 32 %.

Im Massenspektrum ist eine Reihe charakteristischer Fragmentierungen zu erkennen, und anhand der Zusammensetzung von Tochterionen können vorab Strukturinformationen erhalten werden.

Unter Abspaltung von Keten ( $C_2H_2O$ ,  $M - 42$ ) bildet sich aus dem Molekülpeak das chlorhaltige Ion  $m/z$  220/222. Deutlich bevorzugt ist die Bildung des Basispeaks ( $m/z$  203/205) unter Abspaltung eines  $CH_3COO$ -Fragmentes ( $M - 59$ ) aus dem Molekülion. Bei dem austretenden Ion handelt es sich um deprotonierte Essigsäure.

Chlor wird aus mindestens drei Fragmenten ( $m/z$  262, 220 und 203) nicht in Form von Salzsäure ( $HCl$ ,  $- 36$ ), sondern als Chloratom abgespalten. Dies lässt die Vermutung zu, dass es am Ringsystem und nicht an einer Methylgruppe o. ä. gebunden ist. Dagegen ist die Chlorabspaltung aus dem Molekülion (Bildung von  $m/z$  227) im Gegensatz zur Fragmentierung aus anderen Tochterionen nicht bevorzugt. Nach Abspaltung von Chlor bzw. des sauerstoffhaltigen Restes zerfällt das Molekül in unspezifische Fragmente ( $m/z$  165, 152, 141 etc.).

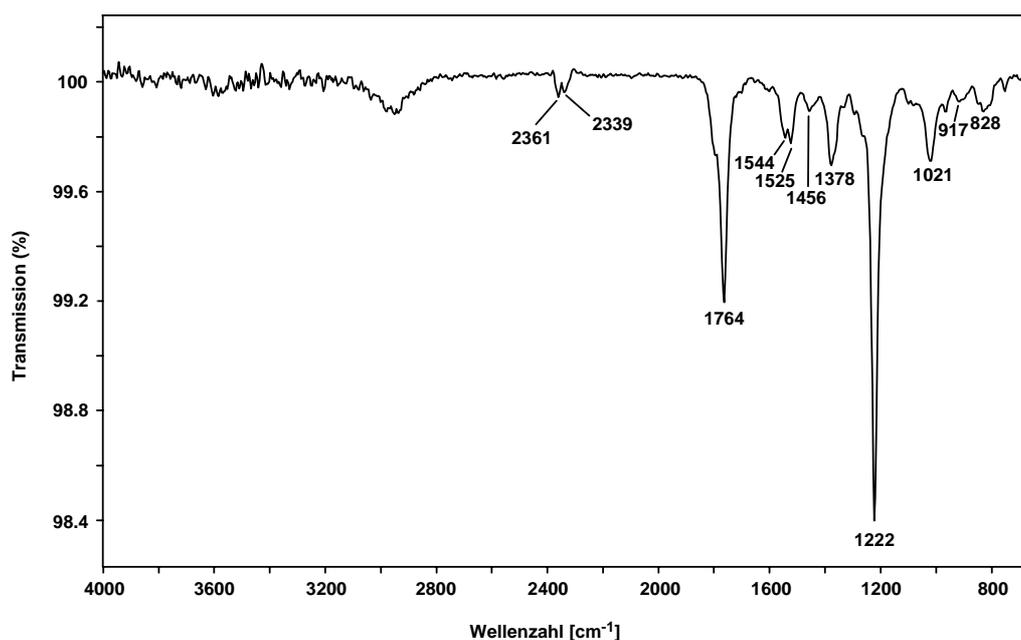
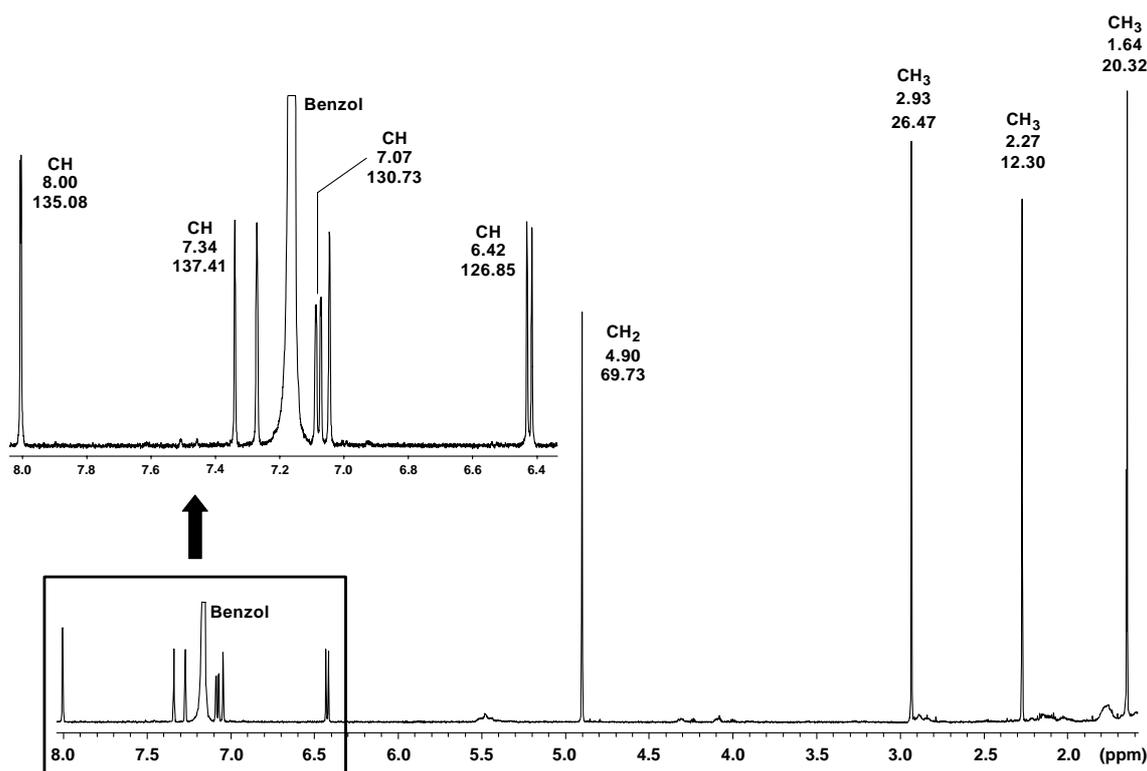


Abbildung 33: GC-FTIR-Spektrum von **27**

Das GC-FTIR-Spektrum liefert anhand der zwei dominierenden Banden bei 1222 und 1764  $\text{cm}^{-1}$  eindeutige Hinweise auf eine Carbonylverbindung (Ester: C-O- und Carbonyl-Schwingung). Die Bande bei 1021  $\text{cm}^{-1}$  deutet dabei zusätzlich auf ein an einen aromatischen Ring gebundenes Chloratom hin.

Neben diesen beiden intensiven Signalen treten weitere Absorptionsbanden, wie die C=C-Valenzbanden, die CH-Deformationsbanden der Methylgruppen sowie der Fingerprintbereich, in den Hintergrund.



**Abbildung 34:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **27** [700 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Die chemischen Verschiebungen der Protonen und Kohlenstoffatome sind angegeben. Der Ausschnitt von 6.4 - 8.0 ppm ist vergrößert dargestellt.

Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **27** ist dem des Lactarazolens (**24**) in gewisser Weise ähnlich, unterscheidet sich aber in verschiedenen Punkten.

Es sind im Vergleich zu **24** statt der fünf nur vier aromatische Methinprotonen enthalten. Bei **27** sind im Gegensatz zu **24** nur zwei Protonen benachbart ( $\delta_{\text{H}} = 6.42$  und  $7.07$  ppm; Dacheffekt, Kopplungskonstanten). Das Proton bei  $\delta_{\text{H}} = 7.34$  ppm besitzt keinen direkten Nachbarn, was anhand der Singulettstruktur des Signals zu erkennen ist. Das Proton bei  $\delta_{\text{H}} = 8.00$  ppm besitzt ebenfalls keinen Nachbarn, dessen Signal ist aber mit einer Kopplungskonstante von 2 Hz zu einem Dublett aufgespalten. Diese Kopplungskonstante findet man in

dem Signal des aromatischen Methinprotons bei  $\delta_{\text{H}} = 7.07$  ppm wieder. Analog zu **24** handelt es sich hierbei wieder um eine Allylkopplung (W-Kopplung).

Diese Verbindung enthält eine Methylengruppe, die nicht olefinischer Natur ist, sondern durch ihre Verschiebung im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum bei  $\delta_{\text{C}} = 69.73$  ppm an einem Heteroatom gebunden sein muss. Zusätzlich spricht die starke Tieffeldverschiebung der zugehörigen Protonen bei  $\delta_{\text{H}} = 4.90$  ppm und die Multiplizität des Signals (Singulett) dafür, dass sich diese Methylengruppe zwischen einem Sauerstoffatom und einem quartären aromatischen Kohlenstoffatom befindet. Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum zeigt drei Methylgruppen mit unterschiedlichen Verschiebungen, die alle Singulettstruktur zeigen und somit keine direkt benachbarten Protonen als Kopplungspartner besitzen.

Auch von dieser Verbindung konnte mangels Substanzmenge kein  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum erhalten werden, so dass die Lage der Kohlenstoffatome wieder anhand der HSQC- und HMBC-Experimente ermittelt werden musste.

**27** enthält 8 DBE, wovon wiederum 7 durch das Azulensystem festgelegt sind. Die verbleibende Doppelbindung ist somit in Form einer Carbonylfunktion gebunden (Carbonylbande bei  $1764\text{ cm}^{-1}$  im GC-FTIR-Spektrum), wie dies auch an der charakteristischen  $^{13}\text{C}$ -Verschiebung des zugehörigen Kohlenstoffatoms bei  $\delta_{\text{C}} = 169.86$  ppm zu erkennen ist.

Pos.	$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ ) [ppm]	$\delta$ ( $^1\text{H}$ ) [ppm]	Int.	$J$ [Hz]	$^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY	HMBC	NOESY
1	136.23	-	-	-	-	-	-
2	137.41	7.34	1H	s	-	C-1, C-8a	9- $\text{CH}_3$
3	126.04	-	-	-	-	-	-
3a	135.83	-	-	-	-	-	-
4	135.08	8.00	1H	d, $J = 2$	6-H	C-3, C-6, C-8a, C-11	9- $\text{CH}_3$ , 11- $\text{CH}_2$
5	127.27	-	-	-	-	-	-
6	138.73	7.07	1H	dd, $J_1 = 1.9, J_2 = 10.6$	4-H, 7-H	C-3a, C-8, C-11	11- $\text{CH}_2$
7	126.85	6.42	1H	d, $J = 10.5$	6-H	C-5, C-8a, C-10	10- $\text{CH}_3$
8	148.30	-	-	-	-	-	-
8a	129.66	-	-	-	-	-	-
9	12.30	2.27	3H	s	-	C-1, C-2, C-3	2-H, 4-H
10	26.47	2.93	3H	s	-	C-7, C-8, C-8a	7-H
11	69.73	4.90	2H	s	-	C-3a, C-5, C-6, C-12	4-H, 6-H
12	169.86	-	-	-	-	-	-
13	20.32	1.64	3H	s	-	C-12	11- $\text{CH}_2$

**Tabelle 6:** Chemische Verschiebungen der Kohlenstoffatome und Protonen sowie enthaltene Kopplungskonstanten [ $^1\text{H}$ : 700 MHz bzw.  $^{13}\text{C}$ : 100.6 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Die Kopplungen im  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-, HMBC- und NOESY-Spektrum sind angegeben.

Durch das HMBC-Spektrum kann die vollständige Zuordnung im oxygenierten Substituenten erfolgen. Die Methylgruppe bei  $\delta_{\text{H}} = 1.64$  ppm ( $\delta_{\text{C}} = 20.32$  ppm) ist unmittelbar an die

Carbonylgruppe gebunden, die wiederum zusammen mit dem zweiten Sauerstoffatom Teil einer Esterfunktion ist. Unmittelbar an das einfach gebundene Estersauerstoffatom bindet die oben genannte Methylengruppe ( $\delta_{\text{H}} = 4.90 / \delta_{\text{C}} = 69.73$  ppm), die aufgrund ihrer charakteristischen chemischen Verschiebung am Sauerstoff gebunden sein muss. Durch fehlende Kopplungspartner im Protonen- bzw.  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-Spektrum ist sie direkt am Ringsystem lokalisiert.

Es liegt somit ein Acetoxymethyl-Substituent vor, was zusätzlich durch das GC-FTIR-Spektrum sowie die Bildung von Essigsäure im GC-MS gestützt wird. Die Alternative eines Azulencarbonsäuremethylesters kann durch Vergleich der chemischen Verschiebungen der Protonen bzw. Kohlenstoffatome im Substituenten mit entsprechenden Daten der isolierten Substanz eindeutig ausgeschlossen werden (s. Tabelle 7).<sup>62</sup>

	$^1\text{H-NMR}$ $\delta$ ( $\text{CH}_3$ ) [ppm]	Literaturwert $^{13}\text{C-NMR}$ $\delta$ ( $\text{CH}_3$ ) [ppm]	$^1\text{H-NMR}$ $\delta$ ( $\text{CH}_2$ ) [ppm]	Literaturwert $^{13}\text{C-NMR}$ $\delta$ ( $\text{CH}_2$ ) [ppm]
$\text{H}_3\text{C-CO-O-CH}_2\text{-R}$	1.5 - 2.5	ca. 20	4.2 - 5.5	40 - 80
$\text{H}_3\text{C-O-CO-CH}_2\text{-R}$	3.0 - 4.0	50 - 65	3.2 - 4.5	30 - 40

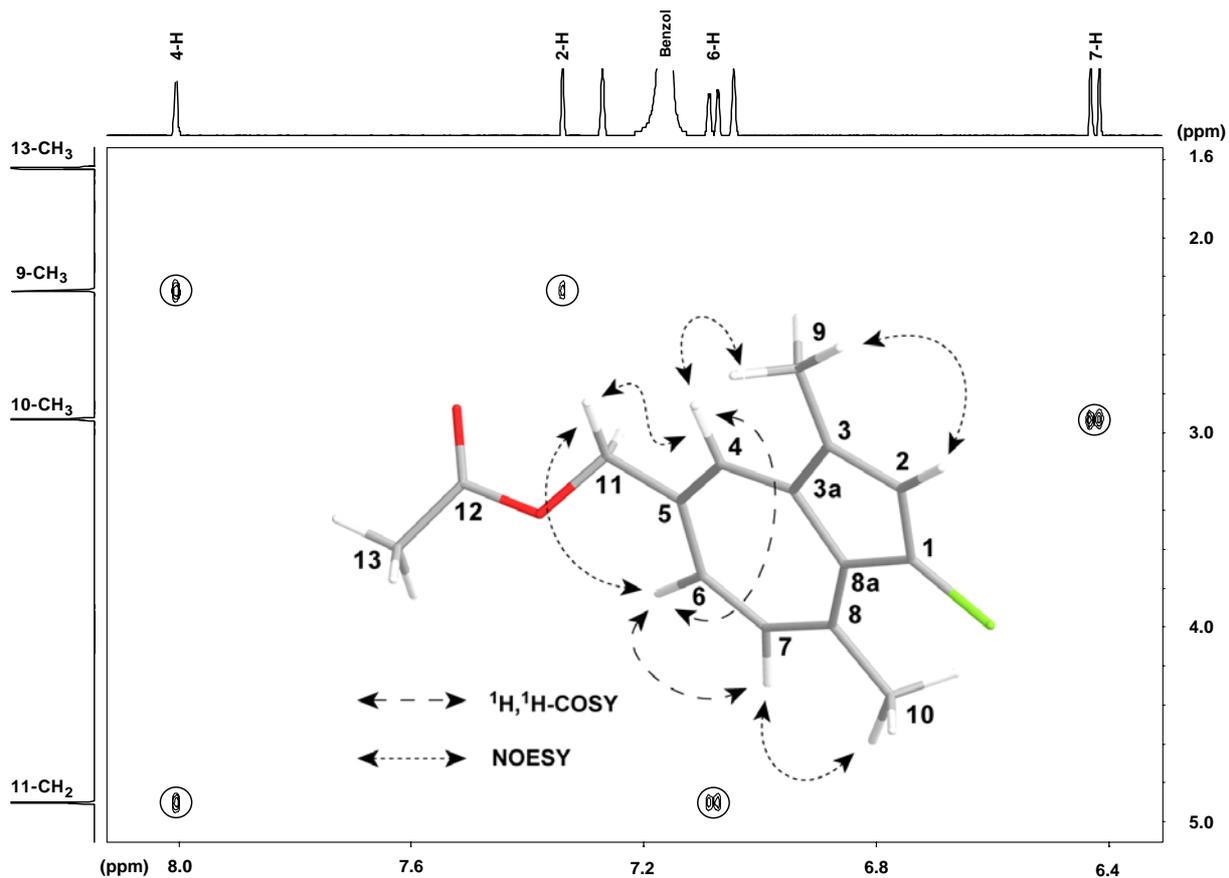
**Tabelle 7:** Durch einen Vergleich der chemischen Verschiebungen unterschiedlich gebundener Protonen bzw. Kohlenstoffatome im Substituenten kann ein Azulenylmethylester eindeutig ausgeschlossen werden.

Wie bei **24** kann das Substitutionsmuster am Ringsystem auch bei dieser Verbindung eindeutig anhand des NOESY-Spektrums, gestützt von HMBC- und  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-Daten, zugeordnet werden (Abbildung 35). Die Diskussion der NMR-Spektren wird zeigen, dass das Substitutionsmuster von **27** mit dem des Lactarazulens (**24**) bzw. Guajazulens (**31**) übereinstimmt.

Die Signale der aromatischen Protonen geben Auskunft über deren räumliche Umgebung, so dass das charakteristisch tieffeldverschobene Methinproton bei  $\delta_{\text{H}} = 8.0$  ppm (4-H) wieder als Ausgangspunkt der NOE-Diskussion dient.\*

---

\* Die Nummerierung der halogenierten Azulengerüste unterscheidet sich von den halogenfreien Strukturen. In diesen Verbindungen nimmt das Halogenatom tragende Kohlenstoffatom die Priorität 1 ein.

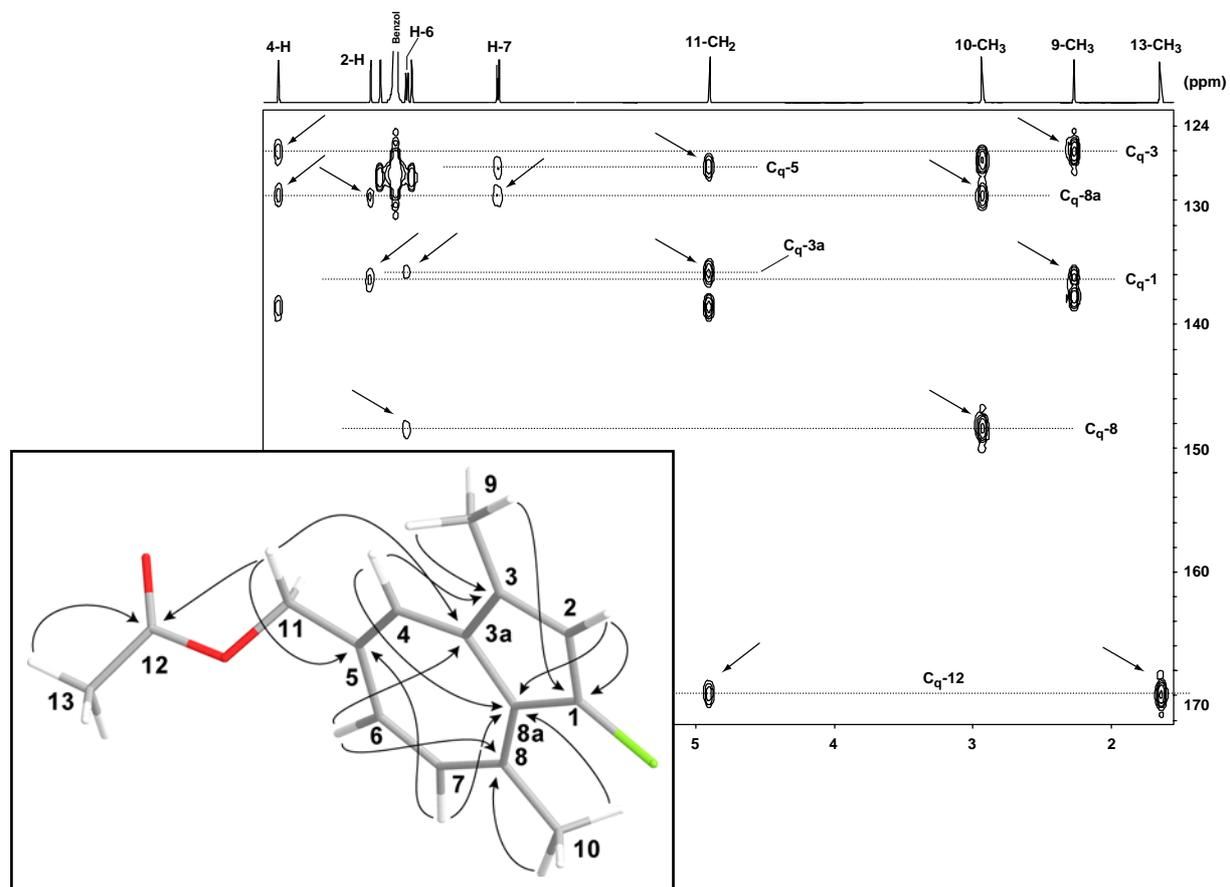


**Abbildung 35:** Ausschnitt aus dem NOESY-Spektrum von **27** [700 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Die aus dem NOESY- und  $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY-Spektrum gewonnenen Kopplungen für die Bestimmung des Substitutionsmusters des Azulensystems sind markiert bzw. in der Graphik abgebildet.

Das Methinproton 4-H zeigt eine Wechselwirkung mit der Methylgruppe 9-CH<sub>3</sub> und der sich im Substituenten in Position 5 befindenden Methylengruppe 11-CH<sub>2</sub>, die wiederum einen NOE mit dem aromatischen Proton 6-H zeigt. 6-H ist benachbart zum Proton 7-H ( $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY-Spektrum), das die Methylgruppe 10-CH<sub>3</sub> in seiner Umgebung aufweist (NOESY-Spektrum). Das letzte zuzuordnende aromatische Proton ist 2-H, das nur mit der Methylgruppe 9-CH<sub>3</sub> eine NOE-Wechselwirkung zeigt.

Anhand dieser Daten kann jetzt auch die Substitutionsstelle des Chloratoms genau bestimmt werden. Da das Proton 2-H keinen im  $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY-Spektrum erkennbaren Kopplungspartner und nur die Methylgruppe 9-CH<sub>3</sub> als Nachbarn aufweist, muss das Chloratom im Fünfring an Position 1 gebunden sein. Gestützt wird diese Annahme auch durch die Methylgruppe 10-CH<sub>3</sub>, die ebenfalls wie 2-H nur mit einem Proton (7-H) koppelt und nicht zwei unmittelbare Nachbarn aufweist, wie dies in **24** der Fall ist.

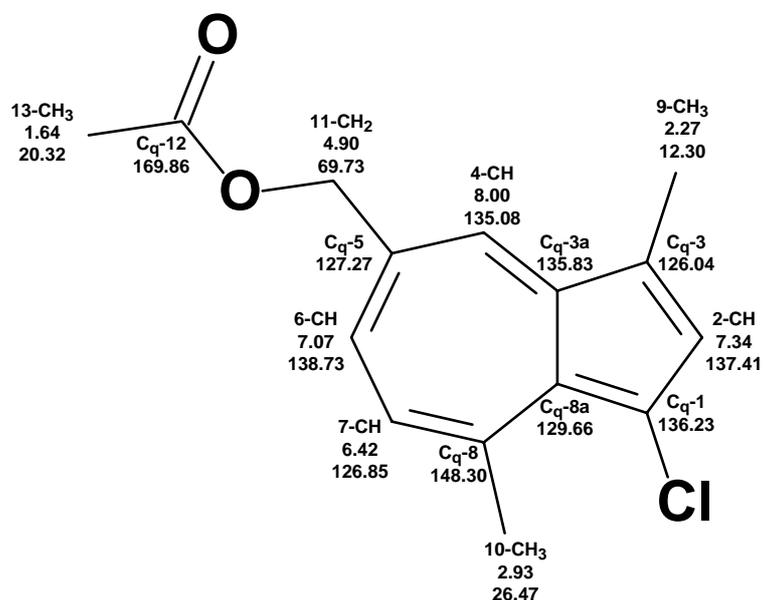
Weiterhin können letztlich anhand des HMBC-Spektrums durch charakteristische Vicinal- und Allylkopplungen die Positionen der quartären Kohlenstoffatome, vor allem die der Brückenkopfatome, festgestellt werden (s. Abbildung 36).



**Abbildung 36:** Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum von **27** [700 MHz, Benzol- $d_6$ ].

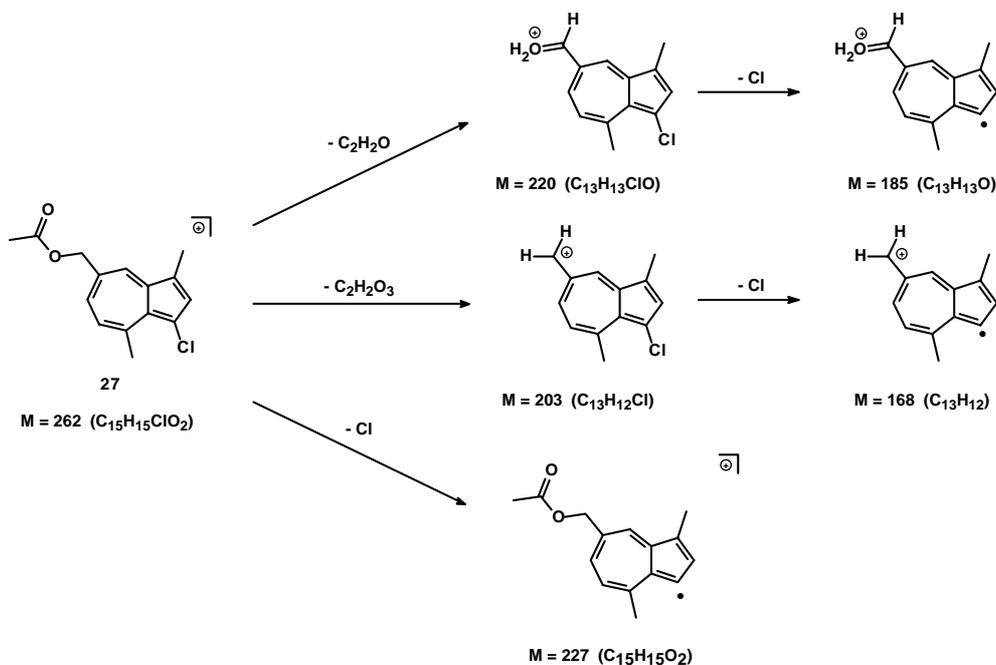
Der quartäre Brückenkopf  $C_q-3a$  lässt sich anhand einer Allylkopplung durch das Proton 6-H und durch die Kopplung mit der Methylengruppe 11-CH<sub>2</sub> ( $^4J_{H,C}$ -Kopplung) identifizieren. Ähnlich kann der zweite Brückenkopf  $C_q-8a$  gefunden werden, welcher gleich mit drei aromatischen Protonen in vicinaler Stellung (2-H, 4-H und 7-H) koppelt. Daneben koppeln mit ihm die Protonen der benachbarten Methylgruppe 10-CH<sub>3</sub>. Da die  $^2J_{H,C}$ -Kopplungskonstante zwischen aromatischen Protonen und benachbarten Kohlenstoffatomen im Azulen-System sehr klein oder gleich null ist, sind Kreuzsignale von aromatischen Methinprotonen mit benachbarten Kohlenstoffatomen nicht sichtbar. Dagegen sind einige Allylkopplungen zu erkennen, durch die verschiedene tertiäre sowie quartäre Kohlenstoffatome detektiert werden können und für die Strukturaufklärung sehr hilfreich sind.

Anhand dieser gewonnenen Daten kann die isolierte Verbindung **27** eindeutig als 5-Acetoxymethyl-1-chlor-3,8-dimethylazulen identifiziert werden. Dessen Struktur und die chemischen Verschiebungen der Wasserstoff- und Kohlenstoffatome sind in Abbildung 37 dargestellt.



**Abbildung 37:** Die Struktur von 5-Acetoxymethyl-1-chlor-3,8-dimethylazulen (**27**) mit den entsprechenden chemischen Verschiebungen der Wasserstoff- und Kohlenstoffatome.

Nach dieser Strukturzuordnung lässt sich auch das Massenspektrum von **27** sinnvoll interpretieren (Abbildung 38).



**Abbildung 38:** Übersicht über mögliche Fragmentierungen von 5-Acetoxymethyl-1-chlor-3,8-dimethylazulen (**27**) und wahrscheinliche Strukturen wichtiger Fragmente.

Der Basispeak ( $m/z$  203) und dessen Stabilität lassen sich gut aus der Struktur ableiten. Die positive Ladung kann zum einen über das ganze Ion mesomeriestabilisiert werden, und zum anderen enthält es keine besonders „leicht abspaltbaren“ Gruppen wie z. B. das Ion  $m/z$  220. Die Abspaltung des Chloratoms vom Ringgerüst spielt eine untergeordnete Rolle, da zunächst der labilere, oxygenierte Substituent abgebaut wird. Danach zerfällt das Azulengerüst in kleinere unspezifische Fragmente.

#### 5.2.3.4. Strukturvorschlag für die Verbindung 26

In den zusammengefassten Fraktionen 21 - 39 wurden die zwei einfach chlorierten Azulene **25** und **26** angereichert und über präparative Gaschromatographie getrennt. Die isolierte Substanzmenge von **26** reichte lediglich für ein 500 MHz  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum, wohingegen von **25** aufgrund der geringen Menge kein NMR erhalten werden konnte. Bei **26** handelt es sich um eine Substanz, deren Zusammensetzung anhand des hochaufgelösten Massenspektrums zu  $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{Cl}$  mit 8 Doppelbindungsäquivalenten bestimmt wurde. Abbildung 39 und Tabelle 8 zeigen das Massenspektrum sowie die Zusammensetzung des Molekülions und wichtiger Fragmentationen von **26**. Anhand einer vergleichenden Diskussion der spektroskopischen Daten dieser Verbindung mit denen der bereits identifizierten Komponenten **24** und **27** ( $^1\text{H-NMR}$ , HR-EIMS), wird für **26** mit 3-Chlorlactarazulen ein plausibler Strukturvorschlag gemacht.

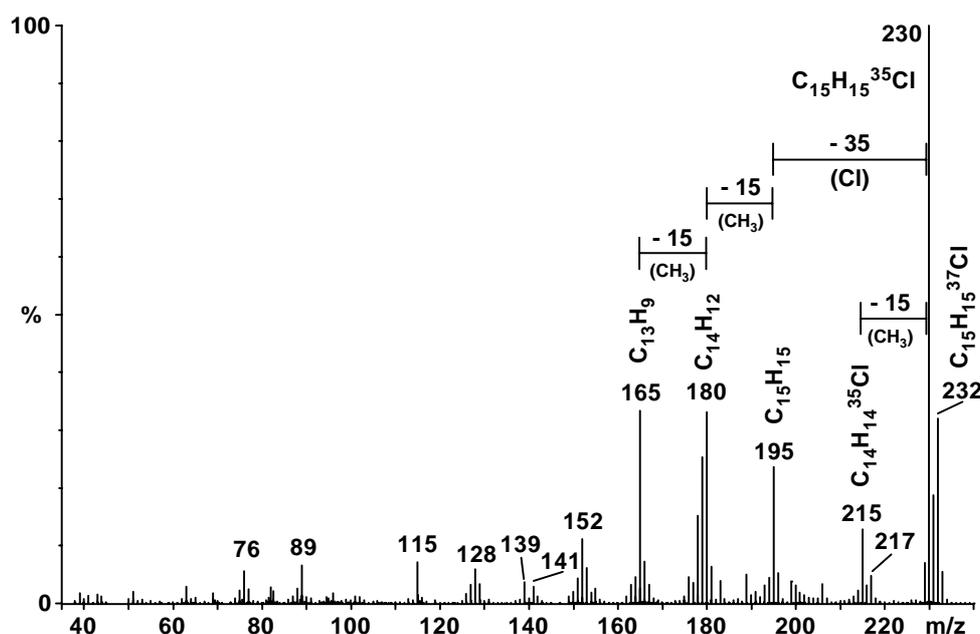
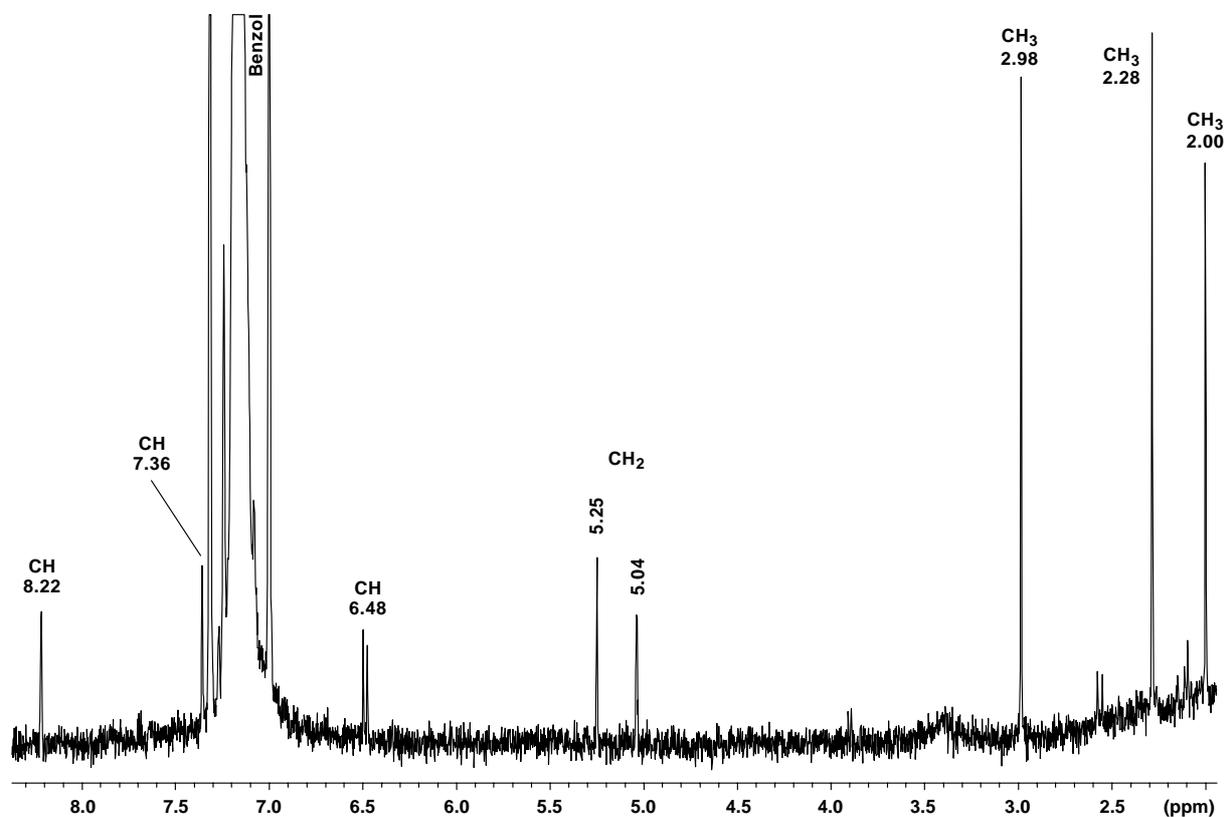


Abbildung 39: Massenspektrum von **26** (EI, 70 eV) mit der Zusammensetzung  $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{Cl}$

[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungsäquivalente
232	232.084	232.083	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> <sup>37</sup> Cl	- 0.6	- 2.5	8
230	230.087	230.086	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> <sup>35</sup> Cl	- 0.9	- 3.8	8
217	217.066	217.060	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> <sup>37</sup> Cl	- 6.2	- 28.5	8.5
215	215.064	215.063	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> <sup>35</sup> Cl	- 1.4	- 6.3	8.5
195	195.116	195.117	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub>	1.1	5.5	8.5
180	180.094	180.094	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub>	- 0.6	- 3.3	9
179	179.085	179.086	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub>	1.2	6.5	9.5
178	178.078	178.078	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>	- 0.2	- 1.1	10
165	165.069	165.070	C <sub>13</sub> H <sub>9</sub>	0.9	5.7	9.5

**Tabelle 8:** Atomare Zusammensetzung des Moleküliions und wichtiger Fragmentionen von **26**

Da es sich bei **26** um eine monochlorierte Verbindung handelt, ist sowohl anhand der Isotopenverteilung des Moleküliions im Massenspektrum als auch an den Hochauflösungsdaten leicht zu erkennen. Neben den Abspaltungen einer oder mehrerer Methylgruppen ist die eines Chlorradikals aus dem Moleküliion zu erkennen. Es lagen 8 Doppelbindungsäquivalente vor, wovon bereits 7 auf das Azulengerüst entfallen. Das verbleibende Doppelbindungsäquivalent muss daher zu einer olefinischen Doppelbindung oder einem Cyclopropanring gehören. Anhand des <sup>1</sup>H-NMR-Spektrums können durch Integration Rückschlüsse auf die enthaltenen Strukturelemente gezogen werden.



**Abbildung 40:** <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von **26** [500 MHz, Benzol-*d*<sub>6</sub>].

Vergleicht man das Protonenspektrum von **26** mit dem des Lactarazolens (**24**) und des 5-Acetoxymethyl-1-chlor-3,8-dimethylazulen (**27**), so lässt sich eine Kombination aus bestimmten Signalverschiebungen der zwei bereits diskutierten Verbindungen im Spektrum dieser Substanz wieder finden.

Durch Einführung des Chloratoms in **24**, ändern sich die chemischen Verschiebungen der enthaltenen Kohlenstoff- und Wasserstoffatome erheblich, so dass eine Signallage resultiert, die der im 5-Acetoxymethyl-1-chlor-3,8-dimethylazulen (**27**) recht nahe kommt. Offenbar übt der oxygenierte Substituent in **27** keinen signifikanten Einfluss auf die chemischen Verschiebungen der im 1-Chlor-3,8-dimethylazulen-5-yl-Grundgerüst enthaltenen Kohlenstoffatome und Protonen aus.

$\delta$ ( $^1\text{H}$ ) in <b>26</b> [ppm]	$J$ [Hz]	Proton(en)	$\delta$ ( $^1\text{H}$ ) in <b>24</b> [ppm]	$\delta$ ( $^1\text{H}$ ) in <b>27</b> [ppm]
2.00	s	13-CH <sub>3</sub>	<b>2.09</b>	nicht vorhanden
2.28	s	9-CH <sub>3</sub>	(2.55)	<b>2.27</b>
2.98	s	10-CH <sub>3</sub>	(2.57)	<b>2.93</b>
5.04	s	11-CH <sub>2</sub>	<b>5.09</b>	nicht vorhanden
5.25	s		<b>5.31</b>	
6.48	d, $J = 10.7$	7-H	(6.73)	<b>6.42</b>
7.36	s	2-H	(7.64)	<b>7.34</b>
8.22	s	4-H	<b>8.48</b>	<b>8.00</b>
nicht vorhanden	(d)	6-H	7.49	7.07

**Tabelle 9:** Die in dem 500 MHz- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **26** enthaltenen Signale und direkter Vergleich mit äquivalenten Protonen in **24** und **27** lassen Rückschlüsse auf dessen Struktur zu. Das Proton 6-H liegt wahrscheinlich unter dem Lösungsmittelsignal.

Die chemische Verschiebung der Protonen von 9-CH<sub>3</sub> ändert sich von  $\delta_{\text{H}} = 2.55$  ppm zu höherem Feld bei  $\delta_{\text{H}} = 2.28$  ppm, was nahezu ihrer Verschiebung in **27** entspricht. Gegenteilig verhält sich durch die Einführung des Chloratoms die Signallage der Methylgruppe 10-CH<sub>3</sub>. Sie ist zu tiefem Feld bei  $\delta_{\text{H}} = 2.98$  ppm anstatt der  $\delta_{\text{H}} = 2.57$  ppm in **24** verschoben und zeigt eine nahezu identische chemische Verschiebung ( $\delta_{\text{H}} = 2.93$  ppm) wie die entsprechende Methylgruppe im oxygenierten Vertreter **27**.

Vergleicht man das vorhandene Spektrum mit dem von **24**, so lässt sich in **26** ebenfalls eine Isopropenylgruppe, wahrscheinlich in Position 5, erkennen. Die beiden olefinischen Protonen der Methylengruppe korrelieren mit denen in **24** (s. Tabelle 9).

Ähnlich verhält sich die Verschiebung der verbleibenden Methinprotonen. Da das Proton bei  $\delta_{\text{H}} = 7.36$  ppm nur ein Singulett darstellt, dürfte es sich dabei um 2-H handeln, das nahezu die gleiche Verschiebung wie in **27** und somit kein Proton in unmittelbarer Nachbarschaft aufweist. Die Position des Chloratoms ist wieder auf Position 1 festgelegt.



### 5.2.3.5. 5-Acetoxycarbomethoxymethylen-1-chlor-3,8-dimethylazulen (28)

In den Fraktionen 40 - 50 konnte die monochlorierte Verbindung **28** mit dem in Abbildung 42 gezeigten Massenspektrum und der Zusammensetzung  $C_{17}H_{17}ClO_4$  angereichert werden.

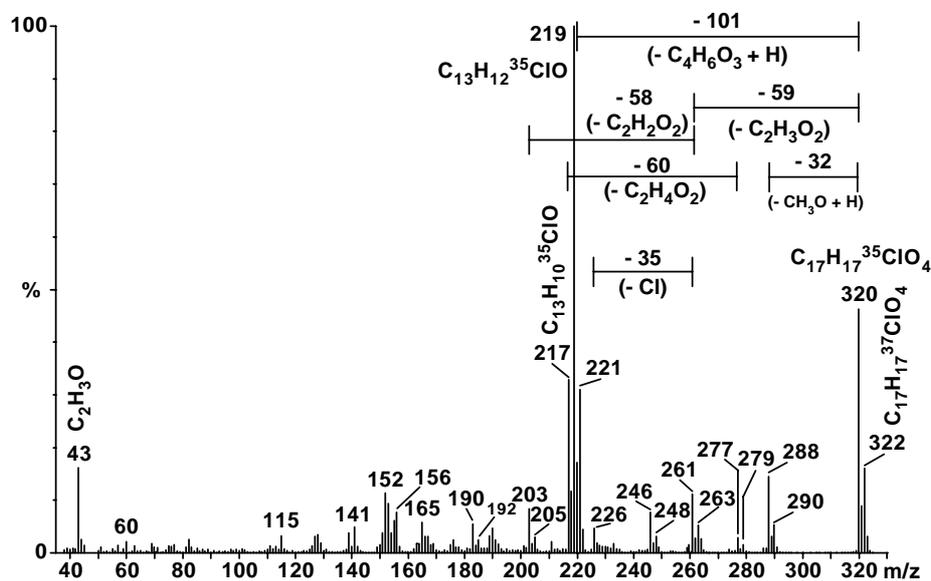
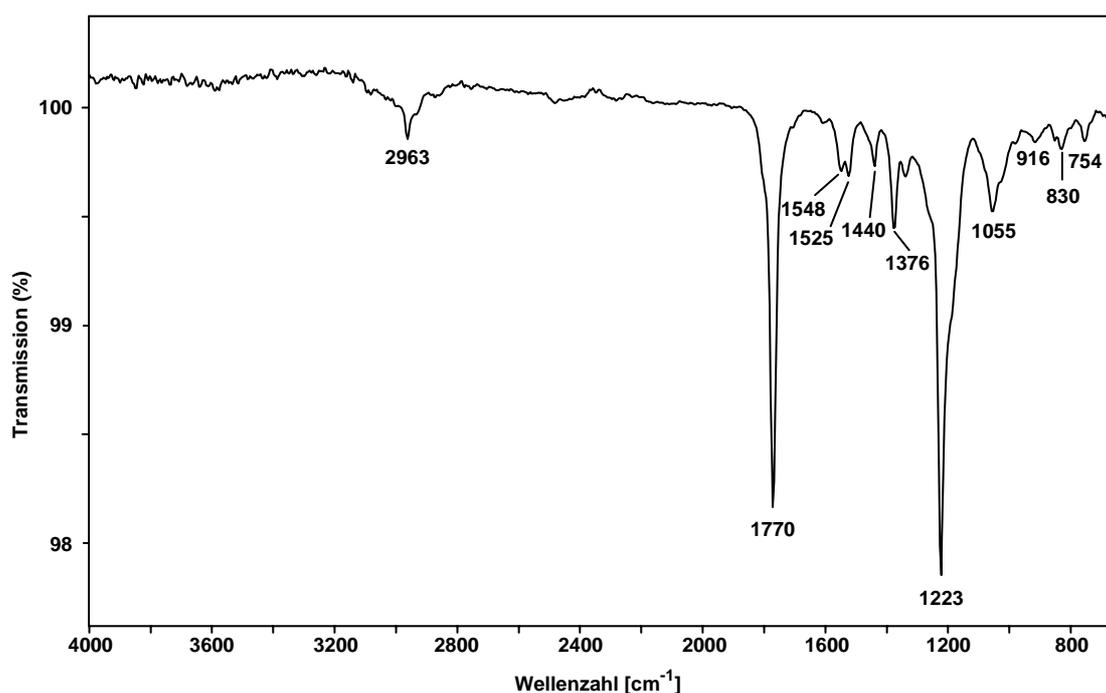


Abbildung 42: Massenspektrum von **28** (EI, 70 eV)

[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungsäquivalente
322	322.075	322.079	$C_{17}H_{17}^{37}ClO_4$	3.2	10.0	9
320	320.084	320.082	$C_{17}H_{17}^{35}ClO_4$	- 7.8	- 2.5	9
290	290.052	290.052	$C_{16}H_{13}^{37}ClO_3$	3.2	11.2	10
288	288.051	288.055	$C_{16}H_{13}^{35}ClO_3$	4.1	14.3	10
279	279.067	279.060	$C_{15}H_{14}^{37}ClO_3$	- 7.2	- 25.7	8.5
277	277.063	277.063	$C_{15}H_{14}^{35}ClO_3$	0.3	1,2	8.5
263	263.065	263.065	$C_{15}H_{14}^{37}ClO_2$	- 5.1	- 19.3	8.5
261	261.071	261.068	$C_{15}H_{14}^{35}ClO_2$	- 2.4	- 9.3	8.5
248	248.046	248.042	$C_{14}H_{11}^{37}ClO_2$	- 4.6	- 18.6	9
246	246.046	246.045	$C_{14}H_{11}^{35}ClO_2$	- 10.0	- 4.0	9
226	226.102	226.099	$C_{15}H_{14}O_2$	- 2.2	- 9.8	9
221	221.058	221.055	$C_{13}H_{12}^{37}ClO$	- 2.9	- 13.2	7.5
219	219.060	219.058	$C_{13}H_{12}^{35}ClO$	- 2.1	- 9.4	7.5
217	217.046	217.042	$C_{13}H_{10}^{35}ClO$	- 20.2	- 4.4	8.5
205	205.060	205.060	$C_{13}H_{12}^{37}Cl$	0.0	0.1	7.5
203	203.063	203.063	$C_{13}H_{12}^{35}Cl$	1.2	6.1	7.5
192	192.054	192.052	$C_{12}H_{11}^{37}Cl$	- 2.3	- 12.2	7
190	190.055	190.055	$C_{12}H_{11}^{35}Cl$	- 1.0	- 5.4	7
165	165.071	165.070	$C_{13}H_9$	- 0.4	- 2.4	9.5
156	156.096	156.094	$C_{12}H_{12}$	- 1.6	- 10.3	7
141	141.072	141.070	$C_{11}H_9$	- 1.5	- 10.9	7.5
43	43.019	43.018	$C_2H_3O$	- 0.6	- 14	1.5

Tabelle 10: Atomare Zusammensetzung des Moleküliions und wichtiger Fragmentionen von **28**

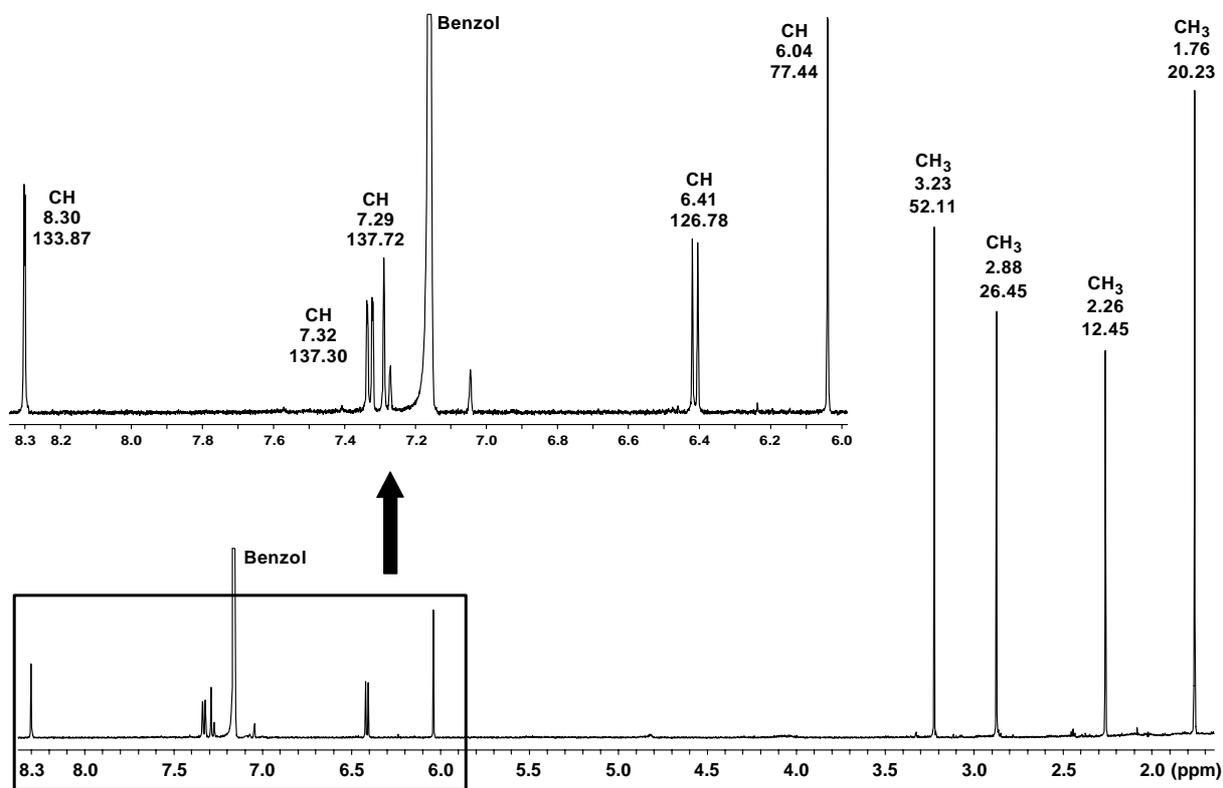
**28** ist um 58 g/mol schwerer als 5-Acetoxymethyl-1-chlor-3,8-dimethylazulen (**27**) und unterscheidet sich in seiner Zusammensetzung um  $C_2H_2O_2$ . Bei einem zusätzlichen Doppelbindungsäquivalent lässt diese  $C_2H_2O_2$ -Einheit die Vermutung zu, dass das Molekül möglicherweise über eine zusätzliche Acetoxy-Gruppe verfügt. Die Fragmentierungen im Massenbereich unter  $m/z$  200 sind in **28** und **27** nahezu identisch. Der Unterschied liegt im höheren Massenbereich. So wird der Basispeak bei  $m/z$  219 aus dem Molekülion  $m/z$  320 durch Abspaltung einer  $C_4H_5O_3$ -Untereinheit (101 g/mol) gebildet. Wie in **27** spaltet sich aus dem Molekülion ebenfalls deprotonierte Essigsäure ( $M - 59$ ) zu  $m/z$  261 und zusätzlich Methanol zu  $m/z$  288 ab. Analog zu **27** wird Chlor als Radikal und nicht in Form von HCl abgespalten. Dessen Fragmentierung spielt auch bei diesem Massenspektrum eine nur untergeordnete Rolle. Ob es sich bei der  $C_2H_2O_2$ -Gruppierung um einen zusammengehörigen Substituenten (z. B. Acetoxy-Gruppe) handelt und wo dieser sich im Molekül befinden könnte, lässt sich wiederum anhand zweidimensionaler NMR-Spektren eindeutig klären.



**Abbildung 43:** GC-FTIR-Spektrum von **28**

Der Vollständigkeit halber soll hier zunächst auf das GC-FTIR-Spektrum eingegangen werden, welches nahezu identisch mit dem von **27** ist. Die Lage der wichtigen Banden, die wiederum auf eine chlorierte aromatische Carbonylverbindung hindeuten, ist nur um wenige Wellenzahlen verschoben. So liegt die Bande, die auf einen Chloraromaten hinweist nicht bei 1021, sondern bei 1051  $cm^{-1}$ . Die Carbonylschwingung ist im Spektrum von **28** bei höheren Wellenzahlen (1770  $cm^{-1}$ ) anzutreffen und deren Absorption ist im Vergleich zu **27** fast

doppelt so intensiv. Auch in diesem Spektrum treten neben den beiden beschriebenen Signalen weitere Absorptionsbanden in den Hintergrund.



**Abbildung 44:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **28** [700 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Die chemischen Verschiebungen der Protonen und Kohlenstoffatome sind angegeben. Der Ausschnitt von 6.0 - 8.4 ppm ist vergrößert dargestellt.

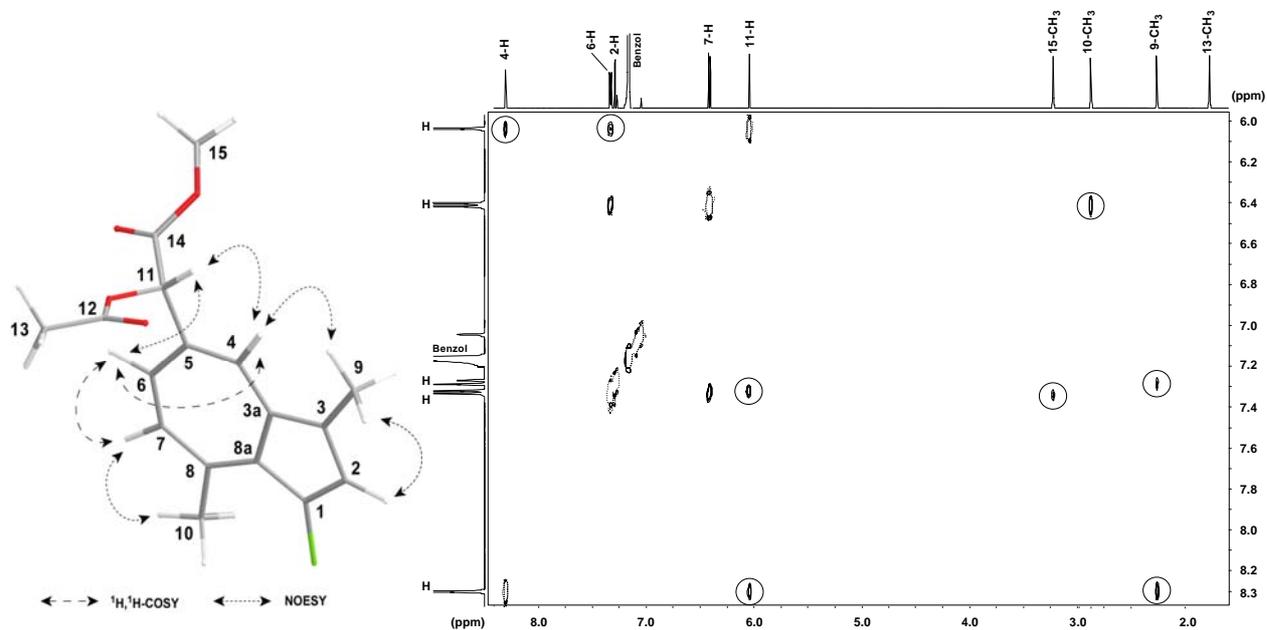
Im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum sind vier Methylgruppen im Bereich zwischen 1.4 bis 3.0 ppm zu erkennen, gefolgt von fünf Methinprotonen, wovon das Proton bei  $\delta_{\text{H}} = 6.04$  ppm durch die Verschiebung des zugehörigen Kohlenstoffatoms ( $\delta_{\text{C}} = 77.44$  ppm) aliphatischen Charakter besitzt. Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **28** unterscheidet sich von dem der Verbindung **27** in zwei Punkten. Es ist eine weitere Methylgruppe ( $\delta_{\text{H}} = 3.23$  ppm) und anstatt der Methylen-Gruppe ein zusätzliches Methinproton bei  $\delta_{\text{H}} = 6.04$  ppm zu erkennen. Der bereits erwähnte Acetoxy-Substituent ist möglicherweise ebenfalls in der in Position 5 gebundenen Seitenkette enthalten.

Wie in **27** fehlt einem aromatischen Methinproton ( $\delta_{\text{H}} = 7.29$  ppm) der Kopplungspartner, so dass das Chloratom wiederum in Position 1 des Ringsystems gebunden sein dürfte. Tabelle 11 enthält die Daten der ein- und zweidimensionalen NMR-Experimente von **28**.

Pos.	$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ ) [ppm]	$\delta$ ( $^1\text{H}$ ) [ppm]	Int.	$J$ [Hz]	$^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY	HMBC	NOESY
1	136.40	-	-	-	-	-	-
2	137.72	7.29	1H	s	-	C-1, C-8a, C-9	9-CH <sub>3</sub>
3	127.30	-	-	-	-	-	-
3a	134.36	-	-	-	-	-	-
4	133.87	8.30	1H	d, $J = 2$	6-H	C-3, C-5, C-8a, C-11	9-CH <sub>3</sub> , 11-H
5	125.09	-	-	-	-	-	-
6	137.30	7.32	1H	dd, $J_1 = 1.8, J_2 = 10.5$	4-H, 7-H	C-3a, C-8, C-11	11-H
7	126.78	6.41	1H	d, $J = 10.7$	6-H	C-5, C-8a, C-10	10-CH <sub>3</sub>
8	149.32	-	-	-	-	-	-
8a	129.88	-	-	-	-	-	-
9	12.45	2.26	3H	s	-	C-2, C-3, C-8a	2-H, 4-H
10	26.45	2.88	3H	s	-	C-3, C-8, C-8a, C-7	7-H
11	77.44	6.04	1H	s	-	C-3a, C-5, C-6, C-14	4-H, 6-H
12	169.94	-	C <sub>q</sub> (C=O)	-	-	-	-
13	20.23	1.76	3H	s	-	C-12	-
14	169.67	-	C <sub>q</sub> (C=O)	-	-	-	-
15	52.11	3.23	3H	s	-	C-14	-

**Tabelle 11:** Chemische Verschiebungen der Kohlenstoffatome und Protonen sowie enthaltene Kopplungskonstanten von **28** [ $^1\text{H}$ : 700 MHz bzw.  $^{13}\text{C}$ : 176 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Die Kopplungen im  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-, HMBC- und NOESY-Spektrum sind angegeben.

Eindeutige Aufschlüsse über die Struktur liefern zweidimensionale NMR-Experimente, bei denen ähnliche Verhältnisse wie in **27** gefunden werden. Auch hier gibt das NOESY-Spektrum wiederum eindeutige Aufschlüsse über das Substitutionsmuster des Azulengerüsts (s. Abbildung 45).

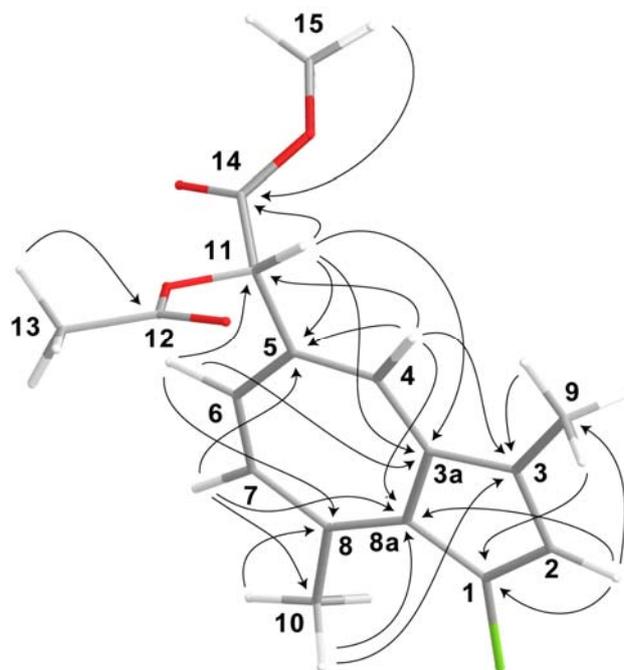
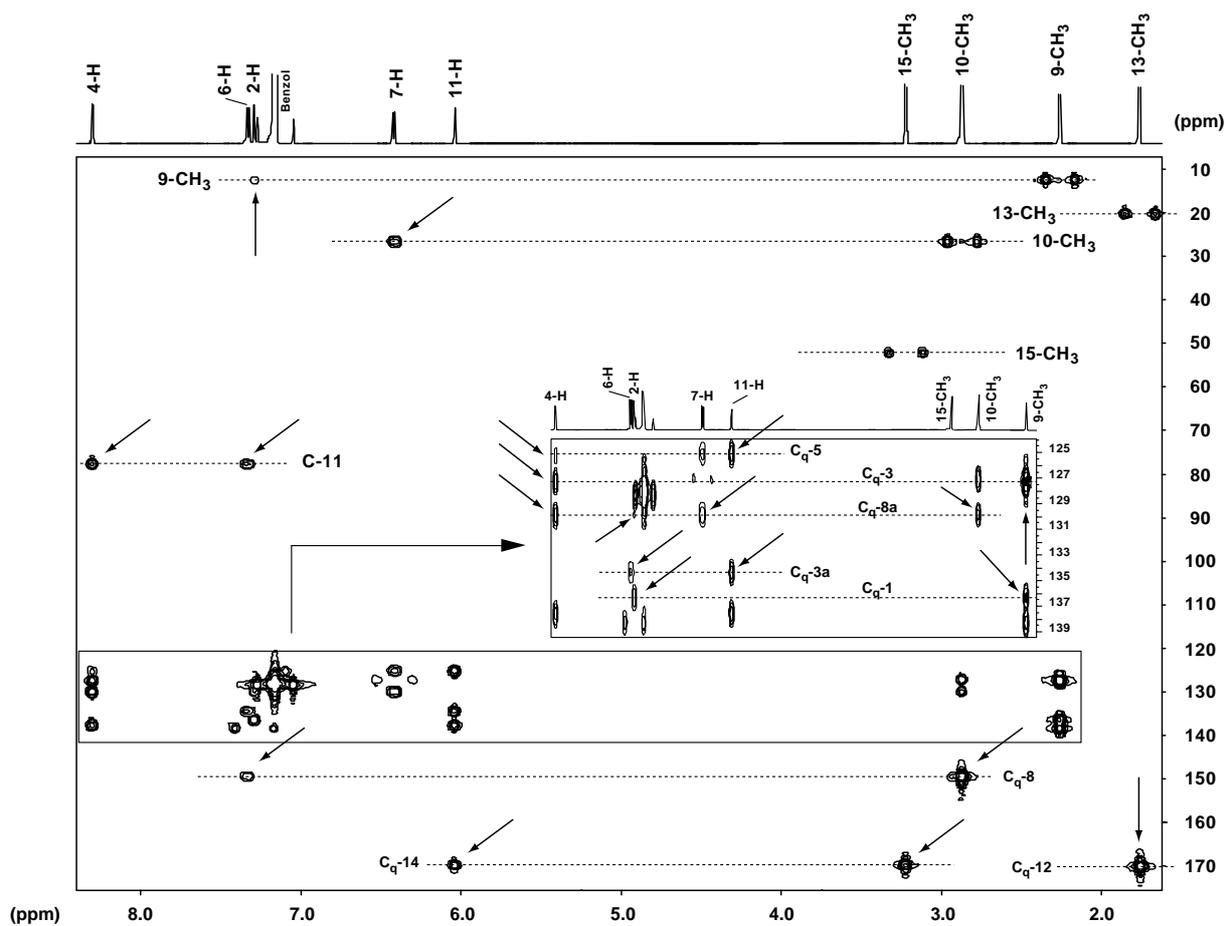


**Abbildung 45:** Ausschnitt aus dem NOESY-Spektrum von **28** [700 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Die wichtigsten Kopplungen für die Bestimmung des Substitutionsmusters des Azulensystems sind markiert.

Anhand des NOESY-Spektrums wird ersichtlich, dass das Proton mit der starken Tieffeldverschiebung von  $\delta_{\text{H}} = 8.03$  ppm (4-H) mit dem aliphatischen Methinproton sowie, analog zu **27**, mit einer Methylgruppe (9-CH<sub>3</sub>) in Wechselwirkung tritt.

Das zu höchstem Feld verschobene Methinproton (11-H) koppelt mit dem aromatischen Proton 6-H, welches unmittelbar benachbart zu dem Methinproton 7-H liegt. Als nächstes folgt die Methylgruppe bei  $\delta_{\text{H}} = 2.88$  ppm (10-CH<sub>3</sub>), die das bereits besprochene aromatische Proton 7-H zum Nachbarn hat. Die Methylgruppe 9-CH<sub>3</sub> bestimmt das Substitutionsmuster am Fünfring, so dass die tieffeldverschobenen Protonen bei 4-H und 2-H zugeordnet werden können. Dadurch, dass das 6-H und die Methylgruppe 10-CH<sub>3</sub> jeweils nur einen Kopplungspartner besitzen, deckt sich das Substitutionsmuster im Ringsystem mit dem des 5-Acetoxy-methyl-1-chlor-3,8-dimethylazulen (**27**). Das Chloratom ist wiederum im Fünfring an Position 1 gebunden.

Bereits durch den NOESY-Datensatz, gekoppelt mit massenspektrometrischen Daten, wird deutlich, dass am quartären Kohlenstoffatom C<sub>q</sub>-5 ein Substituent mit der Zusammensetzung C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>O<sub>4</sub>, in dem zwei Carbonylgruppen enthalten sind, über das Kohlenstoffatom C-11 gebunden sein muss. Allerdings gibt das NOESY-Spektrum keinerlei Auskunft über einen möglichen Aufbau des Substituenten, da beide verbliebenen Methylgruppen (13-CH<sub>3</sub> und 15-CH<sub>3</sub>;  $\delta_{\text{H}} = 1.76$  und 3.23 ppm) keinerlei Wechselwirkungen mit anderen Protonen zeigen. Klarheit über die Struktur des Substituenten und die Verknüpfung der quartären Kohlenstoffatome von **28** liefert zweifelsfrei das HMBC-Spektrum (Abbildung 46).



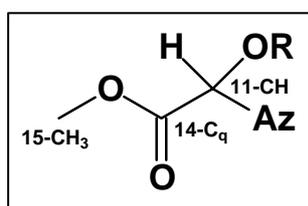
**Abbildung 46:** Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum von **28** [700 MHz, Benzol-*d*<sub>6</sub>]. Die Kopplung zu quartären Kohlenstoffatomen trägt zur Klärung des Azulensystems und des Substituenten an Position 5 bei.

Anhand der chemischen Verschiebung von C-11 ( $\delta_C = 77.44$  ppm) ist klar zu erkennen, dass es sich hierbei um ein tertiäres, Sauerstoff gebundenes Kohlenstoffatom handeln muss.

Weiterhin sind in diesem Substituenten zwei quartäre Kohlenstoffatome bei  $\delta_C = 169.67$  und  $169.94$  ppm ( $C_q$ -14 und  $C_q$ -12) enthalten, die wegen ihrer Verschiebung eindeutig Carbonylkohlenstoffatome sind. Damit kann ein weiteres Ringsystem ausgeschlossen werden.

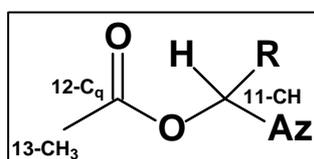
Die Carbonylkohlenstoffatome werden durch zwei verschiedene Methylgruppen erkannt: Es koppeln die Protonen der Methylgruppe 13-CH<sub>3</sub> ( $\delta_H = 1.76$  ppm) ausschließlich mit dem Kohlenstoffatom  $C_q$ -12 und die der Methylgruppe 15-CH<sub>3</sub> mit  $C_q$ -14. Das Carbonylkohlenstoffatom  $C_q$ -14 wird außerdem durch das Methinproton bei  $\delta_H = 6.04$  ppm (11-H) erkannt.

Ein Vergleich der chemischen Verschiebungen der Kohlenstoff- und Wasserstoffatome von 13-CH<sub>3</sub> und 15-CH<sub>3</sub> gibt genauere Auskunft über deren Bindungspartner:



Die charakteristische chemische Verschiebung von 15-CH<sub>3</sub> ( $\delta_C = 52.11$  ppm /  $\delta_H = 3.23$  ppm) liefert zweifelsfrei die Information, dass diese Methylgruppe Sauerstoff gebunden sein muss. Das Carbonylkohlenstoffatom  $C_q$ -14 wird im HMBC-Spektrum gleichzeitig von 15-CH<sub>3</sub> und 11-H detektiert, so dass es sich bei einem der beiden an C-11 gebundenen Substituenten nur um einen Methylester handeln kann (s. kl. Abb.).

Im zweiten Substituenten mit der verbleibenden Zusammensetzung C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>, der ebenfalls



über C-11 gebunden ist, liegt analog zu **27** wieder eine an einen Carbonylkohlenstoff ( $C_q$ -12;  $\delta_C = 169.94$  ppm) gebundene Methylgruppe vor. Es kann sich dabei nur um einen Acetoxy-Rest handeln (s. kl. Abb.).

Tabelle 12 verdeutlicht durch Vergleich mit Literaturdaten, dass zwei verschiedener Reste an dem aliphatischen Kohlenstoffatom C-11 gebunden sind.

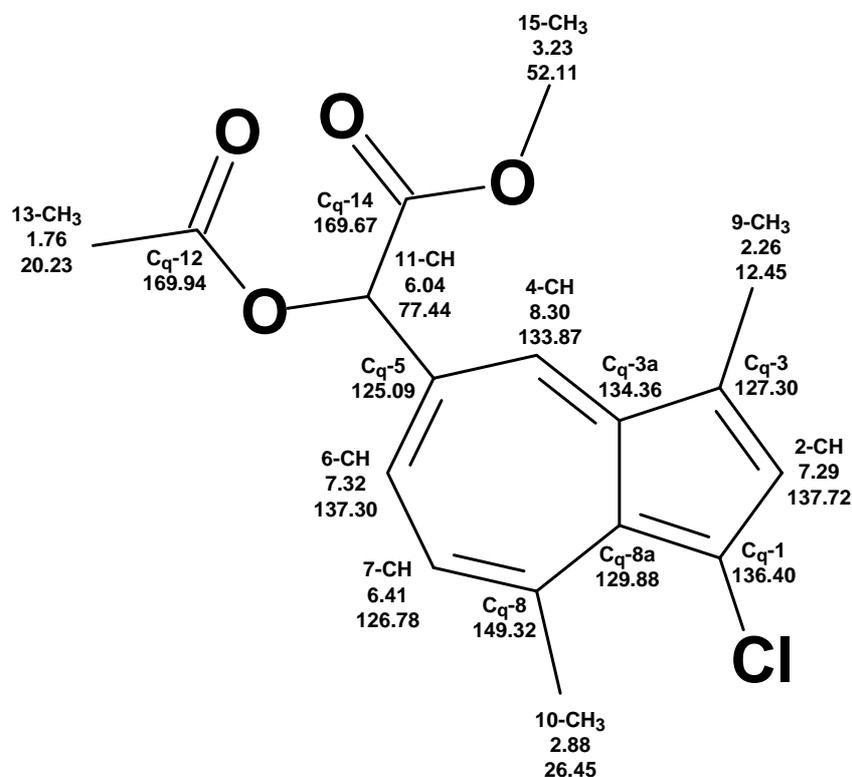
	<sup>1</sup> H-NMR $\delta$ (CH <sub>3</sub> ) [ppm]	Literatur-Wert <sup>1</sup> H-NMR $\delta$ (CH <sub>3</sub> ) [ppm]	<sup>13</sup> C-NMR $\delta$ (CH <sub>3</sub> ) [ppm]	Literaturwert <sup>13</sup> C-NMR $\delta$ (CH <sub>3</sub> ) [ppm]
H <sub>3</sub> C-CO-O-R	1.76	1.5 - 2.5	20.23	ca. 20
H <sub>3</sub> C-O-CO-R	3.23	3.0 - 4.0	52.11	50 - 65

**Tabelle 12:** In **28** sind eine Acetoxymethylgruppe und eine Methylesterfunktion vereinigt.

Anhand der Methinprotonen lassen sich im HMBC-Spektrum die restlichen quartären Kohlenstoffatome im Azulengerüst zuordnen:

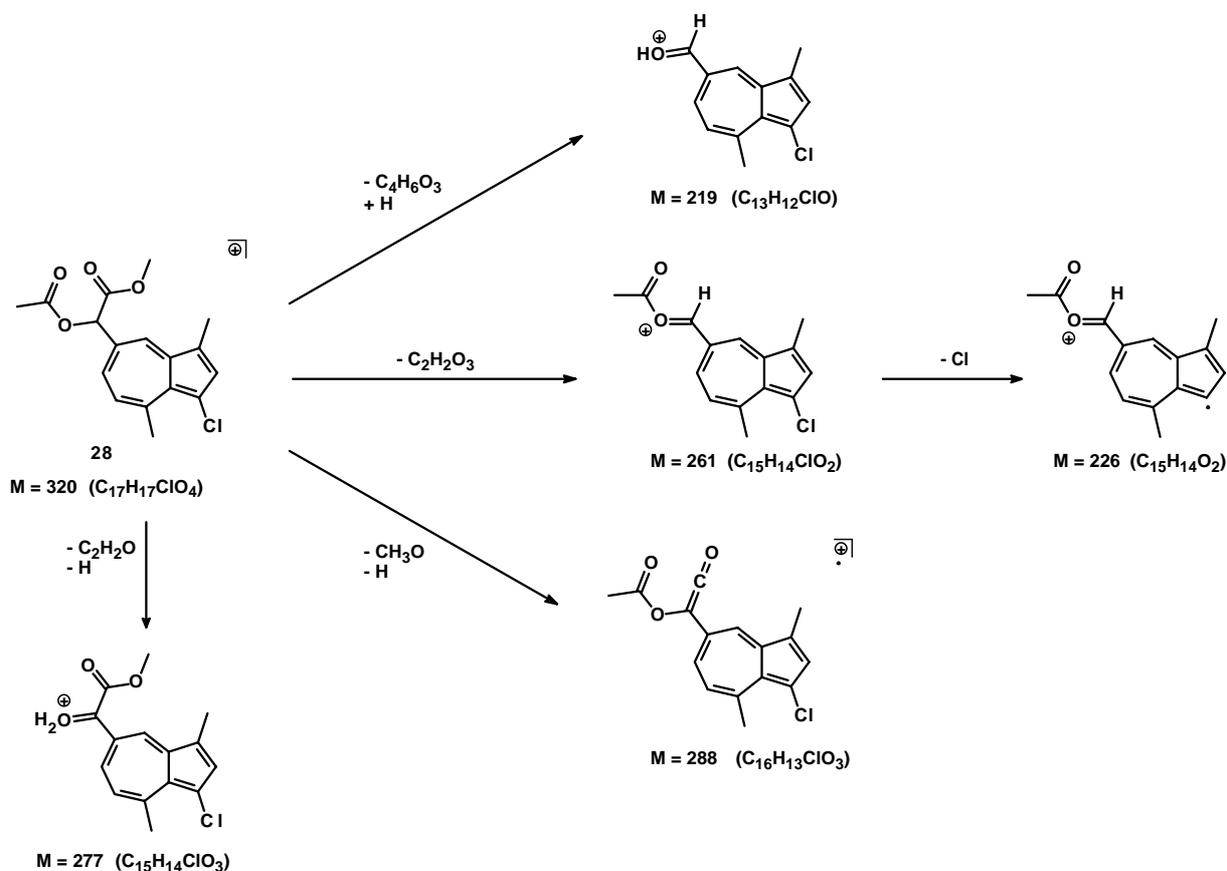
Das den Substituenten tragende quartäre Kohlenstoffatom C<sub>q</sub>-5 ( $\delta_C = 125.09$  ppm) wird durch die benachbarten Protonen 11-H und 4-H und in vicinaler Stellung durch 7-H detektiert. Die Anordnung der quartären Kohlenstoffatome C<sub>q</sub>-3 und C<sub>q</sub>-8 wird durch die Methinprotonen bzw. Methylgruppen 4-H, 9-CH<sub>3</sub> und 10-CH<sub>3</sub> bzw. 7-H und 10-CH<sub>3</sub> zugeordnet. Das Chloratom tragende Kohlenstoffatom C<sub>q</sub>-1 wird durch das benachbarte Proton 2-H und durch die Methylgruppe 9-CH<sub>3</sub> detektiert. Die Position der Brückenköpfe C<sub>q</sub>-3a und C<sub>q</sub>-8a kann eindeutig gleich durch drei bzw. vier Kopplungspartner ausgemacht werden. C<sub>q</sub>-3a wird durch das tieffeldverschobene Proton 4-H sowie durch <sup>4</sup>J<sub>H,C</sub>-Kopplungen (Allylkopplungen) von 11-H bzw. 6-H und C<sub>q</sub>-8a durch drei vicinale Kopplungspartner 4-H, 7-H sowie 10-CH<sub>3</sub> identifiziert. Daneben werden auch die im Ringsystem befindlichen tertiären Kohlenstoffatome durch aromatische Methinprotonen bzw. am Carbocyclus gebundene Methylgruppen mit Hilfe von Allylkopplungen zugeordnet.

Zusammenfassend kann **28** eindeutig als 5-Acetoxycarbomethoxymethylen-1-chlor-3,8-dimethylazulen identifiziert werden. Die anhand der NMR-Experimente ermittelten chemischen Verschiebungen der Wasserstoff- und Kohlenstoffatome zeigt Abbildung 47.



**Abbildung 47:** Die Struktur von 5-Acetoxycarbomethoxymethylen-1-chlor-3,8-dimethylazulen (**28**). Die chemischen Verschiebungen der Wasserstoff- und Kohlenstoffatome sind angegeben.

Mit diesen gewonnenen Daten kann das Massenspektrum von **28** erklärt werden.

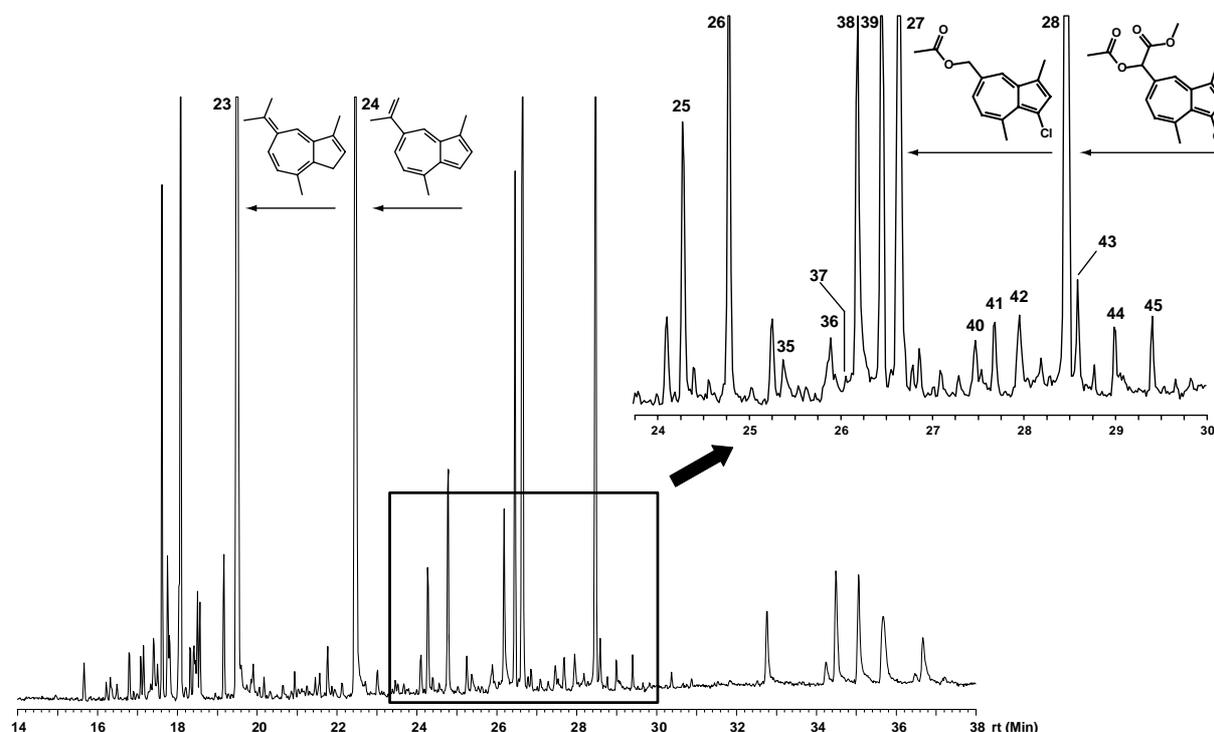


**Abbildung 48:** Übersicht über die verschiedenen Fragmentierungen von 5-Acetoxy-carbomethoxymethylen-1-chlor-3,8-dimethylazulen (**28**) und Strukturen wichtiger Fragmente.

Primär werden unterschiedliche sauerstoffhaltige Fragmentionen ( $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$ ,  $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_3$ ,  $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_3\text{O}$ ) aus dem Molekülion abgespalten. Den Basispeak stellt dabei das (1-Chlor-3,8-dimethylazulen-5-yl)-methanol-Kation ( $m/z$  219) dar. Die Intensität des Fragmentes lässt sich sicherlich damit erklären, dass die positive Ladung über das Ringsystem stabilisiert wird. Nach Abbau des oxygenierten Restes erfolgen weniger dominante Fragmentierungen wie Abspaltungen der Methylgruppen bzw. des Chloratoms. Das aromatische Azulensystem zerfällt letztlich in kleinere Fragmente, deren Signale mit geringerer Intensität auftreten.

### 5.3. Strukturvorschläge für Haloazulene als Nebenkomponenten

Abbildung 49 zeigt einen vergrößerten Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm des Dichlormethanextraktes von *H. paupertas*.



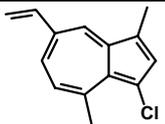
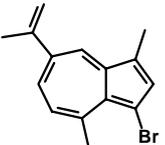
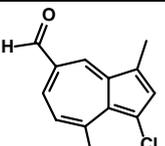
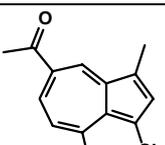
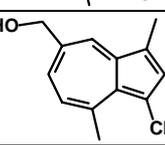
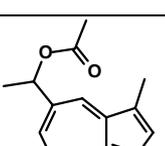
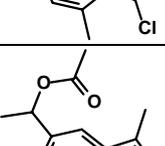
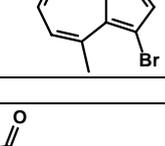
**Abbildung 49:** Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm des Dichlormethanextraktes von *H. paupertas* [Säule: BPX-5, 30 m, Temperaturprogramm: 50 °C, 5 min. isotherm, 10 °C/min, 300 °C]

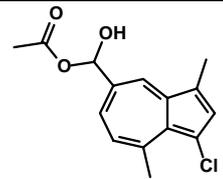
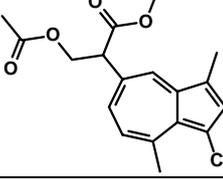
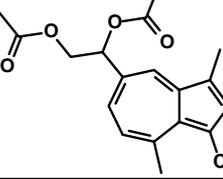
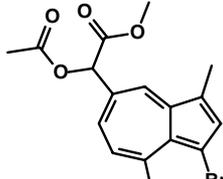
In diesem Kapitel werden weitere zwölf Substanzen (**25**, **35** - **45**), die aufgrund von zu geringer Extraktmenge nicht als Reinstoffe isoliert werden konnten, anhand ihrer Massenspektren diskutiert.

Die elementare Zusammensetzung von acht dieser zwölf Verbindungen konnte durch hochauflösende Massenspektrometrie bestimmt werden. Für die restlichen vier werden anhand ihrer Massenspektren Strukturvorschläge wahrscheinlich gemacht.

Unter Einbeziehung der spektroskopischen Daten der drei isolierten aromatischen Azulenervertreter **24**, **27** und **28**, kann im Folgenden gezeigt werden, dass es sich bei diesen zwölf Nebenkomponenten um Haloazulene handelt, die als Strukturanaloga zu den isolierten Komponenten angesehen werden können. Es wird angenommen, dass es sich bei den in Tabelle 13 in einer Übersicht dargestellten Nebenkomponenten, um 1-Brom- bzw. 1-Chlor-3,8-dimethylazulene-5-yl-Derivate handelt.

Bei der Diskussion der Strukturvorschläge werden zum besseren Verständnis die Verbindungen nicht in der Reihenfolge ihrer Retentionszeiten im Gaschromatogramm (Abbildung 49), sondern in Gruppen strukturverwandter Verbindungen zusammengefasst und diskutiert.

	Summenformel	Masse [g/mol]	Strukturvorschlag	Name
<b>25</b> Kapitel 5.3.1.	$C_{14}H_{13}Cl$	216.71		1-Chlor-3,8-dimethyl-5-vinylazulene
<b>36</b> Kapitel 5.3.2.	$C_{15}H_{15}Br$	275.19		1-Brom-3,8-dimethyl-5-isopropenylazulene (3-Bromlactarazulene)
<b>35</b> Kapitel 5.3.3.	$C_{13}H_{11}ClO$	218.68		1-Chlor-5-formyl-3,8-dimethylazulene
<b>37</b> Kapitel 5.3.4.	$C_{14}H_{13}ClO^*$	232.71		5-Acetyl-1-chlor-3,8-dimethylazulene
<b>38</b> Kapitel 5.3.5.	$C_{13}H_{13}ClO$	220.70		1-Chlor-5-hydroxymethyl-3,8-dimethylazulene
<b>39</b> Kapitel 5.3.6.	$C_{16}H_{17}ClO_2$	276.76		5-(1-Acetoxyethyl)-1-chlor-3,8-dimethylazulene
<b>40</b> Kapitel 5.3.7.	$C_{16}H_{17}BrO_2^*$	321.21		5-(1-Acetoxyethyl)-1-brom-3,8-dimethylazulene
<b>41</b> Kapitel 5.3.8.	$C_{15}H_{15}BrO_2^*$	307.19		5-Acetoxymethyl-1-brom-3,8-dimethylazulene

	Summenformel	Masse [g/mol]	Strukturvorschlag	Name
42 Kapitel 5.3.9.	$C_{15}H_{15}ClO_3^*$	278.74		5-Acetoxyhydroxymethylen-1-chlor-3,8-dimethylazulene
43 Kapitel 5.3.10.	$C_{18}H_{19}ClO_4$	334.80		5-(2-Acetoxy-1-carbomethoxyethyl)-1-chlor-3,8-dimethylazulene
44 Kapitel 5.3.11.	$C_{18}H_{19}ClO_4$	334.80		5-(1,2-Diacetoxyethyl)-1-chlor-3,8-dimethylazulene
45 Kapitel 5.3.12.	$C_{17}H_{17}BrO_4$	365.22		5-Acetoxy carbomethoxymethylen-1-brom-3,8-dimethylazulene

**Tabelle 13:** Übersicht über die Substanzen, für die anhand der isolierten Azulenderivate ein Strukturvorschlag wahrscheinlich gemacht wird. Bei den mit \* gekennzeichneten Verbindungen konnte vom Molekülion keine hochaufgelöste Zusammensetzung erhalten werden. Wegen der geringen Mengen konnten keine Reinsubstanzen isoliert werden, so dass die Aufnahme von NMR-Spektren nicht möglich war. Die Strukturen werden aufgrund ihrer Massenspektren postuliert.

### 5.3.1. 1-Chlor-3,8-dimethyl-5-vinylazulen (25)

Die Verbindung **25** soll als erste von den zwölf unbekanntenen Substanzen diskutiert werden. Es handelt sich ebenfalls um eine monochlorierte Verbindung, was die Isotopenverteilung im Molekülpeak verdeutlicht. Ihre atomare Zusammensetzung konnte zu  $C_{14}H_{13}Cl$  mit 8 DBE bestimmt werden.

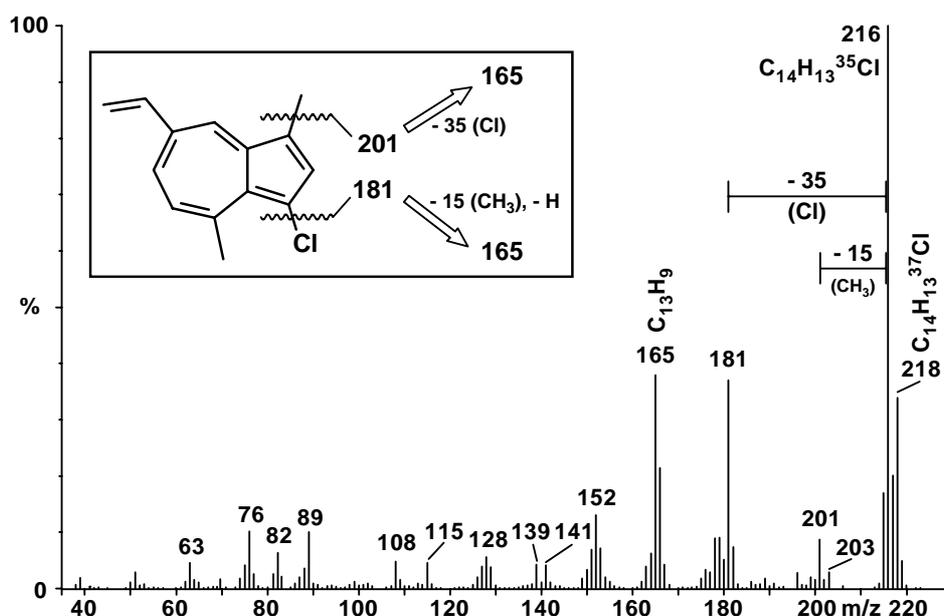


Abbildung 50: Massenspektrum von **25** (EI, 70 eV) mit der Zusammensetzung  $C_{14}H_{13}Cl$

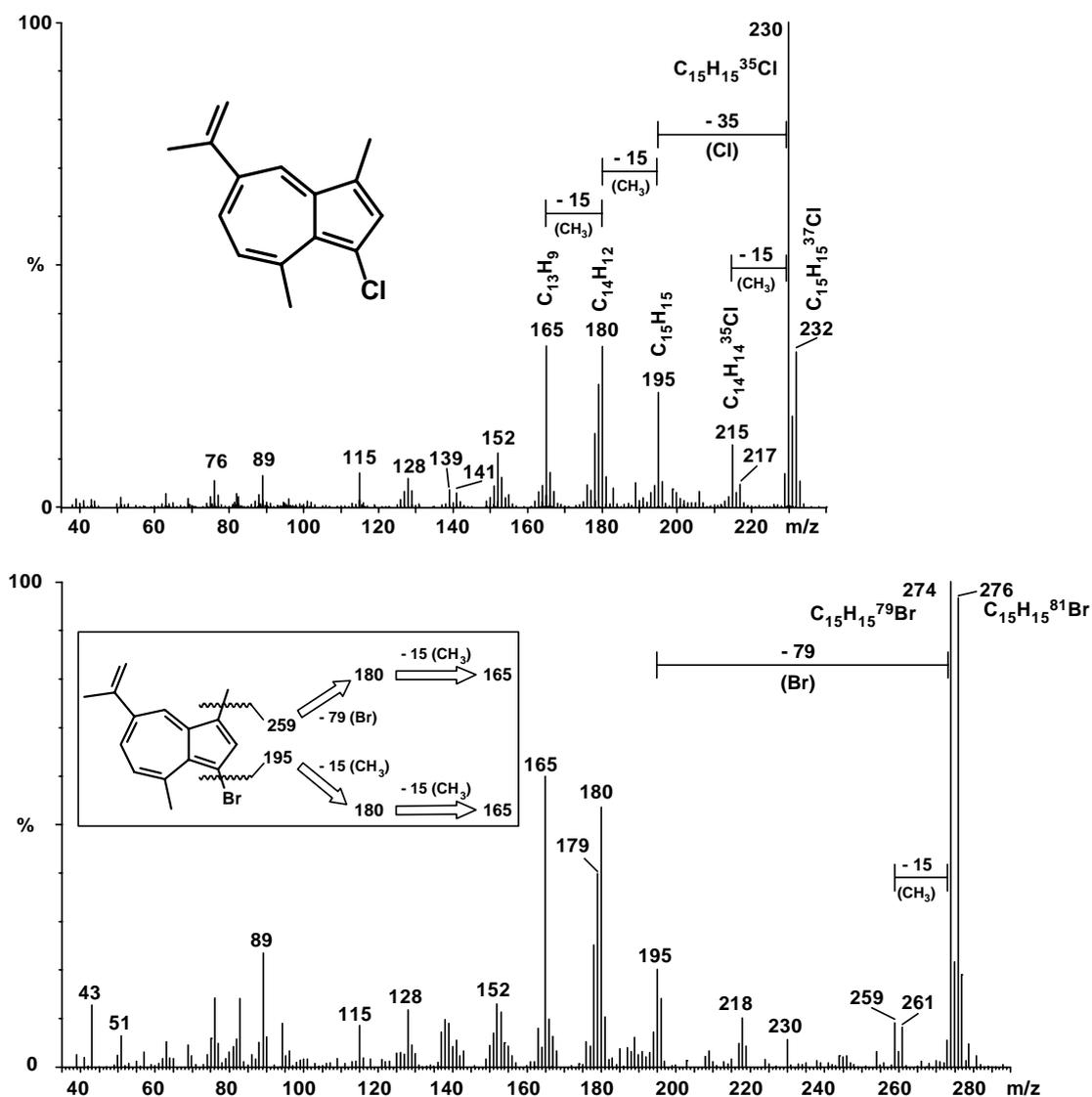
[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungsäquivalente
218	218.069	218.068	$C_{14}H_{13}^{37}Cl$	- 1.8	- 8.4	8
216	216.069	216.071	$C_{14}H_{13}^{35}Cl$	1.2	5.5	8
165	165.069	165.070	$C_{13}H_9$	1.9	11.4	9.5

Tabelle 14: Atomare Zusammensetzung des Moleküliions und wichtiger Fragmentionen von **25**

Weiterhin konnte die Zusammensetzung von m/z 165 zu  $C_{13}H_9$  bestimmt werden. Das Massenspektrum zeigt einerseits die Abspaltung eines Chloratoms zu m/z 181, aber auch die Abspaltung einer Methylgruppe zu m/z 201 sowie die typischen Ionenserien, die sich im Lactarazulen (**24**) und dessen oxygenierten Derivaten **27** und **28** wieder finden. **25** ist um 14 g/mol bzw. um eine Methylengruppe leichter als **26**. Wahrscheinlich liegt hier anstatt einer Isopropenylgruppe ein Vinylsubstituent in Position 5 vor, der das achte Doppelbindungsäquivalent trägt. Es handelt sich bei **25** wahrscheinlich um 1-Chlor-3,8-dimethyl-5-vinylazulen, ein Derivat des Chamazulens.

### 5.3.2. 1-Brom-3,8-dimethyl-5-isopropenylazulen (3-Bromlactarazulen) (36)

Bei **36** handelt es sich aller Wahrscheinlichkeit nach um das Bromanalogon zu 3-Chlorlactarazulen (**26**). Anhand des hochaufgelösten Massenspektrums wurde die Zusammensetzung des Molekülions  $m/z$  275 zu  $C_{15}H_{15}Br$  bestimmt.



**Abbildung 51:** Massenspektrum von **36** (unten) und als Vergleich das von 3-Chlorlactarazulen (**26**) (oben) (EI, 70 eV)

[m/z]	Gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungsäquivalente
274	274.035	274.036	$C_{15}H_{15}^{79}Br$	1.2	4.2	8
276	276.0314	276.034	$C_{15}H_{15}^{81}Br$	2.3	8.3	8

**Tabelle 15:** Atomare Zusammensetzung des Molekülions und wichtiger Fragmentionen von **36**

Die Bromierung ist auch anhand der Isotopenverteilung des Molekülpeaks erkennbar. Das Verhältnis des  $^{79}\text{Br}$  zum  $^{81}\text{Br}$  enthaltenen Ions beträgt 100 % ( $^{79}\text{Br}$ ) zu 98 % ( $^{81}\text{Br}$ ). Die Molekülonen von **36** und **26** sowie die Ionen, die aus der Abspaltung einer Methylgruppe resultieren ( $m/z$  259 für **36** und  $m/z$  215 für **26**) unterscheiden sich daher um die Differenz von 44 g/mol ( $\Delta ^{79}\text{Br} / ^{35}\text{Cl} = 44$ ).

Bei beiden Verbindungen entsteht nach Abspaltung des jeweiligen Halogenatoms wiederum das dehalogenierte Fragment  $m/z$  195, welches einem Lactarazulenyl-Kation entspricht. Daher zeigen beide Massenspektren im Massenbereich bis  $m/z$  195 nur geringe Abweichungen, da beide Kationen nach ähnlichen Mechanismen fragmentieren

### 5.3.3. 1-Chlor-5-formyl-3,8-dimethylazulen (35)

Verbindung **35** ist monooxygeniert und besitzt die Zusammensetzung  $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{ClO}$ .

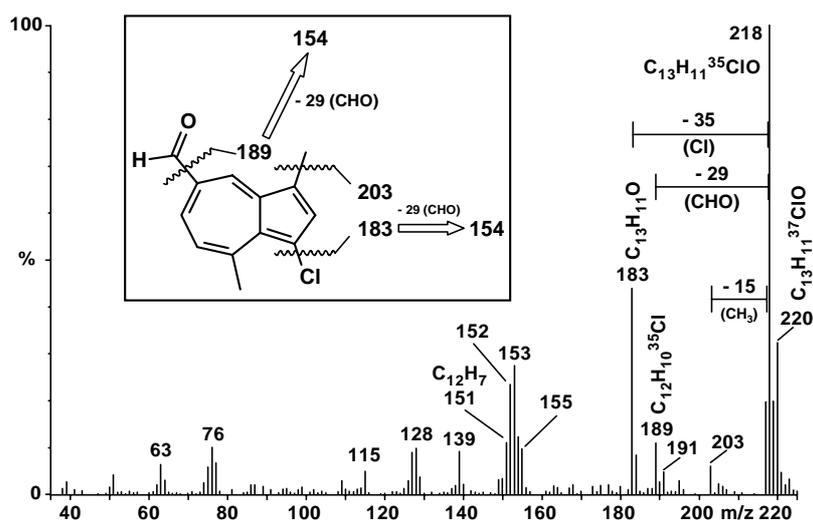


Abbildung 52: Massenspektrum von **35** (EI, 70 eV) mit der Zusammensetzung  $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{ClO}$

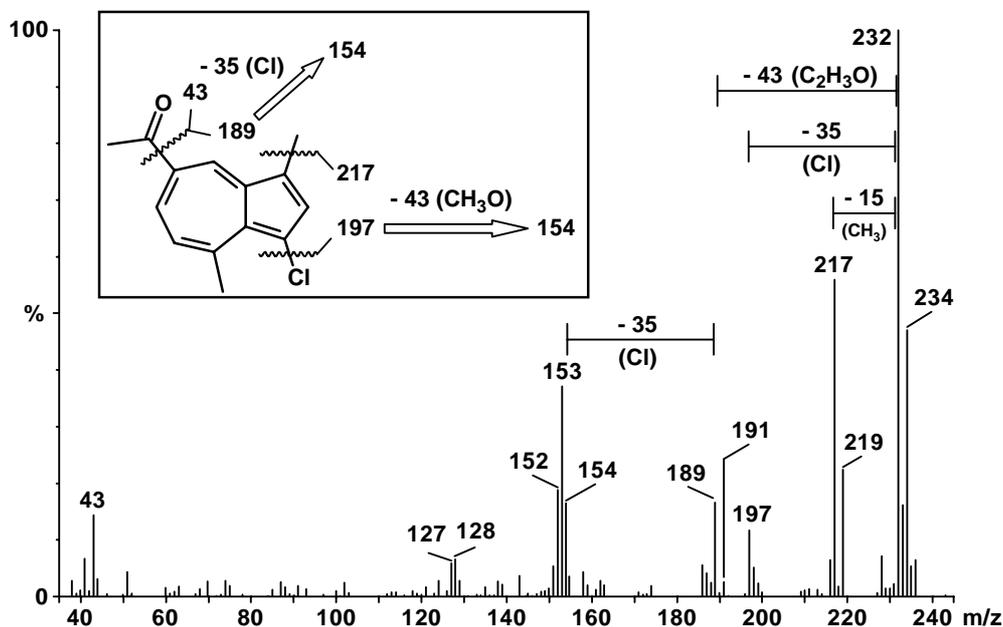
[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungsäquivalente
220	220.049	220.047	$\text{C}_{13}\text{H}_{11}^{37}\text{ClO}$	- 1.9	- 8.8	8
218	218.049	218.050	$\text{C}_{13}\text{H}_{11}^{35}\text{ClO}$	1.1	4.9	8
189	189.048	189.048	$\text{C}_{12}\text{H}_{10}^{35}\text{Cl}$	- 1.0	- 5.2	7.5
183	183.081	183.081	$\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{O}$	- 0.5	- 2.8	8.5
155	155.087	155.086	$\text{C}_{12}\text{H}_{11}$	- 1.1	- 7.1	7.5
153	153.075	153.070	$\text{C}_{12}\text{H}_9$	- 4.7	- 30.6	8.5
152	152.068	152.063	$\text{C}_{12}\text{H}_8$	- 5.0	- 32.6	9
151	151.049	151.055	$\text{C}_{12}\text{H}_7$	5.6	37.3	9.5

Tabelle 16: Atomare Zusammensetzung des Molekülonen und wichtiger Fragmentionen von **35**

Für **35** wird mit 1-Chlor-5-formyl-3,8-dimethylazulen anhand des Massenspektrums ein plausibler Strukturvorschlag gemacht. Legt man wieder einen 1-Chlor-3,8-dimethylazulen-5-yl-Grundkörper zugrunde, bleibt für den Substituenten in Position 5 nur eine CHO-Einheit (29 g/mol) mit dem verbleibenden achten DBE übrig. Es kann sich nur um einen Formyl-Rest handeln, da keine Wasserabspaltung (- 18, H<sub>2</sub>O) sondern die vollständige Abspaltung des Formylrestes im Massenspektrum erkennbar ist. Das resultierende Fragmentation m/z 189 ist nicht intensiv, was ebenso auf das Fragment m/z 203 (- CH<sub>3</sub>) zutrifft. Dagegen ist die Abspaltung des Chloratoms zu m/z 183 (C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>O) umso intensiver. Die Ionenserie m/z 151 bis m/z 155 zeigt das in verschiedenen Protonierungsgraden vorliegende 3,8-Dimethylazulen-1,5-yl-Grundgerüst, das anschließend in unspezifische Fragmente zerfällt.

#### 5.3.4. 5-Acetyl-1-chlor-3,8-dimethylazulen (**37**)

Von **37** konnte aufgrund der geringen Konzentration im Extrakt kein hochaufgelöstes Massenspektrum erhalten werden. Anhand des Isotopenmusters ist eine monochlorierte Verbindung zu erkennen, deren Zusammensetzung möglicherweise C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>ClO und der resultierenden Masse von 232.71 g/mol entspricht.



**Abbildung 53:** Massenspektrum von **37** (EI, 70 eV), deren Zusammensetzung nicht bestimmt werden konnte.

Da dieses Molekül eine recht stabile Verbindung darstellt, bildet das Molekülion gleichzeitig auch den Basispeak. Daraus werden neben einer Methylgruppe (M - 15), das Chloratom (M - 35) und ein Acetat-Fragment (M - 43) abgespalten. Aus dem 1-Chlor-3,8-dimethyl-

azulen-5-yl-Kation (m/z 189) spaltet auch das Chloratom unter Bildung von m/z 153 ab, und anschließend zerfällt die verbliebene aromatische Grundstruktur vollständig.

### 5.3.5. 1-Chlor-5-hydroxymethyl-3,8-dimethylazulen (38)

Substanz **38** ist eine monochlorierte, oxygenierte Verbindung, die die Zusammensetzung  $C_{13}H_{13}ClO$  mit der Masse 220.70 g/mol aufweist.

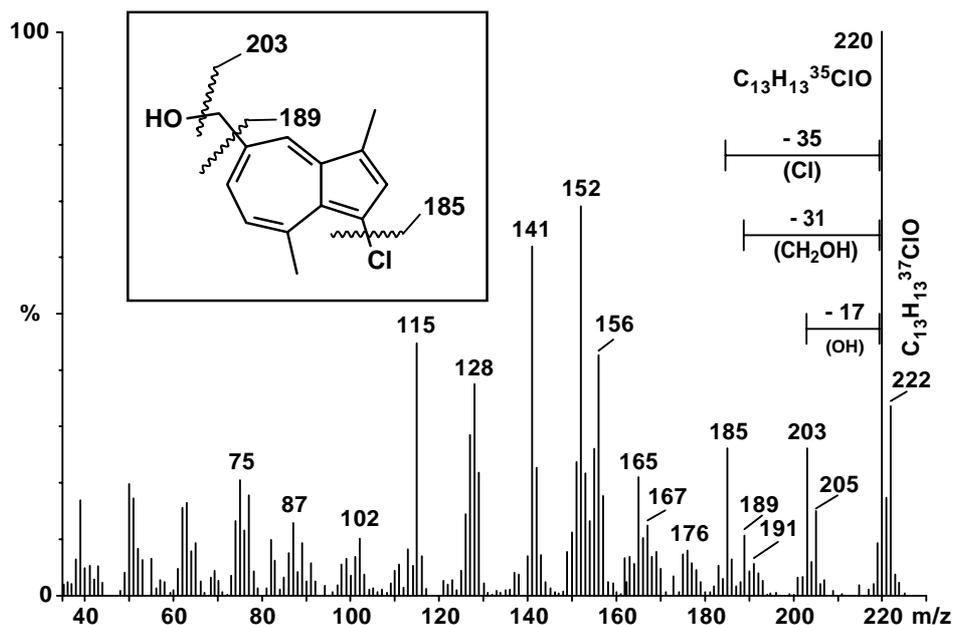


Abbildung 54: Massenspektrum von **38** (EI, 70 eV) mit der Zusammensetzung  $C_{13}H_{13}ClO$

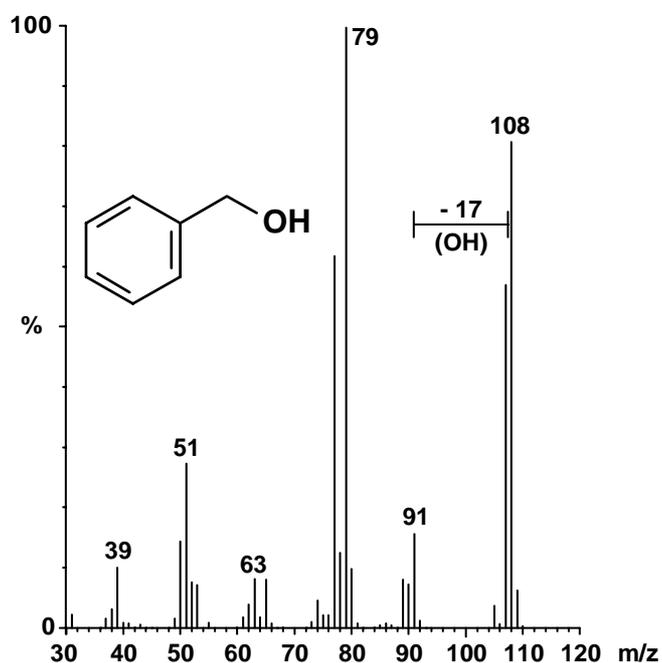
[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungsäquivalente
222	222.070	222.063	$C_{13}H_{13}^{37}ClO$	- 7.6	- 34.4	7
220	220.066	220.065	$C_{13}H_{13}^{35}ClO$	- 0.8	- 3.8	7

Tabelle 17: Atomare Zusammensetzung des Moleküliions und wichtiger Fragmentionen von **38**

Es kann sich bei dieser Verbindung nicht um eine Carbonylverbindung handeln, da alle sieben DBE im Azulengerüst vorliegen und das Sauerstoffatom somit an einem  $sp^3$ -hybridisierten Kohlenstoffatom gebunden sein muss. Da im Massenspektrum Fragmentierungen aus dem Moleküliion von  $M - 17$  ( $- OH$ ) und  $M - 31$  ( $- CH_2OH$ ) zu m/z 203 bzw. m/z 189 vorliegen, kann es sich daher nur um einen primären Alkohol handeln.

Interessanterweise spaltet das Moleküliion m/z 220 relativ intensiv ein Teilchen mit der Masse 17 ( $M - OH$ ) und nicht Wasser ( $M - 18$ ) aus der Seitenkette ab. Ein Vergleich mit dem Massenspektrum von Benzylalkohol verdeutlicht, dass dort ebenfalls eine Abspaltung von

M - 17 auftritt und die Eliminierung von Wasser nicht begünstigt scheint. Es könnte daher davon ausgegangen werden, dass auch **38** eine Hydroxymethylgruppe enthält.



**Abbildung 55:** Massenspektrum von Benzylalkohol (EI, 70 eV), der wie **38** anstatt Wasser bevorzugt die Hydroxylgruppe aus dem Molekülion eliminiert.

Vor dem Hintergrund einer Azulen-Serie, die in *Hymedesmia paupertas* vorzuliegen scheint, dürfte es sich bei **38** um 1-Chlor-5-hydroxymethyl-3,8-dimethylazulen handeln.

### 5.3.6. 5-(1-Acetoxyethyl)-1-chlor-3,8-dimethylazulen (39)

Von **39** konnten für eine stringenter Diskussion mehr Ionen hochaufgelöst werden. Es handelt sich hierbei um eine Substanz mit der Summenformel  $C_{16}H_{17}ClO_2$  und der Masse 276.76 g/mol mit 8 Doppelbindungsäquivalenten.

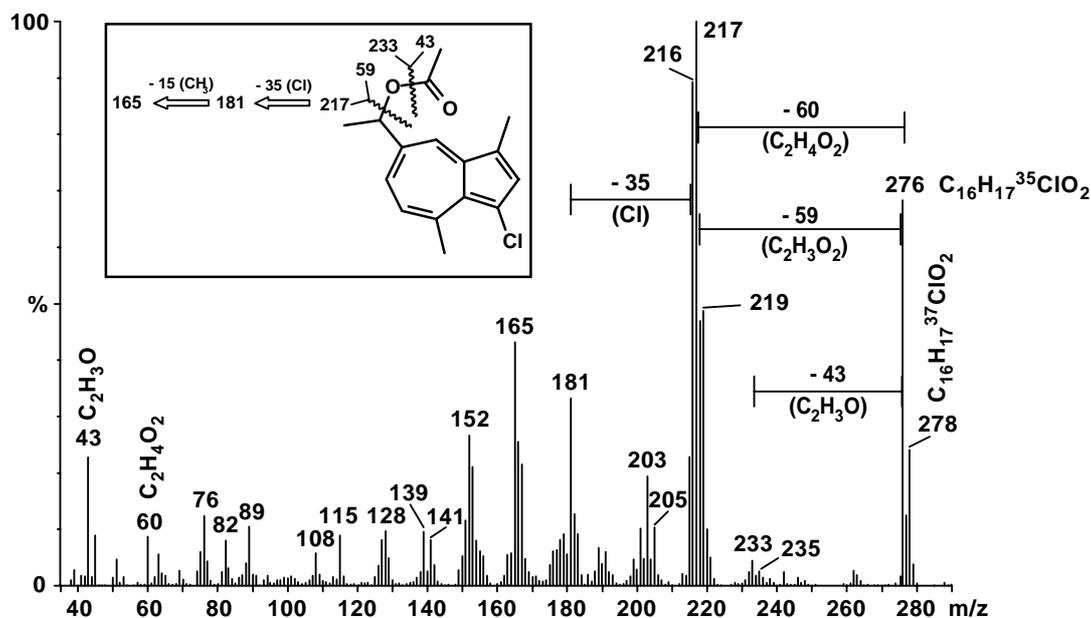


Abbildung 56: Massenspektrum von **39** (EI, 70 eV) mit der Zusammensetzung  $C_{16}H_{17}ClO_2$

[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungsäquivalente
278	278.084	278.089	$C_{16}H_{17}^{37}ClO_2$	4.3	15.5	8
276	276.093	276.092	$C_{16}H_{17}^{35}ClO_2$	- 1.1	- 3.9	8
219	219.073	219.075	$C_{14}H_{14}^{37}Cl$	2.2	10	7.5
218	218.072	218.068	$C_{14}H_{13}^{37}Cl$	- 4.0	- 18.3	8
217	217.078	217.078	$C_{14}H_{14}^{35}Cl$	- 0.1	- 0.4	7.5
216	216.073	216.071	$C_{14}H_{13}^{35}Cl$	- 2.0	- 9.1	8
203	203.061	203.063	$C_{13}H_{12}^{35}Cl$	1.8	9.1	7.5
201	201.047	201.047	$C_{13}H_{10}^{35}Cl$	0.4	1.9	8.5
181	181.102	181.102	$C_{14}H_{13}$	- 4.0	- 4.0	8.5
165	165.070	165.070	$C_{13}H_9$	- 0.4	- 0.4	9.5
152	152.062	152.063	$C_{12}H_8$	0.5	3.1	9
139	139.056	139.055	$C_{11}H_7$	- 5.3	- 5.3	8.5
60	60.021	60.021	$C_2H_4O_2$	- 1.2	- 1.2	1
43	43.019	43.018	$C_2H_3O$	- 0.5	- 10.9	1.5

Tabelle 18: Atomare Zusammensetzung des Moleküliions und wichtiger Fragmentionen von **39**

Hier liegt eindeutig eine Azulenverbindung mit einer Acetatfunktion vor. Dies kann anhand der Abspaltung eines  $C_2H_3O$ -Fragmentes ( $M - 43$ ) zu  $m/z$  233 und Essigsäure ( $M - 60$ ,  $C_2H_4O_2$ ) aus dem Moleküliion (incl. eines DBE) zum Fragmention  $m/z$  216 festgestellt werden. Die Abspaltung von deprotonierter Essigsäure (59 g/mol,  $C_2H_3O_2$ ) führt zur Bildung

des Basispeaks  $m/z$  217. Diese Fragmentierungen sind der Abspaltung des Chloratoms bevorzugt, da dieses aus  $m/z$  216 zu  $m/z$  181 ( $C_{14}H_{13}$ ) abgespalten wird.

### 5.3.7. 5-(1-Acetoxyethyl)-1-brom-3,8-dimethylazulen (40)

Die elementare Zusammensetzung von **40** konnte nicht bestimmt werden. Es kann aber davon ausgegangen werden, dass es sich um 5-(1-Acetoxyethyl)-1-brom-3,8-dimethylazulen handelt. Sie folgt im Gaschromatogramm unmittelbar auf ihre chloranaloge Verbindung **39**.

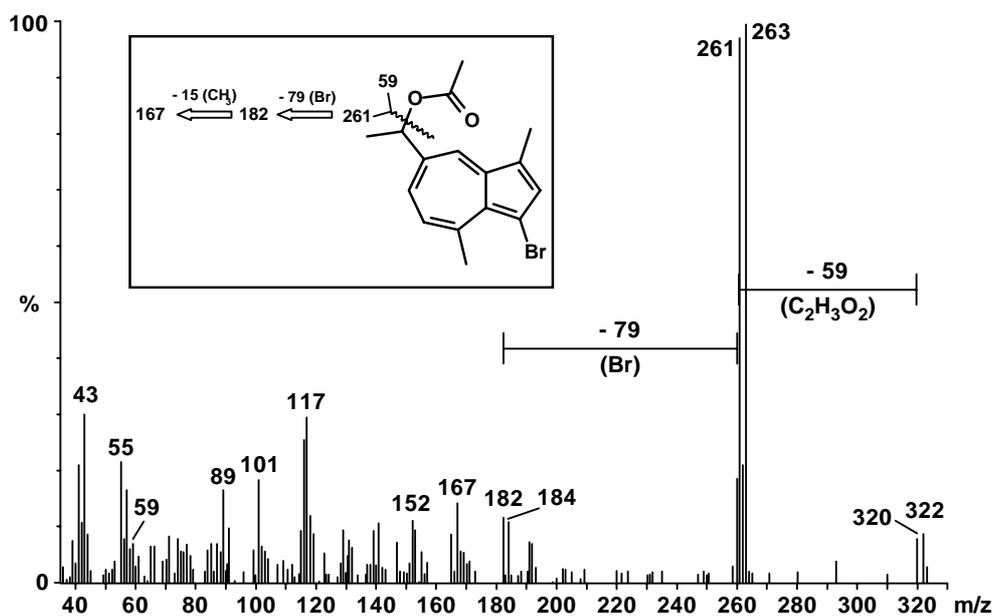
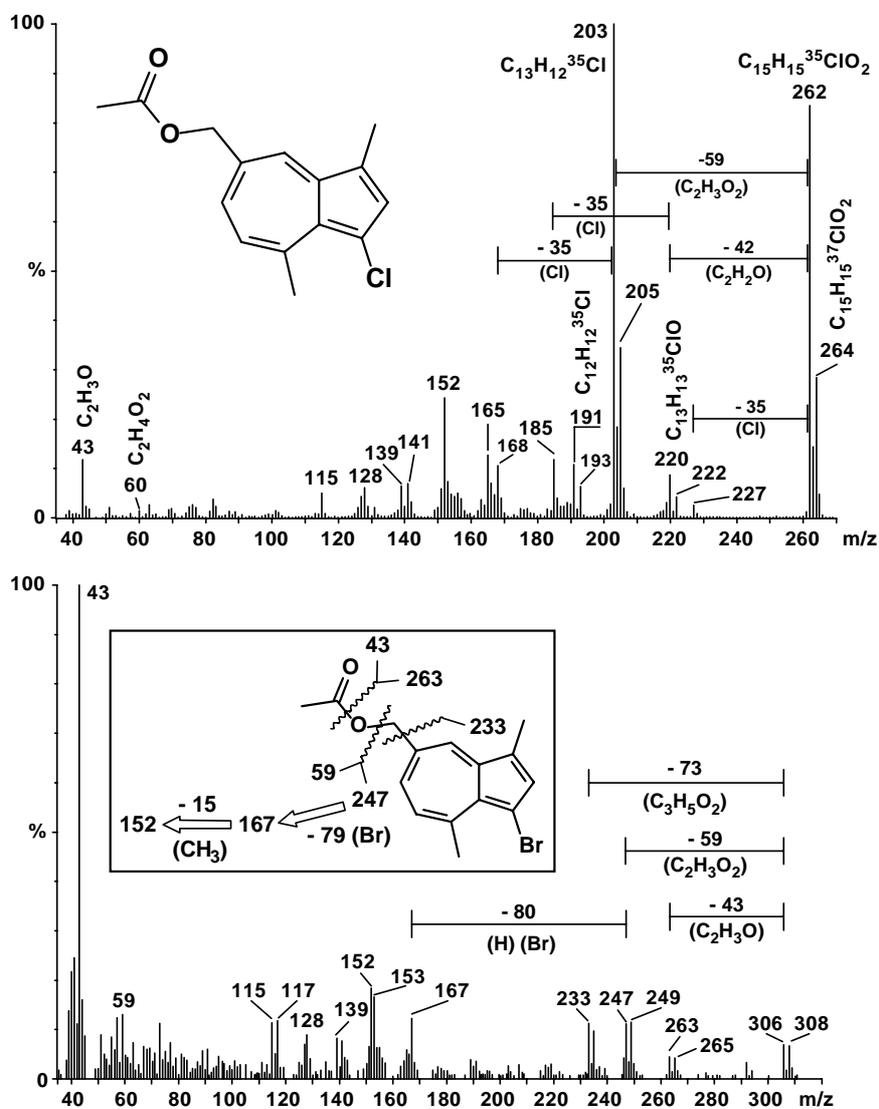


Abbildung 57: Massenspektrum von **40** (EI, 70 eV)

Es liegt hier eine monobromierte Verbindung mit dem Molekülpeak  $m/z$  320 für das  $^{79}Br$ -Isotop vor. Die wichtigste Fragmentierung stellt analog zu **39** die Abspaltung deprotonierter Essigsäure zum Basispeak  $m/z$  261 ( $M - 59$ ) mit anschließendem Verlust des Bromatoms zu  $m/z$  182 dar.

### 5.3.8. 5-Acetoxymethyl-1-brom-3,8-dimethylazulen (41)

Bei der monobromierten Verbindung **41** handelt es sich wahrscheinlich um das Bromanalogon von **27**, also um 5-Acetoxymethyl-1-brom-3,8-dimethylazulen.

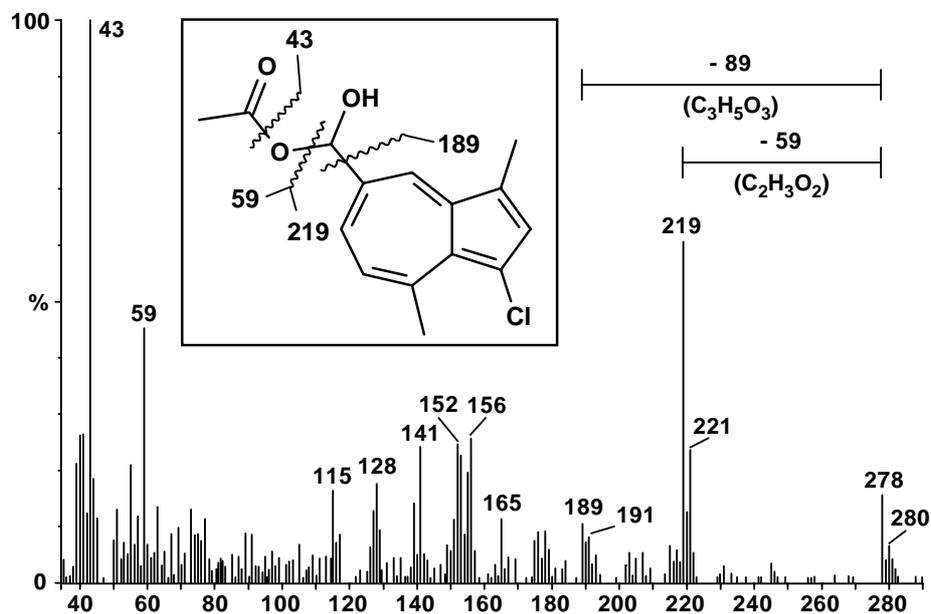


**Abbildung 58:** Massenspektrum von **41** (unten) und als Vergleich das Massenspektrum seiner chloranalogen Verbindung **27** (oben) (EI, 70 eV).

Wie in **27** findet aus dem Molekülion eine Abspaltung von  $M - 43$  und  $M - 59$  (deprotonierte Essigsäure) zu den Ionen  $m/z$  263 bzw.  $m/z$  247 statt, ein Indiz für eine enthaltene Acetatgruppe. Die Abspaltung des gesamten Substituenten zum Ion  $m/z$  233 ( $M - 73$ ) ist zusätzlich zu erkennen. Aus  $m/z$  247 spaltet sich das Bromatom zu  $m/z$  167 ab, das zusätzlich noch eine Methylgruppe zu  $m/z$  152 verliert.

### 5.3.9. 5-Acetoxyhydroxymethylen-1-chlor-3,8-dimethylazulen (42)

Bei **42** handelt es sich möglicherweise um 5-Acetoxyhydroxymethylen-1-chlor-3,8-dimethylazulen mit einer Masse von 278.74 g/mol.



**Abbildung 59:** Massenspektrum von **42** (EI, 70 eV)

Die Abspaltung deprotonierter Essigsäure ( $M - 59$ ) aus  $m/z$  278 zu  $m/z$  219 ist zu erkennen. Die Abspaltung des gesamten Substituenten mit der Masse 89 g/mol vom Azulengerüst, zum monochlorierten Ion  $m/z$  189, ist sichtbar.  $M/z$  189 entspricht wieder dem 1-Chlor-3,8-dimethylazulen-5-yl-Kation, das den gesamten Substituenten mit der Zusammensetzung  $C_3H_5O_3$  verloren hat. Eine Abspaltung der Hydroxylgruppe aus dem Molekülion ( $M - 17$ ) ist dagegen nicht erkennbar.

### 5.3.10. 5-(2-Acetoxy-1-carbomethoxyethyl)-1-chlor-3,8-dimethylazulen (43)

Substanz **43** konnte durch hochauflösende Massenspektrometrie als  $C_{18}H_{19}ClO_4$  mit einer Masse von 334.80 g/mol und 9 Doppelbindungsäquivalenten bestimmt werden.

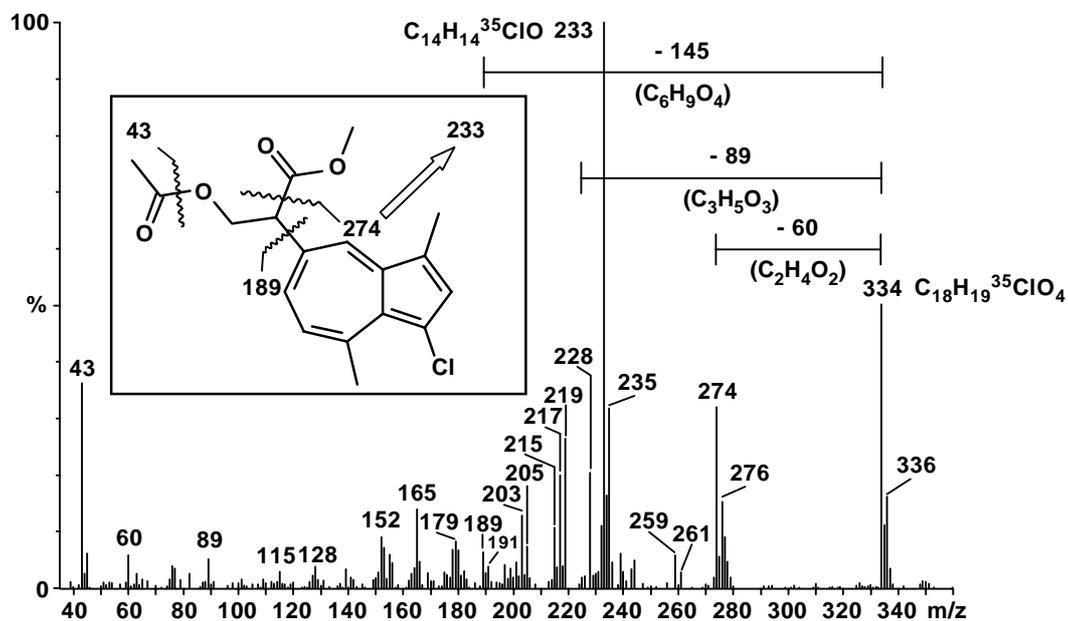
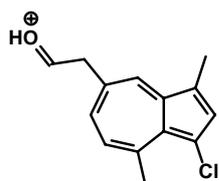


Abbildung 60: Massenspektrum von **43** (EI, 70 eV) mit der Zusammensetzung  $C_{18}H_{19}ClO_4$

[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungs-äquivalente
334	334.097	334.097	$C_{18}H_{19}^{35}ClO_4$	0.7	2.0	9
235	235.073	235.070	$C_{14}H_{14}^{37}ClO$	- 3.0	- 12.7	7.5
233	233.068	233.073	$C_{14}H_{14}^{35}ClO$	5.3	22.8	7.5

Tabelle 19: Atomare Zusammensetzung des Moleküliions und wichtiger Fragmentionen von **43**

Geht man von dem bekannten 1-Chlor-3,8-dimethylazulen-5-yl-Substitutionsmuster aus, entspricht der Substituent der Zusammensetzung  $C_6H_9O_4$  (145 g/mol) und enthält zwei DBE. Das Vorhandensein von m/z 43 und m/z 60 deutet in jedem Fall auf eine Acetateinheit hin, was die Bildung von m/z 274 unter Abspaltung von Essigsäure aus dem Moleküliion beweist.



Der chlorierte und sauerstoffhaltige Basispeak m/z 233 zeigt nach Abspaltung von 101 g/mol (entspricht  $C_4H_5O_3$ ) die Zusammensetzung  $C_{14}H_{14}^{35}ClO$  und entspricht einem (1-Chlor-3,8-dimethylazulen-5-yl)-ethanol-Kation (s. kleine Abbildung).

### 5.3.11. 5-(1,2-Diacetoxyethyl)-1-chlor-3,8-dimethylazulen (44)

Wie bei **43** handelt es sich bei dieser Verbindung um ein monochloriertes, vierfach oxygeniertes Azulenderivat mit der Masse 334.80 g/mol und der Zusammensetzung  $C_{18}H_{19}ClO_4$ . Ebenfalls verfügt **44** über neun Doppelbindungsäquivalente und ein ähnliches Massenspektrum wie **43**, welches sich jedoch im Basispeak  $m/z$  219 (**43**:  $m/z$  233) unterscheidet. Daher muss **44** einen unterschiedlich aufgebauten Substituenten besitzen.

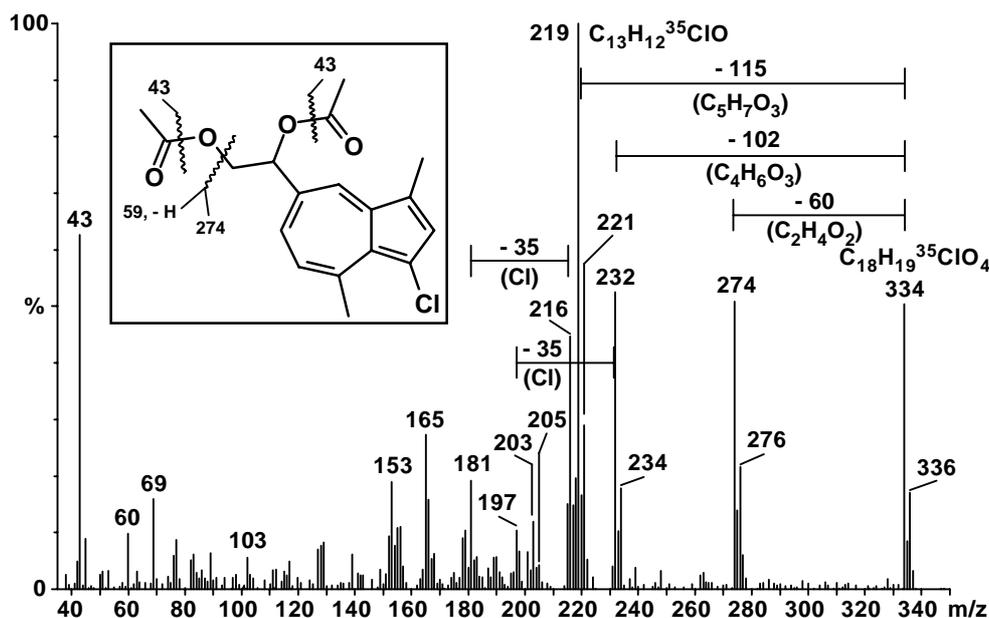


Abbildung 61: Massenspektrum von **44** (EI, 70 eV) mit der Zusammensetzung  $C_{18}H_{19}ClO_4$

[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungsäquivalente
334	334.101	334.097	$C_{18}H_{19}^{35}ClO_4$	- 4.3	- 12.8	9
232	232.068	232.065	$C_{14}H_{13}^{35}ClO$	- 2.5	- 10.8	8
219	219.059	219.058	$C_{13}H_{12}^{35}ClO$	- 1.8	- 8.0	7.5
216	216.064	216.071	$C_{14}H_{13}^{35}Cl$	6.5	30.0	8

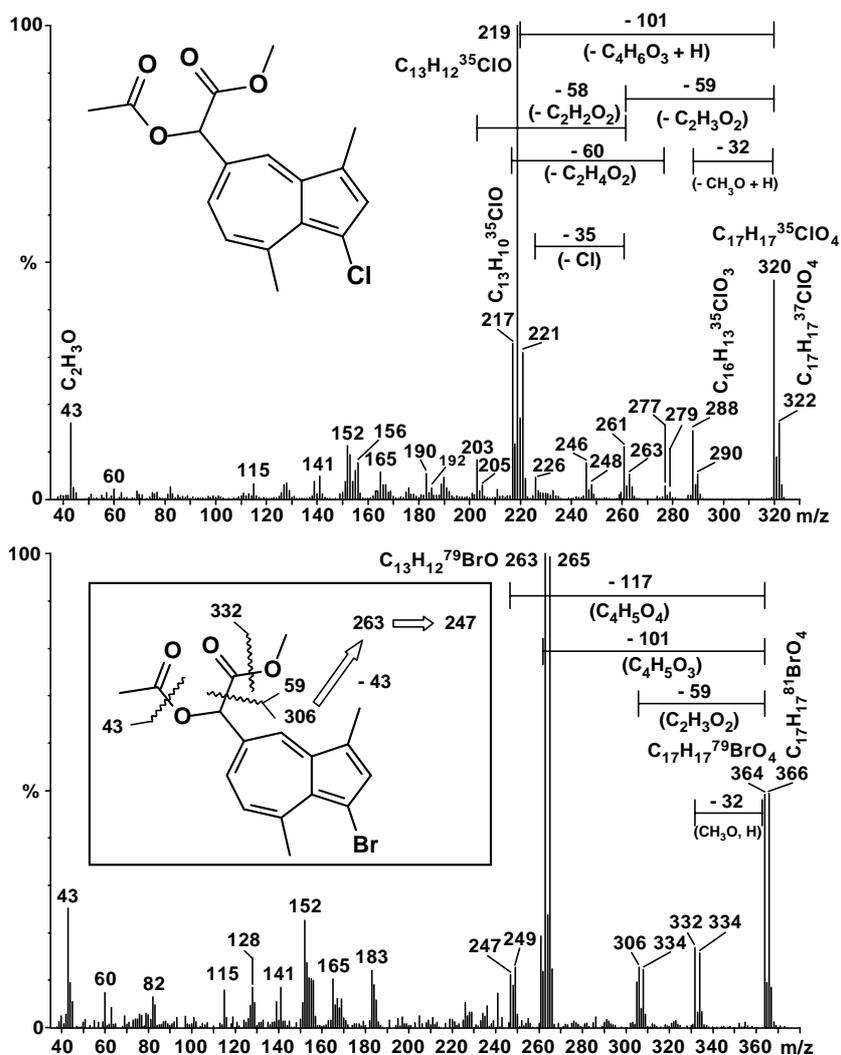
Tabelle 20: Atomare Zusammensetzung des Molekülions und wichtiger Fragmentionen von **44**

Der Basispeak von **44** liegt 14 Masseneinheiten niedriger als der von **43**, was einer Methylengruppe entspricht. So wird demnach das (1-Chlor-3,8-dimethylazulen-5-yl)-ethanol-Kation gebildet.

Der Peak  $m/z$  103, der protoniertem Essigsäureanhydrid ( $C_4H_7O$ ) entspricht, ist ein Indiz dafür, dass es sich bei dieser Substanz um ein Diacetat handeln muss. Diese Rückschlüsse lassen darauf schließen, dass es sich bei **44** mit großer Wahrscheinlichkeit um 5-(1,2-Diacetoxyethyl)-1-chlor-3,8-dimethylazulen handelt.

### 5.3.12. 5-Acetoxy carbomethoxymethylen-1-brom-3,8-dimethylazulen (45)

Bei dieser Komponente handelt es sich wiederum um eine bromierte Verbindung, die mit großer Wahrscheinlichkeit das Bromanalogon zu **28** darstellt. Sie besitzt die Zusammensetzung  $C_{17}H_{17}BrO_4$  und die Masse 365.22 g/mol mit 9 Doppelbindungsäquivalenten.



**Abbildung 62:** Massenspektrum von **45** mit der Zusammensetzung  $C_{17}H_{17}BrO_4$  (unten) und zum Vergleich seine chloranaloge Verbindung **28** (oben) (EI, 70 eV)

[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungsäquivalente
366	366.032	366.029	$C_{17}H_{17}^{81}BrO_4$	- 3.4	- 9.4	9
364	364.029	364.031	$C_{17}H_{17}^{79}BrO_4$	1.7	4.6	9
263	263.007	263.007	$C_{13}H_{12}^{79}BrO$	0.4	1.3	7.5

**Tabelle 21:** Atomare Zusammensetzung des Moleküliions und wichtiger Fragmentionen von **45**

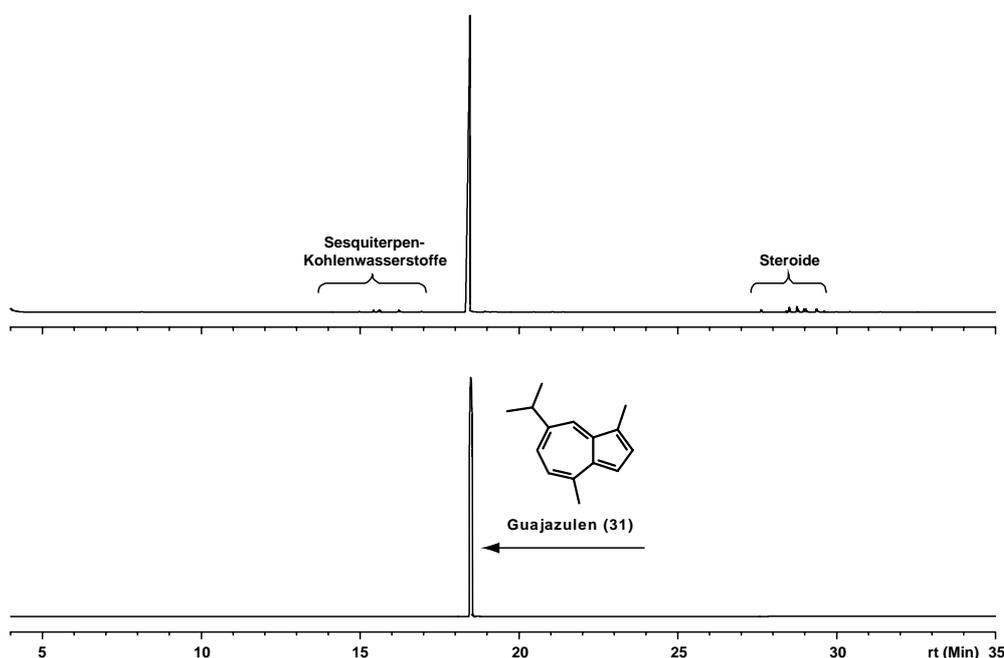
Auch in diesem Massenspektrum sind die typischen Fragmentierungen eines Acetates (M - 60, M - 59) zu finden, die analog zur Bildung des stabilen Ions m/z 263 (Basispeak) führt, das dem (1-Brom-3,8-dimethylazulen-5-yl)-methanol-Kation entspricht. Daraus spaltet sich dann das Bromatom ab und es kommt zur vollständigen Fragmentierung des Moleküls.

#### 5.4. Inhaltsstoffe von *Hymedesmia* sp.

Neben *Hymedesmia paupertas* wurde ein zweiter kornblumenblauer, inkrustierender Schwamm untersucht, der eine nicht näher definierte *Hymedesmia*-Art darstellte. Es wurden 2.9 g Schwamm (Nassgewicht) nach dem gängigen Extraktionsschema aufgearbeitet und ein tiefblauer Dichlormethanextrakt erhalten.

Anhand der unterschiedlichen Zusammensetzung flüchtiger Inhaltsstoffe im Gaschromatogramm konnte bereits festgestellt werden, dass es sich bei diesem Schwamm nicht um *H. paupertas* handeln konnte, da neben gering konzentrierten Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffen und Steroidalkoholen nur eine Substanz das Chromatogramm dominierte. Das Massenspektrum der Hauptkomponente mit der Masse 198 g/mol deutet auf einen weiteren Sesquiterpen-Kohlenwasserstoff hin. Eine Recherche in Massenspektrenbibliotheken lieferte Guajazulen (**31**) als sinnvollen Vorschlag für diese Verbindung.

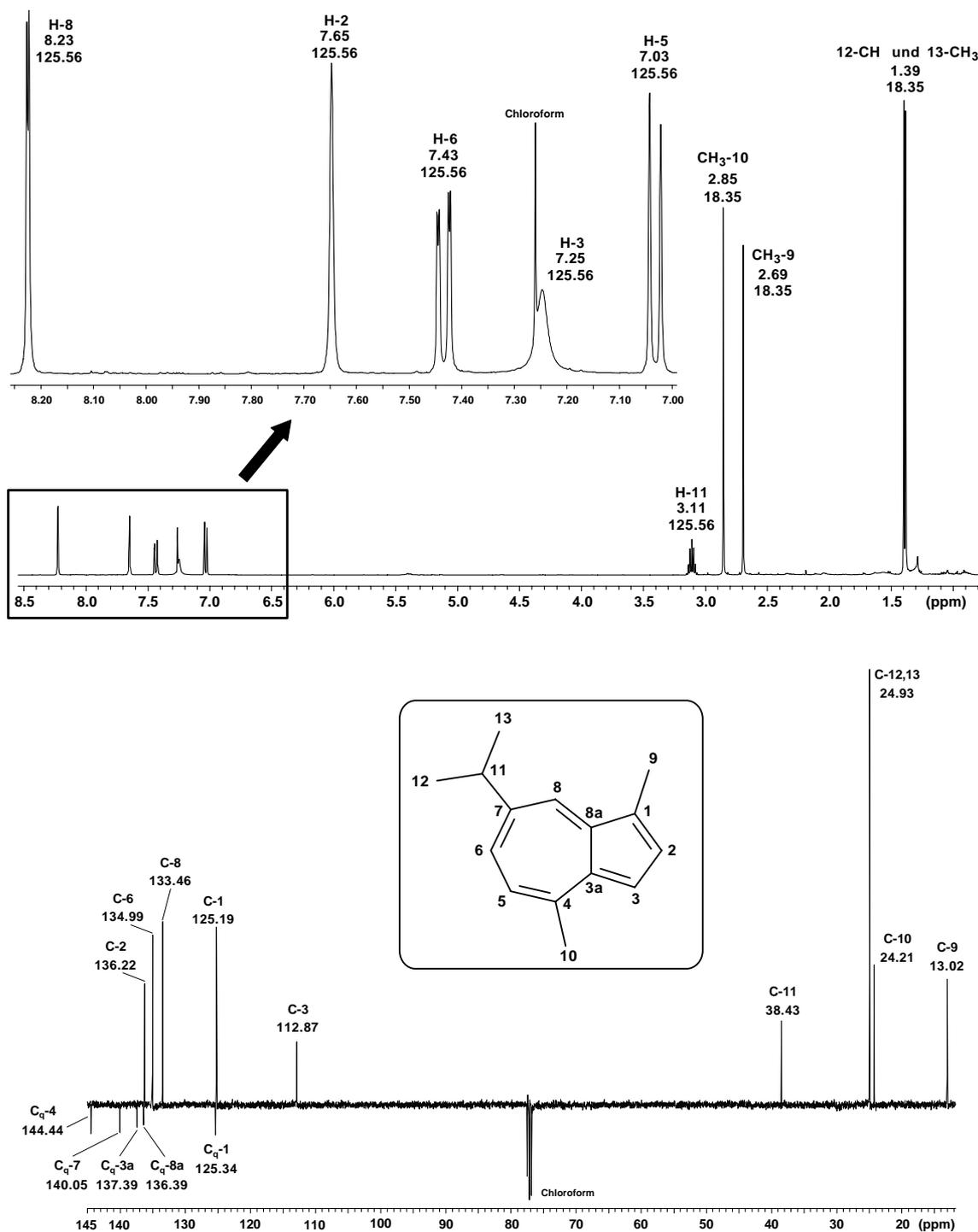
Durch den gaschromatographischen Vergleich von käuflichem **31** mit dem Dichlormethanextrakt konnte dieser Vorschlag bestätigt werden (s. Abbildung 63).



**Abbildung 63:** Anhand eines Vergleiches der Retentionszeiten des Naturextraktes mit käuflichem Guajazulen (**31**) kann festgestellt werden, dass es sich bei der Hauptkomponente im Dichlormethanextrakt von *Hymedesmia* sp. höchstwahrscheinlich um Guajazulen (**31**) handelt. [Säule: HP-1, 30 m, Temperaturprogramm: 50 °C, 10 °C/min, 300 °C, 10 min. isotherm]

Den endgültigen Beweis, dass es sich bei der Hauptkomponente um Guajazulen (**31**) handelt, liefert eine NMR-spektroskopische Untersuchung des gewonnenen Gesamtextraktes.

Das Protonenspektrum ist in Abbildung 64 abgebildet. Deutlich ist zu erkennen, dass der Gesamtextrakt die Hauptkomponente fast vollständig als Reinsubstanz enthält. Anhand ein- und zweidimensionaler NMR-Spektren und Abgleich mit eigenen NMR-Daten (s. Kap. 5.2.3.1., Fußnote) sowie Literaturdaten wurde die Struktur als Guajazulen (**31**) bestätigt.<sup>64</sup>



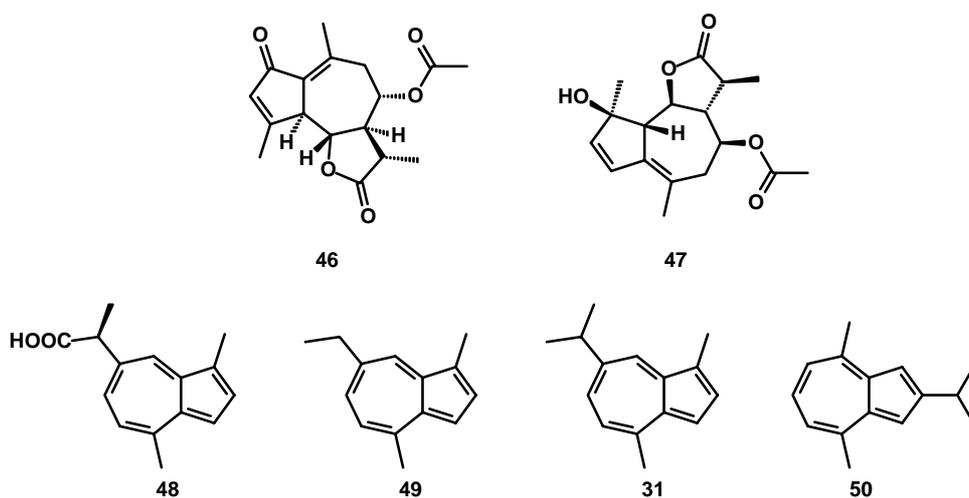
**Abbildung 64:** <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum (*oben*) und <sup>13</sup>C-PENDANT-Spektrum (*unten*) des Dichlormethanextraktes [<sup>1</sup>H: 500 MHz bzw. <sup>13</sup>C: 100.6 MHz, Chloroform-*d*<sub>1</sub>]. Die chemischen Verschiebungen der Protonen und Kohlenstoffatome des Guajazulens (**31**) sind angegeben.

## 5.5. Diskussion

Unter dem Begriff Azulene versteht man Verbindungen, die sich vom Cyclopentacyclohepten (Bicyclo[5.3.0]deca-1,3,5,7,9-pentaen) ableiten und nichtbenzoide, aromatische Verbindungen darstellen, die durch ihre charakteristische blaue bis violette Färbung auffallen.

Azulen und seine Derivate werden bei der Aufarbeitung bestimmter Pflanzen und Pflanzenteile zur Herstellung ätherischer Öle gewonnen. Sie kommen in den Pflanzen als sog. Proazulene vor. Unter Proazulenen versteht man meist Sesquiterpenderivate bzw. -vorstufen (Hydroazulene), die sich erst bei der Aufarbeitung pflanzlichen Materials z. T. unter drastischen Bedingungen in Azulenderivate umwandeln. Als Beispiele seien hier Sesquiterpenlactone aus Guajakholzöl, Kamillen-, Beifuß- und Wermutöl zu nennen, wobei Kamille (*Matricaria chamomilla*) und römischer Beifuß als starke Proazulenproduzenten gelten. Die Kamille enthält u. a. die farblosen Verbindungen Matricin und Matricarin aus denen bei der Aufarbeitung leicht das Prochamazulen und durch Decarboxylierung das Norsesquiterpen Chamazulen entsteht. Weitere Vertreter stellen das Guajazulen (**31**, aus dem Holzöl des Guajakbaumes) und das Vetivazulen (**50**) dar.

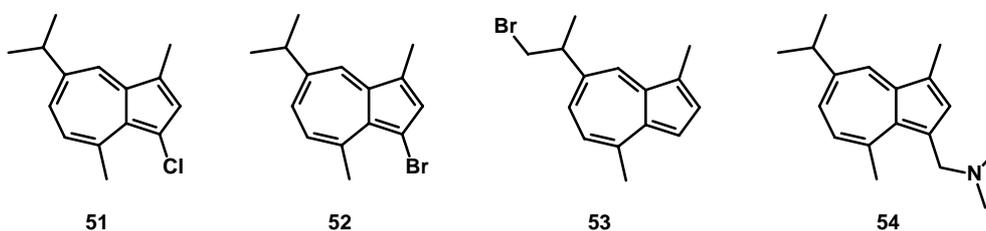
Azulen und seine Derivate sind für ihre antiphlogistische (entzündungshemmende) Wirkung bekannt und finden daher Verwendung in pharmazeutischen und auch kosmetischen Präparaten.



**Abbildung 65:** In der Kamille (*Matricaria chamomilla*) enthaltene Proazulene Matricarin (**46**) und Matricin (**47**) sowie die daraus bei der Aufarbeitung entstehenden Azulenderivate Prochamazulen (**48**) und Chamazulen (**49**). Weitere Vertreter sind Guajazulen (**31**) und das 2,4,8-substituierte Vetivazulen (**50**).

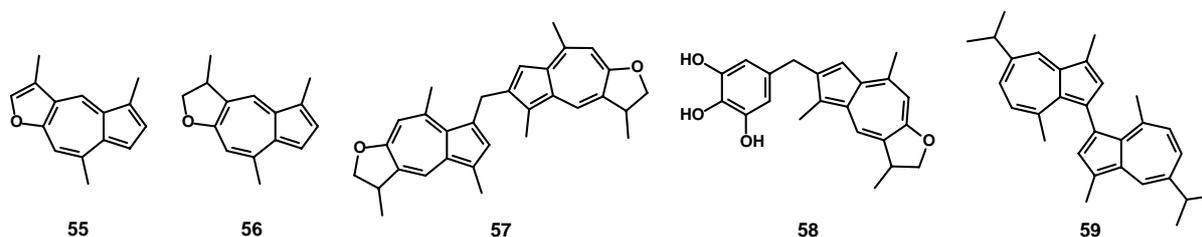
Die Anzahl der in marinen Organismen identifizierten aromatischen Azulenderivate beschränkt sich lediglich auf neun Verbindungen, die alle aus verschiedenen Korallenarten isoliert wurden. In Schwämmen sind bisher keine aromatischen Azulenverbindungen als Sekundärmetabolite beschrieben worden.

Als erster Vertreter wurde Guajazulen (**31**) 1981 von Fusetani *et al.* aus der Gorgonie *Euplexaura erecta* isoliert.<sup>65</sup> Mittlerweile ist **31** in verschiedenen Korallenarten nachgewiesen worden. Scheuer *et al.* konnten 1984 in Tiefseekorallen drei halogenierte Substanzen und eine stickstoffhaltige Verbindung vom Guajazulen-Typ identifizieren (**51** - **54**), darunter das Ehuazulen **53**.<sup>66,67</sup> Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde **31** als Hauptkomponente des Dichlormethanextraktes eines nicht näher spezifizierten *Hymedesmia*-Exemplars identifiziert.



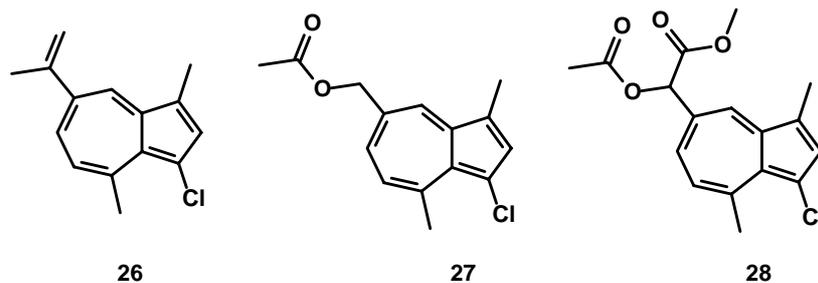
**Abbildung 66:** Von P. Scheuer 1984 aus Tiefseekorallen isolierte Azulenderivate vom Guajazulen-Typ.

In *Paramuricea chamaeleon* wurde 1980 Linderazulen<sup>68</sup> (**55**) und 1987 in *Acalycigorgia* sp. 2,3-Dihydrolinderazulen (**56**) identifiziert.<sup>69</sup> Ähnliche Strukturen sind in den Pigmenten Gorgiabiazulen (**57**) und Gorgiagallylazulen (**58**) enthalten, die ebenfalls aus *Acalycigorgia* sp. isoliert wurden.<sup>70</sup> Ein Guajazulendimer (**59**) wurde 1996 in *Calicogorgia granulosa* beschrieben.<sup>71</sup>



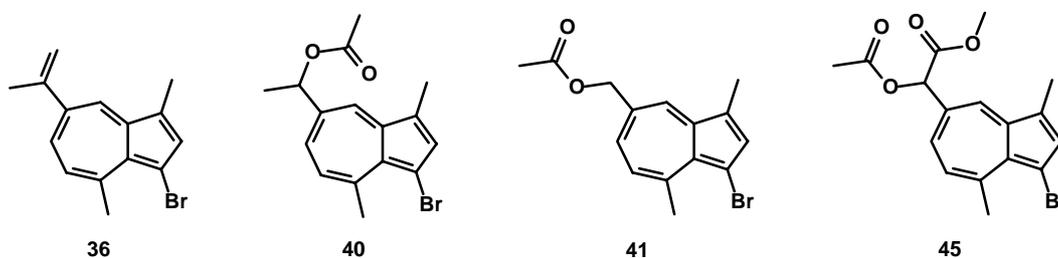
**Abbildung 67:** Linderazulen (**55**) aus *Paramuricea chamaeleon* sowie 2,3-Dihydrolinderazulen (**56**), Gorgiabiazulen (**57**) und Gorgiagallylazulen (**58**) aus *Acalycigorgia* sp. sowie ein Guajazulendimer aus *Calicogorgia granulosa* (**59**).

Die im Rahmen dieser Arbeit isolierten und identifizierten Haloazulene 1-Chlor-3,8-dimethyl-5-isopropenylazulen (3-Chlorlactarazulen, **26**), 5-Acetoxyethyl-1-chlor-3,8-dimethylazulen (**27**) und 5-Acetoxyethyl-1-chlor-3,8-dimethylazulen (**28**) sind neue Naturstoffe.



**Abbildung 68:** Die bisher unbekanntenen Naturstoffe 3-Chlorlactarazulen (**26**), 5-Acetoxymethyl-1-chlor-3,8-dimethylazulen (**27**) und 5-Acetoxycarbomethoxymethylen-1-chlor-3,8-dimethylazulen (**28**).

Weiterhin wurden anhand von Massenspektren bzw. Vergleich von isolierten Komponenten Strukturvorschläge für weitere zwölf strukturverwandte Verbindungen gemacht. Darunter befinden sich auch vier bromierte Azulene.

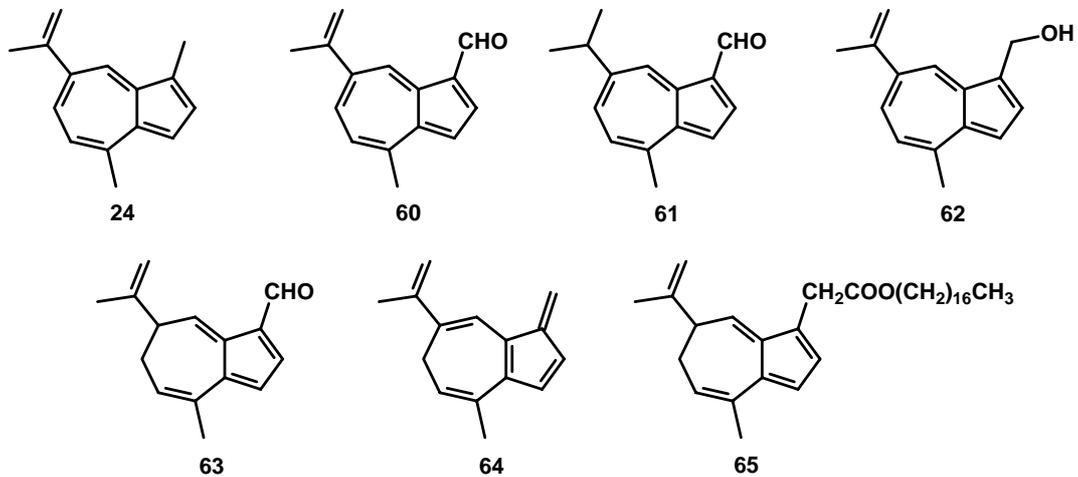


**Abbildung 69:** Für die vier bromierten Azulenverbindungen **36**, **40**, **41**, **45** konnten Strukturvorschläge gemacht werden. Es handelt sich dabei um bromanaloge Verbindungen zu den isolierten bzw. postulierten Azulenstrukturen **26**, **27**, **28** bzw. **39**.

Aus *Hymedesmia paupertas* wurde ferner das Lactarazulen (**24**) und das nicht aromatische 3,7-Dihydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethyliden)azulen (**23**) isoliert, wobei **23** ebenfalls ein neuer Naturstoff ist. Der Kohlenwasserstoff **24** ist mit verwandten Vertretern bisher aus zahlreichen Pilzarten der Gattung *Lactarius* (Milchlinge) isoliert worden. Eine zu **23** strukturell verwandte Verbindung, das sog. Lactarofulven (**30**), ist ebenfalls aus verschiedenen Reizkerarten isoliert worden.

Von diesen Pilzen sind in mitteleuropäischen Breiten ca. 70 Arten, z. B. der Echte Reizker (*Lactarius deliciosus*) und der Fichtenreizker (*L. deterrimus*), bekannt. Bereits 1935 berichtete Willstaedt über Inhaltsstoffe dieser Pilze, wobei Lactaroviolin (**60**) als erster Vertreter beschrieben wurde.<sup>72</sup> Bei weiteren Untersuchungen dieser Pilzgattung wurden im Laufe der Jahre Lactarazulen<sup>73</sup> (**24**), 11,12-Dihydrolactaroviolin<sup>74</sup> (**61**) und Deterrol<sup>75</sup> (**62**) isoliert. Neben dem zitierten Deterrol (**62**) sind auch Sesquiterpene vom Guajan-Typ isoliert worden, deren Aromatizität im Azulene-Grundgerüst aufgehoben ist, z. B. Delicial<sup>75</sup> (**63**) und das bereits angesprochene Lactarofulven<sup>57</sup> (**64**).

Bereits 1970 konnte festgestellt werden, dass es sich bei diesen Sesquiterpenen um enzymatische Abbauprodukte handelt. Sie entstehen bei der Aufarbeitung der Fruchtkörper und liegen ursprünglich in Form von Fettsäureestern (z. B. Stearylester) in den Pilzen vor.<sup>57</sup>

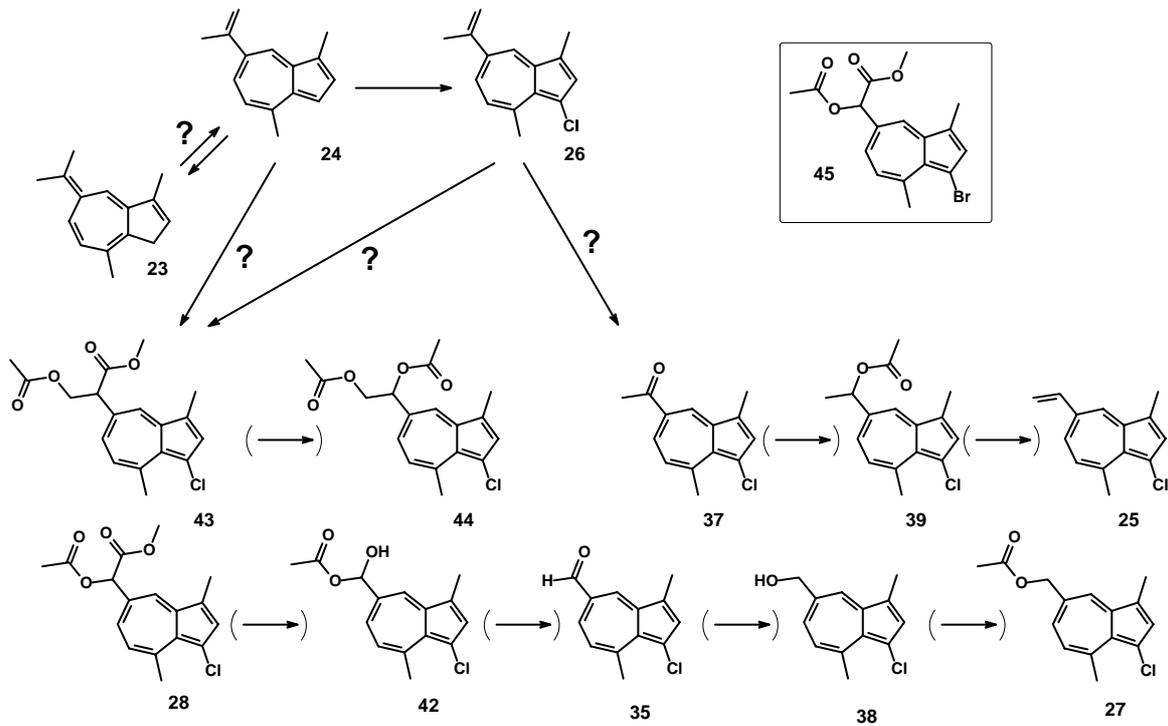


**Abbildung 70:** Aus verschiedenen Reizkerarten isolierte aromatische Sesquiterpene (Lactarazulen (**24**), Lactaroviolin (**60**), 11,12-Dihydrolactaroviolin (**61**) und Deterrol (**62**)) und nicht aromatische Sesquiterpene vom Guajan-Typ wie Delicial (**63**), Lactarofulven (**64**) und **65**, der Stearinsäureester des zu **63** komplementären Alkohols.

Über biosynthetische Zusammenhänge der z. T. halogenierten Kohlenwasserstoffe bzw. in den Seitenketten unterschiedlich oxygenierten Azulenvertretern in *H. paupertas* können nur Vermutungen angestellt werden. Welche Funktion sie in diesem Schwamm übernehmen, oder ob sie eventuell von assoziierten Mikroorganismen produziert werden, bleibt ungeklärt.

Abbildung 71 zeigt einen theoretischen Weg des sukzessiven Abbaus der Isopropenyl-Seitenkette.

Möglicherweise kann Lactarazulen (**24**) aus dem Dihydroazulen **23** oder umgekehrt entstehen. Chlorperoxidasen führen dann entsprechend in Position 3, der für eine elektrophile Substitution am Azulengerüst bevorzugten Stelle, einen Chlorsubstituenten ein. Möglicherweise erleichtert ein Chlorsubstituent den Abbau der Seitenkette, die dann in einer Reihe von Oxidationsschritten von einem Isopropyl- ( $C_3$ -) zu einem  $C_1$ -Körper abgebaut wird.



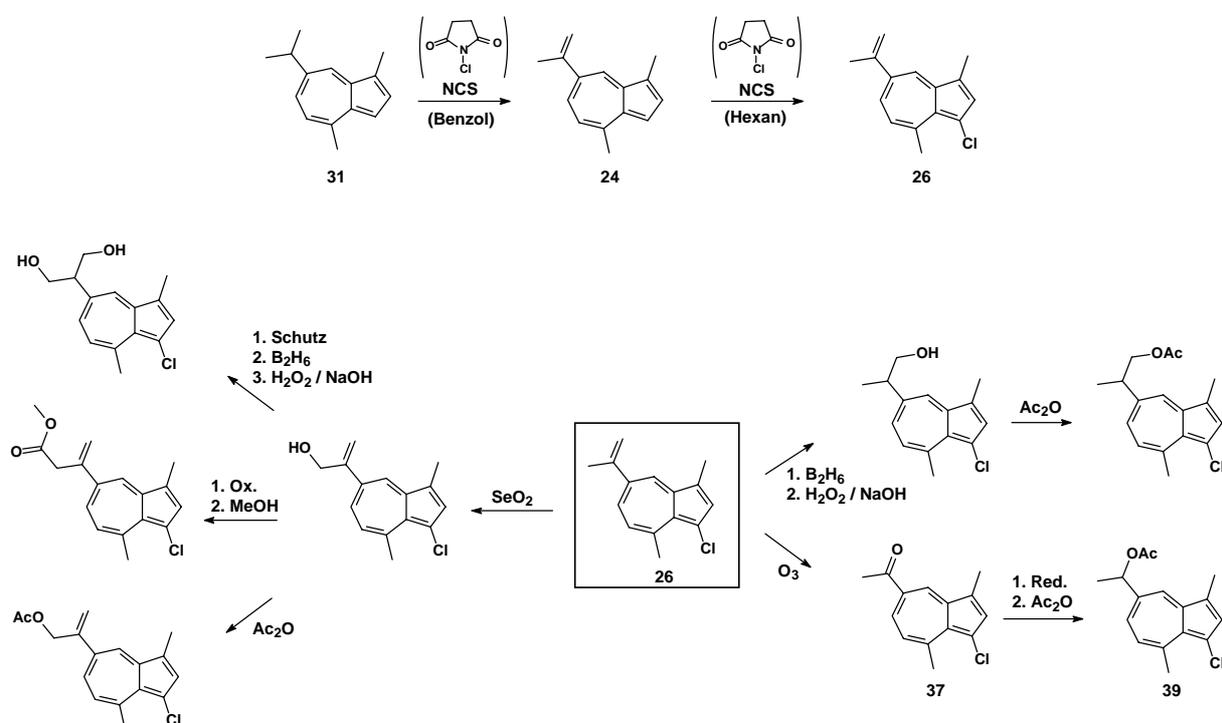
**Abbildung 71:** Mögliche biosynthetische Zusammenhänge der isolierten bzw. postulierten Azulenstrukturen.

### 5.5.1. Darstellung von Referenzsubstanzen

Die Darstellung des Lactarazolens erfolgte (s. Kapitel 5.2.3.1.), um dieses einerseits mit der im Naturextrakt enthaltenen Verbindung zu vergleichen und es andererseits als Ausgangsmaterial für die Darstellung chlorierter bzw. oxygenierter Derivate zu nutzen.

Lactarazulen (**24**) kann aus Guajazulen (**31**) durch Einwirkung von NCS erhalten werden. Die weitere Umsetzung von **24** mit NCS in Hexan führt dann zum 3-Chlorlactarazulen (**26**).

Die folgenden Reaktionsschritte sollten unterschiedliche Oxidationsschritte in der Seitenkette sein (s. Abbildung 72). Hier aber scheiterten die geplanten Synthesewege, da das Azulen-gerüst von Ozon oder Wasserstoffperoxid vollständig oxidiert und zerstört wird.



**Abbildung 72:** Geplantes Syntheschema zur Darstellung von Referenzsubstanzen aus Guajazulen (**31**) über 3-Chlorlactarazulen (**26**).

## 6. Bromierte Tyrosinalkaloide aus *Aplysilla sulphurea* (SCHULZE)

### 6.1. Einleitung

*Aplysilla sulphurea* (SCHULZE, 1878) ist ein dünner, inkrustierender Schwamm von intensiv gelber Färbung. Bei der im BOSMAN-Projekt durchgeführten Beprobung wurde *A. sulphurea* als Überzug auf *Stryphnus ponderosus* (BOWERBANK, 1866) vorgefunden (s. Abbildung 73\*). *A. sulphurea* ist im Atlantik, in der Nordsee, Schweden, Irland, im Ärmelkanal und im Mittelmeer weit



**Abbildung 73:** *Aplysilla sulphurea* auf *Stryphnus ponderosus* kurz nach der Beprobung (großes Bild), in vergrößerter Darstellung (rechts) und *n*-Butanol-Extrakt (links)

verbreitet und wächst auf Steinen, Schwämmen und anderen Substraten. Er ist in Tidenregionen aber auch im Tiefwasser bis 320 m anzutreffen.

Die phylogenetische Zuordnung der Gattung *Aplysilla* ist in der Literatur uneinheitlich. Man kann sie den Ordnungen Dendroceratida oder Verongida wieder finden. Das aktuelle Standardwerk der Schwamm-Taxonomie<sup>47</sup> teilt *A. sulphurea*, der in zwei Farbvariationen (rosa/rot oder gelb) vorkommt, in die Klasse der Demospongiae, Ordnung Dendroceratida, Familie Darwinellidae ein.

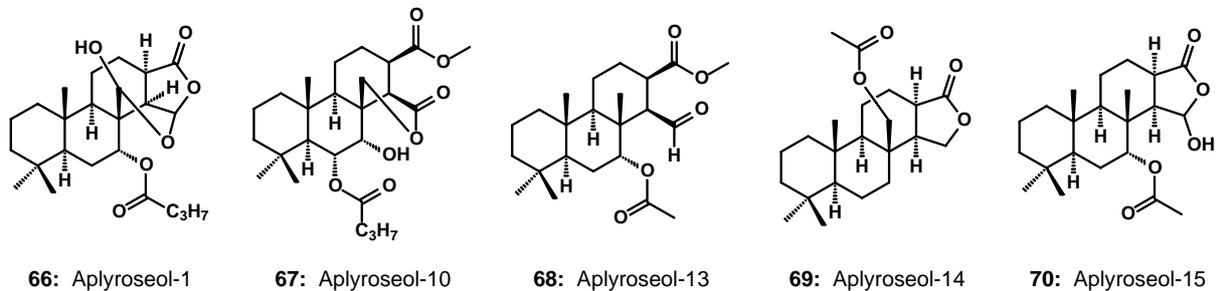
Rote Farbvariationen werden auch als *A. rosea* (BARROIS, 1876) bezeichnet. Inwiefern es sich hier um ein Synonym der gelben Spezies handelt ist unklar.

Sowohl *A. rosea* als auch *A. sulphurea* produzieren die für dendroceratide Schwämme typischen Sekundärmetabolite (oxygenierte Diterpene). Einige Beispiele sind in Abbildung 74 und Abbildung 75 gezeigt.

---

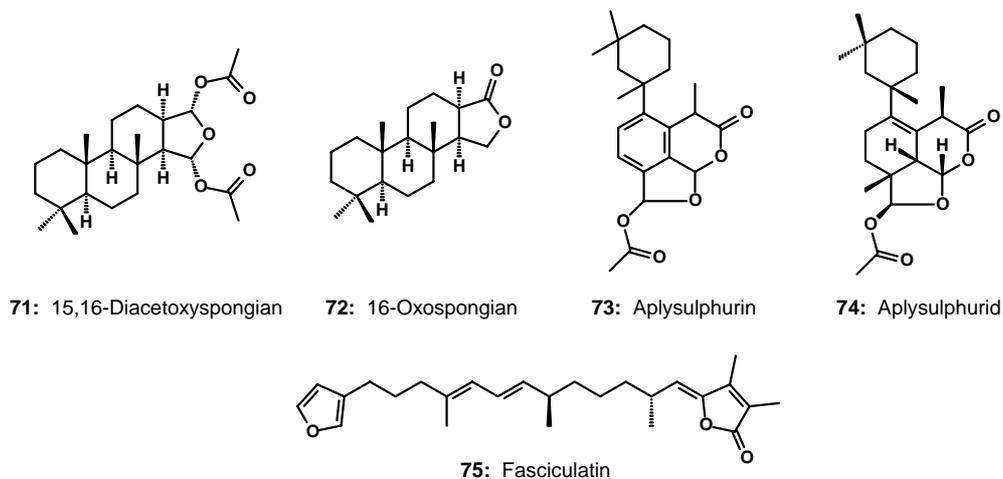
\* großes Foto: Koordination (Prof. Dr. W. Michaelis, Dr. T. Pape) des Verbundprojektes BOSMAN; Bild rechts: freundlicherweise von Herrn Dr. Hans Tore Rapp zur Verfügung gestellt; Bild links: eigene Aufnahme

Seit 1979 haben sich mehrere Autoren mit Inhaltsstoffen des Schwammes *A. rosea* beschäftigt, der eine Reihe Diterpene (u. a. die sog. Aplyroseole (Aplyroseol-1 (**66**) bis Aplyroseol-18)) produziert.<sup>76,77,78,79</sup>



**Abbildung 74:** Einige Aplyroseole aus *A. rosea*

Terpenoide Sekundärmetabolite aus *A. sulphurea* sind z. B. das 15,16-Diacetoxyspongian<sup>79</sup> (**71**), 16-Oxospongian<sup>79</sup> (**72**), Aplysulphurin<sup>80</sup> (**73**), Aplysulphurid<sup>80</sup> (**74**) und Fasciculatin<sup>81</sup> (**75**).



**Abbildung 75:** Aus *A. sulphurea* bekannte Strukturen

Wegen ihrer sehr ähnlichen Morphologie können die inkrustierenden Schwämme *A. rosea* und *A. sulphurea* nur schwer voneinander unterschieden werden. Man geht aber davon aus, dass für *A. rosea* (Klasse Demospongiae, Ordnung Dendroceratida, Familie Darwinellidae) die korrekte Bezeichnung bzw. phylogenetische Klassifizierung verwendet wird.

Beide Arten zeigen unterschiedliches Verhalten schwammeigener Pigmente gegenüber oxidativen Prozessen. Die Farbe von *A. rosea* wechselt in alkoholischer Lösung von pink nach rötlich braun, wohingegen sich die von *A. sulphurea* beim Verletzen, Absterben oder in alkoholischer Lösung zu tief violett ändert (s. Abbildung 73). Diese Eigenschaft ist ein

ausgeprägtes Indiz für verongide Schwämme, von denen bekannt ist, dass sie zum einen in verschiedenen Lebensstadien unterschiedliche Färbungen aufweisen (größtenteils sind sie schwefelgelb), zum anderen beim Absterben bzw. bei Verletzungen ihre Farbe nach dunkelbraun, tief violett oder schwarz wechseln. Dieses unterschiedliche Verhalten von *A. rosea* und *A. sulphurea* wurde bereits mehrfach beschrieben.<sup>82,83,84</sup>

Bei dem in dieser Arbeit bearbeiteten Individuum handelt es sich aufgrund des Farbwechsels von gelb nach dunkelviolet um einen verongiden Schwamm, der von Herrn Dr. Hans Tore Rapp und Frau Dr. Friederike Hoffmann als *A. sulphurea* identifiziert wurde.

Wie sich im Laufe dieser Arbeit anhand der chemischen Untersuchungen zeigen wird, produziert dieser Schwamm einfach- bzw. mehrfach bromierte Tyrosinalkaloide. Diese Substanzen sind chemotaxonomische Marker für verongide Schwämme, die nicht als Produzenten terpenoider Sekundärmetabolite in Erscheinung treten. Dies stellt einen Widerspruch zu den aus tropischen Gewässern gewonnenen Sekundärmetaboliten von *A. sulphurea* dar, was möglicherweise auf regionale Unterschiede oder auf eine abweichende Verteilung von Schwamm assoziierten Symbionten zurückzuführen ist.

## **6.2. Isolierung und Identifizierung von bromierten Tyrosinalkaloiden**

Der in Abbildung 73 gezeigte Schwamm *A. sulphurea*, der auf *S. ponderosus* eine leuchtend gelbe inkrustierende Schicht bildete, wurde von diesem vorsichtig abgetrennt. Dabei wurde darauf geachtet, dass bereits nach violett verfärbte Schwammteile ausgespart wurden. Die separierten Teile (ca. 500 g) wurden wiederum nach dem Standard-Extraktionsverfahren aufgearbeitet. Dadurch wurden ein Dichlormethan- sowie ein *n*-Butanolextrakt erhalten. Ein Foto des intensiv gelb gefärbten *n*-Butanolextraktes wird in Abbildung 73 (*links*) gezeigt. Der Schwamm konnte so aufgearbeitet werden, dass der Extrakt keine Verfärbungen aufzeigte.

Der Dichlormethanextrakt wurde gaschromatographisch untersucht, während der *n*-Butanolextrakt mittels flüssigchromatographischer und ESI- bzw. APCI-MS-Methoden (positiver und negativer Modus) untersucht wurde.

### 6.3. Flüchtige Komponenten des Dichlormethanextraktes

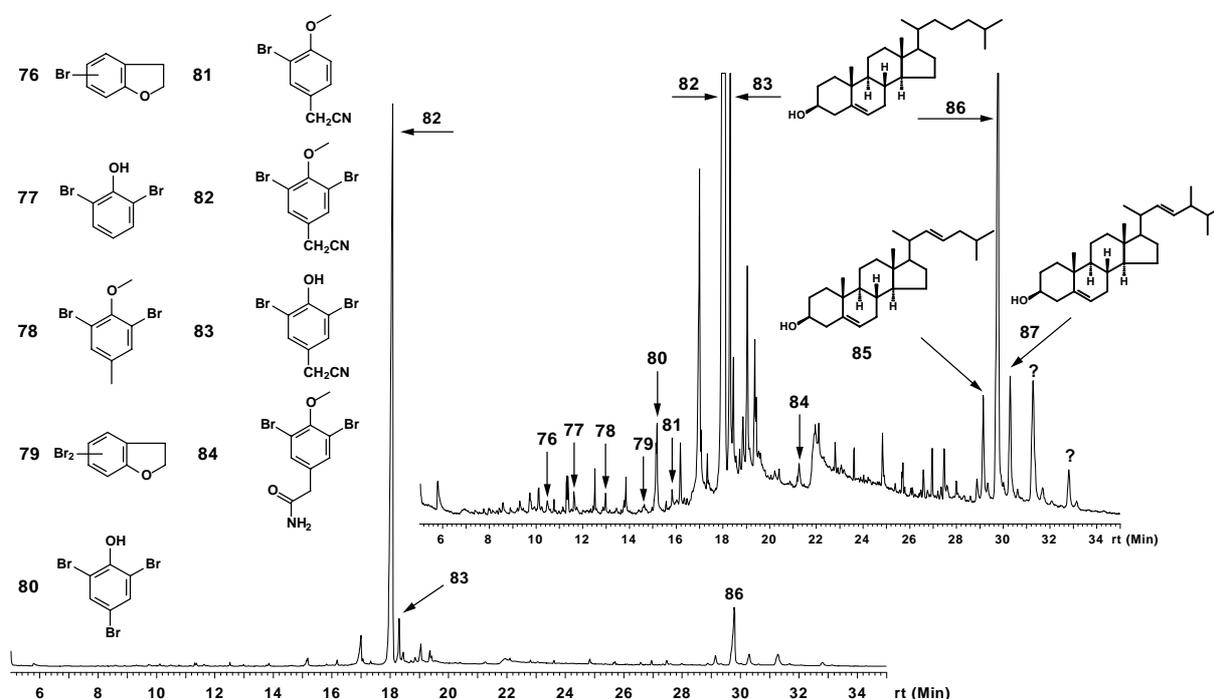
Im Gaschromatogramm des Dichlormethanextraktes (Abbildung 76) sind neben üblichen Primärmetaboliten wie Steroidalkoholen und Fettsäuren ein- und mehrfach bromierte Verbindungen anhand ihrer Massenspektren zu erkennen (**76 - 84**). Ihre elementare Zusammensetzung konnte durch hochaufgelöste Massenspektrometrie bestimmt werden.

An den Intensitätsverhältnissen der Isotopenpeaks der jeweiligen Molekül- bzw. Tochterionen konnten Rückschlüsse auf die Anzahl enthaltener Bromatome gezogen werden.

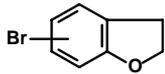
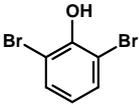
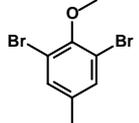
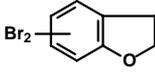
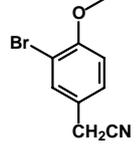
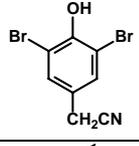
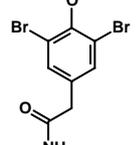
Das Isotopenmuster monobromierter Verbindungen wurde bereits bei den Haloazulenen aus *Hymedesmia paupertas* in Kapitel 5 diskutiert. Ionen, die zwei Bromatome enthalten, zeigen drei ( $^{79}\text{Br}_2$ : 51 %,  $^{79}\text{Br}^{81}\text{Br}$ : 100 %,  $^{81}\text{Br}_2$ : 49 %) und solche, welche drei Bromatome enthalten, vier unterschiedlich intensive Isotopenpeaks ( $^{79}\text{Br}_3$ : 34 %,  $^{79}\text{Br}_2^{81}\text{Br}$ : 100 %,  $^{79}\text{Br}^{81}\text{Br}_2$ : 98 %,  $^{81}\text{Br}_3$ : 32 %).

Die Strukturen einiger Verbindungen konnten durch Vergleich mit Literaturspektren zugeordnet werden.

Darüber hinaus wurden durch eine MS-Bibliotheksrecherche Steroidalkohole wie Cholesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol (**85**), Cholesterol (**86**) und Ergosta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol (**87**) identifiziert.



**Abbildung 76:** Gaschromatogramm des Dichlormethanextraktes von *A. sulphurea* [Säule: BPX-5, 30 m, Temperaturprogramm: 50 °C, 10 °C/min, 300 °C, 20 min. isotherm]

	Summenformel	Masse [g/mol]	Strukturvorschlag	Name
<b>76</b> Kapitel 6.3.2.	C <sub>8</sub> H <sub>7</sub> BrO	199.05		Brom-2,3-dihydrobenzofuran
<b>77</b> Kapitel 6.3.3.	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> Br <sub>2</sub> O	251.91		2,6-Dibromphenol
<b>78</b> Kapitel 6.3.4.	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> Br <sub>2</sub> O	279.96		2,6-Dibrom-4-methyl-anisol
<b>79</b> Kapitel 6.3.5.	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> Br <sub>2</sub> O	277.94		Dibrom-2,3-dihydrobenzofuran
<b>80</b> Kapitel 6.3.6.	C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> Br <sub>3</sub> O	330.80		2,4,6-Tribromphenol
<b>81</b> Kapitel 6.3.7.	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> BrNO	226.07		3-Brom-4-methoxyphenylacetonitril
<b>82</b> Kapitel 6.3.1.	C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> Br <sub>2</sub> NO	304.97		3,5-Dibrom-4-methoxyphenylacetonitril
<b>83</b> Kapitel 6.3.8.	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> Br <sub>2</sub> NO	290.94		3,5-Dibrom-4-hydroxyphenylacetonitril
<b>84</b> Kapitel 6.3.9.	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> Br <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>	322.98		3,5-Dibrom-4-methoxyphenylacetamid

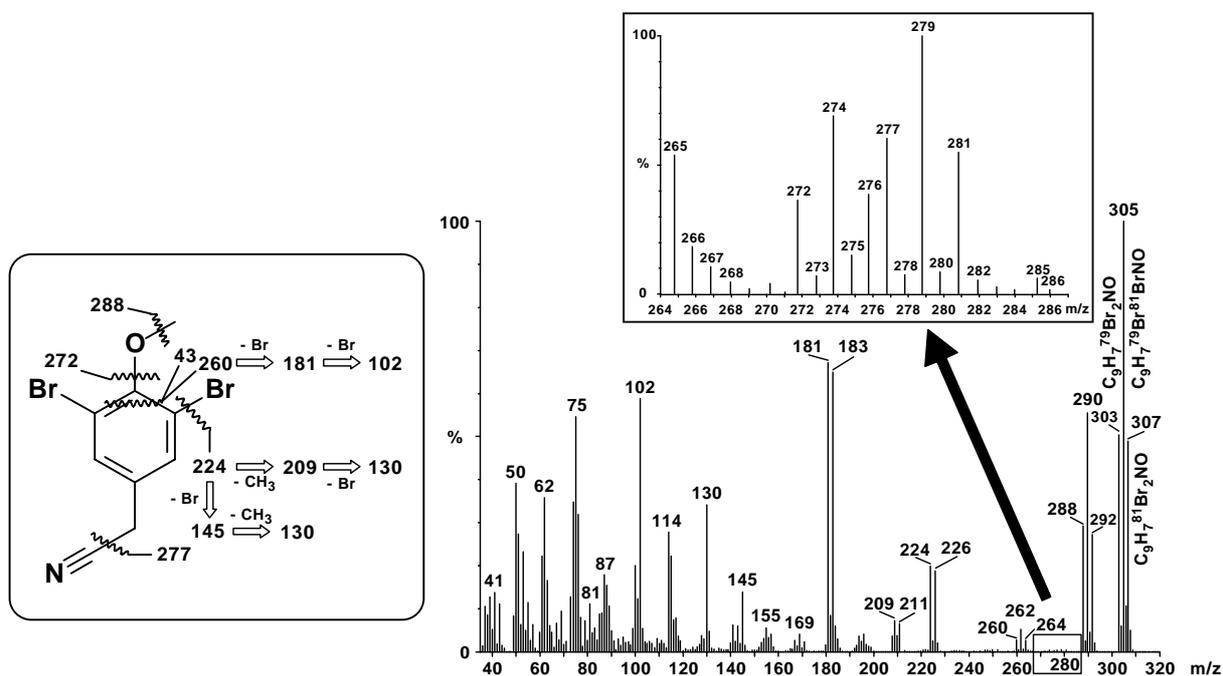
**Tabelle 22:** Übersicht für die flüchtigen Komponenten (**76 - 84**), die in *A. sulphurea* enthalten sind.

### 6.3.1. Strukturaufklärung der Hautkomponente (**82**)

Der Extrakt wird von einer Komponente **82** dominiert (s. Abbildung 76), die die elementare Zusammensetzung C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>Br<sub>2</sub>NO (305 g/mol) besitzt. Das Massenspektrum ist in Abbildung 77 gezeigt.

**82** konnte mit Hilfe präparativer Gaschromatographie an einer gepackten SE-30-Säule (Temperaturprogramm: 180 °C isotherm) in für NMR-spektroskopische Untersuchungen ausreichenden Mengen isoliert werden.

Im Folgenden wird die Struktur anhand des hochaufgelösten Massenspektrums sowie ein- und zweidimensionaler NMR-Spektren diskutiert und identifiziert.



**Abbildung 77:** Massenspektrum der dibromierten Verbindung **82** (EI, 70 eV) und der vergrößerte Ausschnitt des Massenbereiches zwischen m/z 264 und m/z 287. Die wichtigsten Fragmentierungen sind links abgebildet.

Die elementare Zusammensetzung des Molekülions und wichtiger Fragmentionen von **82** kann Tabelle 23 entnommen werden.

[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungs-äquivalente
307	306.889	306.885	$C_9H_7^{81}Br_2NO$	- 4.0	- 13.0	6
305	304.890	304.887	$C_9H_7^{79}Br^{81}BrNO$	- 3.1	- 10.1	6
303	302.892	302.889	$C_9H_7^{79}Br_2NO$	- 2.1	- 7.1	6
292	291.862	291.862	$C_8H_4^{81}Br_2NO$	- 0.4	- 1.4	6.5
290	289.865	289.864	$C_8H_4^{79}Br^{81}BrNO$	- 0.9	- 3.2	6.5
288	287.867	287.866	$C_8H_4^{79}Br_2NO$	- 0.7	- 2.5	6.5
281	280.882	280.882	$C_8H_7^{81}Br_2O$	0.5	1.7	4.5
279	278.886	278.884	$C_8H_7^{79}Br^{81}BrO$	- 1.3	- 4.7	4.5
277	276.885	276.886	$C_8H_7^{79}Br_2O$	1.4	4.9	4.5
276	275.871	275.871	$C_8H_4^{81}Br_2N$	- 4.5	- 16.3	6.5
274	273.870	273.869	$C_8H_4^{79}Br^{81}BrN$	- 1.2	- 4.5	6.5
272	271.870	271.871	$C_8H_4^{79}Br_2N$	1.3	4.9	6.5
226	225.969	225.969	$C_9H_7^{81}BrNO$	0.3	1.4	6.5
224	223.971	223.971	$C_9H_7^{79}BrNO$	0.4	2.0	6.5
211	210.946	210.946	$C_8H_4^{81}BrNO$	- 0.1	- 0.3	7
209	208.948	208.948	$C_8H_4^{79}BrNO$	- 3.3	- 0.7	7

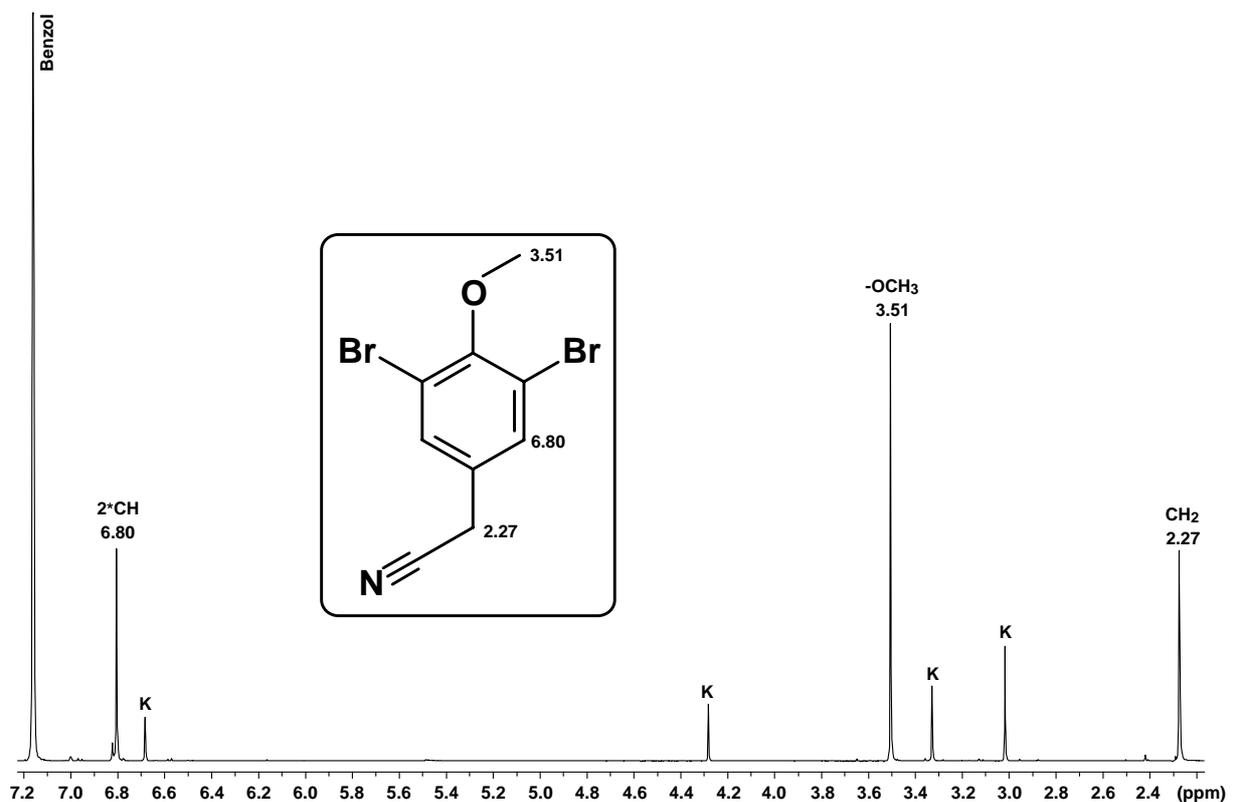
**Tabelle 23:** Elementare Zusammensetzung des Molekülions und wichtiger Fragmentionen von **82**

Das Massenspektrum lässt sich wie folgt interpretieren:

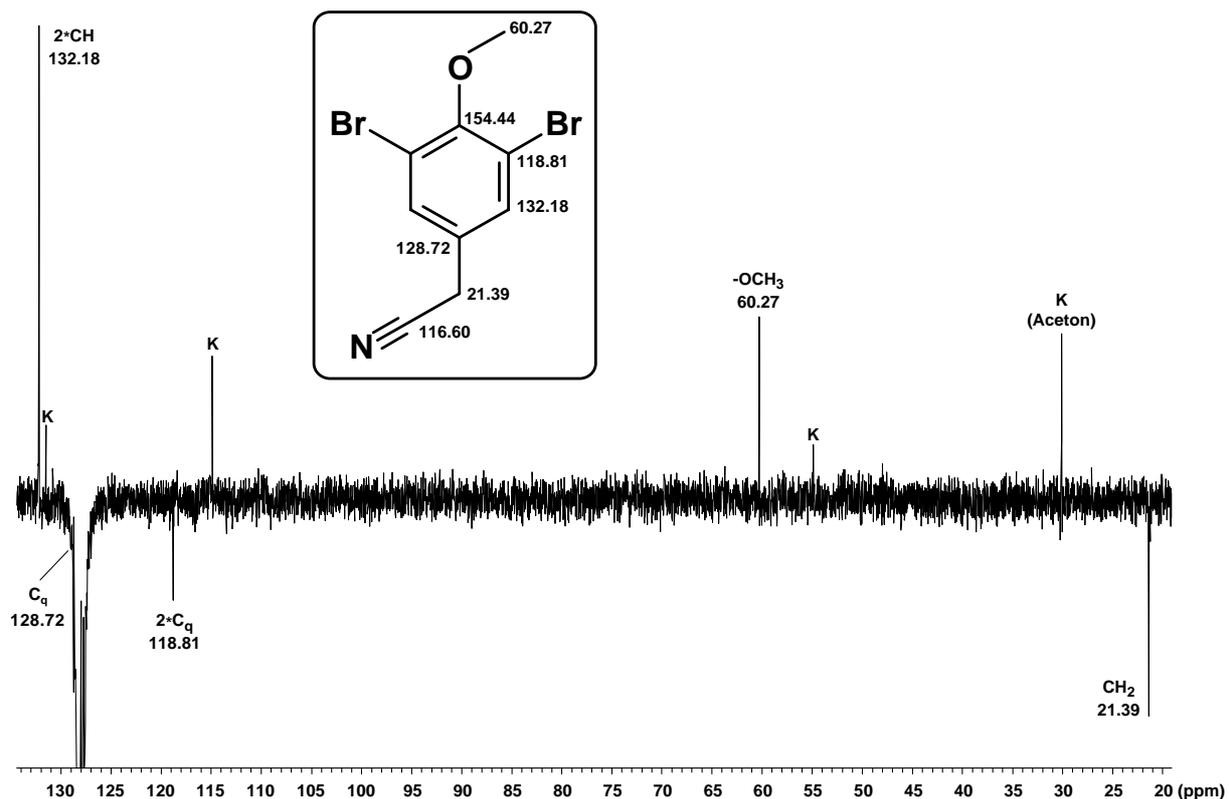
Ein im Molekül enthaltener Methoxy-Substituent wird durch Abspaltung einer Methylgruppe (- CH<sub>3</sub>; M - 15) bzw. des vollständigen Substituenten (- OCH<sub>3</sub>; M - 31) identifiziert. Dieser kann auch bis zur Öffnung des aromatischen Ringes unter Bildung von m/z 260 (M - 43) abgespalten werden. Das Ion m/z 260 verliert daraufhin die zwei Bromatome unter Bildung von m/z 181 und m/z 102.

Die Abspaltung von Brom aus dem Molekülion führt zu m/z 224, das entweder eine Methylgruppe zu m/z 209 oder erneut ein Bromatom unter Bildung von m/z 145 verlieren kann.

Für die Strukturaufklärung ist weiterhin die Beobachtung einer Cyanid-Abspaltung (M - 26) zum Ion m/z 277 mit der Zusammensetzung C<sub>8</sub>H<sub>7</sub><sup>79</sup>Br<sub>2</sub>O hilfreich.



**Abbildung 78:** <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von **82** [500 MHz, Benzol-*d*<sub>6</sub>]. Verunreinigungen sind mit einem K versehen.



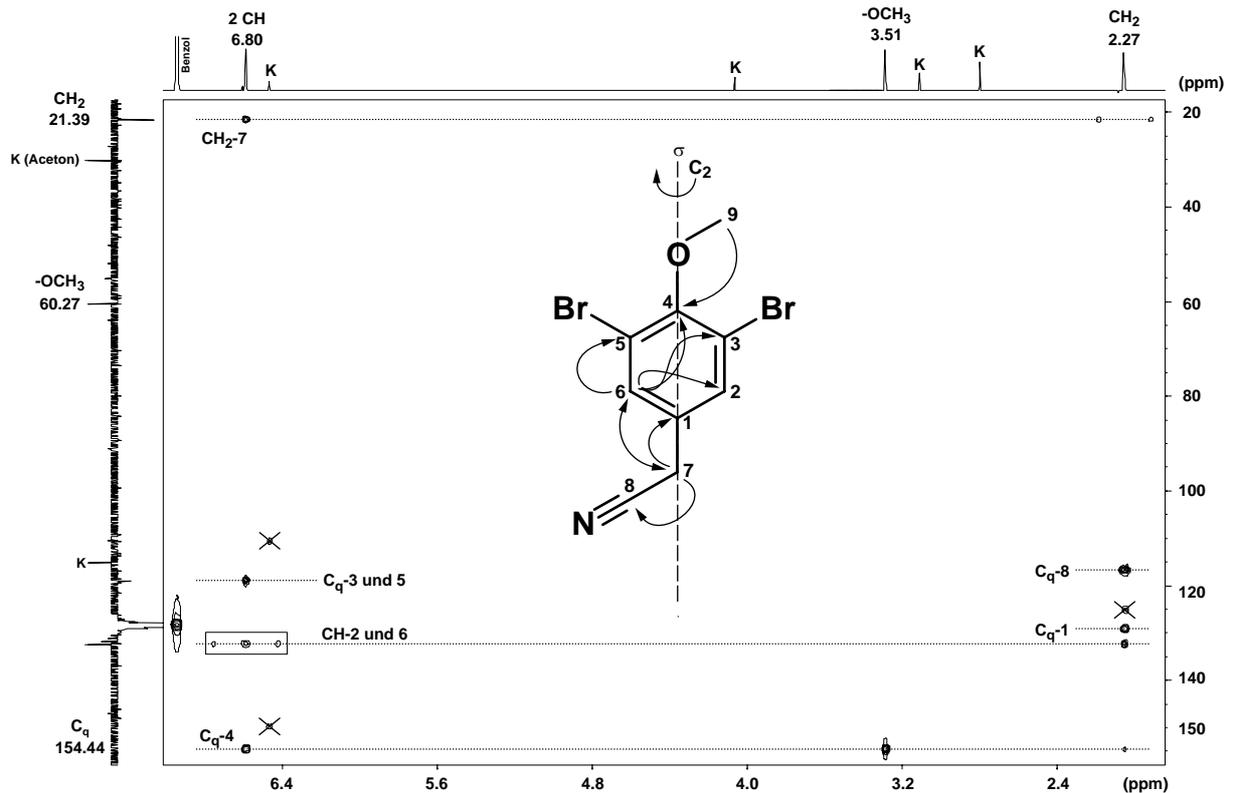
**Abbildung 79:**  $^{13}\text{C}$ -PENDANT-Spektrum von **82** [100.6 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Die quartären Kohlenstoffatome mit den chemischen Verschiebungen  $\delta_{\text{C}} = 116.60$  und  $154.44$  ppm sind dem HMBC-Spektrum entnommen. Verunreinigungen sind mit einem K versehen.

Die NMR-Daten von **82** sind in Tabelle 24 wiedergegeben.

Pos.	$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ ) [ppm]	$\delta$ ( $^1\text{H}$ ) [ppm]	Int.	$J$ [Hz]	$^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY	HMBC	NOESY
1	128.72	-	-	-	-	-	-
2	132.18	6.80	1H	s	6-H, 7-CH <sub>2</sub>	C-3, C-4, C-5, C-6, C-7	-
3	118.81	-	-	-	-	-	-
4	154.44	-	-	-	-	-	-
5	118.81	-	-	-	-	-	-
6	132.18	6.80	1H	s	2-H, 7-CH <sub>2</sub>	C-2, C-3, C-4, C-5, C-7	-
7	21.39	2.27	2H	s	2-H, 6-H	C-1, C-2, C-6, C-8	-
8	116.60	-	-	-	-	-	-
9	60.27	3.51	3H	s	-	C-4	2-H, 6-H

**Tabelle 24:** Chemische Verschiebungen der Kohlenstoffatome und Protonen in **82** [ $^1\text{H}$ : 500 MHz bzw.  $^{13}\text{C}$ : 100.6 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Die Kopplungen im  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-, HMBC- und NOESY-Spektrum sind angegeben.

Anhand des HMBC-Spektrums konnte die Struktur eindeutig aufgeklärt werden.



**Abbildung 80:** Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum von **82** [500 MHz, Benzol- $d_6$ ]

Es handelt sich hierbei um ein symmetrisches Molekül, das der Punktgruppe  $C_{2v}$  angehört und somit eine Spiegelebene ( $\sigma$ ) enthält, die gleichzeitig eine zweizählige Hauptdrehachse ( $C_2$ ) beinhaltet. Die Hauptdrehachse liegt in der Papierebene und die Spiegelebene senkrecht dazu (siehe Strukturformel mit Kopplungen im HMBC-Spektrum in Abbildung 80). Diese Achse verläuft durch die Kohlenstoffatome  $C_{q-4}$ ,  $C_{q-1}$  und auch durch die *para*-ständigen Methoxy- bzw. den Acetonitril-Substituenten, deren Anordnung somit gleichzeitig festgelegt werden kann.

Dadurch vereinfacht sich das Spektrum dahingehend, dass im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum das Singulett mit der Verschiebung von  $\delta_{\text{H}} = 6.80$  ppm zwei nicht unterscheidbaren, *meta*-substituierten Protonen (2-H und 6-H) zuzuordnen ist. Gleichmaßen verhalten sich die dazugehörigen Kohlenstoffatome  $C_{q-2}$  und  $C_{q-6}$  mit identischer chemischer Verschiebung von  $\delta_{\text{C}} = 132.18$  ppm. Zum Ausdruck kommt dies im HMBC-Spektrum (Kasten in Abbildung 80) durch die  $^1J_{\text{H,C}}$ -Kopplung, die mit einer Kopplungskonstanten von ca. 166 Hz das Signal aufspaltet. Die Fernkopplung zum jeweils äquivalenten Kohlenstoffatom ( $C_{q-6}$  bzw.  $C_{q-2}$ ) ist als Kreuzsignal im Signalschwerpunkt sichtbar. Das Kreuzsignal bei  $\delta_{\text{C}} = 118.81$  ppm

entspricht der Kopplung dieser beiden Methinprotonen mit den chemisch äquivalenten, quartären Kohlenstoffatomen C<sub>q</sub>-3 und C<sub>q</sub>-5, welche die beiden Bromatome tragen.

Im Massenspektrum ist eine Abspaltung von Cyanid (M - 26) zu erkennen. Ob es sich hierbei um eine Nitril- oder Isonitril-Gruppe handelt, lässt sich anhand der chemischen Verschiebung des quartären Kohlenstoffatoms C<sub>q</sub>-8 feststellen, das mit  $\delta_C = 116.60$  ppm als Teil eines terminalen Nitril-Fragmentes ausgemacht werden kann. Ein vergleichbares Isonitril kann ausgeschlossen werden, da die chemische Verschiebung eines Isonitril-Kohlenstoffatoms bei ca. 160 ppm liegen würde.

Die Methylengruppe zeigt durch seine Kopplungen u. a. das Nitril-Kohlenstoffatom C<sub>q</sub>-8 und das benachbarte Atom C<sub>q</sub>-1. Die Methylgruppe ist mit  $\delta_C = 60.27$  ppm eindeutig an einem Sauerstoffatom gebunden und dieser Methoxy-Substituent befindet sich am Kohlenstoffatom C<sub>q</sub>-4 ( $\delta_C = 154.44$  ppm). Durch Kopplungen von 7-CH<sub>2</sub> mit den aromatischen Protonen 2-H und 6-H im <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-COSY- bzw. NOESY-Spektrum kann die Position der Bromatome an C<sub>q</sub>-3 und C<sub>q</sub>-5 festgelegt werden.

Es handelt sich bei **82** um 3,5-Dibrom-4-methoxyphenylacetonitril, dessen experimentell ermittelte Daten auch zusätzlich durch den Vergleich berechneter  $\delta_C$ -Werte (Inkrementmethode\*) gestützt werden.

Pos.	$\delta$ ( <sup>13</sup> C) gemessen (C <sub>6</sub> D <sub>6</sub> ) [ppm]	$\delta$ ( <sup>13</sup> C) gemessen (CDCl <sub>3</sub> ) [ppm]	$\delta$ ( <sup>13</sup> C) errechnet [ppm]
1	128.72	128.37	128.0
2	132.18	132.28	133.6
3	118.81	118.99	113.6
4	154.44	154.39	156.2
5	118.81	118.99	113.6
6	132.18	132.28	133.6
7	21.39	22.49	21.6
8	116.60	116.78	117.8
9	60.27	60.86	54.6

**Tabelle 25:** Vergleich der in Benzol-*d*<sub>6</sub> und Chloroform-*d*<sub>1</sub> gemessenen und durch die Inkrementmethode errechneten chemischen Verschiebungen der Kohlenstoffatome von **82**.

**82** ist auch aus anderen verongiden Schwämmen wie *Verongia aurea*<sup>85</sup> und *Psammaphysilla purpurea*<sup>86,87</sup> bekannt.

Mit der Kenntnis der Struktur der Hauptkomponente **82** lassen sich Strukturvorschläge für weitere, spektroskopisch unvollständig charakterisierte flüchtige Inhaltsstoffe (**76** - **81**, **83** und **84**) in *A. sulphurea* machen.

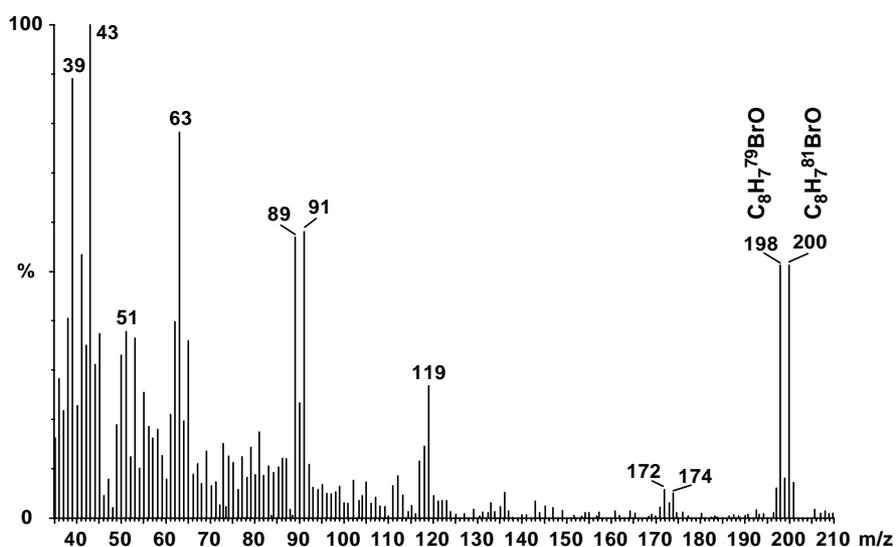
\* Zur Berechnung der theoretischen Signalverschiebungen wurde das Programm ChemDraw Ultra 8.0.3 aus dem ChemOffice 2004-Paket herangezogen.

### 6.3.2. Strukturvorschlag für 76

Bei **76** handelt es sich um eine einfach bromierte Verbindung der Masse 199 g/mol und der Zusammensetzung  $C_8H_7BrO$  mit 5 Doppelbindungsäquivalenten (s. Tabelle 26).

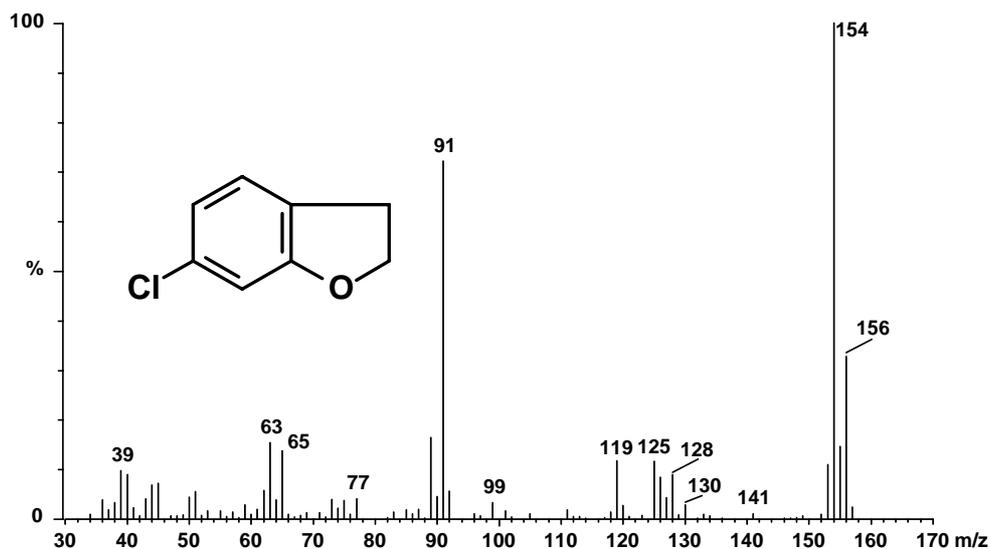
[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungs-äquivalente
200	199.962	199.966	$C_8H_7^{81}BrO$	3.6	17.9	5
198	197.967	197.968	$C_8H_7^{79}BrO$	1.0	5.1	5

**Tabelle 26:** Elementare Zusammensetzung der Isotopenpeaks des Moleküliions von **76**



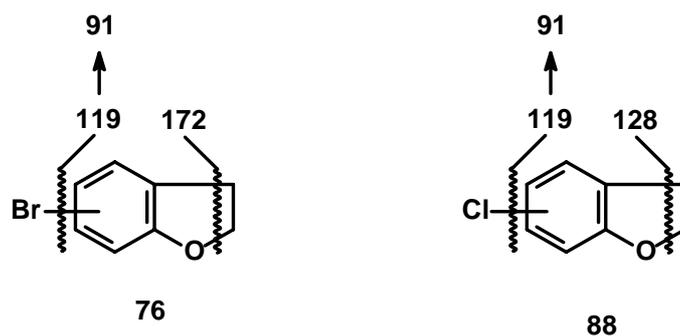
**Abbildung 81:** Massenspektrum von **76** (EI, 70 eV) mit der Zusammensetzung  $C_8H_7BrO$ .

Aus dem Moleküliion erfolgt die Abspaltung eines Bromradikals zum Ion  $m/z$  119. Aus diesem geht nach Abspaltung von CO und Umlagerung das Tropylium-Kation  $m/z$  91 hervor. Die Präsenz des Tropyliumions  $m/z$  91 lässt auf eine aromatische Verbindung schließen. Das fünfte Doppelbindungsäquivalent muss demnach einem zusätzlichen Ring oder einer weiteren Doppelbindung zugeordnet werden. Folglich kann es sich bei **76** entweder um ein Dihydrobenzofuran, das das Sauerstoffatom im Fünfring beinhaltet, oder um ein monobromiertes Vinylphenol handeln. Anhand einer Bibliotheksrecherche konnte keine Verbindung mit übereinstimmendem Massenspektrum, jedoch ein vergleichbares Spektrum für ein monochloriertes Dihydrobenzofuran (6-Chlor-2,3-dihydrobenzofuran (**88**)) gefunden werden. Dieses scheint für die Diskussion des vorliegenden Massenspektrums hilfreich (s. Abbildung 82).



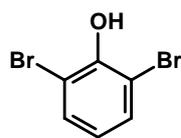
**Abbildung 82:** Literatur-Massenspektrum von 6-Chlor-2,3-dihydrobenzofuran (**88**) (EI, 70 eV), das als Vergleichsspektrum zur Identifizierung von **76** dient

Im Massenspektrum von **88** lassen sich ähnliche Ionen und Fragmentierungen von **76** wiederfinden. Aus dem Molekülion  $m/z$  154 spaltet sich zum einen das Chloratom zum Dihydrobenzofuran-Grundkörper  $m/z$  119 ab. Zum anderen verliert  $m/z$  154 analog zu **76** ein Fragment mit der Masse 26 g/mol, wahrscheinlich aus dem anellierten Fünfring, zum monochlorierten Fragment  $m/z$  128 (bei **76** der Verlust zu  $m/z$  172). Im unteren Massenbereich treten bei beiden Verbindungen praktisch keine Unterschiede im Fragmentierungsmuster auf ( $m/z$  119, 91, 89, 65, 63), so dass für die Struktur **76** ein monobromiertes Dihydrobenzofuran in Frage kommt. Die Position des Bromsubstituenten bleibt jedoch ungeklärt.



**Abbildung 83:** Vergleich der Fragmentierungen von **76** und seines Chloranalogons **88**

### 6.3.3. Strukturvorschlag für 77

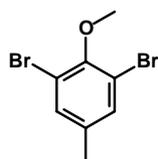


Bei **77** handelt es sich um eine zweifach bromierte Substanz mit der Zusammensetzung  $C_6H_4Br_2O$  und vier Doppelbindungsäquivalenten (s. Tabelle 27), das durch Vergleich mit MS-Literaturdaten als 2,6-Dibromphenol identifiziert werden konnte.

[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungs-äquivalente
254	253.857	253.859	$C_6H_4^{81}Br_2O$	1.8	7.2	4
252	251.861	251.861	$C_6H_4^{81}Br^{79}BrO$	0.1	0.5	4
250	249.864	249.863	$C_6H_4^{79}Br_2O$	- 1.5	- 6.0	4

Tabelle 27: Hochaufgelöste Daten des Moleküliions von **77**

### 6.3.4. Strukturvorschlag für 78



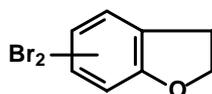
Mit 2,6-Dibrom-4-methylanisole wird für die Verbindung **78**, welche die Zusammensetzung  $C_8H_8Br_2O$  aufweist (s. Tabelle 28), durch Vergleich mit Literaturspektren ein plausibler Strukturvorschlag gemacht.

[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungs-äquivalente
282	281.891	281.890	$C_8H_8^{81}Br_2O$	- 0.7	- 2.5	4
280	279.893	279.892	$C_8H_8^{79}Br^{81}BrO$	- 0.6	- 2.1	4
278	277.895	277.894	$C_8H_8^{79}Br_2O$	- 1.0	- 3.7	4

Tabelle 28: Hochaufgelöste Daten des Moleküliions von **78**

### 6.3.5. Strukturvorschlag für 79

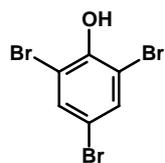
Da das Massenspektrum von **79** mit dem von **76** nahezu identisch ist und sich von **76** nur um ein zusätzliches Bromatom bei gleicher Anzahl von Doppelbindungsäquivalenten unterscheidet, wird für **76** ein Dibromdihydrobenzofuran vorgeschlagen, dessen Substitutionsmuster nicht genau bestimmt werden kann.



[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungs-äquivalente
280	279.872	279.874	$C_8H_6^{81}Br_2O$	2.3	8.2	5
278	277.878	277.876	$C_8H_6^{79}Br^{81}BrO$	- 1.1	- 3.9	5
276	275.877	275.879	$C_8H_6^{79}Br_2O$	1.9	6.8	5

Tabelle 29: Hochaufgelöste Daten des Moleküliions von **79**

### 6.3.6. Strukturvorschlag für 80

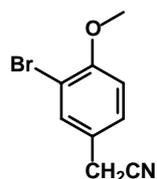


Bei **80** handelt es sich um die einzige flüchtige Substanz, welche drei Bromatome enthält. Ihre Zusammensetzung wurde zu  $C_6H_3Br_3O$  (s. Tabelle 30) bestimmt. Es handelt sich um 2,4,6-Tribromphenol, das anhand von Vergleichsspektren zugeordnet wurde.

[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungs-äquivalente
332 ( $M^+ + 4$ )	331.769	331.769	$C_6H_3^{79}Br^{81}Br_2O$	- 0.1	- 0.2	4
330 ( $M^+ + 2$ )	329.768	329.771	$C_6H_3^{79}Br_2^{81}BrO$	2.9	8.9	4

**Tabelle 30:** Hochaufgelöste Daten zweier Isotopenpeaks des Molekülions von **80**

### 6.3.7. Strukturvorschlag für 81



Die Hochauflösung von **81** zeigt, dass es sich hierbei um eine monobromierte Verbindung mit einem Stickstoffatom handelt, welches die ungerade Masse des Molekülions  $m/z$  225 widerspiegelt. Die Zusammensetzung konnte zu  $C_9H_8BrNO$  bestimmt werden (s. Tabelle 31). Anhand von Vergleichsdaten wurde 3-Brom-4-methoxyphenylacetonitril als Struktur zugeordnet.

[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungs-äquivalente
227	226.974	226.977	$C_9H_8^{81}BrNO$	2.8	12.1	6
225	224.984	224.979	$C_9H_8^{79}BrNO$	- 5.4	- 24.2	6
210	209.951	209.9554	$C_8H_5^{79}BrNO$	4.8	22.8	6.5
146	146.061	146.061	$C_9H_8NO$	- 0.2	- 1.7	6.5

**Tabelle 31:** Hochaufgelöste Daten des Molekülions von **81** und weiterer Ionen

**81** ist wie **82** in verschiedenen verongiden Schwämmen enthalten, so z. B. in *Psammaphysilla purpurea*<sup>86,87</sup>, *Verongia aurea*<sup>85</sup> und *Pseudoceratina crassa*<sup>88</sup>.

### 6.3.8. Strukturvorschlag für 83



**83** ist um 14 g/mol leichter als die Hauptkomponente **82** und weist die Zusammensetzung  $C_8H_5Br_2NO$  auf (s. Tabelle 32). Weiterhin fehlt bei dieser Substanz im Massenspektrum die relativ intensive Abspaltung einer Methylgruppe ( $M - 15$ ) bzw. die auf eine Methoxygruppe hindeutende Fragmentierung (Abspaltung von CO unter Ringöffnung ( $M - 43$ )). Es kann sich bei **83** somit

nur um das freie Phenol 3,5-Dibrom-4-hydroxyphenylacetonitril handeln. Unterstützt wird dieser Vorschlag auch durch die im Vergleich zu **82** spätere Elutionszeit im Gaschromatogramm.

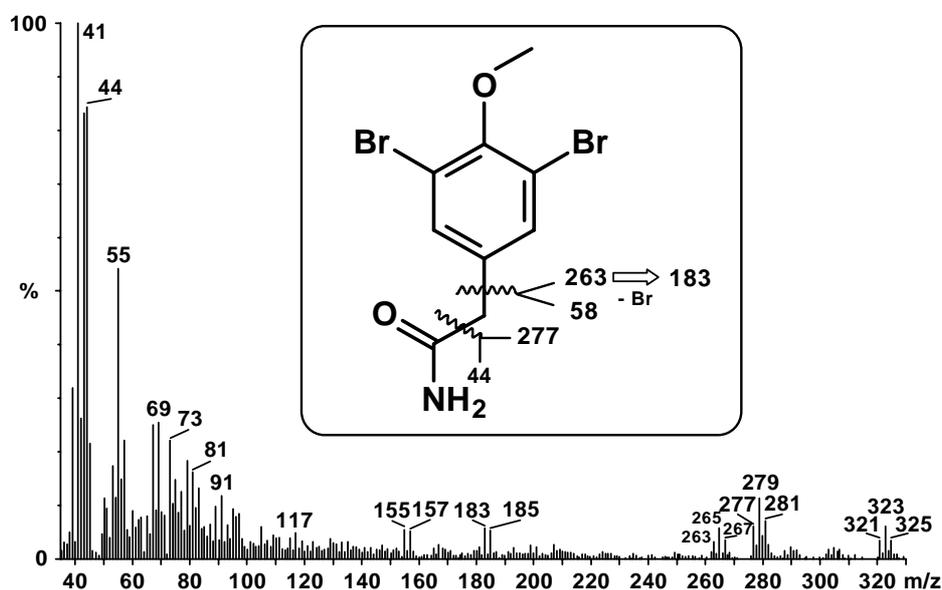
[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungsäquivalente
293	292.873	292.870	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> <sup>81</sup> Br <sub>2</sub> NO	- 3.0	- 10.3	6
291	290.871	290.872	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> <sup>79</sup> Br <sup>81</sup> BrNO	0.8	2.6	6
289	288.875	288.874	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> <sup>79</sup> Br <sub>2</sub> NO	- 1.2	- 4.0	6
212	211.951	211.953	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> <sup>79</sup> BrNO	2.5	11.9	6.5
210	209.955	209.955	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> <sup>81</sup> BrNO	0.9	4.3	6.5

**Tabelle 32:** Hocho aufgelöste Daten des Molekülions von **83** und weiterer Ionen

Auch das 3,5-Dibrom-4-hydroxyphenylacetonitril ist wie **81** und **82** in *Verongia aurea* enthalten.<sup>85</sup>

### 6.3.9. Strukturvorschlag für **84**

Der Dichlormethanextrakt enthält die zweifach bromierte Verbindung **84**, welche die Zusammensetzung C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>Br<sub>2</sub>NO<sub>2</sub> mit 5 Doppelbindungsäquivalenten (s. Tabelle 33) aufweist. Das Massenspektrum ist in Abbildung 84 abgebildet.



**Abbildung 84:** Massenspektrum von **84** (EI, 70 eV)

Tabelle 33 enthält die wichtigsten Zusammensetzungen der Fragmentionen von **84**.

[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungs-äquivalente
325	324.986	324.986	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> <sup>81</sup> Br <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>	- 0.5	- 1.5	5
323	322.898	322.898	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> <sup>79</sup> Br <sup>81</sup> BrNO <sub>2</sub>	0.2	0.7	5
321	320.905	320.900	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> <sup>79</sup> Br <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>	- 4.7	- 14.8	5
281	280.881	280.882	C <sub>8</sub> H <sub>7</sub> <sup>81</sup> Br <sub>2</sub> O	1.3	4.5	4.5
279	278.884	278.884	C <sub>8</sub> H <sub>7</sub> <sup>79</sup> Br <sup>81</sup> BrO	0.8	2.9	4.5
277	276.886	276.886	C <sub>8</sub> H <sub>7</sub> <sup>79</sup> Br <sub>2</sub> O	0.5	1.9	4.5
267	266.867	266.867	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> <sup>81</sup> Br <sub>2</sub> O	- 0.5	- 1.9	4.5
265	264.870	264.870	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> <sup>79</sup> Br <sup>81</sup> BrO	- 1.2	- 4.5	4.5
263	262.872	262.871	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> <sup>79</sup> Br <sub>2</sub> O	-0.9	-3.4	4.5
44	44.014	44.014	CH <sub>2</sub> NO	0	0	1.5

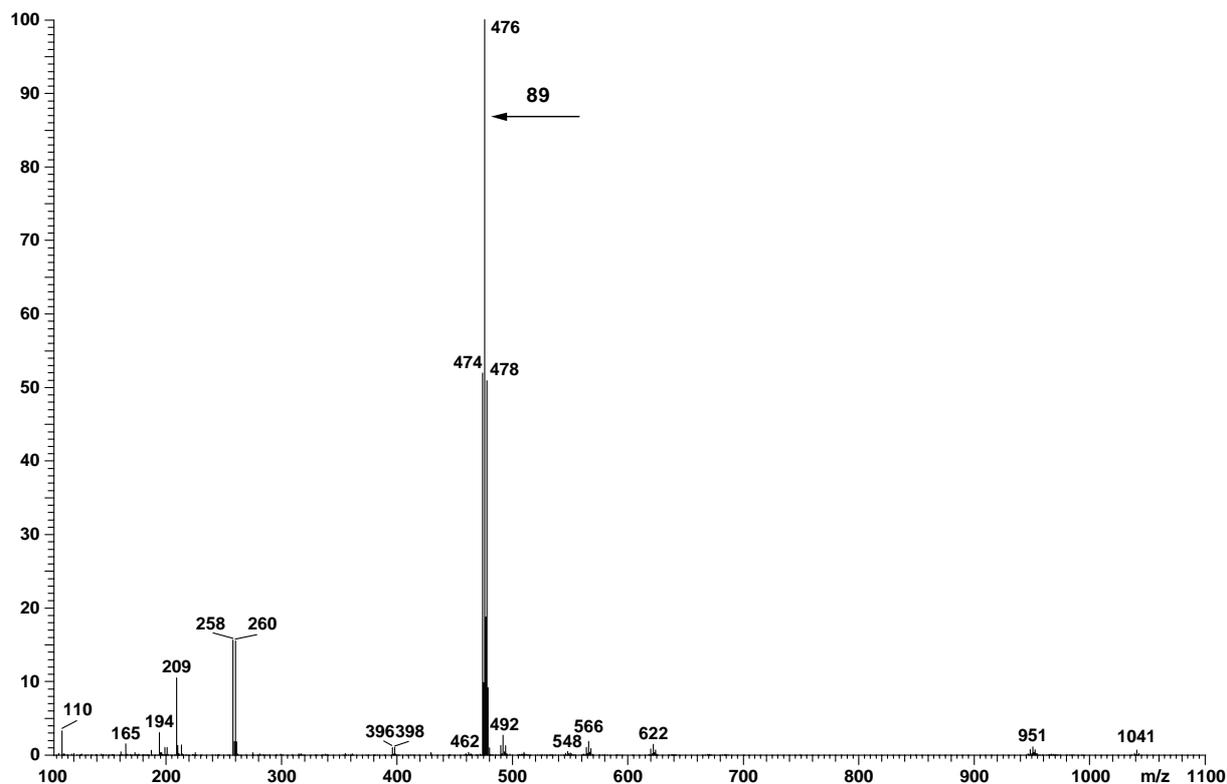
**Tabelle 33:** Hochaufgelöste Daten von **84** und weiterer Ionen

Die Bildung des zweifach bromierten Ions m/z 279 aus dem Molekülion m/z 323 entspricht der Abspaltung eines CH<sub>2</sub>NO-Fragmentes (M - 44; s. Abbildung 84). Zusätzlich spaltet sich aus dem Molekülion ein Teilchen mit der Zusammensetzung C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>NO (M - 58) unter Bildung von m/z 265 ab. Auf Grund dieser Fragmentierungen kann eindeutig auf einen Acetamid-Substituenten geschlossen werden. Bei dem verbleibenden Molekülfragment dürfte es sich bei einer Zusammensetzung von C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>Br<sub>2</sub>O wieder um 2,6-Dibromanisol handeln, so dass es sich bei **84** um das literaturbekannte 3,5-Dibrom-4-methoxyphenylacetamid handeln muss. Dieses ist bereits aus *Pseudoceratina* sp.<sup>89</sup> und *Verongia aurea*<sup>85</sup> bekannt.

#### 6.4. Polare Komponenten im *n*-Butanolextrakt

Der *n*-Butanolextrakt von *A. sulphurea* war im Vergleich zu den zwei anderen im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Schwammarten äußerst reich an Sekundärmetaboliten. Einerseits fiel dies quantitativ durch den nach der Extraktion und anschließender Entfernung des Lösungsmittels erhaltenen tiefgelben Rückstand auf. Andererseits konnte bereits durch massenspektrometrische Untersuchungen (Elektrospray- / APC-Ionisation mit gekoppelter Sektorfeld-Ionenfallen-MS-MS-Kopplung) des Gesamtextraktes festgestellt werden, dass in diesem polaren Extrakt eine Reihe mono- und dibromierter Verbindungen enthalten waren (s. Abbildung 85; Erläuterung der Isotopenmuster bromhaltiger Verbindungen: s. Kapitel 6.3., Seite 88), so dass in diesem Schwamm neben einer Vielzahl flüchtiger auch polare bromierte Verbindungen nachgewiesen wurden.

### 6.4.1. ESI-MS Untersuchungen



**Abbildung 85:** Positiv ESI-MS des eingeeengten *n*-Butanolextraktes. Abgebildet ist der Massenbereich  $m/z$  100 bis 1100.

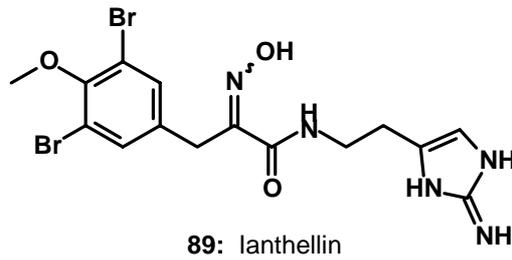
Dominiert wird das positiv ESI-Massenspektrum im Bereich von 100 bis 1100 g/mol von einer zweifach bromierten Substanz **89** mit dem Pseudomolekülion  $[M+H]^+ = 474/476/478$ , welche an ihrem Isotopenmuster zu erkennen ist. Durch hochauflösende Massenspektrometrie kann festgestellt werden, dass es sich um ein einfach protoniertes Molekülion handelt. Die Zusammensetzung des neutralen Moleküls ist demnach  $C_{15}H_{17}Br_2N_5O_3$  mit 9 Doppelbindungsäquivalenten (s. Tabelle 34).

$m/z$	gefundene Masse	Stabw. [ppm]	Summenformel $[M+H]^+$	DBÄ $[M+H]^+$	kalk. Masse $[M+H]^+$	Abw. [ppm]	Abw. [mDa]	Summenformel $[M^+]$	DBÄ $[M^+]$
474	473.9768	1.09	$C_{15}H_{18}^{79}Br_2N_5O_3$	8.5	473.9776	- 1.4	- 0.7	$C_{15}H_{17}^{79}Br_2N_5O_3$	9
476	475.9758	1.14	$C_{15}H_{18}^{79}Br^{81}BrN_5O_3$	8.5	475.9756	- 3.0	- 1.4	$C_{15}H_{17}^{79}Br^{81}BrN_5O_3$	9
478	477.9743	0.85	$C_{15}H_{18}^{81}Br_2N_5O_3$	8.5	477.9735	- 2.2	- 1.1	$C_{15}H_{17}^{81}Br_2N_5O_3$	9

**Tabelle 34:** Durch hochauflösende Massenspektrometrie ermittelte Zusammensetzungen der Pseudomolekülionen von **89**

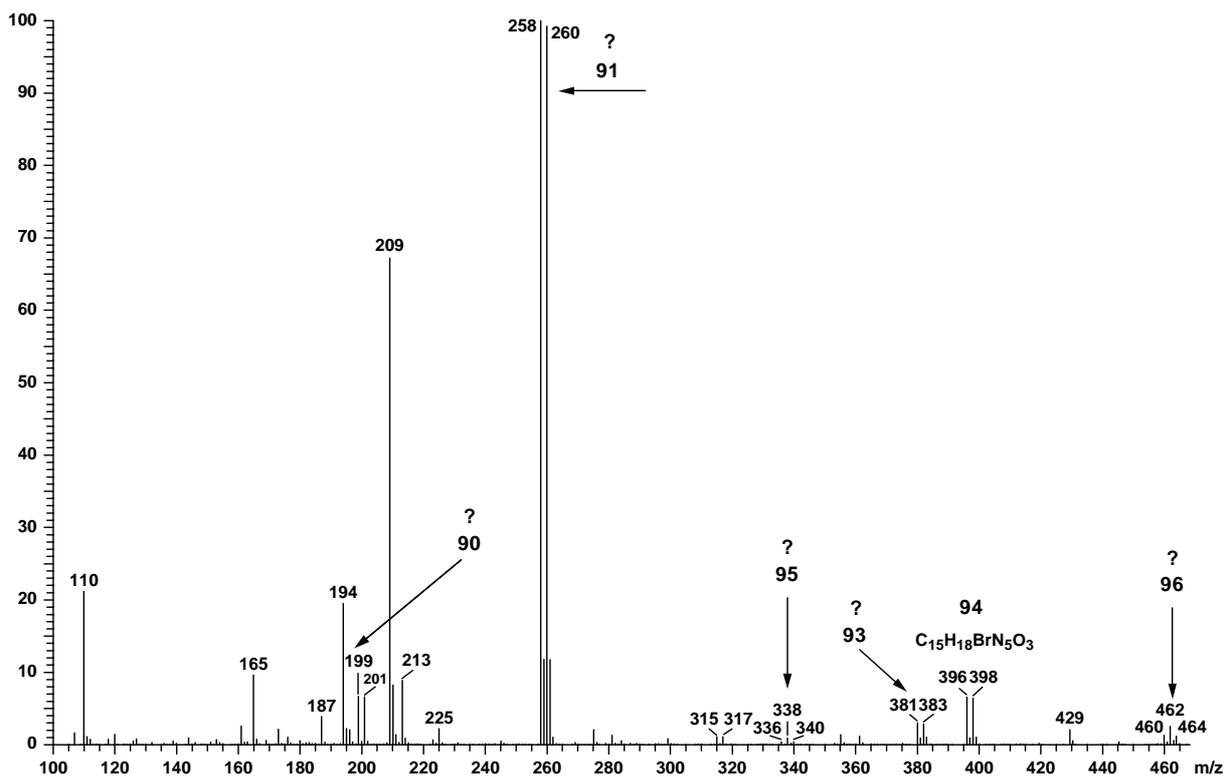
Bisher ist nur eine Verbindung mit dieser Zusammensetzung bekannt. Hierbei handelt es sich um das sog. Ianthellin aus *Ianthella ardis*<sup>90</sup> und *Pseudoceratina crassa*<sup>88</sup>. Für *Pseudoceratina*

*crassa* werden auch die Bezeichnungen *Ianthella ardis*, *Ianthella ianthella* oder *Aiolochoiria crassa* verwendet.



**Abbildung 86:** Das mit der Summenformel  $C_{15}H_{17}Br_2N_5O_3$  aus *Ianthella ardis* bekannte Ianthellin (**89**), als mögliche Hauptkomponente von *A. sulphurea*.

In der Vergrößerung zeigen sich im Massenbereich des ESI-Massenspektrums bis 465 g/mol anhand ihrer Pseudomolekülonen fünf mono- ( $[M+H]^+ = 199, 258, 315, 381$  und  $396$  g/mol (**90 - 94**)) und zwei dibromierte Substanzen ( $[M+H]^+ = 336$  und  $460$  g/mol (**95** und **96**)).



**Abbildung 87:** Vergrößertes positiv ESI-Massenspektrum des *n*-Butanolextraktes im Bereich von 100 bis 465 g/mol

Von der monobromierten Verbindung **94** mit der Masse  $[M+H]^+ = 396/398$ , konnte ebenfalls eine ESI-Hochauflösung mit der Summenformel  $C_{15}H_{18}BrN_5O_3$  erhalten werden.

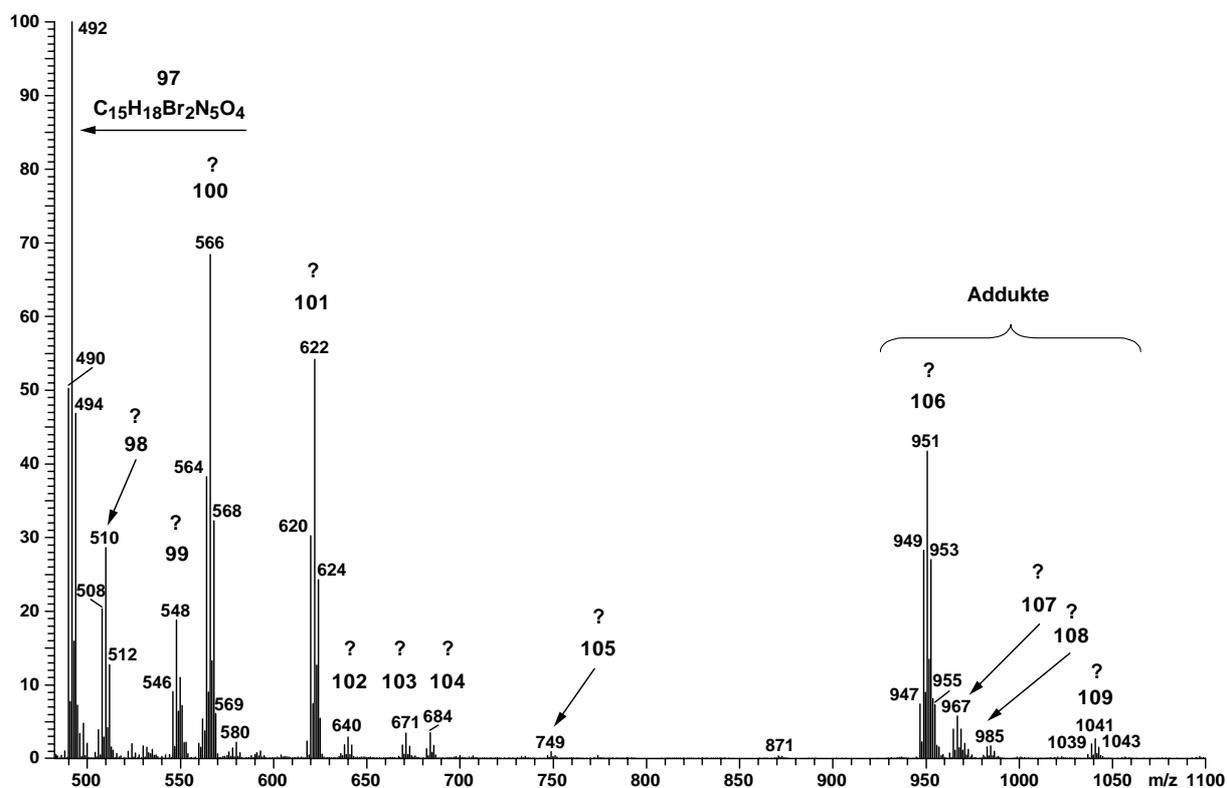
m/z	gefundene Masse	Stabw. [ppm]	Summenformel $[M+H]^+$	DBÄ $[M+H]^+$	kalk. Masse $[M+H]^+$	Abw. [ppm]	Abw. [mDa]	Summenformel $[M]^+$	DBÄ $[M]^+$
396	396.0652	1.68	$C_{15}H_{19}^{79}BrN_5O_3$	8.5	396.0671	4.9	1.9	$C_{15}H_{18}^{79}BrN_5O_3$	9
398	398.0637	1.05	$C_{15}H_{19}^{81}BrN_5O_3$	8.5	398.0651	3.5	1.4	$C_{15}H_{18}^{81}BrN_5O_3$	9

**Tabelle 35:** Zusammensetzung der monobromierten Verbindung **94**

Eine Verbindung mit dieser Zusammensetzung ist in der Literatur bislang nicht bekannt.

Die Zusammensetzungen von **90** - **93** sowie **95** und **96** konnten im ESI-MS nicht bestimmt werden.

Im höheren Massenbereich bis 700 g/mol sind ausschließlich dibromierte Verbindungen anzutreffen ( $[M+H]^+ = 490, 508, 546, 564, 620, 638, 669, 682, 747$  (**97** - **105**)), wobei die Zusammensetzung von **97** über hochauflöste Massenspektrometrie bestimmt werden konnte.



**Abbildung 88:** Vergrößertes positiv ESI-Massenspektrum des *n*-Butanolextraktes im Bereich von 485 bis 1100 g/mol, das protonierte Addukte im Bereich von m/z 940 bis 1050 (**106** - **109**) als quasi-vierfach bromierte Verbindungen zeigt

Bei den vier im ESI-Massenspektrum oberhalb von 945 g/mol auftretenden Peaks (**106 - 109**) handelt es sich protonierte Dimere, u. a. von **89**, die keine zusätzlichen Inhaltsstoffe, sondern Artefakte der Ionisierungsmethode darstellen. Im positiven ESI-Modus können Moleküle in einfach bzw. mehrfach protonierter Form vorliegen ( $[M+nH]^{n+}$ ). Zusätzlich zum protonierten Molekülion können daneben auch gleichzeitig Natrium- oder Kalium-Addukte auftreten ( $[M+Na]^+$  /  $[M+K]^+$ ).

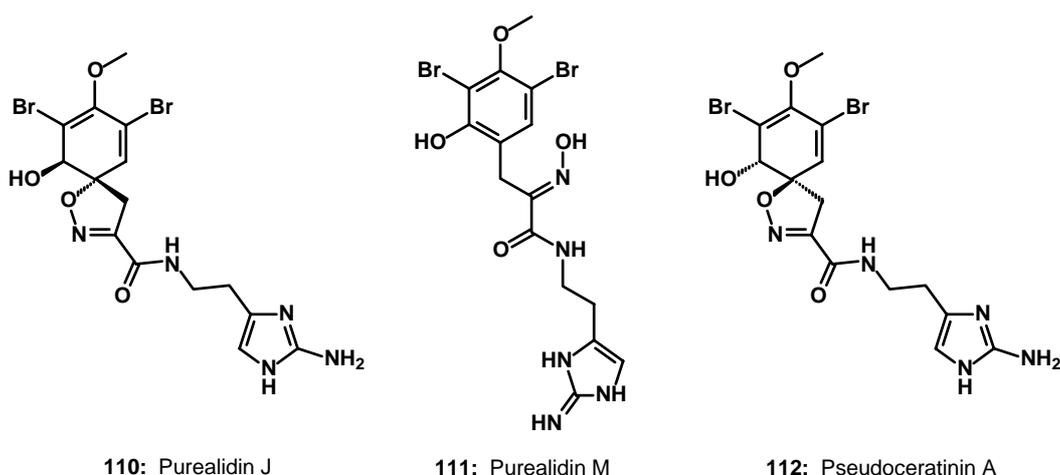
So deutet z. B. der Cluster  $m/z$  947/949/951/953/955 im Isotopenverhältnis 1:2:3:2:1 auf eine vierfach bromierte Verbindung hin. Es handelt sich aber hierbei um das protonierte Dimer von **89** ( $[2M+H]^+$ ).

**97** ( $[M+H]^+ = 490$ ) ist im Gegensatz zu **89** um 16 g/mol schwerer und weist die Zusammensetzung  $C_{15}H_{17}Br_2N_5O_4$  auf (s. Tabelle 36).

m/z	gefundene Masse	Stabw. [ppm]	Summenformel $[M+H]^+$	DBÄ $[M+H]^+$	kalk. Masse $[M+H]^+$	Abw. [ppm]	Abw. [mDa]	Summenformel $[M]^+$	DBÄ $[M]^+$
490	489.9722	1.45	$C_{15}H_{18}^{79}Br_2N_5O_4$	8.5	489.9726	0.7	0.4	$C_{15}H_{17}^{79}Br_2N_5O_4$	9
492	491.9704	1.54	$C_{15}H_{18}^{79}Br^{81}BrN_5O_4$	8.5	491.9705	0.2	0.1	$C_{15}H_{17}^{79}Br^{81}BrN_5O_4$	9
494	493.9685	0.73	$C_{15}H_{18}^{81}Br_2N_5O_4$	8.5	493.9685	- 0.1	0.0	$C_{15}H_{17}^{81}Br_2N_5O_4$	9

**Tabelle 36:** Zusammensetzung der monobromierten Verbindung **97**

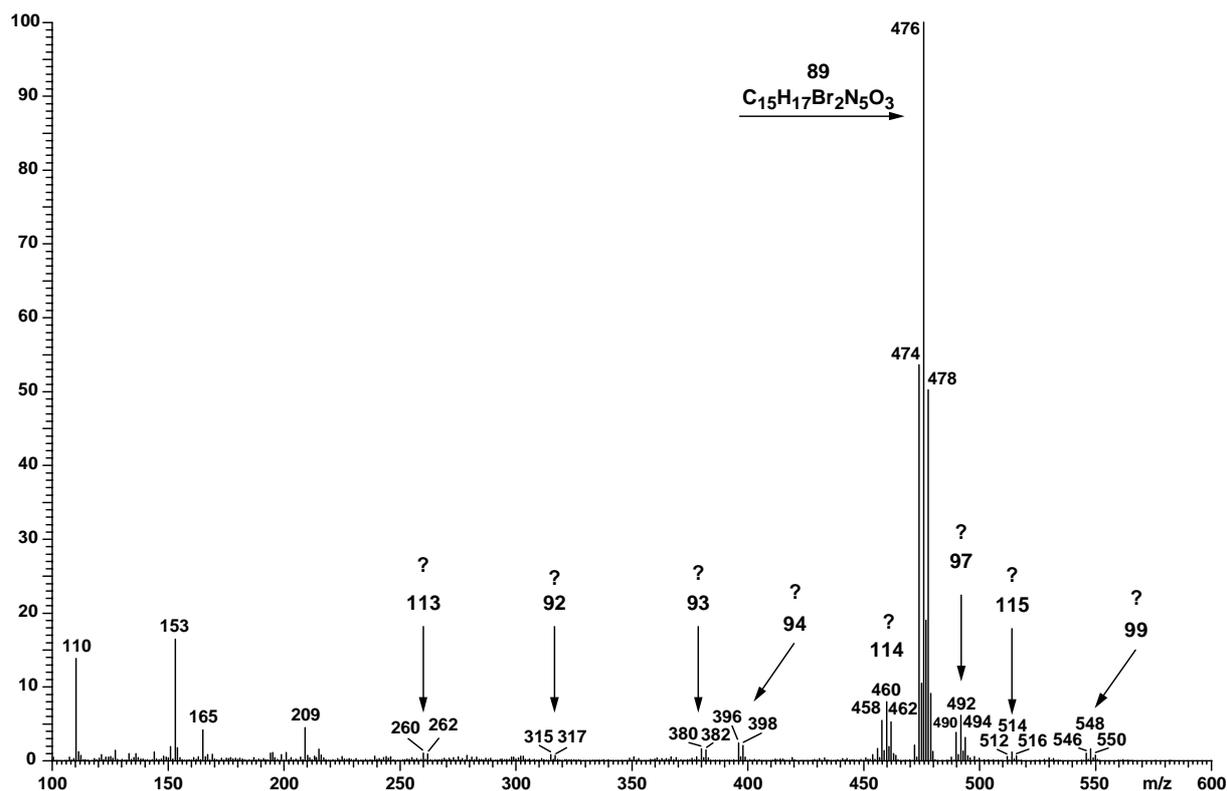
In der Literatur sind drei Alkaloide mit dieser elementaren Zusammensetzung beschrieben. Es handelt sich dabei um Puralidin J (**110**), Puralidin M (**111**) und Pseudoceratinin A (**112**), welches ein Diastereomer von **110** ist. Die beiden erstgenannten Verbindungen sind aus *Psammaphysilla purea*<sup>91</sup> und **112** aus *Pseudoceratina verrucosa*<sup>92</sup> isoliert worden.



**Abbildung 89:** Die für die Summenformel  $C_{15}H_{17}Br_2N_5O_4$  literaturbekannten Verbindungen (**110 - 112**)

## 6.4.2. APCI-MS Untersuchungen

Zusätzlich zum positiv ESI-MS wurde der Extrakt im positiv APCI-Modus vermessen. Aufgrund der unterschiedlichen Ionisationsmethoden tritt im Vergleich zur Elektrospray-Ionisation durch APC-Ionisation die Adduktbildung im höheren Massenbereich nicht auf, so dass im vorliegenden Fall nur Substanzen bis zu einer Masse von 600 g/mol detektiert wurden (s. Abbildung 90 und die Vergrößerungen in Abbildung 91 und Abbildung 92).

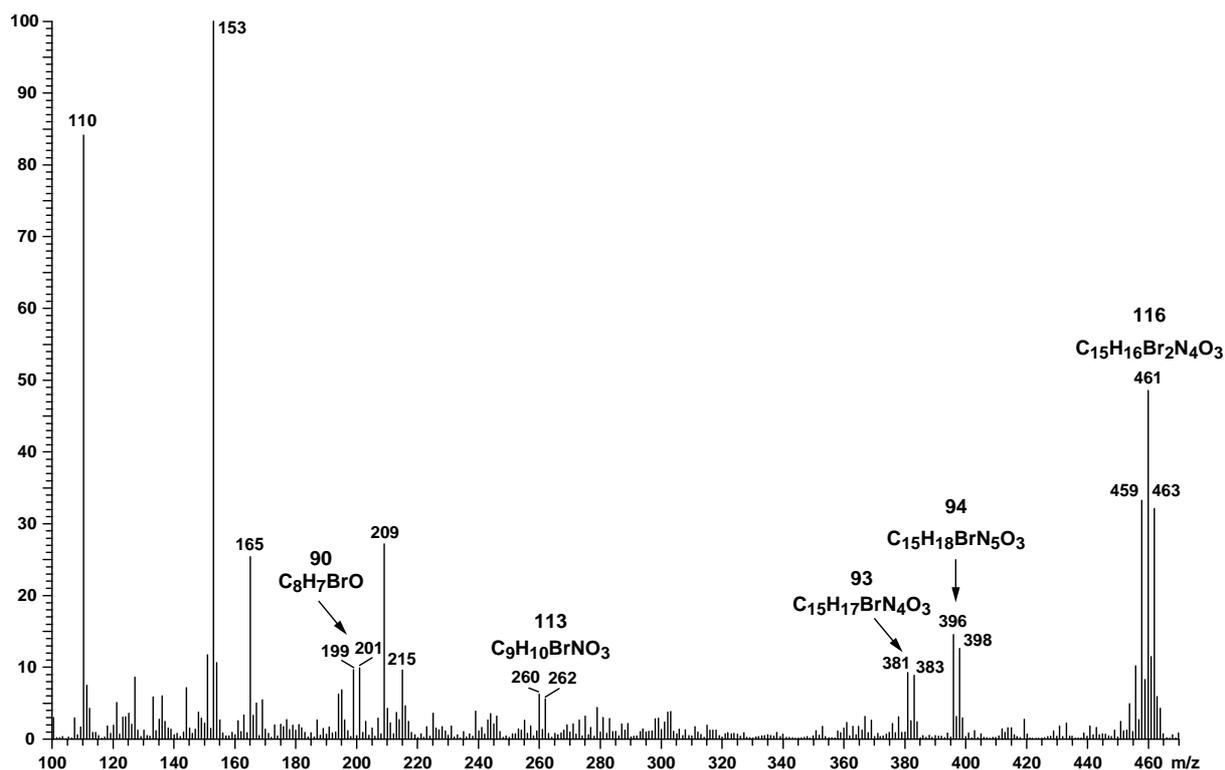


**Abbildung 90:** Positiv APCI-Massenspektrum des eingegangenen *n*-Butanolextraktes im Massenbereich von 100 bis 600 g/mol.

Dominiert wird auch dieses Spektrum durch das zweifach bromierte Alkaloid **89** mit der Zusammensetzung  $C_{15}H_{17}Br_2N_5O_3$ , welches anhand seines Isotopenclusters  $[M+H]^+ = 474/476/478$  im Verhältnis 1:2:1, zu erkennen ist. Die Zusammensetzung der Verbindung konnte auch im positiven ESI-Modus bestimmt werden.

m/z	gefundene Masse	Stabw. [ppm]	Summenformel $[M+H]^+$	DBÄ $[M+H]^+$	kalk. Masse $[M+H]^+$	Abw. [ppm]	Abw. [mDa]	Summenformel $[M]^+$	DBÄ $[M]^+$
474	473.9771	1.67	$C_{15}H_{18}^{79}Br_2N_5O_3$	8.5	477.9735	- 1.6	- 0.8	$C_{15}H_{17}^{79}Br_2N_5O_3$	9
476	475.9757	0.85	$C_{15}H_{18}^{79}Br^{81}BrN_5O_3$	8.5	475.9756	- 0.2	- 0.1	$C_{15}H_{17}^{79}Br^{81}BrN_5O_3$	9
478	477.9743	1.08	$C_{15}H_{18}^{81}Br_2N_5O_3$	8.5	473.9776	1.1	0.5	$C_{15}H_{17}^{81}Br_2N_5O_3$	9

**Tabelle 37:** Elementare Zusammensetzung der über pos. APCI-MS bestimmten Komponente **89**



**Abbildung 91:** Vergrößertes positiv APCI-Massenspektrum des *n*-Butanolextraktes im Bereich von 100 bis 470 g/mol

Im Massenbereich von 100 bis 470 g/mol (s. Abbildung 91) sind fünf bromierte Substanzen zu erkennen, von denen vier einfach (**90**, **93**, **94**, **113**, **116**) und eine zweifach halogeniert vorliegen (**116**). In den vergrößerten Ausschnitten sind die Molekülonen und die dazugehörigen, durch hochauflösende APCI-MS-Messungen bestimmten Summenformeln, gekennzeichnet.

Zunächst kann die einfach bromierte Verbindung **90** mit den Pseudomolekülonen  $[M+H]^+ = 199/201$  zu  $C_8H_7BrO$  bestimmt werden. Es handelt sich dabei wahrscheinlich um das bereits im Dichlormethanextrakt als flüchtige Komponente behandelte monobromierte Dihydrobenzofuran **76**.

m/z	gefundene Masse	Stabw. [ppm]	Summenformel $[M+H]^+$	DBÄ $[M+H]^+$	kalk. Masse $[M+H]^+$	Abw. [ppm]	Abw. [mDa]	Summenformel $[M^+]$	DBÄ $[M^+]$
199	198.9756	1.37	$C_8H_8^{79}BrO$	4.5	198.9759	1.3	0.3	$C_8H_7^{79}BrO$	5
201	200.9738	1.52	$C_8H_8^{81}BrO$	4.5	200.9738	0.0	0.0	$C_8H_7^{81}BrO$	5

**Tabelle 38:** Atomare Zusammensetzung der Isotopenpeaks von **90**

Der Ionen-Cluster **113** ( $[M+H]^+ = 260/262$ ) zeigt eine monobromierte Verbindung, deren elementare Zusammensetzung sich aus  $C_9H_{10}BrNO_3$  mit 5 Doppelbindungsäquivalenten zusammensetzt. Als möglichen Strukturvorschlag kommt hier das bei der Biosynthese der Dibromtyrosinalkaloide als Precursor auftretende (*S*)-3-Bromtyrosin (**113**) in Frage.

m/z	gefundene Masse	Stabw. [ppm]	Summenformel $[M+H]^+$	DBÄ $[M+H]^+$	kalk. Masse $[M+H]^+$	Abw. [ppm]	Abw. [mDa]	Summenformel $[M^+]$	DBÄ $[M^+]$
260	259.9920	1.82	$C_9H_{11}^{79}BrNO_3$	4.5	259.9922	0.9	0.2	$C_9H_{10}^{79}BrNO_3$	5
262	261.9899	1.38	$C_9H_{11}^{81}BrNO_3$	4.5	261.9902	1.1	0.3	$C_9H_{10}^{81}BrNO_3$	5

**Tabelle 39:** Atomare Zusammensetzung der Isotopenpeaks von **113**

Mit 9 Doppelbindungsäquivalenten und der Summenformel  $C_{15}H_{17}BrN_4O_3$  kann für die Substanz **93** ( $[M+H]^+ = 381/383$ ) ebenfalls ein Strukturvorschlag gemacht werden. Es handelt sich dabei möglicherweise um das aus *Pseudoceratina crassa*<sup>93</sup> und *Verongula gigantea*<sup>94</sup> bekannte Verongamin (**93**).

m/z	gefundene Masse	Stabw. [ppm]	Summenformel $[M+H]^+$	DBÄ $[M+H]^+$	kalk. Masse $[M+H]^+$	Abw. [ppm]	Abw. [mDa]	Summenformel $[M^+]$	DBÄ $[M^+]$
381	381.0562	0.9	$C_{15}H_{18}^{79}BrN_4O_3$	8.5	381.0562	0.1	0.0	$C_{15}H_{17}^{79}BrN_4O_3$	9
383	383.0549	1.67	$C_{15}H_{18}^{81}BrN_4O_3$	8.5	383.0542	-1.9	-0.7	$C_{15}H_{17}^{81}BrN_4O_3$	9

**Tabelle 40:** Atomare Zusammensetzung der Isotopenpeaks von **93**

Die im positiven APCI-MS detektierte Verbindung mit dem dibromierten Pseudomolekülionencluster **116** ( $[M+H]^+ = 459/461/463$ ) weist die Zusammensetzung  $C_{15}H_{16}Br_2N_4O_3$  mit 9 Doppelbindungsäquivalenten auf, die sich von **93** um ein zusätzliches Bromatom unterscheidet. Als Struktur ist das ebenfalls literaturbekannte 5-Bromverongamin (**116**) aus *Pseudoceratina* sp.<sup>95</sup> wahrscheinlich.

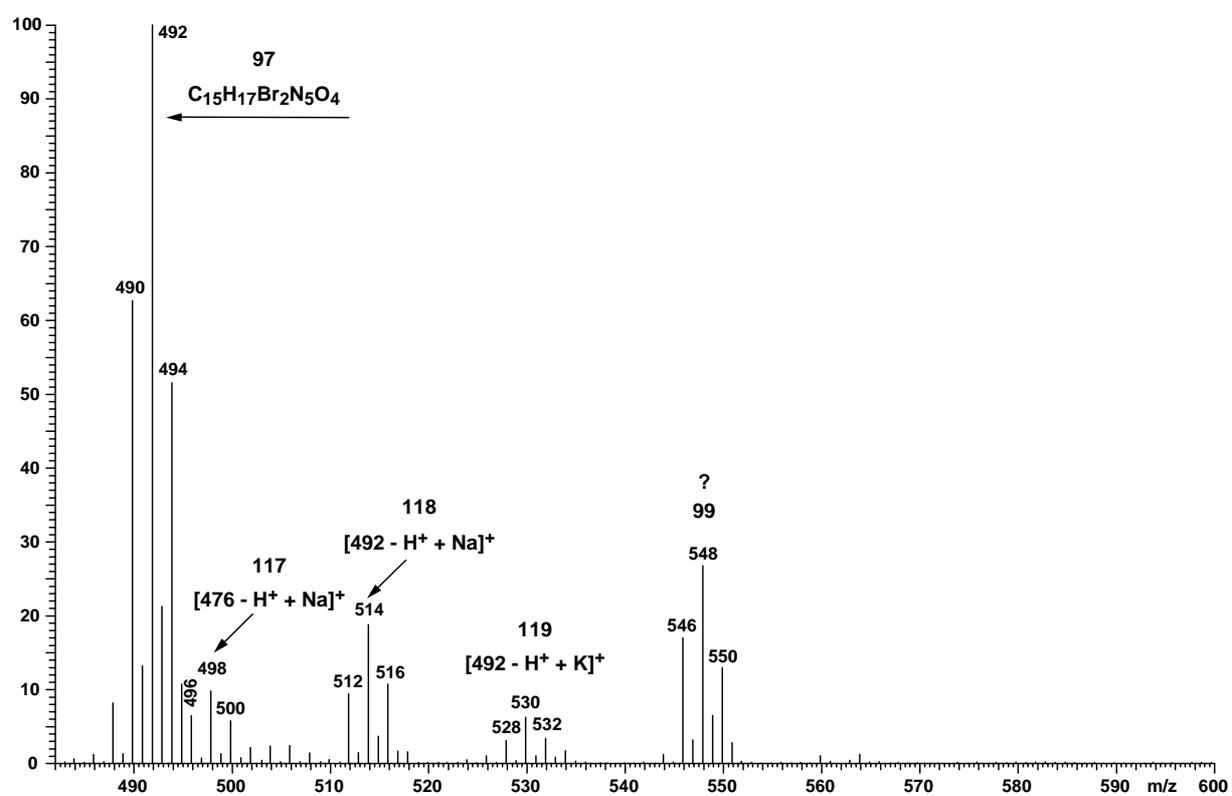
m/z	gefundene Masse	Stabw. [ppm]	Summenformel $[M+H]^+$	DBÄ $[M+H]^+$	kalk. Masse $[M+H]^+$	Abw. [ppm]	Abw. [mDa]	Summenformel $[M^+]$	DBÄ $[M^+]$
459	458.9642	1.09	$C_{15}H_{17}^{79}Br_2N_4O_3$	8.5	458.9667	5.5	2.5	$C_{15}H_{16}^{79}Br_2N_4O_3$	9
461	460.9645	1.02	$C_{15}H_{17}^{79}Br^{81}BrN_4O_3$	8.5	460.9647	0.4	0.2	$C_{15}H_{16}^{79}Br^{81}BrN_4O_3$	9
463	462.9646	1.3	$C_{15}H_{17}^{81}Br_2N_4O_3$	8.5	462.9626	-4.2	-2.0	$C_{15}H_{16}^{81}Br_2N_4O_3$	9

**Tabelle 41:** Atomare Zusammensetzung der Isotopenpeaks von **116**

Eine bisher nicht in der Literatur bekannte Verbindung ist die monobromierte Komponente **94** mit den Pseudomolekülonen  $[M+H]^+ = 396/398$ . Sie besitzt die Summenformel  $C_{15}H_{18}BrN_5O_3$  und ist 15 g/mol leichter als **93**. Sie unterscheidet sich von **93** um eine NH-Einheit.

m/z	gefundene Masse	Stabw. [ppm]	Summenformel $[M+H]^+$	DBÄ $[M+H]^+$	kalk. Masse $[M+H]^+$	Abw. [ppm]	Abw. [mDa]	Summenformel $[M^+]$	DBÄ $[M^+]$
396	396.0670	1.33	$C_{15}H_{19}^{79}BrN_5O_3$	8.5	296.0671	0.3	0.1	$C_{15}H_{18}^{79}BrN_5O_3$	9
398	398.0651	1.78	$C_{15}H_{19}^{81}BrN_5O_3$	8.5	398.0651	- 0.1	0.0	$C_{15}H_{18}^{81}BrN_5O_3$	9

**Tabelle 42:** Elementare Zusammensetzung der Isotopenpeaks von **94**



**Abbildung 92:** Vergrößertes positiv APCI-Massenspektrum des *n*-Butanolextraktes im Bereich von 482 bis 600 g/mol

Die bereits im positiv ESI-MS bestimmte Zusammensetzung für die dibromierte Verbindung  $[M+H]^+ = 490/492/494$  konnte im positiv APCI-MS verifiziert werden. Es liegen mit Puralidin J **110**, Puralidin M **111** und Pseudoceratinin A **112** drei Strukturvorschläge vor.

m/z	gefundene Masse	Stabw. [ppm]	Summenformel $[M+H]^+$	DBÄ $[M+H]^+$	kalk. Masse $[M+H]^+$	Abw. [ppm]	Abw. [mDa]	Summenformel $[M^+]$	DBÄ $[M^+]$
490	489.9743	1.71	$C_{15}H_{18}^{79}Br_2N_5O_4$	8.5	493.9685	- 1.7	- 0.8	$C_{15}H_{17}^{79}Br_2N_5O_4$	9
492	491.9716	2.34	$C_{15}H_{18}^{79}Br^{81}BrN_5O_4$	8.5	491.9705	3.2	1.6	$C_{15}H_{17}^{79}Br^{81}BrN_5O_4$	9
494	493.9693	1.26	$C_{15}H_{18}^{81}Br_2N_5O_4$	8.5	489.9726	- 3.6	- 1.7	$C_{15}H_{17}^{81}Br_2N_5O_4$	9

**Tabelle 43:** Atomare Zusammensetzung der Isotopenpeaks von **97**

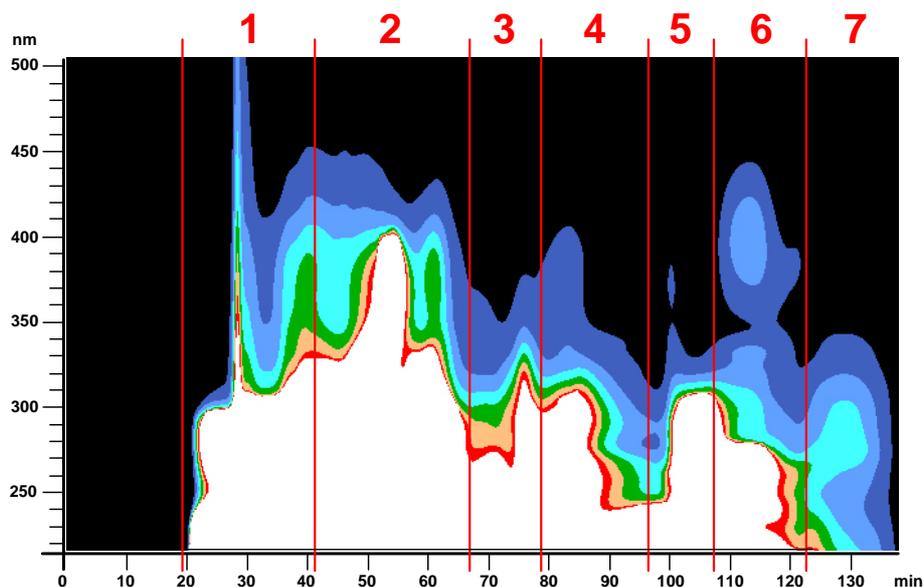
Bei **117** handelt es sich um das Natrium-Addukt von **89** sowie bei **118** und **119** um die Natrium- bzw. Kalium-Addukte von **97**. Die Summenformel von **99** konnte nicht bestimmt werden.

### 6.4.3. Isolierung und Identifizierung der Hauptkomponente des *n*-Butanol-extraktes

Der durch das Standard-Extraktionsverfahren erhaltene *n*-Butanol-extrakt wurde vollständig eingengt und an Sephadex LH-20 (Eluent: 100 % Methanol) chromatographiert. In Abbildung 93 ist das Chromatogramm dieser Fraktionierung als Konturdiagramm (DAD-Detektor: Wellenlängenbereich von 210 - 500 nm) dargestellt. Der Extrakt wurde in 7 Fraktionen aufgetrennt (s. Tabelle 44 und Abbildung 93):

Fraktion	Retentionszeit [Min]
1	18 - 42
2	42 - 67
3	67 - 78
4	78 - 96
5	96 - 108
6	108 - 122
7	122 - 140

**Tabelle 44:** Bei der Fraktionierung des *n*-Butanol-extraktes an Sephadex LH-20 wurden 7 Fraktionen erhalten.

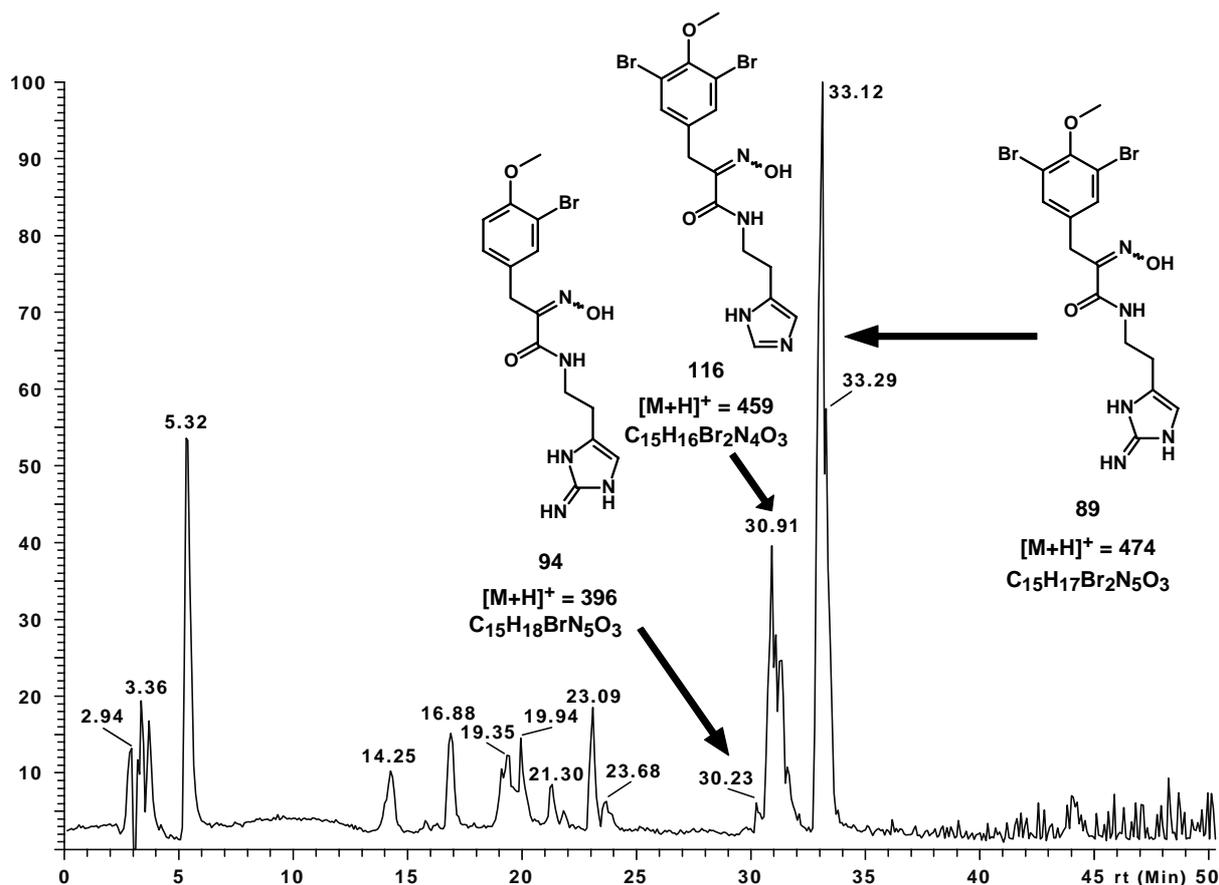


**Abbildung 93:** DAD-Konturdiagramm des Wellenlängenbereiches von 210 - 500 nm im Retentionsbereich von 0 - 140 Minuten. Es wurden sieben Fraktionen erhalten.

Diese sieben Fraktionen wurden anschließend erneut im positiven ESI-MS-Modus vermessen, um diejenigen Fraktionen zu identifizieren, welche die gesuchten, bromierten Alkaloide enthielten. Neben **89**, das sowohl im ESI-MS als auch im APCI-MS des Gesamtextraktes als

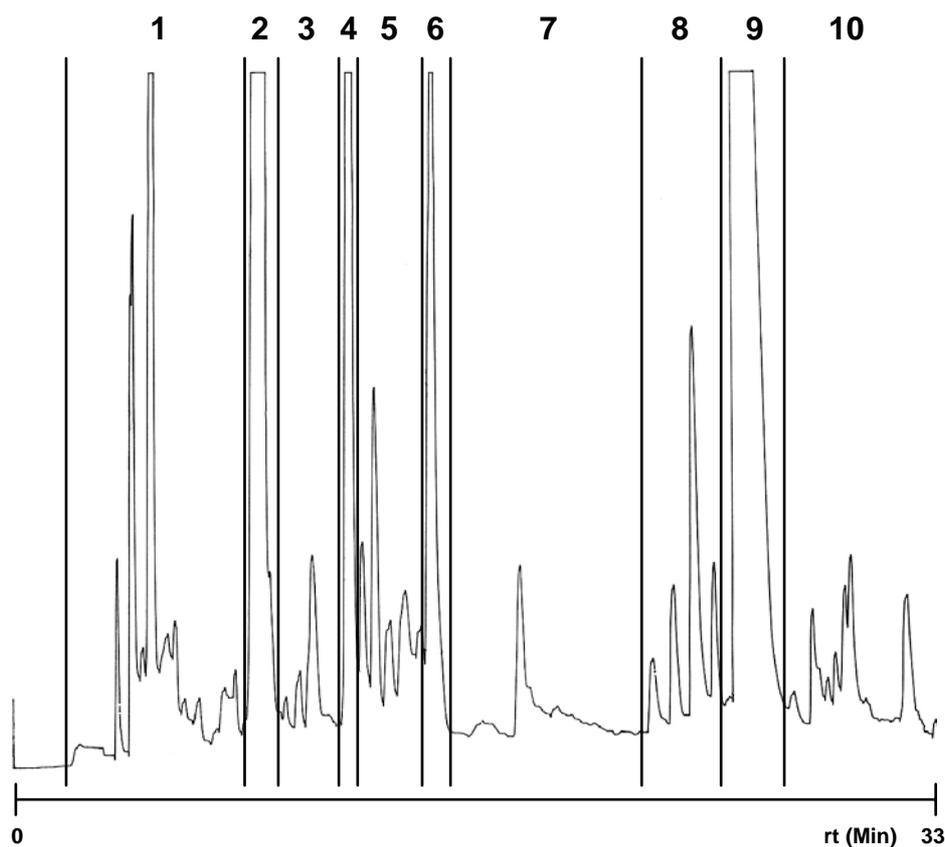
dominantes Pseudomolekulation auftrat, konnten in Fraktion 2 alle weiteren mono- und dibromierten Alkaloide angereichert werden.

In folgenden Schritten wurde diese über Sephadex erhaltene Fraktion 2 mittels Reversed-Phase-HPLC untersucht. Nach verschiedenen Voruntersuchungen wurde eine RP-18-Phase gewählt, an der der Extrakt mit einem Lösungsmittelgradienten (Methanol/Wasser 10:90 → Methanol, gepuffert mit 0.1 % Trifluoressigsäure (TFA)) fraktioniert wurde.



**Abbildung 94:** HPLC-APCI-MS-Lauf der Sephadex-Fraktion 2. Markiert sind die Peaks, die bromierte Alkaloide enthielten. HPLC-Säule: *LiChrospher*<sup>®</sup> 100 RP-18e (5  $\mu$ m) 250 mm  $\times$  4 mm; Lösungsmittelgradient: 0-5 Minuten 100 % Wasser (+ 0.1 % TFA), 5-35 Minuten Gradient auf 100 % Methanol, 35-50 Minuten Methanol (+ 0.1 % TFA)

Das Chromatogramm in Abbildung 94 zeigt, dass Fraktion 2 ein Gemisch mehrerer bromierter Verbindungen (**89**, **94**, **116**) darstellt. Es ist zu erkennen, dass die gewählte HPLC-Methode eine gute Trennung garantiert. Dies war Anlass, die Reingewinnung der Komponenten mittels präparativer HPLC anzustreben. Hierbei wurde die in Abbildung 95 dargestellte Fraktionierung in 10 Fraktionen vorgenommen.



**Abbildung 95:** HPLC-Fraktionierung der an Sephadex LH-20 erhaltenen Fraktion 2. HPLC-Säule: Phenomenex, *Kromasil*<sup>®</sup> 5 C<sub>18</sub> (5 µm), Länge: 250 × 21.2 mm 4 mm; Lösungsmittelgradient: 0-30 Minuten Methanol/Wasser (+ 0.1 % TFA). Gezeigt ist das Chromatogramm von 0 bis 33 Minuten bei einer voreingestellten Wellenlänge von 265 nm.

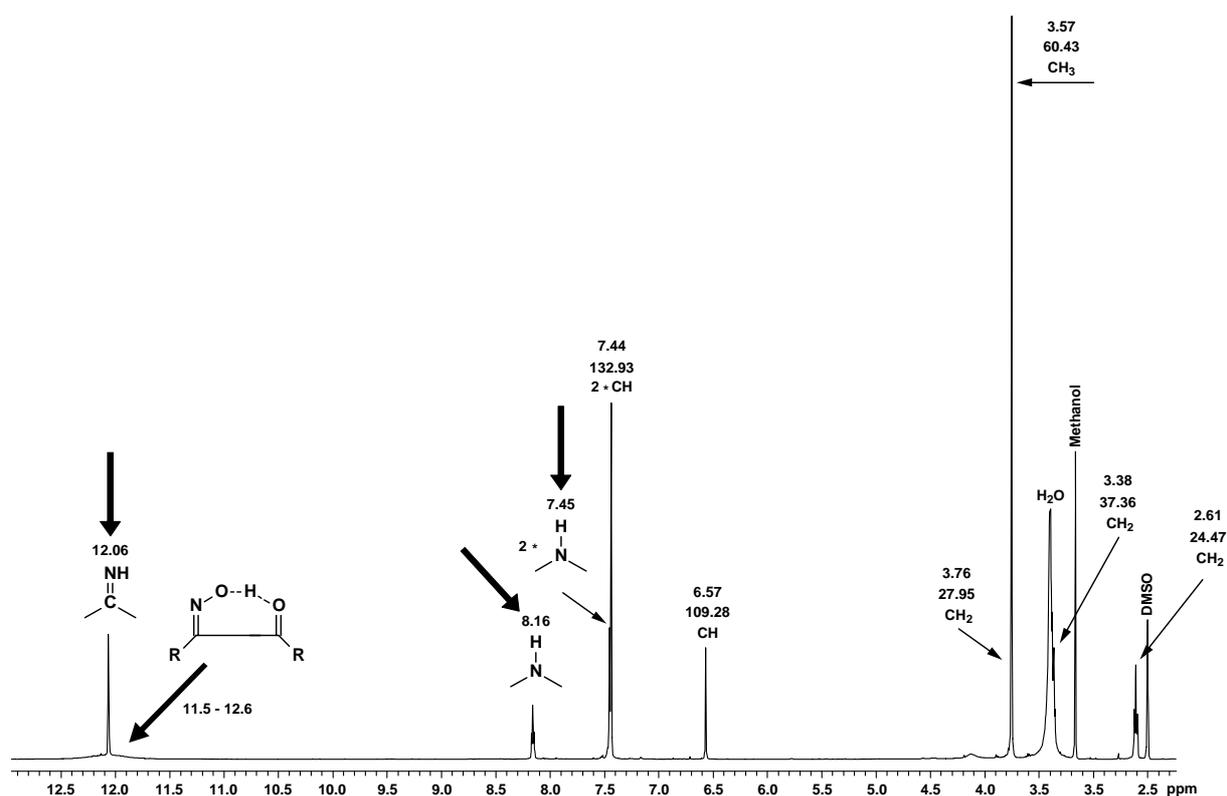
Die Inhaltsstoffe der Fraktionen 8 bis 10 zeigen alle ähnliche UV-Spektren (UV-Maxima bei 265 und 287 nm). Dies deutet darauf hin, dass diese Verbindungen ein gemeinsames Chromophor enthalten, so dass man die Signalintensität der UV-Spur bei 265 nm in Relation zur enthaltenen Substanzmenge setzen kann.

Vor diesem Hintergrund wurde die Substanz in der HPLC-Fraktion 9 als Hauptkomponente für NMR-spektroskopische Untersuchungen isoliert. Die übrigen Verbindungen in den Fraktionen 8 und 10 wurden ausschließlich mittels ESI- / APCI-MS untersucht. Strukturvorschläge wurden anhand der Hochauflösungsdaten gemacht.

Im Folgenden wird die Strukturaufklärung der Hauptkomponente aus Fraktion 9 anhand von ein- und zweidimensionalen NMR-Untersuchungen vorgenommen.

#### 6.4.4. NMR-Diskussion der Hauptkomponente (89)

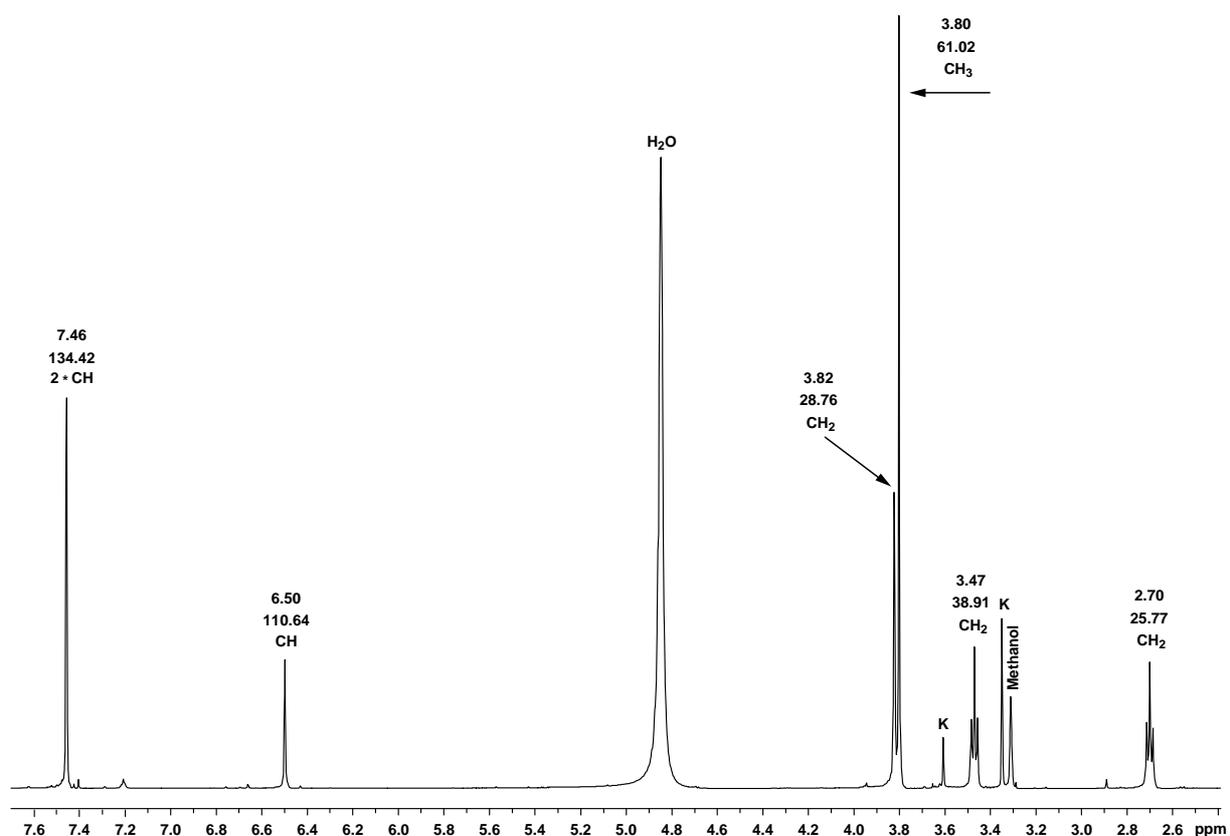
Fraktion 9 enthält als Reinsubstanz das dibromierte Alkaloid **89** mit der Zusammensetzung  $C_{15}H_{17}Br_2N_5O_3$  und wird im Folgenden anhand seiner ein- und zweidimensionalen NMR-Spektren, gemessen in  $DMSO-d_6$  und  $Methanol-d_4$ , sowie Vergleich mit Literaturdaten eindeutig als das bereits postulierte Ianthellin (**89**) identifiziert.



**Abbildung 96:**  $^1H$ -NMR-Spektrum von **89** [500 MHz,  $DMSO-d_6$ ]. Protonen, die mit  $Methanol-d_4$  als NMR-Lösungsmittel austauschen, sind durch Pfeile gekennzeichnet.

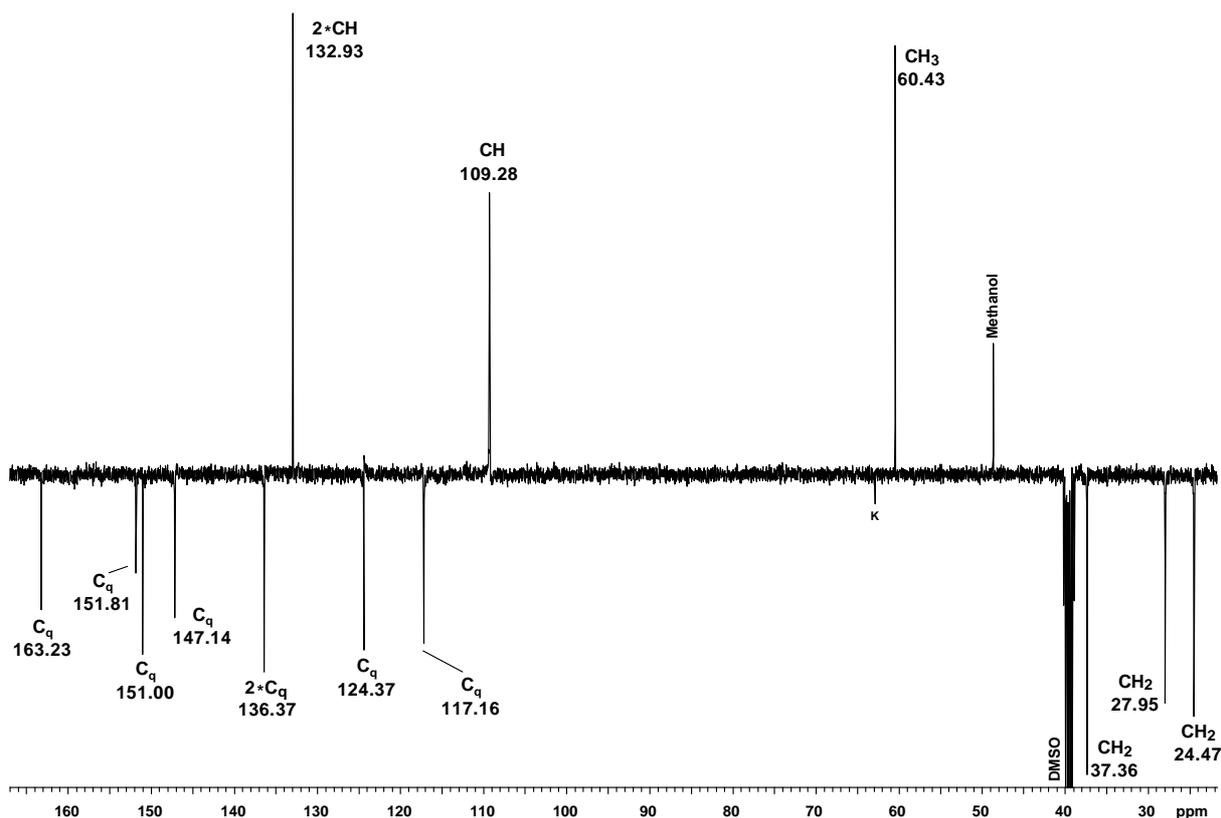
Im Protonenspektrum der in  $DMSO-d_6$  vermessenen Hauptkomponente können alle 17 Protonen durch Korrelation mit dem HMQC-Spektrum zugeordnet werden. Es sind drei Methylengruppen bei  $\delta_H = 2.61$ , 3.38 und 3.76 ppm und eine Methylgruppe bei  $\delta_H = 3.57$  ppm zu erkennen. Zwei Methylengruppen spalten jeweils zum Triplet auf, wobei die Gruppe bei  $\delta_H = 3.38$  ppm unter dem Wasser-Signal des NMR-Lösungsmittels liegt. Die dritte  $CH_2$ -Gruppe liegt unterhalb des Methylgruppen-Signals ( $\delta_H = 3.57$  /  $\delta_C = 60.43$  ppm). Diese Methylgruppe kann durch ihr zugehöriges Kohlenstoffatom mit einer Verschiebung von  $\delta_H = 60.43$  ppm als Sauerstoff gebundene Methylgruppe (Methoxy-Substituent) identifiziert werden. Anhand des  $^1H$ ,  $^1H$ -NMR-Spektrums können zwei Methylengruppen ( $\delta_H = 2.61$  und 3.38 ppm) als benachbarte Gruppen identifiziert werden. Im olefinischen bzw. aromatischen

Bereich des Spektrums sind zwei Singulett bei  $\delta_{\text{H}} = 6.57$  ppm (ein Proton) und  $\delta_{\text{H}} = 7.44$  ppm (zwei Protonen) erkennbar.



**Abbildung 97:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **89** [500 MHz, Methanol- $d_4$ ]. Aufgrund der Anwesenheit acider Protonen, die mit dem NMR-Lösungsmittel austauschen, sind im Vergleich zum  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum in DMSO- $d_6$  weniger Signale zu erkennen.

Vergleicht man die  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren, die in DMSO- $d_6$  bzw. Methanol- $d_4$  aufgenommen wurden, sind weitere, acide Protonen, die mit Methanol als NMR-Lösungsmittel austauschen, erkennbar. Ferner können über die Protonen anhand ihrer charakteristischen chemischen Verschiebungen, Aussagen über deren Bindungsstruktur gemacht werden. Bei sehr tiefem Feld ( $\delta_{\text{H}} = 12.06$  ppm) ist ein Imin-Proton und von ca.  $\delta_{\text{H}} = 11.5$  bis 12.6 ppm ein Oxim-Proton zu erkennen, das aufgrund der  $\alpha$ -ständigen Carbonylgruppe starke Wasserstoffbrückenbindungen ausbildet und somit nur als sehr breites Signal über einem Bereich von 1 ppm erscheint. Daneben sind mit  $\delta_{\text{NH}} = 8.16$  ppm eine amidische NH-Gruppe und bei  $\delta_{\text{NH}} = 7.45$  ppm zwei weitere NH-Protonen zu erkennen.



**Abbildung 98:** <sup>13</sup>C-PENDANT-Spektrum von **89** [100.6 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>]

Durch ESI-Hochauflösung wurde festgestellt, dass diese Verbindung **9** Doppelbindungsäquivalente enthält. Bei genauerer Analyse des HMBC-Spektrums, unter Zuhilfenahme der <sup>13</sup>C-NMR-Daten, ist analog zum 3,5-Dibrom-4-methoxyphenylacetonitril ein tetrasubstituierter Aromat mit C<sub>2v</sub>-Symmetrie enthalten (zwei *meta*-ständige, aromatische Protonen). Dabei handelt es sich wahrscheinlich wiederum um einen 3,5-Dibrom-4-methoxyphenyl-Rest. Zusätzlich ist eine olefinische Doppelbindung, bestehend aus einem tertiären und einem quartären Kohlenstoffatom ( $\delta_{\text{CH}} = 109.28$  und  $\delta_{\text{Cq}} = 124.37$  ppm), erkennbar. Das bei  $\delta_{\text{C}} = 151.00$  ppm charakteristisch als Imin erscheinende, quartäre Kohlenstoffatom ist Bestandteil eines *N,N'*-substituierten Guanidin-Restes<sup>96,97,98</sup> und bildet mit der zuvor erwähnten Doppelbindung einen Iminoimidolidin-Ring. Eine Carbonylgruppe ( $\delta_{\text{Cq}} = 163.23$  ppm) und ein als Oxim gebundenes, quartäres Kohlenstoffatom ( $\delta_{\text{Cq}} = 151.81$  ppm), können aufgrund starker Wasserstoffbrückenbindungen als benachbart angesehen werden. Die 9 Doppelbindungsäquivalente entfallen dementsprechend auf 2 Ringe und 7 Doppelbindungen. Eine ausführliche Diskussion der Strukturaufklärung erfolgt anhand zweidimensionaler NMR-Spektren.

In Tabelle 45 und Tabelle 46 sind die jeweils in DMSO-*d*<sub>6</sub> und MeOH-*d*<sub>4</sub> gemessenen chemischen Verschiebungen der Kohlenstoffatome und Protonen wiedergegeben. Zusätzlich sind die für die Strukturaufklärung immanenten <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-, HMBC- und NOESY-Kopplungen abgebildet.

Pos.	δ ( <sup>13</sup> C) [ppm]	δ ( <sup>1</sup> H) [ppm]	Int.	J [Hz]	<sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H-COSY	HMBC	NOESY
1	147.14	-	-	-	-	-	-
2	132.93	7.44	1H	s	7-CH <sub>2</sub>	C-2, C-3, C-4, C-5, C-6, C-7	13-CH <sub>3</sub>
3	136.37	-	-	-	-	-	-
4	117.16	-	-	-	-	-	-
5	136.37	-	-	-	-	-	-
6	132.93	7.44	1H	s	7-CH <sub>2</sub>	C-2, C-3, C-4, C-5, C-6, C-7	13-CH <sub>3</sub>
7	27.95	3.76	2H	m	2-H, 6-H	C-8, C-9	-
8	151.81	-	-	-	-	-	-
9	163.23	-	-	-	-	-	-
11	37.36	3.38	2H	m	10-NH, 12-CH <sub>2</sub> , 5'-H	C-9, C-12, C-1'	5'-H
12	24.47	2.61	2H	t, J <sub>1</sub> = J <sub>2</sub> = 6.9	11-CH <sub>2</sub>	C-11, C-1', C-5'	10-NH, 5'-H
13	60.43	3.57	3H	s	-	C-2, C-3, C-5, C-6	2-H, 6-H
1'	124.37	-	-	-	-	-	-
3'	151.00	-	-	-	-	-	-
5'	109.28	6.57	1H	s	11-CH <sub>2</sub> , 2'-NH, 4'-NH	C-1'	11-CH <sub>2</sub> , 12-CH <sub>2</sub>
10-NH	-	8.16	NH	t, J <sub>1</sub> = J <sub>2</sub> = 6.0	11-CH <sub>2</sub>	C-9, C-11	12-CH <sub>2</sub>
2'-NH	-	7.45	NH	s	5'-NH	C-3'	-
3'-NH	-	12.06	NH	s	-	C-9, C-11, C-3'	-
4'-NH	-	7.45	NH	s	5'-NH	C-3'	-
C=N-OH	-	11.5-12.6	OH	br	-	-	-

**Tabelle 45:** NMR-Daten von **89** [<sup>1</sup>H: 500 MHz bzw. <sup>13</sup>C: 100.6 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>]. Die Kopplungen im <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-COSY-, HMBC- und NOESY-Spektrum sind angegeben.

Pos.	δ ( <sup>13</sup> C) [ppm]	δ ( <sup>1</sup> H) [ppm]	Int.	J [Hz]	<sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H-COSY	HMBC	NOESY
1	118.56	-	-	-	-	-	-
2	134.42	7.46	1H	s	7-CH <sub>2</sub>	C-1, C-2, C-3, C-5, C-6, C-7	13-CH <sub>3</sub>
3	137.31	-	-	-	-	-	-
4	153.80	-	-	-	-	-	-
5	137.31	-	-	-	-	-	-
6	134.42	7.46	1H	s	7-CH <sub>2</sub>	C-1, C-2, C-3, C-5, C-6, C-7	13-CH <sub>3</sub>
7	28.76	3.82	2H	s	2-CH, 6-CH	C-2, C-3, C-5, C-6, C-8, C-9	-
8	152.00	-	-	-	-	-	-
9	165.57	-	-	-	-	-	-
11	38.91	3.47	2H	t, J <sub>1</sub> = J <sub>2</sub> = 6.9	12-CH <sub>2</sub>	C-9, C-12, C-1'	5'-CH
12	25.77	2.70	2H	t, J <sub>1</sub> = J <sub>2</sub> = 6.9	11-CH <sub>2</sub> , 5'-CH	C-11, C-1', C-5'	5'-CH
13	61.02	3.80	3H	s	-	C-4	2-CH, 6-CH
1'	125.99	-	-	-	-	-	-
3'	148.72	-	-	-	-	-	-
5'	110.64	6.50	1H	s	12-CH <sub>2</sub>	C-11, C-12, C-1', C-3'	11-CH <sub>2</sub> , 12-CH <sub>2</sub>

**Tabelle 46:** NMR-Daten von **89** [<sup>1</sup>H: 500 MHz bzw. <sup>13</sup>C: 100.6 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>]. Die Kopplungen im <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H-COSY-, HMBC- und NOESY-Spektrum sind angegeben.

Abbildung 99 zeigt das HMBC-Spektrum in DMSO- $d_6$  der aus *A. sulphurea* isolierten Hauptkomponente. Hierbei handelt es sich um Ianthellin (**89**), dessen Struktur und die im HMBC-Spektrum sichtbaren Kopplungen eingezeichnet sind.

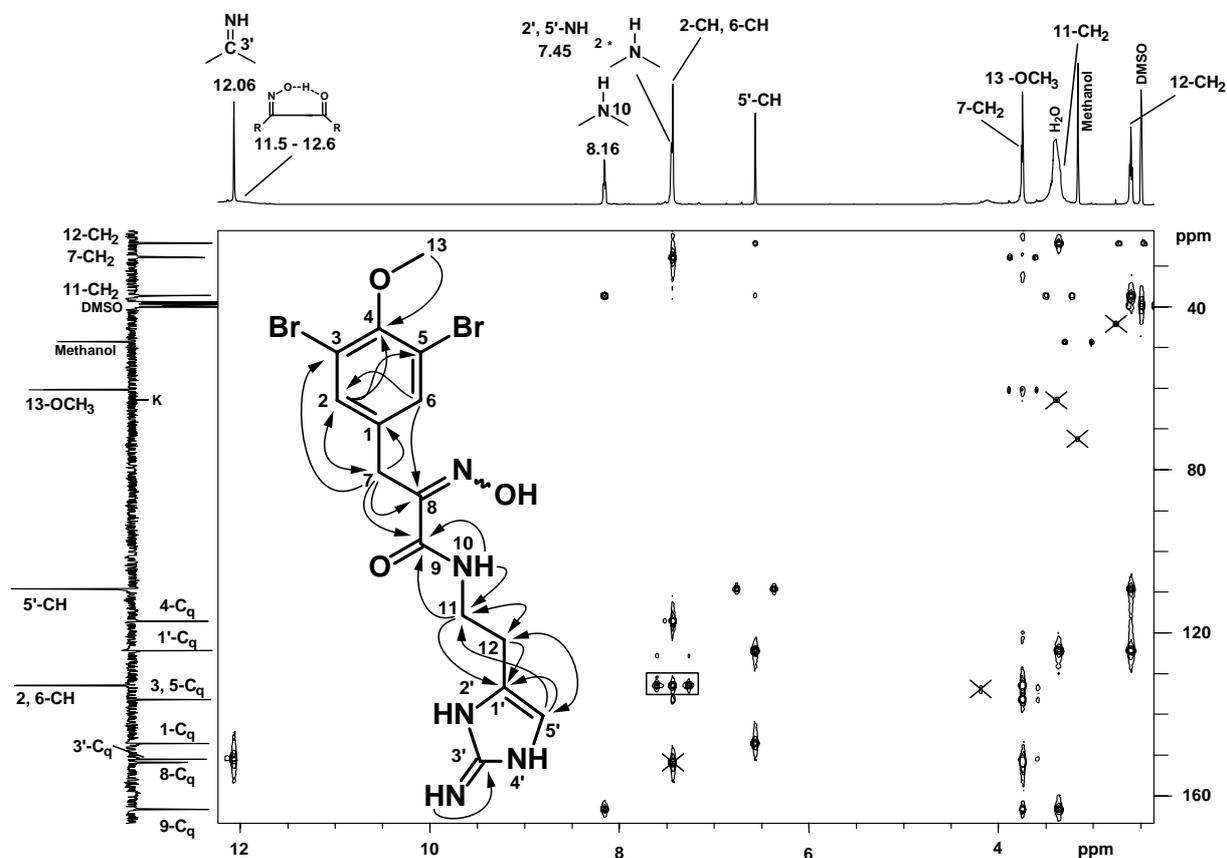


Abbildung 99: HMBC-Spektrum von **89** [500 MHz, DMSO- $d_6$ ]

Als Ausgangspunkt für eine Diskussion des HMBC-Spektrums dient analog zum bereits diskutierten 3,5-Dibrom-4-methoxyphenylacetonitril **82** der tetrasubstituierte Aromat mit  $C_{2v}$ -Symmetrie. Klar zu erkennen ist dieser wiederum an den Kopplungen zwischen den aromatischen Protonen 2-CH und 6-CH mit einem zusätzlichen Kreuzsignal im Signalschwerpunkt (s. Kasten). Diese beiden Protonen können an den Positionen 2 und 6, aufgrund deutlicher  $^1H, ^1H$ -Kopplungen mit der Methylengruppe 7- $CH_2$ , lokalisiert werden. Gleichzeitig koppelt diese Methylengruppe mit einer Reihe von quartären Kohlenstoffatomen. So können das benachbarte Kohlenstoffatom  $C_q-1$  sowie die Bromsubstituenten tragenden identischen Kohlenstoffatome  $C_q-3$  und  $C_q-5$  im Aromaten identifiziert werden. Das Kohlenstoffatom  $C_q-4$  tritt neben der Methylgruppe des Methoxy-Restes mit den beiden aromatischen Protonen 2-H und 6-H in Wechselwirkung. Weiterhin hilft 7- $CH_2$  bei der Strukturaufklärung. Diese Methylgruppe koppelt mit dem benachbarten, das die Oxim-Gruppe tragende, quartäre

Kohlenstoffatom C<sub>q</sub>-8 sowie mit dem in  $\beta$ -Position befindliche Carbonylkohlenstoffatom. Einerseits zeigen weiterhin die beiden aromatischen Protonen Kopplungen mit der Methylengruppe 7-CH<sub>2</sub> und andererseits zum quartären Kohlenstoffatom C<sub>q</sub>-8.

Die NH-Gruppe (10-NH) ist unverwechselbar, aufgrund zweier intensiver Kreuzsignale im HMBC-Spektrum als Amidbrücke zu ihren Nachbarn C<sub>q</sub>-9 und 11-CH<sub>2</sub>, und durch ihre charakteristische Verschiebung im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von  $\delta_{\text{NH}} = 8.16$  ppm zu erkennen.

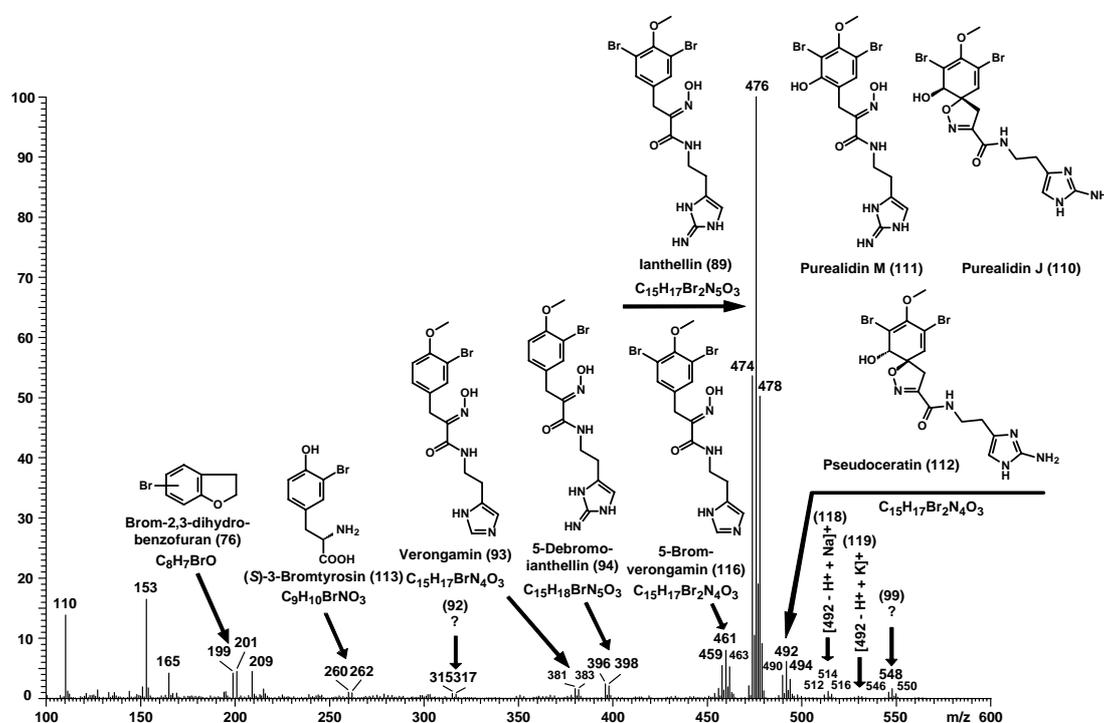
Anhand des <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrums sind die Methylengruppen 11-CH<sub>2</sub> und 12-CH<sub>2</sub> als benachbart anzusehen. Durch die Kopplung zu C<sub>q</sub>-1' erlauben diese beide Methylengruppen die weitere Strukturaufklärung des Iminoimidazolidin-Ringes. Gleiches gilt für das olefinische Proton 5'-CH, das im HMBC-Spektrum zum einen mit C<sub>q</sub>-1' und zum anderen mit den sich außerhalb des Fünfringes befindenden Kohlenstoffatomen der Methylengruppen C-11 und C-12 koppelt. Der Iminoimidazolidin-Ring wird durch eine *N,N'*-substituierte Guanidino-funktion mit C<sub>q</sub>-3' als die Imin-Gruppe tragendes Kohlenstoffatom ( $\delta_{\text{C}_{q-3'}} = 151.00$  ppm) vervollständigt. Somit kann auch eindeutig festgelegt werden, dass das Molekül in DMSO keiner Imin-Enamin-Tautomerie unterliegt, sondern bevorzugt als Imin vorliegt.

## 6.5. Strukturvorschläge für unvollständig charakterisierte Spurenkomponenten

Mit Kenntnis der Struktur der Hauptkomponente Ianthellin (**89**) konnten abschließend für die Nebenkomponten anhand ihrer Hochauflösungsdaten sowie UV-Spektren die bereits vorgenommenen Strukturvorschläge untermauert werden.

Dazu gehört u. a. das im Dichlormethanextrakt identifizierte Brom-2,3-dihydrobenzofuran (**76**). Des Weiteren wurden im *n*-Butanolextrakt 3-Bromtyrosin (**113**), Verongamin (**93**) und 5-Bromverongamin (**116**) gefunden. Für die Zusammensetzung  $C_{15}H_{17}Br_2N_4O_3$  werden drei Strukturvorschläge mit Puralidin J (**110**), Puralidin M (**111**) und Pseudoceratinin A (**112**) gemacht.

Die Struktur **94** mit der elementaren Zusammensetzung  $C_{15}H_{18}BrN_5O_3$  war bisher unbekannt. Da keine NMR-Daten und somit keine Strukturinformationen erhalten wurde, ist hier ebenfalls nur ein Strukturvorschlag gemacht worden. Anhand der bereits postulierten Strukturen Verongamin (**93**), 5-Bromverongamin (**116**) und Ianthellin (**89**), kann für diese nur das 5-Debromoderivat der Hauptkomponente Ianthellin (**89**), das 5-Debromoianthellin (**94**) in Frage kommen.



**Abbildung 100:** Ianthellin (**89**) als Hauptkomponente von *A. sulphurea* und anhand von ESI- und APCI-MS-Hochauflösungsdaten gemachte Strukturvorschläge für strukturell verwandte Spurenkomponenten.

## 6.6. Diskussion

Anhand seines chemischen Inventars von mono- und dibromierten Tyrosinalkaloiden kann der beprobte Schwamm *Aplysilla sulphurea* chemotaxonomisch eindeutig zu den verongiden und nicht zu den dendroceratiden Schwämmen gerechnet werden.

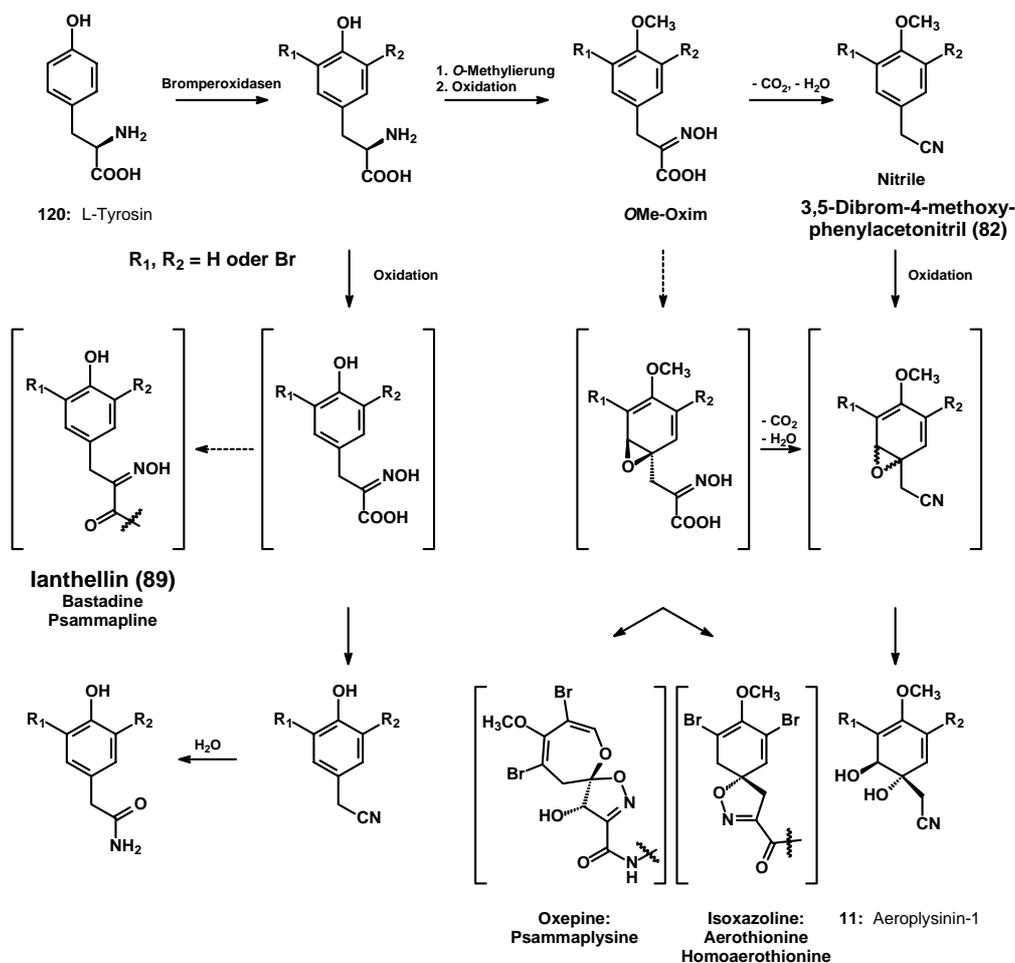
Die Ordnung Verongida (Phylum Porifera, Klasse Demospongiae, Unterklasse Ceractinomorpha) gliedert sich in vier Familien (Aplysinidae, Aplysinellidae, Ianthellidae und Pseudoceratinidae), denen insgesamt zehn Gattungen angehören.

Diese Alkaloide gelten also als chemotaxonomische Marker, und deren strukturelle Vielseitigkeit reicht von einfachen Monomeren bis zu komplexen Strukturen wie den Puralidinen oder Bastadinen (s. u.).

Es hat sich herausgestellt, dass viele dieser Verbindungen über ein erhebliches biologisches Potential verfügen, so dass im Falle von *A. sulphurea* davon ausgegangen werden kann, dass diese Verbindungen den Schwamm vor Besiedlung durch andere Organismen oder vor Fraßangriffen schützen soll.

Mit Hilfe einer Betrachtung der Biosynthese dieser für diese Ordnung typischen Bromtyrosinalkaloide können in diesem Zusammenhang eine Reihe von Verbindungen und deren ökologische Funktion sowie biologische Aktivität erläutert werden.

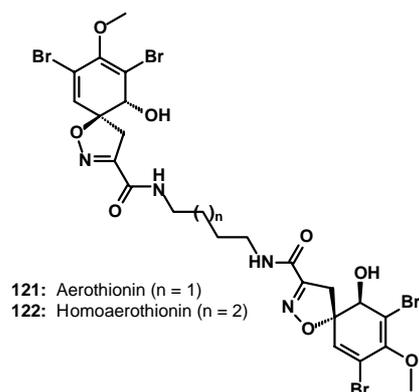
An diesen Schwämmen wurden Studien zur Erforschung der Biosynthese der bromierten Sekundärmetabolite mit verschiedenen  $^{14}\text{C}$ - oder  $^{15}\text{N}$ -markierten Precursoren durchgeführt. Abbildung 101 zeigt schematisch den biosynthetischen Aufbau der Tyrosin-Alkaloide, die verschiedene Strukturmerkmale wie Spiro-Oxepine oder Spiro-Isoxazoline aufweisen können. Bei den zahlreichen Studien zur Biosynthese stellte sich heraus, dass im ersten Schritt der Aromat im Tyrosin (**120**) halogeniert wird<sup>99,100</sup>. Als nächstes kann entweder die Oxidation des Amin-Stickstoffs zum Oxim oder eine *O*-Methylierung der Hydroxylgruppe mit anschließender Oxidation des Stickstoffs zum Oxim erfolgen.



**Abbildung 101:** Biosynthesewege zum Aufbau verschiedener bromierter Tyrosinalkaloide. In Klammern sind Intermediate abgebildet, die bisher nicht isoliert wurden bzw. deren Bildung vermutet wird.

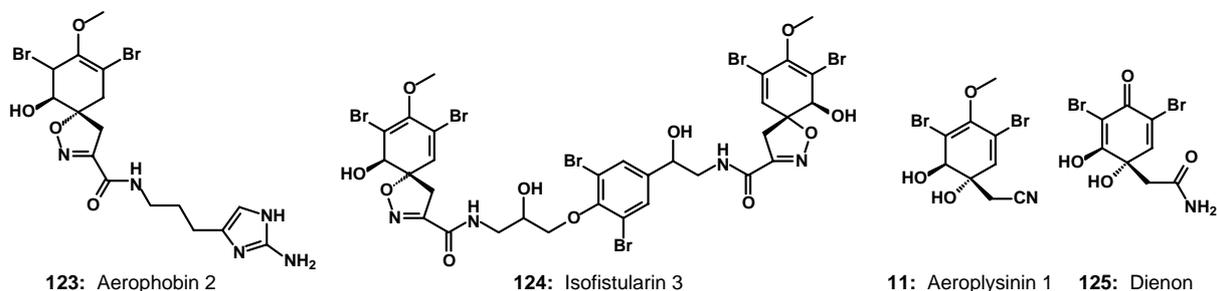
Anschließend können zwei verschiedene Biosynthesewege eingeschlagen werden: Zum einen erfolgt eine Dehydratation und Decarboxylierung, die dann *O*-methylierte Nitrile ergibt, die wiederum oxidiert und unter nucleophiler Ringöffnung des Epoxids zu Aeroplysinin 1 (**11**) reagieren. Der zweite Weg beschreitet die direkte Oxidation des Aromaten zum Epoxid, die dann zur Ausbildung von Isoxazolinringen führt, wie sie in Aerothioninen, Homoaerothioninen oder Oxepin haltigen Psammaplysinen enthalten sind.

Viele dieser bromierten Tyrosinalkaloide übernehmen in Schwämmen eine biologische Funktion. Als Beispiele seien hier Aerothionin (**121**) und Homoaerothionin (**122**) genannt. **121** ist aus verschiedenen Arten, u. a. *Psammaplysilla purpurea* oder *Pseudoceratina durissima*, bekannt und weist antibakterielle Aktivität auf.<sup>101,102</sup> Diese Verbindungen sind Teil von Abwehrsystemen der Schwämme gegenüber anderen Organismen, gegen Überwuchs durch andere Invertebraten oder Algen. Es ist auch bekannt, dass diese Schwämme bei Verletzungen die Produktion dieser Sekundärmetabolite steigern, so dass diese Verbindungen in solchen Fällen in bis zu hundertfacher Konzentration enthalten sind.



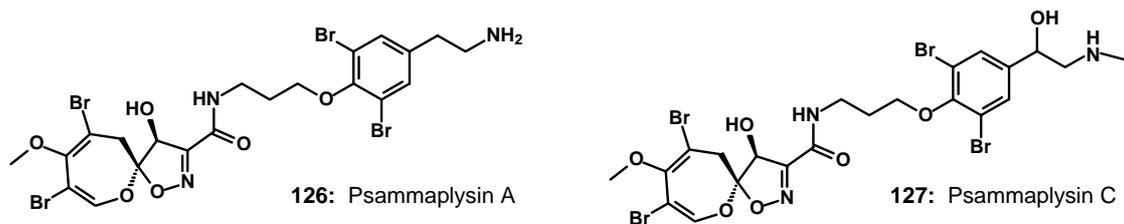
**Abbildung 102:** Aerothionin (**121**) und Homoaerothionin (**122**) aus *Psammaphysilla purpurea* oder *Pseudoceratina durissima* dienen den Schwämmen als Abwehrsubstanzen gegen Überwuchs durch andere Invertebraten.

Ein anderer Abwehrmechanismus stellt die Speicherung von inaktiven Substanzen dar, die bei Verletzung des Schwammes enzymatisch in biologisch wirksame Verbindungen umgewandelt werden. Für diese Transformation sind Aerophobin 2 (**123**) aus *Aplysina* sp.<sup>103</sup> und Isofistularin 3 (**124**) aus *Pseudoceratina* sp.<sup>89</sup> bekannt, die in die cytotoxischen und antimikrobiellen Substanzen Aeroplysinin 1 (**11**) und dessen Dienon **125** umgewandelt werden (s. Abbildung 103).



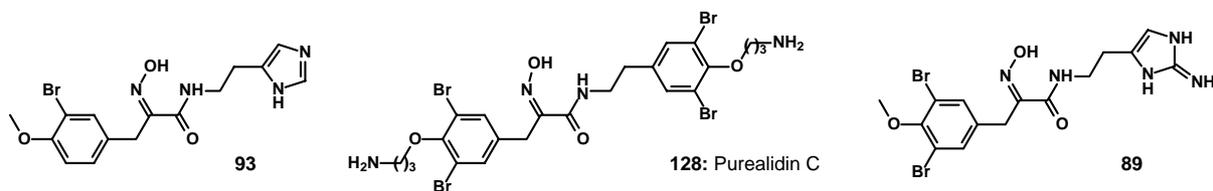
**Abbildung 103:** Aerophobin 2 (**123**) und Isofistularin 3 (**124**) werden in Schwämmen gespeichert und im Falle eines Angriffes durch Fraßfeinde in die biologisch aktiven Verbindungen **11** und dessen Dienon **125** umgewandelt.

Die Psammaphysine bilden eine Verbindungsklasse, die ein spirocyclisches Oxazolin mit einer Oxepin-Untereinheit enthalten. Sie wurden aus *Psammaphysilla purpurea*<sup>104,105</sup>, *Pseudoceratina purpurea*<sup>106</sup> und *Aplysinella* sp.<sup>107,108</sup> isoliert. Als Beispiel seien hier Psammaphysin A (**126**), das eine Antifouling- und antibakterielle Aktivität aufweist, und das cytotoxische Psammaphysin C (**127**) genannt.



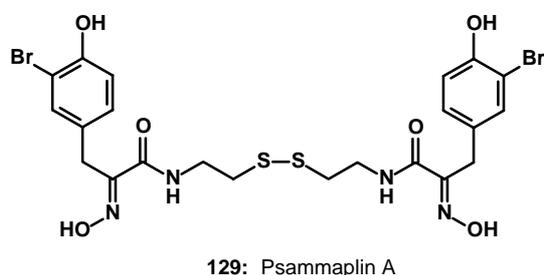
**Abbildung 104:** Psammaplysin A (**126**) und C (**127**), die ein spirocyclisches Oxazolin mit einer Oxepin-Untereinheit enthalten.

Verongide Tyrosin-Oxime sind Verongamin (**93**) aus *Pseudoceratina crassa*<sup>93</sup> und *Verongula gigantea*<sup>95</sup>, Puralidin C (**128**) aus *Psammaplysilla purpurea*<sup>109</sup> und das in *A. sulphurea* enthaltene Ianthellin (**89**). **93** ist ein Histamin-H<sub>3</sub>-Antagonist, **128** zeigt antifungische, antibakterielle und antineoplastische Eigenschaften. Ianthellin (**89**) wirkt antibiotisch gegen *Staphylococcus aureus* und antifungisch gegen *Candida albicans*.<sup>90</sup>



**Abbildung 105:** Biologisch aktive Tyrosin-Oxime Verongamin (**93**), Puralidin C (**128**) und Ianthellin (**89**)

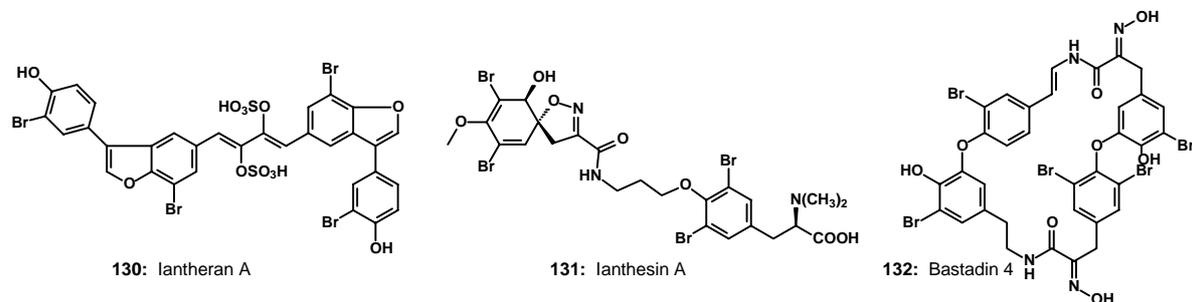
Eine kleinere Gruppe Sekundärmetabolite stellen die Psammapline dar, die biosynthetisch aus Bromtyrosin-Einheiten und modifizierten Cystein-Bausteinen linear zusammengesetzt sind. Ein Beispiel ist das Psammaplin A (**129**) aus verschiedenen *Psammaplysilla*-Arten<sup>110</sup>, die cytotoxisch sind und inhibierende Aktivitäten gegen Farnesylproteintransferasen und Leucin-aminopeptidasen aufweisen.<sup>111</sup>



**Abbildung 106:** Psammaplin A (**129**), in dem zwei Bromtyrosin-Einheiten über modifiziertes Cystein miteinander verknüpft sind.

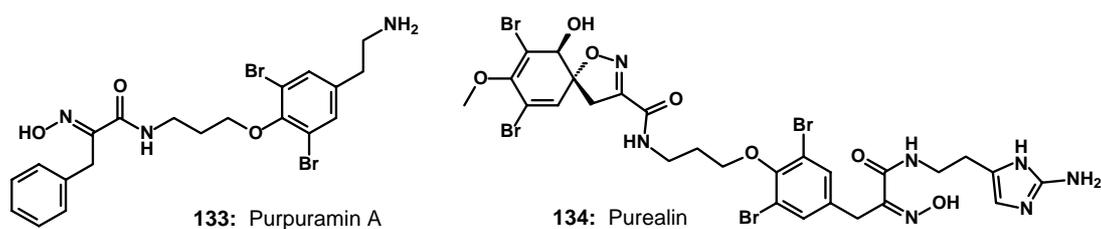
Schwämme der Gattungen *Ianthella*, *Psammaplysilla* und *Verongia* sind Produzenten zahlreicher Leitstrukturen, von denen hier einige exemplarisch vorgestellt werden sollen.

Aus *Ianthella* sp. sind z. B. Iantheran A<sup>112</sup> (**130**) und B, Ianthesin A<sup>113</sup> (**131**) - D und aus *Ianthella basta* die Bastadine 1 - 21 (z. B. Bastadin 4 (**132**)) sowie verwandte Strukturen isoliert worden.



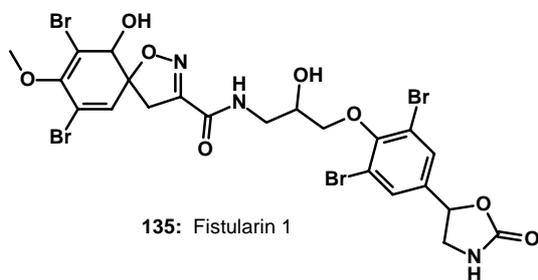
**Abbildung 107:** Aus verschiedenen *Ianthella*-Arten bekannte Verbindungen Iantheran A (**130**), Ianthesin A (**131**) und Bastadin 4<sup>114</sup> (**132**).

Aus verschiedenen *Psammaphysilla*-Arten (*P. purpurea*, *P. purea* und *P. sp.*) sind u. a. Purpuramin A<sup>115</sup> (**133**) und Purealin<sup>116</sup> (**134**) isoliert worden.



**Abbildung 108:** Aus der Gattung *Psammaphysilla* bekannte Verbindungen Purpuramin A (**133**) und Purealin (**134**).

Der bereits erwähnte Schwamm *Verongia aerophoba* (Synonym: *Aplysina aerophoba*) ist u. a. bekannt für die Produktion von Fistularin 1<sup>117</sup> (**135**):



**Abbildung 109:** Das aus *Verongia aerophoba* bekannte Fistularin 1 (**135**).

## 7. (15Z)-Docosenal aus *Mycale lingua* (BOWERBANK)

### 7.1. Einleitung

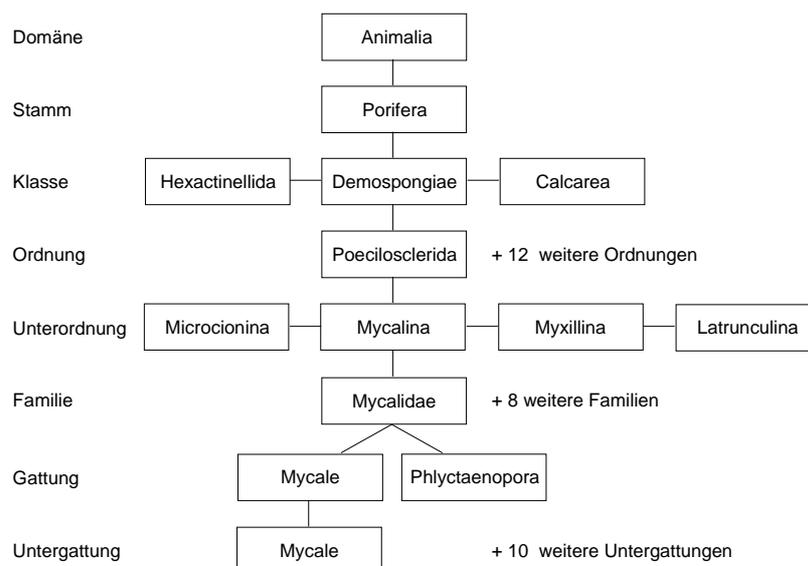
Bei dem in diesem Kapitel beschriebenen Schwamm *Mycale lingua* (BOWERBANK, 1866) handelt es sich wie bei *Hymedesmia paupertas* um einen poeciloscleriden Schwamm, der der Mycalina-Unterordnung angehört. Zu dieser gehören neun Familien, u. a.



die der *Mycalidae* (LUNDBECK, 1905), die sich wiederum in die zwei

**Abbildung 110:** *Mycale lingua* (POS30VII9920J2-2) kurz nach der Beprobung

Gattungen *Mycale* (GRAY, 1867) und *Phlyctaenopora* (TOPSENT, 1904) unterteilt. Der hier behandelte Schwamm gehört zu einer der elf *Mycale*-Untergattungen, namentlich ebenfalls *Mycale*, so dass seine exakte Bezeichnung *Mycale (Mycale) lingua* (im weiteren Text als *Mycale lingua* benannt) lautet. Das vorliegende Exemplar mit der projektinternen Bezeichnung POS30VII9920J2-2 ist in Abbildung 110 gezeigt.\* Zum besseren Verständnis ist die phylogenetische Einteilung in Abbildung 111 dargestellt.



**Abbildung 111:** Phylogenetische Einteilung von *M. lingua* (BOWERBANK, 1866)

\* Bildmaterial: Koordination (Prof. Dr. W. Michaelis, Dr. T. Pape) des Verbundprojektes BOSMAN

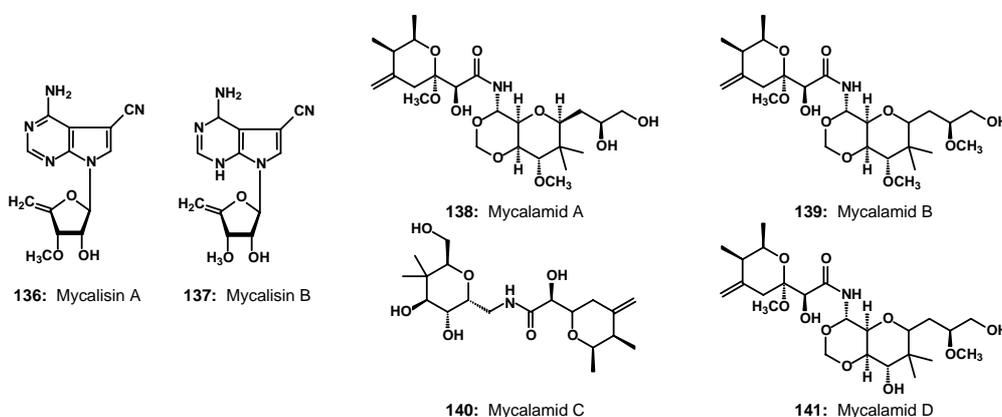
Wie in der Abbildung zu sehen ist, handelt es sich bei diesem Individuum um einen grauen, massiven Schwamm, der nach unterschiedlichen Beschreibungen in der Literatur in verschiedenen Wuchsformen auftritt. Er wird u. a. als „rundlich“, „umgedrehte, dreieckige Pyramide“ oder „ähnlich einer Schafzunge“ (*lingua* (lat.) = Zunge (bezogen auf die Form)) beschrieben. Er kann eine Höhe von bis zu 30 cm, mit unterschiedlichen Abmessungen in Breite und Tiefe, erreichen. *M. lingua* ist im nordatlantischen Raum zwischen den Azoren und Spitzbergen, z. T. auch im Mittelmeerraum, in eher größeren Meerestiefen von 30 bis 2460 m verbreitet und nicht unbedingt durch SCUBA zugänglich.<sup>117,118</sup>

Bisher sind keine Arbeiten bekannt, die sich mit Sekundärmetaboliten aus *M. lingua* beschäftigen. Es ist lediglich eine Patentschrift über Fucose beinhaltende Proteoglycane (Wasser bindende Proteine im Knorpelgewebe) und deren pharmazeutische Rolle publiziert.<sup>119</sup>

## 7.2. Bekannte Strukturen aus der Gattung *Mycale*

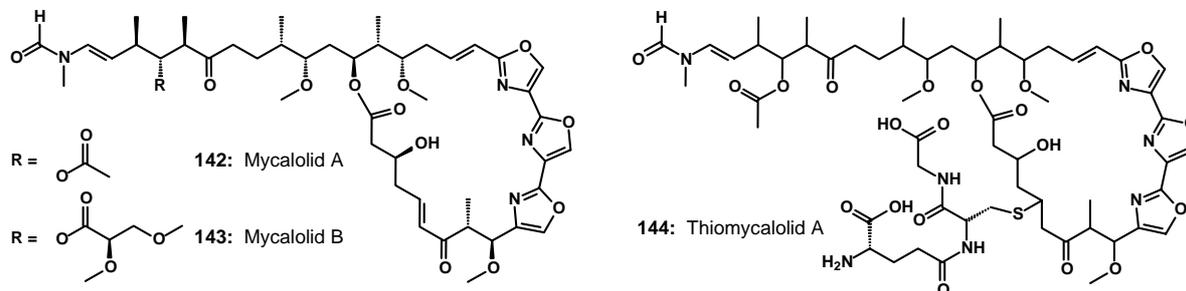
Die Gattung *Mycale* ist seit mindestens 30 Jahren Gegenstand zahlreicher Untersuchungen, die sich mit dem chemischen Inventar bzw. Sekundärmetaboliten auseinandersetzen. Dabei ist eine Fülle von neuen Verbindungen unterschiedlichster Naturstoffklassen isoliert und identifiziert worden. Viele dieser Substanzen und Substanzklassen tragen Trivialnamen, die sich von dieser Schwammgattung ableiten. Es werden hier einige wichtige Vertreter exemplarisch vorgestellt:

Mitte der 80er Jahre des letzten Jahrhunderts wurden aus zwei nicht näher bestimmten *Mycale*-Arten die sog. Mycalisine<sup>120</sup> (Nucleoside; **136** und **137**) bzw. Mycalamide<sup>121</sup> (**138** - **141**) isoliert, wobei die Mycalamide antivirale Aktivität und Antitumorwirkung zeigen.



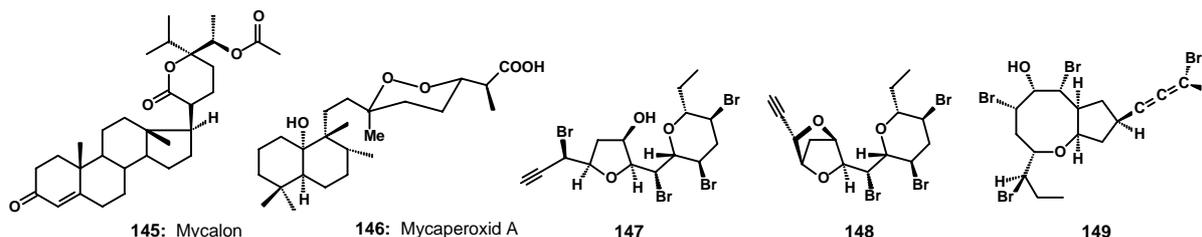
**Abbildung 112:** Aus *Mycale* sp. isolierte Nucleoside (Mycalisine; **136**, **137**) und Mycalamide (**138** - **141**)

Des Weiteren ist eine Reihe makrolider Verbindungen aus Schwämmen der Gattung *Mycale* isoliert worden. Dazu gehören die Mycalolide A und B (**142**, **143**)<sup>122</sup> und Thiomycalolid A (**144**)<sup>123</sup>.



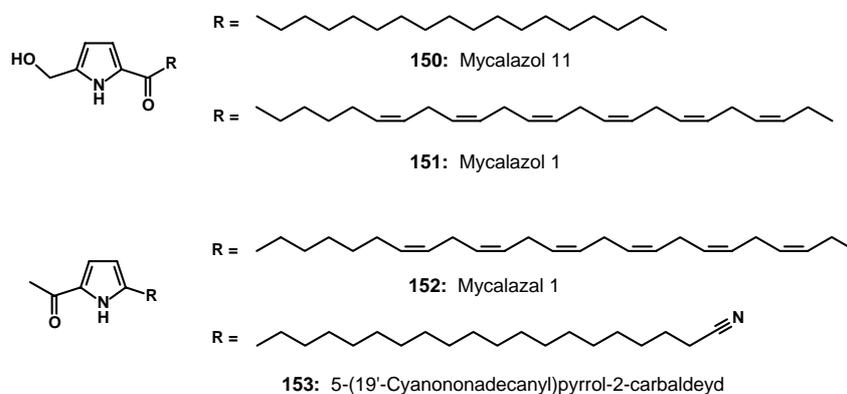
**Abbildung 113:** Makrolide Verbindungen Mycalolid A und B (**142**, **143**) sowie Thiomycalolid A (**144**) aus *Mycale* sp.

Neben terpenoiden Strukturen, z. B. aus *Mycale* sp. (Mycalon)<sup>124</sup> (**145**) und Norsesterterpen-1,2-Dioxanen (Mycaperoxid A, **146**) sind auch polybromierte C<sub>15</sub>-Acetogenine (**147** - **149**) aus *Mycale rotalis* isoliert worden<sup>125,126</sup>.



**Abbildung 114:** Aus *Mycale* sp. isoliertes Mycalon (**145**) als Beispiel für eine sesquiterpenoide Verbindung und aus *M. rotalis* isolierte polybromierte, nicht-terpenoide C<sub>15</sub>-Acetogenine **147** - **149**

Der Schwamm *Mycale micracanthoxea* beinhaltet eine ganze Bibliothek an sog. Mycalazolen und 5-Alkylpyrrol-2-carbaldehyden<sup>127</sup> (**150** - **153**):



**Abbildung 115:** Mycalazole und Mycalazale aus *M. micracanthoxea* (**150** - **153**)

Letztlich wurden schwammtypische, aliphatische Verbindungen wie mono- und mehrfach ungesättigte Fettsäuren bzw. langkettige, ungesättigte Aldehyde z. B. aus *Mycale laevis* isoliert<sup>128</sup> (**154 - 158**):

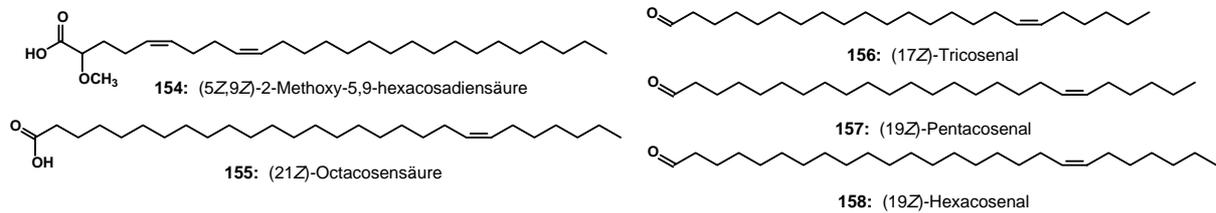


Abbildung 116: Lipide aus *M. laevis*

### 7.3. Flüchtigtes Inventar des Pentanextraktes

Die Probe POS30VII9920J2-2 umfasste ca. 366 g Schwammmaterial (Nassgewicht) und wurde nach dem Standard-Extraktionsverfahren aufgearbeitet. Das Gaschromatogramm des Pentanextraktes ist in Abbildung 117 abgebildet.

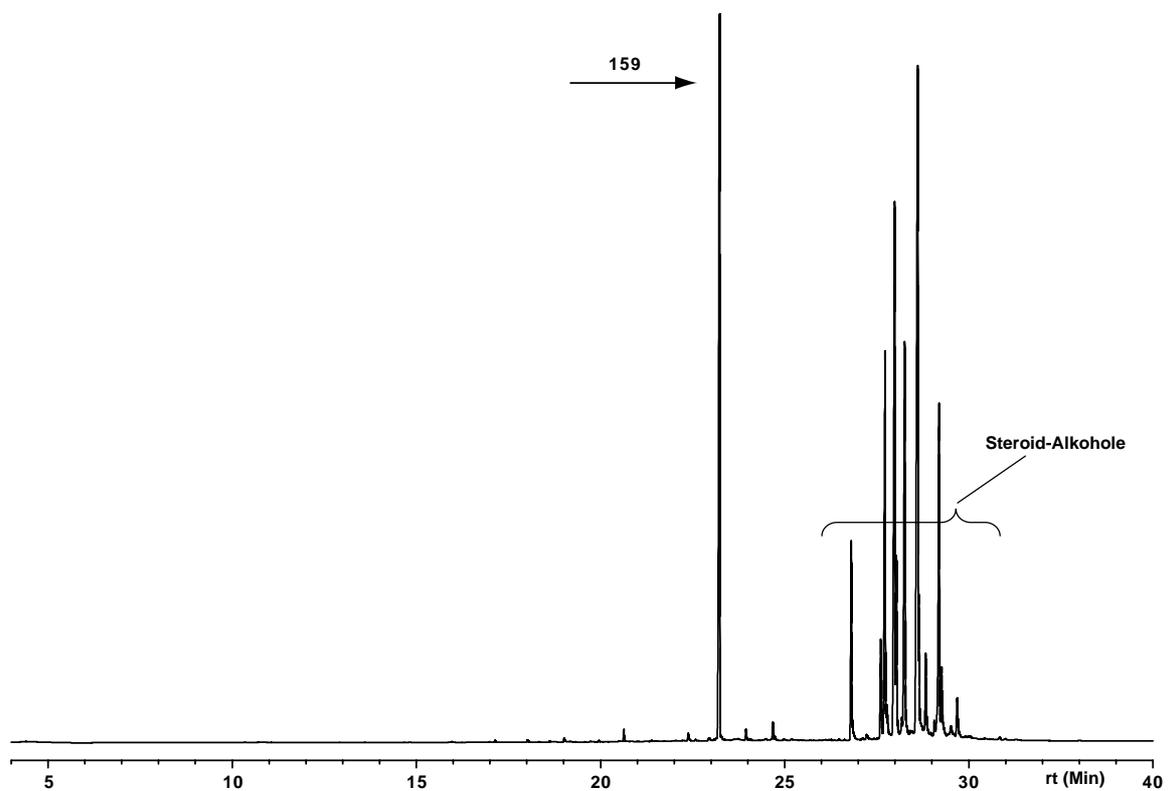
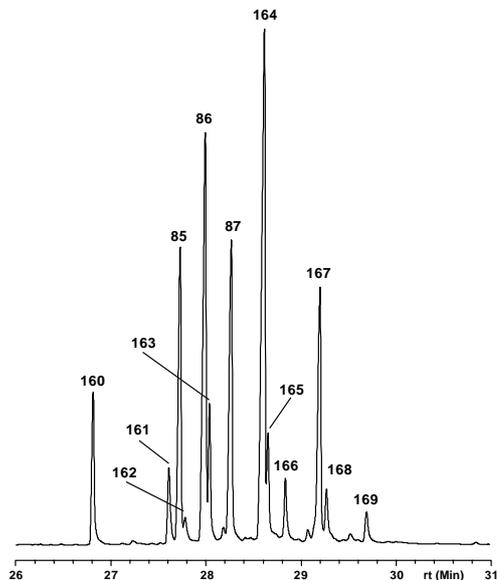


Abbildung 117: Gaschromatogramm des Pentanextraktes von *M. lingua* [Säule: HP-1, 30 m, Temperaturprogramm: 60 °C, 5 min. isotherm, 10 °C/min, 300 °C, 30 min. isotherm]

Aus diesem Extrakt eluiert im Gaschromatogramm eine unbekannte Verbindung **159** bei ca. 23 min., gefolgt von mehreren Steroid-Alkoholen zwischen 27 und 30 min.

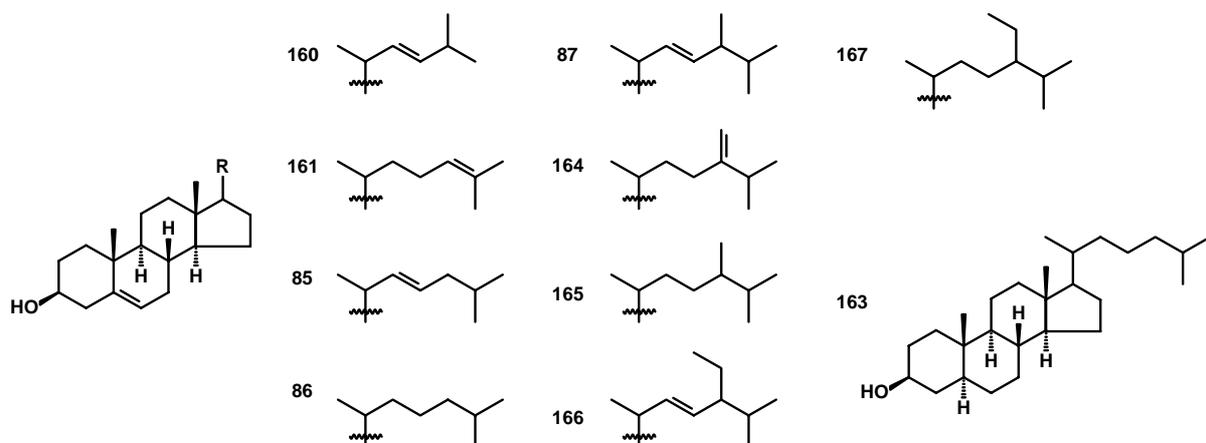
Bevor auf die Verbindung **159** näher eingegangen werden soll, wird kurz das Inventar der Steroid-Alkohole diskutiert, die anhand von Massenspektren und Vergleich mit Literaturdaten identifiziert wurden.



<b>160</b>	26,27-Dinorergosta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol
<b>161</b>	Cholesta-5,24-dien-3 $\beta$ -ol
<b>85</b>	Cholesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol
<b>162</b>	? (M = 386 g/mol)
<b>86</b>	Cholesterol
<b>163</b>	Cholestanol
<b>87</b>	Ergosta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol
<b>164</b>	Ergosta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol
<b>165</b>	Ergost-5-en-3 $\beta$ -ol
<b>166</b>	Stigmasta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol
<b>167</b>	Stigmast-5-en-3 $\beta$ -ol
<b>168</b>	? (M = ?)
<b>169</b>	? (M = 400 g/mol)

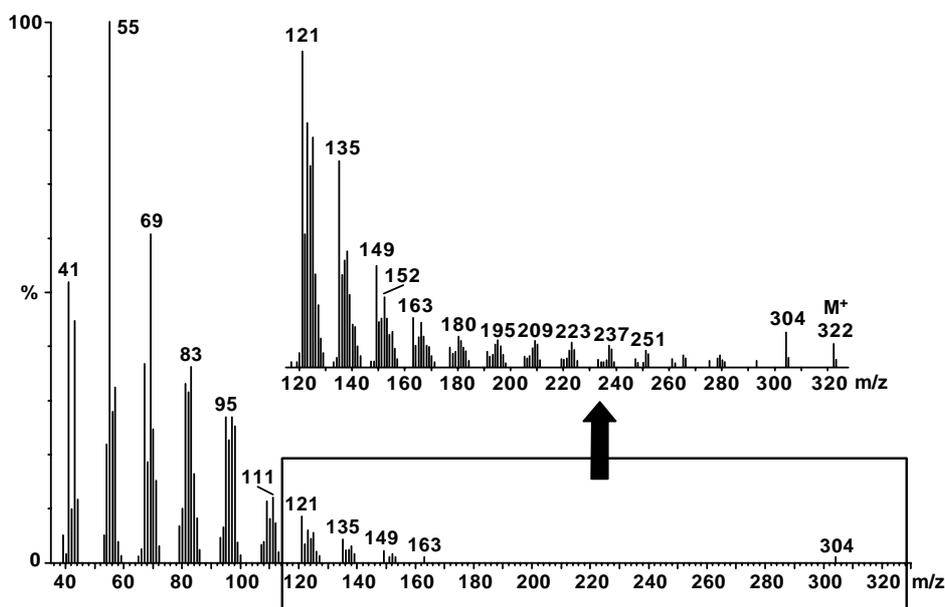
**Abbildung 118:** Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm in Abbildung 117, der den Bereich der Steroid-Alkohole zeigt.

In diesem Extrakt sind die schwammtypischen Steroid-Alkohole enthalten, die z. T. nur aus marinen Organismen bekannt sind. Zur Erläuterung sind deren Strukturen nochmals in Abbildung 119 abgebildet.



**Abbildung 119:** In *M. lingua* enthaltene, schwammtypische Steroid-Alkohole

Im Folgenden wird für Verbindung **159**, deren Massenspektrum in Abbildung 120 dargestellt ist, aufgrund der Ergebnisse aus GC-FTIR-Spektroskopie, Derivatisierungsreaktionen und hochaufgelöster massenspektrometrischer Untersuchungen der Derivate, ein Strukturvorschlag gemacht, der durch Synthese verifiziert wird.



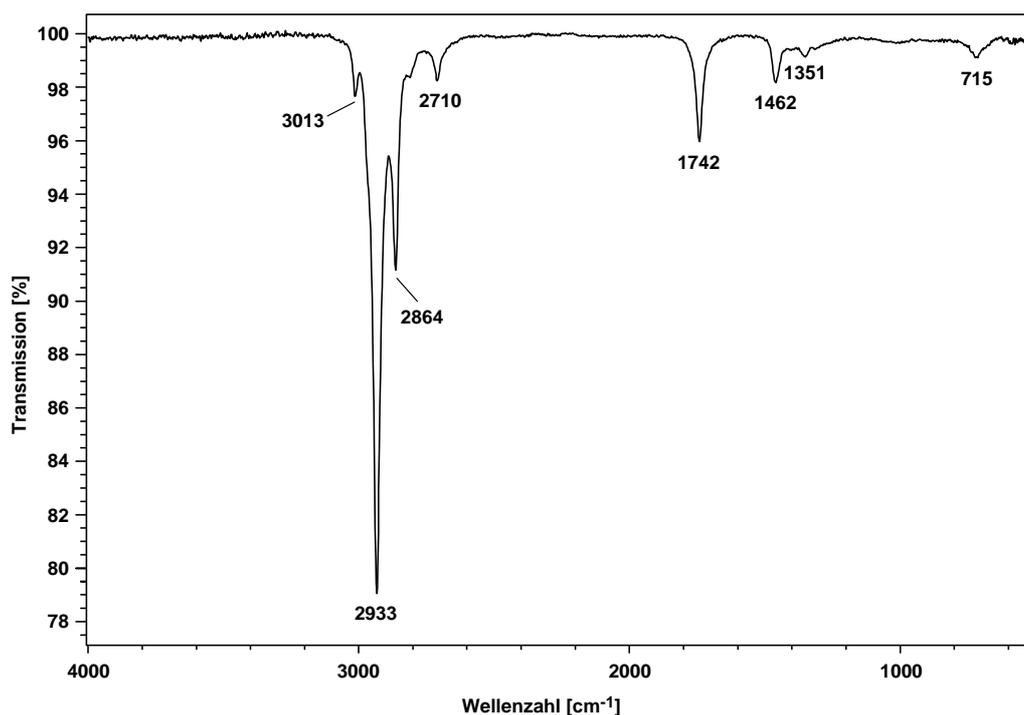
**Abbildung 120:** Massenspektrum von **159** (EI, 70 eV)

Das Massenspektrum von **159** zeigt eine Substanz mit der Masse von 322 g/mol, die Wasser ( $M - 18$ ) zu  $m/z$  304 abspaltet. Alle weiteren Fragmente deuten klar auf eine ungesättigte Alkencette mit den typischen Fragmenten  $m/z$  41, 55, 69, 83 etc. ohne weitere Funktionalität hin.

Die Abspaltung von Wasser lässt auf einen Alkohol oder Aldehyd schließen. Ob es sich um eine der beiden Funktionalitäten handelt, zeigen verschiedene Derivatisierungsreaktionen, wobei weder eine Acetylierung noch eine Silylierung die für einen Alkohol typischen Reaktionsprodukte liefert.

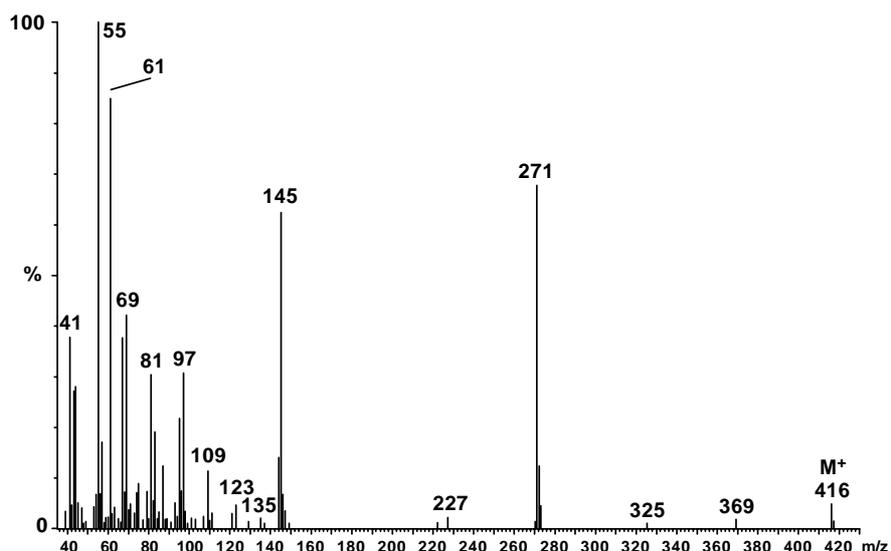
Da das Molekülion eine Masse von 322 g/mol aufweist und keinerlei für Alkohole charakteristischen Reaktionen eingeht, kann mit großer Wahrscheinlichkeit davon ausgegangen werden, dass es sich bei **159** um einen ungesättigten Aldehyd handelt.

Zusätzliche Informationen liefert das GC-FTIR-Spektrum von **159** im Naturextrakt, das in Abbildung 121 gezeigt ist. Darin sind die Banden 1742 und 2710  $\text{cm}^{-1}$  charakteristisch, die Auskunft über einen ungesättigten Aldehyd liefern. Neben einer für Aldehyde typischen Carbonylschwingung bei 1742  $\text{cm}^{-1}$ , entsprechen die starken Banden bei 2864 und 2933  $\text{cm}^{-1}$  CH-Valenzschwingungen von Methylen- bzw. Methylgruppen. Die schwache Bande bei 715  $\text{cm}^{-1}$  deutet auf *cis*-konfigurierte Doppelbindungen hin. Dagegen fehlt die wesentlich stärkere CH-Schwingung von *trans*-verknüpften Doppelbindungen bei 960 - 970  $\text{cm}^{-1}$ .



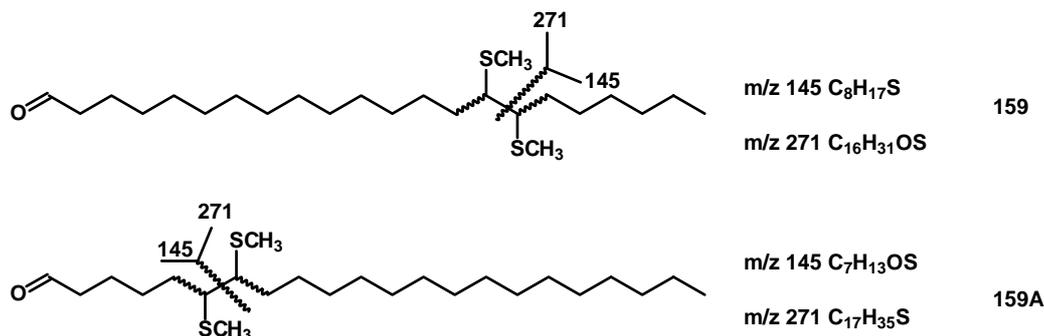
**Abbildung 121:** GC-FTIR-Spektrum von **159**

Zur weiteren Klärung der Struktur wurde im Anschluss eine DMDS-Derivatisierung<sup>129,130</sup> durchgeführt, die Informationen über die Lage der Doppelbindung(en) liefern sollte. Abbildung 122 zeigt das Massenspektrum des DMDS-Derivates von **159**. Anhand der Differenz zum Molekulargewicht ( $\Delta M = 94 \text{ g/mol}$ ) der underivatisierten Verbindung wird klar, dass ein Mol Dimethyldisulfid addiert wurde und es sich somit um einen einfach ungesättigten Aldehyd handelt.



**Abbildung 122:** Massenspektrum der mittels DMDS-Derivatisierung erhaltenen Komponente (EI, 70 eV)

Es sind die zwei intensiven Fragmentationen  $m/z$  145 und  $m/z$  271 entstanden. Bei einfach ungesättigten Aldehyden sind jeweils zwei mögliche elementare Zusammensetzungen und damit zwei verschiedene Positionen für die Doppelbindung denkbar:



**Abbildung 123:** (6EZ)- bzw. (15EZ)-Docosenal als mögliche Strukturen für **159**

Demnach kommen die beiden Stellungsisomere (6EZ)- (**159A**) bzw. (15EZ)-Docosenal für **159** in Betracht (s. Abbildung 123).

Eine HR-EI-MS-Untersuchung der schwefelhaltigen Fragmente ergibt die Zusammensetzung von  $m/z$  271 ( $C_{16}H_{31}OS$ ) sowie  $m/z$  145 ( $C_8H_{17}S$ ) (s. Tabelle 47).

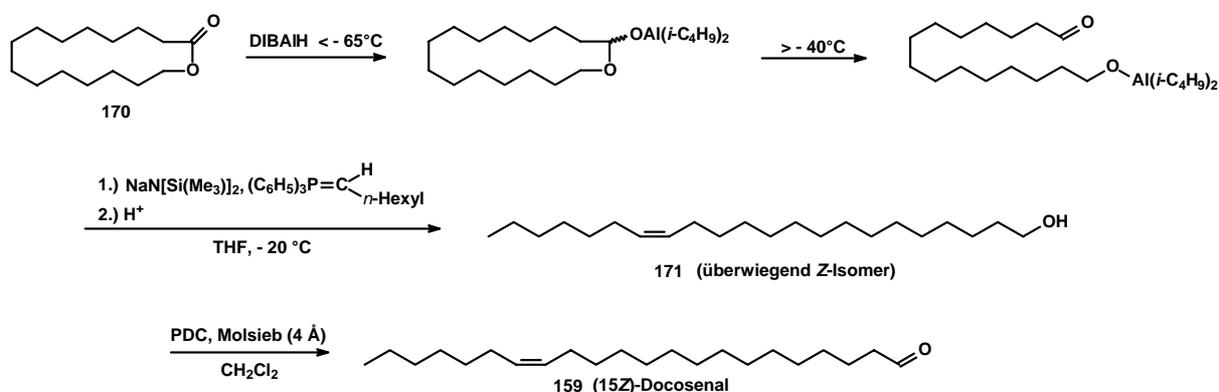
[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]
271	271.211	271.210	$C_{16}H_{31}OS$	- 1.7	- 6.3
145	145.105	145.105	$C_8H_{17}S$	- 0.3	- 1.8

**Tabelle 47:** Zusammensetzungen der DMDS-Fragmente  $m/z$  271 und  $m/z$  145, die Auskunft über die Lage der Doppelbindung geben.

Die ermittelten Summenformeln der beiden Hauptfragmente zeigen, dass die Doppelbindung von **159** in Position 15 liegt, da das Fragment mit der niedrigeren Masse ( $m/z$  145) keinen Sauerstoff enthält. Dieser befindet sich im Ion  $m/z$  271, was auf eine größere Distanz zwischen Carbonylgruppe und Doppelbindung hinweist.

#### 7.4. Synthese von (15Z)-Docosenal (**159**)

Abschließend sollte der mit (15Z)-Docosenal für **159** gemachte Strukturvorschlag durch Synthese verifiziert werden. Dazu wurde die von Boland *et al.* beschriebene Eintopfreaktion zur Umwandlung von Carbonsäureestern und Lactonen zu olefinischen Komponenten angewendet.<sup>131</sup> Für die Darstellung von **159** wird 15-Hydroxypentadecansäurelacton (Cyclopentadecanolid; **170**) mit DIBALH unter Ringöffnung reduziert und anschließend in einer salzfreien Wittig-Reaktion mit *n*-Heptyltriphenylphosphoniumbromid zu (15Z)-Docosenol (**171**) umgesetzt. Durch die salzfreien Reaktionsbedingungen bei der Wittig-Reaktion unter Einsatz von Natriumbis-trimethylsilylamid entsteht nahezu quantitativ das Z-Isomer. Abschließend erfolgt die selektive Oxidation des Alkohols mit Pyridiniumdichromat (PDC) zum gewünschten Produkt **159**.



**Abbildung 124:** Syntheseschritte zur Darstellung von (15Z)-Docosenal (**159**) nach Boland *et al.*

Das synthetisierte Produkt wurde mit dem in der Naturprobe enthaltenen Aldehyd verglichen. Anhand der Retentionszeit im Gaschromatogramm, durch Koinjektion mit der Naturprobe sowie durch Vergleich der Massen- und GC-FTIR-Spektren konnte zweifelsfrei bewiesen werden, dass das Syntheseprodukt mit dem in *M. lingua* enthaltenen Aldehyd **159** übereinstimmt. Das Syntheseprodukt wurde eindeutig NMR-spektroskopisch zugeordnet.

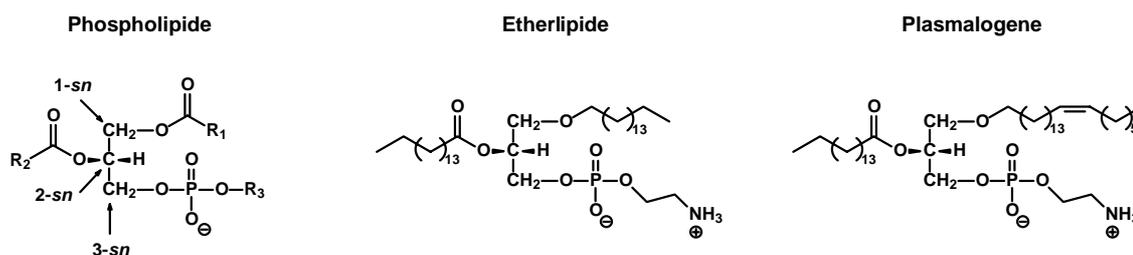
## 7.5. Diskussion

Ein nicht näher bestimmtes Doppelbindungsisomer des 15-Docosenals wurde bisher nur in dem haploscleriden Schwamm *Amphimedon viridis* und in dem poeciloscleriden Schwamm *Desmapsamma anchorata* der Unterordnung *Myxillina*, die beide in der Karibik beheimatet sind, identifiziert.<sup>132</sup> Daneben sind in diesen Schwämmen zusätzlich weitere zehn einfach ungesättigte Aldehyde ( $\Delta 15$ , 16 oder 19) der Kettenlänge  $C_{22}$  bis  $C_{26}$  identifiziert worden.

In *Mycale lingua* ist nur das (15Z)-Docosenal (**159**) enthalten. Man geht davon aus, dass diese Aldehyde aus 1-O-Alkenylphospholipiden oder aus Plasmalogenen, einer Unterfamilie ungesättigter Etherlipide, entstammen.

Beide gehören den Phospholipiden an, die alle über ein Glycerin-Rückgrad verfügen, bei dem zwei OH-Gruppen über Esterbrücken mit Fettsäuren verknüpft sind (Lipid-Nomenklatur: 1-*sn* und 2-*sn*). Das 3. Kohlenstoffatom (3-*sn*) ist mit Phosphorsäure verestert, an welches wiederum Alkohole wie beispielsweise Ethanolamin oder Cholin gebunden sein können.

Die Etherlipide unterscheiden sich von den Phospholipiden durch eine an 1-*sn* über eine Etherbrücke verknüpfte Alkylkette, die wiederum bei den Plasmalogenen einfach oder mehrfach ungesättigt sein kann (s. Abbildung 125). Abgeleitet vom Namen Plasmalogen werden die in den Etherlipiden gebundenen 1-Alkylether-Derivate auch Plasmansäuren genannt. Analog dazu werden die ungesättigten Aldehyde, die bei den Plasmalogenen in Form eines Enoleters gebunden sind, als Plasmensäuren bezeichnet.



1-*sn*: meist gesättigte Fettsäuren

2-*sn*: meist ein- oder mehrfach ungesättigte Fettsäuren

3-*sn*: über Phosphorsäure veresterte Alkohole

**Abbildung 125:** Definition der Phospho- und Etherlipide sowie der Plasmalogene

Neben diesen langkettigen Aldehyden sind aus Schwämmen auch ungewöhnliche verzweigte und einfach bzw. mehrfach ungesättigte Fettsäuren mit unterschiedlichem Methylverzweigungsmuster bekannt, wie gesättigte bzw. ungesättigte  $\alpha$ -Methoxy- und  $\alpha$ -Hydroxyfettsäuren.<sup>133</sup>

## 8. Über die Biologie und Chemie von Korallen<sup>134,135</sup>

Korallen (Coelenterata, Cnidaria, Anthozoa) wurden lange Zeit für Pflanzen gehalten, bis der Franzose A. Peyssonel 1723 die Auffassung vertrat, dass diese Lebewesen dem Tierreich zuzuordnen sind, obwohl sie als Polypen auf hartem Substrat wachsen und sich nicht fortbewegen können.

Sie gehören dem artenreichen Stamm der Coelenterata (Hohltiere; griech. „Höhle“ / „Darm“) an, der sich wiederum in zwei Taxa, die Cnidaria (Nesseltiere) und Ctenophora (Rippenquallen) unterteilen lässt.

Zu den Nesseltieren werden auch die Hydrozoa (Hydrokorallen und Staatsquallen), Syphozoa (Schirmquallen) und Cubozoa (Würfelquallen) gerechnet.

Die größte Klasse der Cnidaria aber bilden mit ca. 5600 Arten die Anthozoa (Blumen- oder Korallentiere), die möglicherweise das ursprünglichste Cnidaria-Taxon bilden und sich wiederum in Octa- und Hexacorallia unterteilen lassen.

Die in dieser Arbeit untersuchte Koralle *Primnoa resedaeformis* gehört der Unterklasse der Octocorallia an.

Im Gegensatz zu den Poriferen verfügen (Octo)Korallen über ein echtes Gewebe, Organe, eine Art Nervensystem und Sinneszellen. Sie weisen ausschließlich die Organisationsform des koloniebildenden Polypen auf und zeichnen sich durch ihren großen Formen- und Artenreichtum aus. Die Octocorallia bilden ein Innenskelett durch die direkte Abscheidung einer hornigen Substanz (Gorgonin) aus. In diese Gerüstsubstanz kann dann auch wiederum Kalk eingelagert werden, so dass eine Art bewegliche „Wirbelsäule“ entsteht. Der Aufbau des Polypen gestaltet sich radialsymmetrisch mit einer äußeren Epidermis und einer inneren Gastrodermis, die den Verdauungstrakt (Magen) mit nur einer Öffnung beinhaltet. Über diese Öffnung erfolgt die Nahrungsaufnahme und auch die Abgabe von Abfallprodukten. Da diese Tiere über kein echtes Blutgefäßsystem verfügen, findet der Gasaustausch mittels Diffusion mit dem Umgebungswasser statt. Das Nervensystem ist nicht vollständig ausgebildet, sondern bildet eher ein diffuses Netz von Nervenzellen, das sich an wichtigen Stellen des Polypen konzentriert (Mundfeld, Tentakeln, Fußstiel). Aus dem Namen Octocorallia lässt sich ableiten, dass diese Unterklasse der Anthozoa acht (gefiederte) Tentakeln besitzt. An diesen Tentakeln kleben Beutetiere fest, die dann durch starke Kontraktion in Mundnähe gebracht werden. Korallen sind dafür bekannt, dass sie symbiontisch mit einzelligen, Photosynthese betreibenden Algen (Dinoflagellaten, Zooxanthellen, Grünalgen) zusammenleben. Diese

Symbionten nehmen das von ihren Wirten abgegebene Kohlendioxid und andere z. B. stickstoffhaltige Exkrete auf, verstoffwechseln diese unter Ausnutzung des Sonnenlichts zu energiereichen Kohlenhydraten und versorgen somit wiederum die Korallen.

Die Fortpflanzung erfolgt bei den Korallen getrenntgeschlechtlich durch Polypenbildung; das Medusenstadium fehlt vollständig. Dabei produziert ein adulter Polyp Eier, die das Stadium der sog. Planula-Larve durchlaufen, um sich dann wiederum als fortentwickelter Polyp niederzulassen. Damit lässt sich auch die starke Koloniebildung (Tierstöcke) von Octokorallen erklären. Meist sind diese Kolonien aus unzähligen Einzelpolypen aufgebaut, die über ein Zellgewebe (Coenenchym) miteinander verbunden sind.

Zu den Octocorallia werden auch die Helioporida (Blaue Korallen), Alcyonaria (Lederkorallen), Gorgonaria (Hornkorallen) oder Pennatularia (Seefedern) gerechnet.

Den Hexacorallia und dort vor allem den Stein- und Riffkorallen (Madreporaria) kommt eine außerordentlich wichtige Bedeutung zu, da sie als Kalk abscheidende Organismen in der Lage sind, Riffe aufzubauen. Gerade in den Tropen und Subtropen sind diese Riffe weit verbreitet und gehören zu den produktivsten Lebensgemeinschaften der Erde, wobei diese Produktionsleistung nur durch die Symbiose mit den bereits angesprochenen einzelligen Algen erreicht werden kann.

Wie sich gezeigt hat, bildet die kosmopolitisch verbreitete Steinkoralle *Lophelia pertusa* mit anderen Korallen (*Primnoa resedaeformis*, *Paragorgia arborea*) auch in Kaltwasserregionen Skandinaviens Korallenbänke aus.

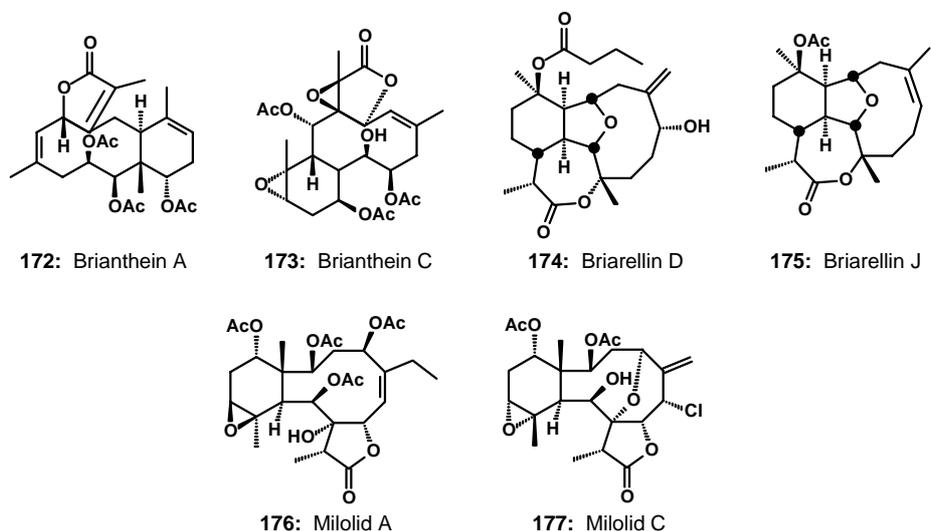
Vielerorts sind heutzutage bereits aufgrund der hohen Nachfrage nach Produkten der Edelkorallenindustrie, des zunehmenden Tourismus, der Fischerei und fortschreitender Umweltverschmutzung die Korallenriffe stark in Mitleidenschaft gezogen worden.

Betrachtet man die Verteilung der im Jahre 2002 veröffentlichten Naturstoffe (677) auf die verschiedenen Phyla, so wurden neben Schwämmen (37 %) aus Coelenteraten mit 21 %, gefolgt von Mikroorganismen (18 %), die meisten Naturstoffe isoliert. Dabei fällt wiederum auf, dass über 80 % der aus Coelenteraten isolierten Naturstoffe terpenoiden Ursprungs sind. Die Minderheiten bilden Polyketide (13 %) und Alkaloide (7 %). 2002 sind beispielsweise keine Peptide aus Hohltieren isoliert worden. Bei den isolierten Terpenstrukturen bilden die Diterpene den Hauptbestandteil, gefolgt von Triterpenen (Steroiden), Sesquiterpenen und Sesterterpenen.<sup>136</sup>

Es sollen hier exemplarisch einige interessante, aus Korallen isolierte Sekundärmetabolite vorgestellt werden.

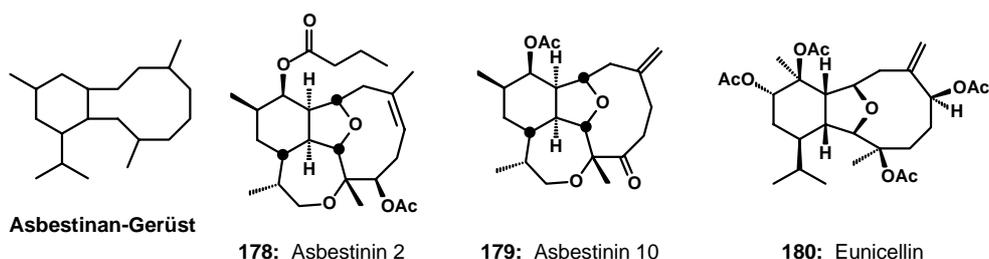
Aus Oktokorallen der Gattung *Briareum* (= *Solenopodium*) (Phylum Cnidaria, Klasse Anthozoa, Unterklasse Octocorallia, Ordnung Alcyonacea, Familie Briareidae) wurden bisher mindestens 200 Diterpene identifiziert, die in drei Skelett-Klassen vom Briaran-, Asbestinan- und Eunicellin-Typ unterteilt werden können.<sup>137</sup> Briaran- und Asbestinan-Diterpene sind für ihre weit reichende biologische Aktivität bekannt (sie wirken z. B. cytotoxisch<sup>138</sup>, anti-inflammatorisch<sup>139</sup>, insektizid<sup>140</sup>, antiviral<sup>141</sup> oder als Antifoulingsubstanz<sup>142</sup>). Die Asbestinin-Diterpene sind für ihre Cytotoxizität sowie antibakterielle Wirkung bekannt und spielen eine Rolle als Acetylcholin- und Histaminantagonisten.<sup>143</sup>

Beispiele für Diterpene vom Briaran-Typ sind z. B. das aus *Briareum excavatum* isolierte Brianthin A und C<sup>144</sup> (**172**, **173**), Briarellin D und J aus *Briareum polyanthes*<sup>145</sup> (**174**, **175**) (Antimalariaaktivität) und aus *Briareum stechei* die isolierten Milolide A und C<sup>146</sup> (**176**, **177**).



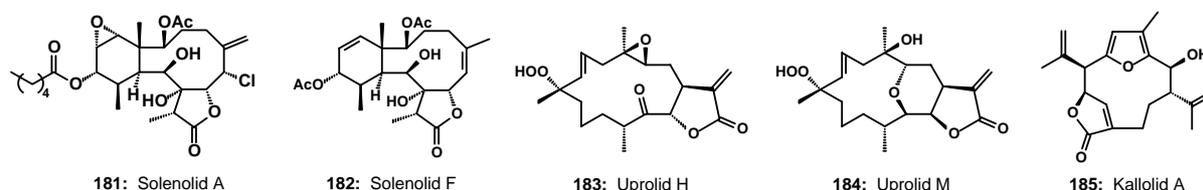
**Abbildung 126:** Aus verschiedenen Korallen der Gattung *Briareum* isolierte Diterpene vom Briaran-Typ

Vom Asbestinin-Typ sind beispielsweise Asbestinin 2<sup>147</sup> und 10<sup>148</sup> (**178**, **179**) aus *Briareum asbestinum* sowie als dritter Skelett-Typ das Eunicellin aus *Eucinella stricta*<sup>149</sup> (**180**) isoliert worden.



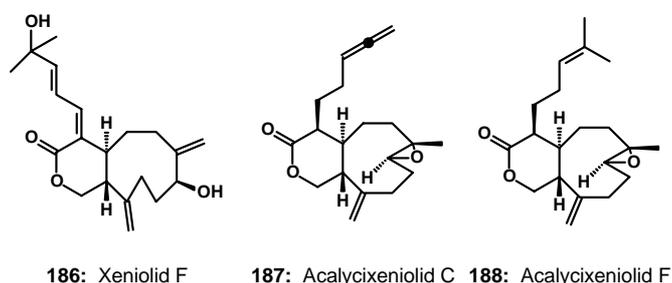
**Abbildung 127:** Zwei Beispiele für Asbestinine und das aus *Eucinella stricta* isolierte Eunicellin (**180**).

Die antiinflammatorisch und antiviral wirkenden Diterpene der der Solenolid-Klasse wurden erstmals von Fenical *et al.* aus marinen Oktokorallen der Gattung *Solenopodium* isoliert<sup>150</sup> (**181, 182**). Aus *Eunicea pinta* sind die Cembranolide Uprolid H und M<sup>151</sup> (**183, 184**) und das ebenfalls antiinflammatorisch wirkende Kallolid A (**185**) aus *Pseudopterogorgia kallos* isoliert worden.<sup>152</sup>



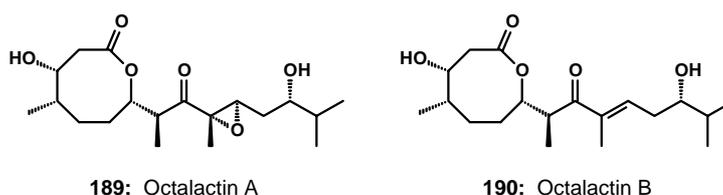
**Abbildung 128:** Beispiele für Solenolide, Uprolide und Kallolide

Eine weitere, sehr große Diterpen-Klasse vom Cembran-Typ stellen die sog. Xeniolide aus verschiedenen Korallen der Gattung *Xenia* dar. Hier werden drei Beispiele vom Xenicin-Typ gegeben, die ein 2-Oxabicyclo[7.4.0]tridecan-Ringsystem enthalten. Dazu gehört das Xeniolid F aus *Xenia* sp.<sup>153</sup> (**186**) sowie die Acalcixeniolide C und F (**187, 188**) aus *Acalycigorgia inermis*, die gegen die menschliche Leukämiezelllinie K562 wirksam sind.<sup>154</sup>



**Abbildung 129:** Biologisch aktive Diterpene mit 2-Oxabicyclo[7.4.0]tridecan-Ringsystem

Die strukturell interessanten gesättigten Achtring-Lactone Octalactine A und B (**189, 190**) wurden nicht direkt aus marinen Invertebraten, sondern aus marinen Streptomycceten von der Oberfläche der Koralle *Pacifigorgia* sp. isoliert.<sup>155</sup> **189** weist eine starke cytotoxische Aktivität gegen bestimmte Zelllinien menschlichen Dickdarmkrebses auf.



**Abbildung 130:** Die gesättigten Achtring-Lactone Octalactine A und B (**189, 190**) aus Streptomycceten, die von der Oberfläche von *Pacifigorgia* sp. isoliert wurden.

## 9. Sesquiterpene aus *Primnoa resedaeformis* (GUNNERUS)

### 9.1. Einleitung

In diesem Kapitel werden Inhaltsstoffe der Oktokoralle *Primnoa resedaeformis* (GUNNERUS, 1763) untersucht. Diese wird wegen ihres Aussehens auch Reiskoralle (Resedakoralle) genannt (s. Abbildung 131).<sup>\*</sup> Auf Grund ihrer morphologischen Eigenschaften wird sie der Unterordnung Holaxonia zugerechnet. Korallenarten dieser Unterordnung besitzen grundsätzlich kein Skelett und bilden eine Stammachse aus, die aus



**Abbildung 131:** *Primnoa resedaeformis* nach der Beprobung und Dichlormethanextrakt (kleines Foto).

einer elastischen Hornsubstanz (Gorgonin) mit geringen Kalkeinlagerungen (Skleriten) besteht. Diese baumartigen, verzweigten Stöcke mit biegsamen Ästen sind von einer Art Rinde aus Zellgewebe (Coenenchym) überzogen aus denen die (reiskornartigen) Polypen hervortreten. Tabelle 48 zeigt die systematische Einteilung von *P. resedaeformis*.

Domäne	Animalia
Phylum	Coelenterata
Subphylum	Cnidaria (Nesseltiere)
Klasse	Anthozoa (Blumentiere)
Unterklasse	Octocorallia
Ordnung	Gorgonacea (Rindenkoralen, Hornkoralen, Gorgonien)
Unterordnung	Holaxonia
Familie	Primnoidae
Gattung	Callogorgia, Calyptrophora, Narella, Plumarella, <b>Primnoa</b> , Primnoeides, Primnoella, Thouarella
	<i>Primnoa resedaeformis</i> <i>Primnoa pacifica</i> <i>Primnoa reseda</i> <i>Primnoa typica</i> <i>Primnoa willeyi</i>

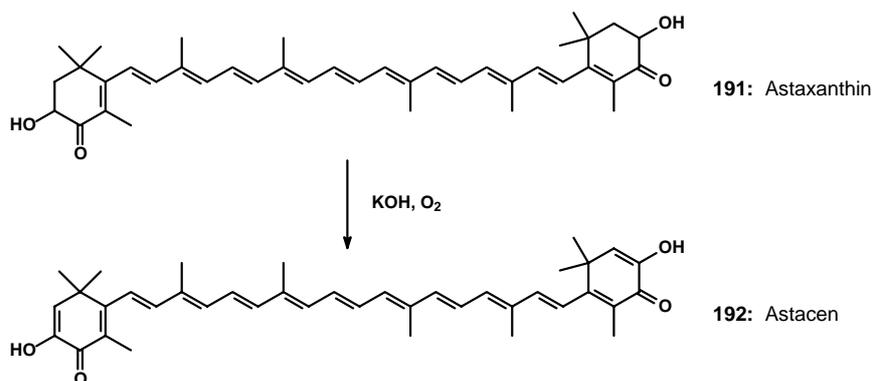
**Tabelle 48:** Phylogenetische Einordnung von *P. resedaeformis*.

Neben *P. resedaeformis* sind vier weitere Arten dieser Gattung bekannt.

<sup>\*</sup> Bildmaterial: Koordination (Prof. Dr. W. Michaelis, Dr. T. Pape) des Verbundprojektes BOSMAN

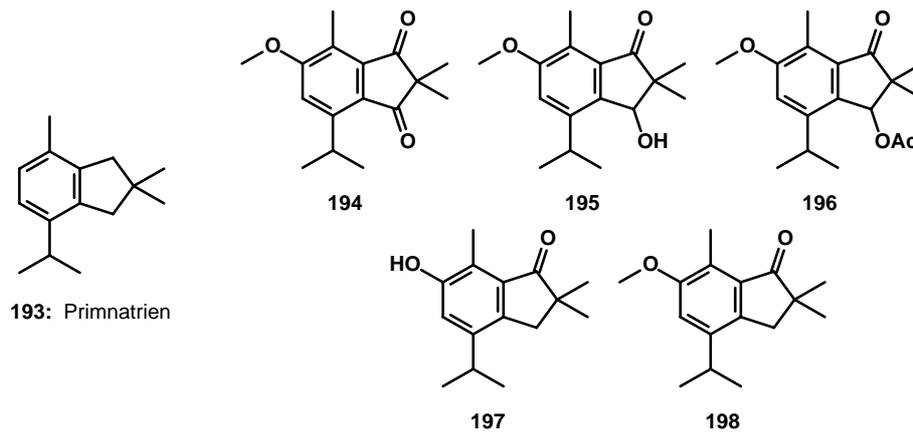
*P. resedaeformis* ist in gemäßigten Meeresregionen des Nordatlantiks und Nordpazifiks, in Meerestiefen bis zu 800 Metern anzutreffen und kann Größen von 1 bis 2 Metern erreichen. In Gewässern vor Alaska sind aber auch Individuen mit einer Höhe von 3 m und einer Breite von bis zu 7 m bekannt geworden. Das Alter dieser Korallen kann nur geschätzt werden. Bei jährlichen Wachstumsraten von 1.5 mm - 2.3 cm, in Abhängigkeit vom Nahrungsangebot in unterschiedlichen Habitaten, können diese Korallen mehrere hundert Jahre alt werden.<sup>156,157,158</sup>

Obwohl diese Koralle zum ersten Mal 1763 beschrieben wurde, ist die erste Arbeit, die sich mit Inhaltsstoffen von *P. resedaeformis* beschäftigt, erst 200 Jahre später publiziert worden. Darin wird über das Carotinoid Astacen (**192**) berichtet, das durch die angewendete Aufarbeitungsmethode aus Astaxanthin (**191**) entstanden ist. Es stellt das einzige Carotinoid in dieser Koralle dar.<sup>159</sup>



**Abbildung 132:** Das in *P. resedaeformis* enthaltene Astaxanthin (**191**), das durch die angewendete Aufarbeitung als Astacen (**192**) charakterisiert wurde.

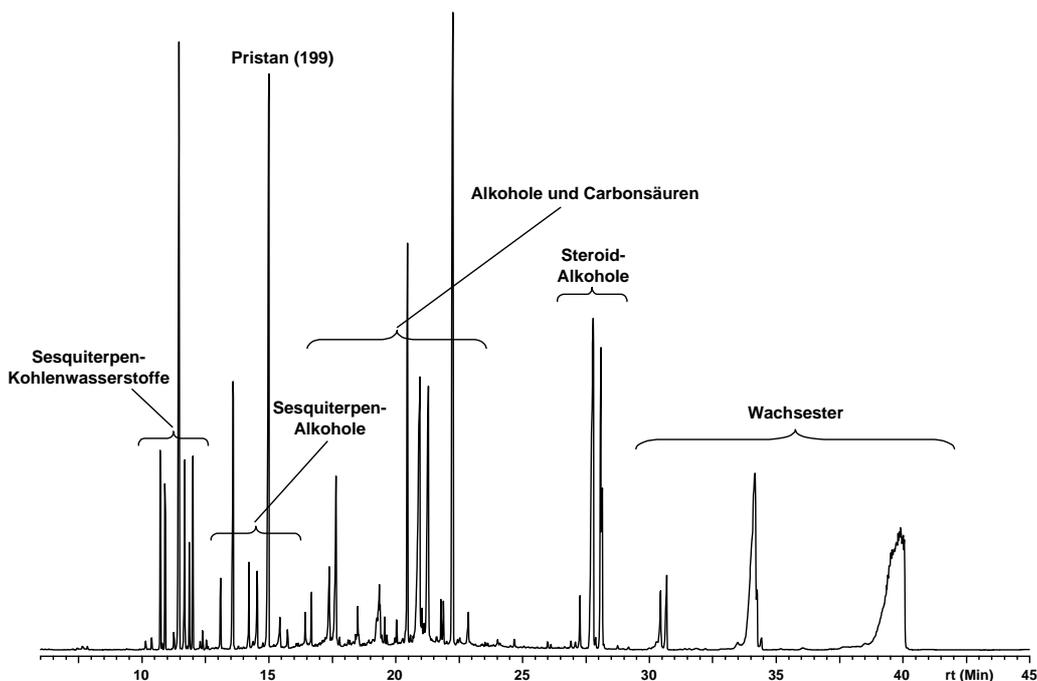
Eine weitere Arbeit behandelt eine Serie neuer aromatischer Sesquiterpene, die aus einer nicht näher bestimmten *Primnoides*-Koralle, aus küstennahen Gewässern vor Neuseeland, isoliert wurden. Sie enthalten einen bis dahin unbekanntem 2,2,7-Trimethyl-4-(1-methylethyl)indan-Grundkörper, der den Trivialnamen Primnatrien (**193**) trägt.<sup>160</sup>



**Abbildung 133:** Fünf neue Sesquiterpene (**194 - 198**) aus einer neuseeländischen *Primnoeides*-Koralle mit dem bis dahin unbekanntem, aromatischen Sesquiterpen-Skelett Primnatrien (**193**)

## 9.2. Sesquiterpenoides Inventar von *P. resedaeformis*

Für die Gewinnung der Extrakte wurde das Standard-Extraktionsverfahren angewendet und ein intensiv orange gefärbter Dichlormethanextrakt (s. Abbildung 131) erhalten. Das Gaschromatogramm des Dichlormethanextraktes zeigt eine Fülle flüchtiger Substanzen, die anhand ihrer Massenspektren, als Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffe, Sesquiterpenalkohole, langkettige Alkohole und Fettsäuren sowie Wachsester identifizieren wurden (Abbildung 134).

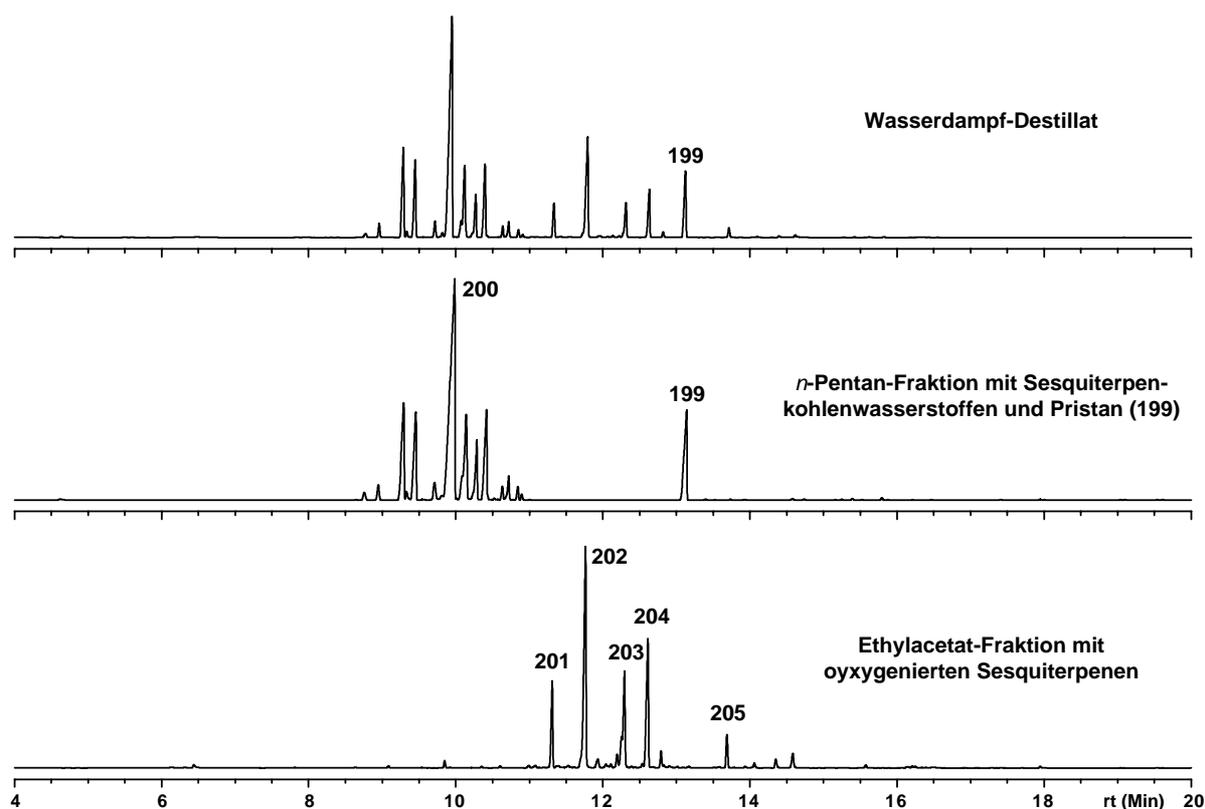


**Abbildung 134:** Gaschromatogramm des Dichlormethanextraktes von *P. resedaeformis* [Säule: HP-1, 30 m, Temperaturprogramm: 50 °C, 3 °C/min, 300 °C]

Zur Isolierung der Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffe und Sesquiterpenalkohole, wurden ca. 150 g Koralle durch Wasserdampfdestillation extrahiert. Daneben konnte auch gleichzeitig der Kohlenwasserstoff Pristan (Norphytan) (**199**) isoliert werden, der anhand seines Massenspektrums identifiziert wurde (s. Abbildung 135).

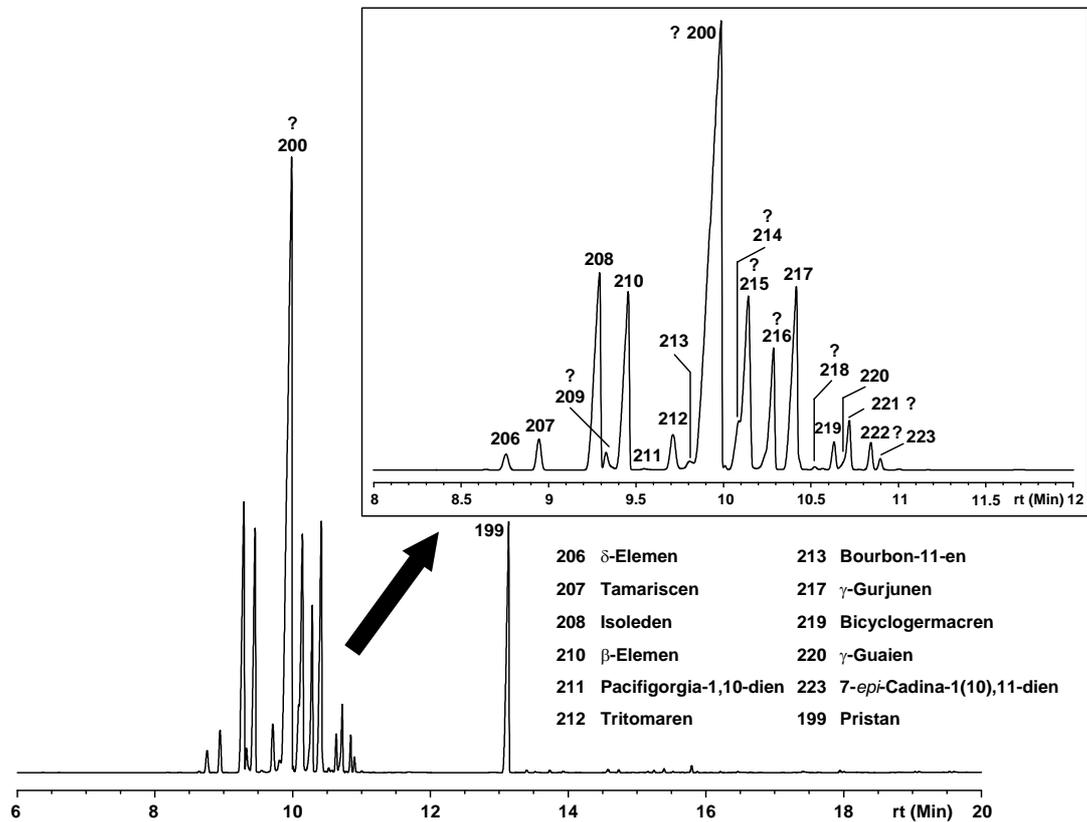
Die Inhaltsstoffe des Wasserdampfdestillats wurden zunächst anhand ihrer Massenspektren und Retentions-Indices (lineare Indices) mit der Massenspektrenbibliothek des Programms „MassFinder 3“ abgeglichen.<sup>161</sup> Dabei wurden elf Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffe identifiziert (s. Abbildung 136 und Abbildung 137). Weitere 6 Substanzen (**200** - **205**) konnten nicht anhand ihrer Massenspektren identifiziert und mussten zur vollständigen NMR-spektroskopischen Charakterisierung isoliert werden.

Der nächste Schritt bestand aus einer Gradientenchromatographie, in dem dieses Destillat in eine *n*-Pentan- sowie eine Ethylacetat-Fraktion aufgetrennt wurde (s. Abbildung 135 *Mitte* und *unten*). Die Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffe sowie **199** wurden in der unpolaren *n*-Pentan-Fraktion und die oxygenierten Vertreter in der Ethylacetat-Fraktion wieder gefunden.

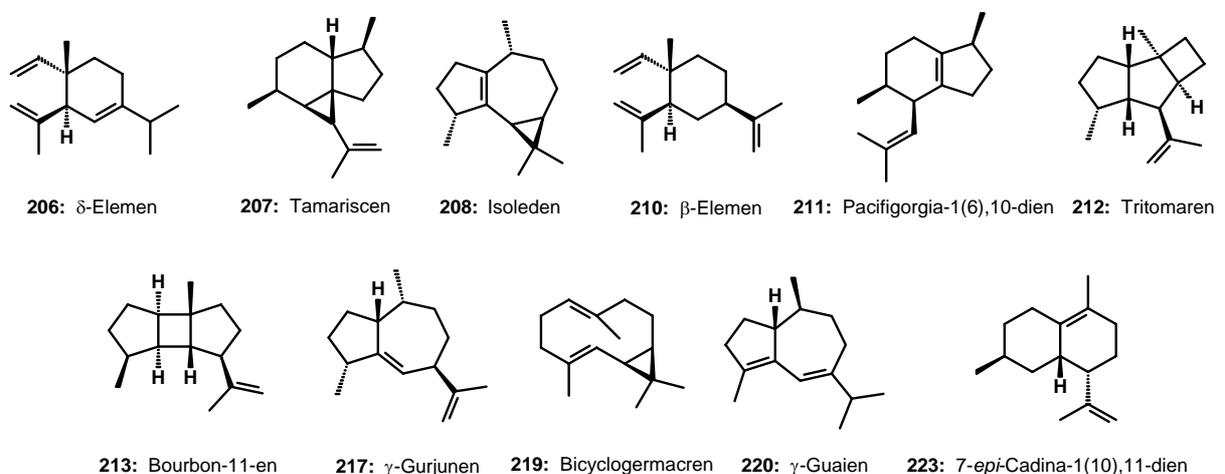


**Abbildung 135:** Gaschromatogramm des Wasserdampfdestillats (*oben*), der *n*-Pentan- (*Mitte*) und Ethylacetat-Fraktion (*unten*) [Säule: HP-1, 30 m, Temperaturprogramm: 50 °C, 10 °C/min, 300 °C]

Die Hauptkomponente der Pentan-Fraktion (**200**), vier Sesquiterpenalkohole (**201 - 204**) und ein Acetat eines Sesquiterpenalkohols (**205**), wurden im nächsten Schritt durch präparative Gaschromatographie isoliert. Es standen ausreichende Mengen für deren NMR-spektroskopische Strukturaufklärung zur Verfügung. Die Struktur von **202** konnte aufgrund zu geringer Substanzmenge nicht aufgeklärt werden.



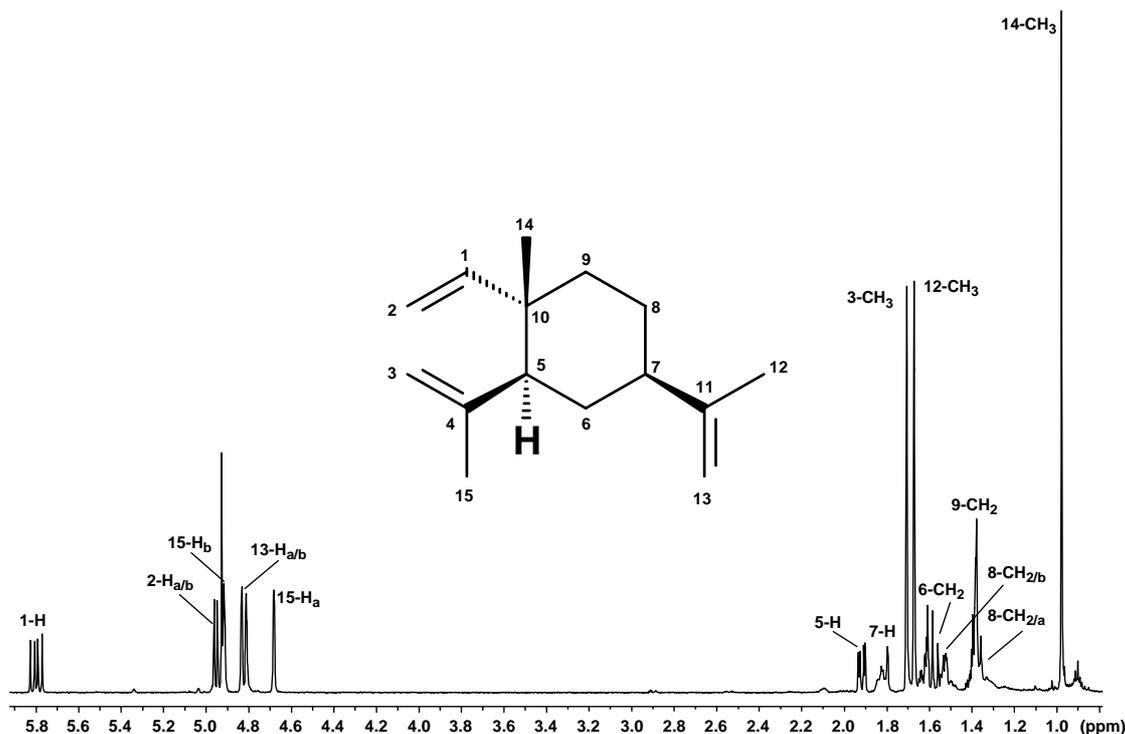
**Abbildung 136:** Gaschromatogramm der *n*-Pentan-Fraktion. Unbekannte Verbindungen sind mit einem ? versehen. [Säule: HP-1, 30 m, Temperaturprogramm: 50 °C, 10 °C/min, 300 °C]



**Abbildung 137:** Bekannte Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffe aus *P. resedaeformis*

### 9.2.1. Isolierung und Identifizierung von zwei bekannten Kohlenwasserstoffen

Im Zuge der Isolierung einzelner Kohlenwasserstoffe durch präparative Gaschromatographie wurden auch zwei durch MassFinder identifizierte Substanzen separiert und Bibliotheksvorschläge durch NMR-Spektren und Vergleich mit Literaturdaten bestätigt. Es handelt sich dabei um  $\beta$ -Elemen (**210**)<sup>162,163</sup> und  $\gamma$ -Gurjunen (**217**)<sup>164</sup>.



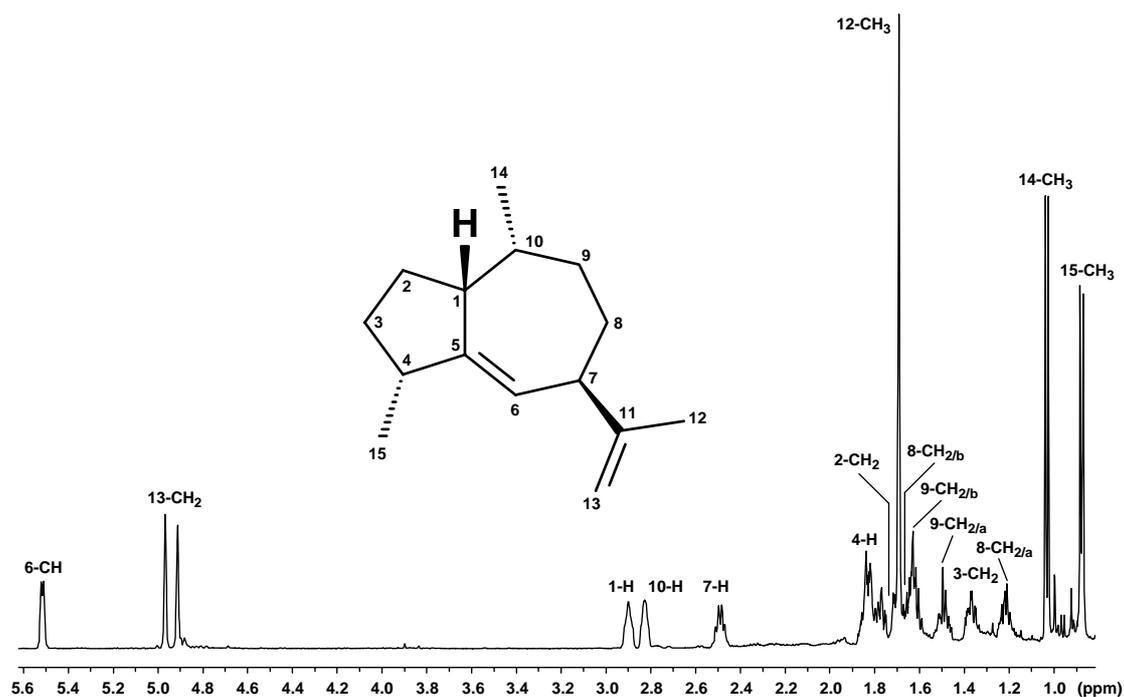
**Abbildung 138:** <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von  $\beta$ -Elemen (**210**) (hier abgebildet: (-)- $\beta$ -Elemen) [500 MHz, Benzol-*d*<sub>6</sub>]

NMR-Daten des isolierten  $\beta$ -Elemens (**210**):

<sup>1</sup>H (500 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>):  $\delta$  = 0.98 (s, 3 H, 14-CH<sub>3</sub>), 1.38 (m, 1 H, 8-CH<sub>2/a</sub>), 1.40 (m, 2 H, 9-CH<sub>2</sub>), 1.53 (m, 1 H, 8-CH<sub>2/b</sub>), 1.60 (m, 2 H, 6-CH<sub>2</sub>), 1.67 (s, 3 H, 12-CH<sub>3</sub>), 1.71 (s, 3 H, 3-CH<sub>3</sub>), 1.82 (m, 1 H, 7-CH), 1.92 (m, 1 H, 5-H), 4.68 (m, 1 H, 15-CH<sub>2/a</sub>), 4.82 (m, 2 H, 13-CH<sub>2</sub>), 4.91 (m, 1 H, 15-CH<sub>2/b</sub>), 4.96 (m, 2 H, 2-CH<sub>2</sub>), 5.80 (dd, 1 H, 1-CH)

<sup>13</sup>C (100.6 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>):  $\delta$  = 16.82 (q, C-14), 21.12 (q, C-12), 25.14 (q, C-3), 27.19 (t, C-8), 30.79 (s, C-10), 33.34 (t, C-6), 40.17 (t, C-9), 46.03 (d, C-7), 52.99 (d, C-5), 108.82 (t, C-13), 110.12 (t, C-2), 112.59 (t, C-15), 147.70 (s, C-4), 150.08 (s, C-11), 150.55 (d, C-1)

Die hier verwendete Nummerierung der Sesquiterpen-Grundgerüste bezieht sich auf die in dem Standardwerk von D. Joulain und W. A. König gezeigten Grundgerüste<sup>165</sup>, wobei darauf hingewiesen sei, dass diese Nomenklatur wiederum von der IUPAC-Nomenklatur abweicht und auch in der Literatur keine einheitliche Bezeichnung der Sesquiterpene verwendet wird.



**Abbildung 139:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von  $\gamma$ -Gurjunen (**217**) (hier abgebildet: (+)- $\gamma$ -Gurjunen) [500 MHz, Benzol- $d_6$ ]

NMR-Daten des isolierten  $\gamma$ -Gurjunens (**217**):

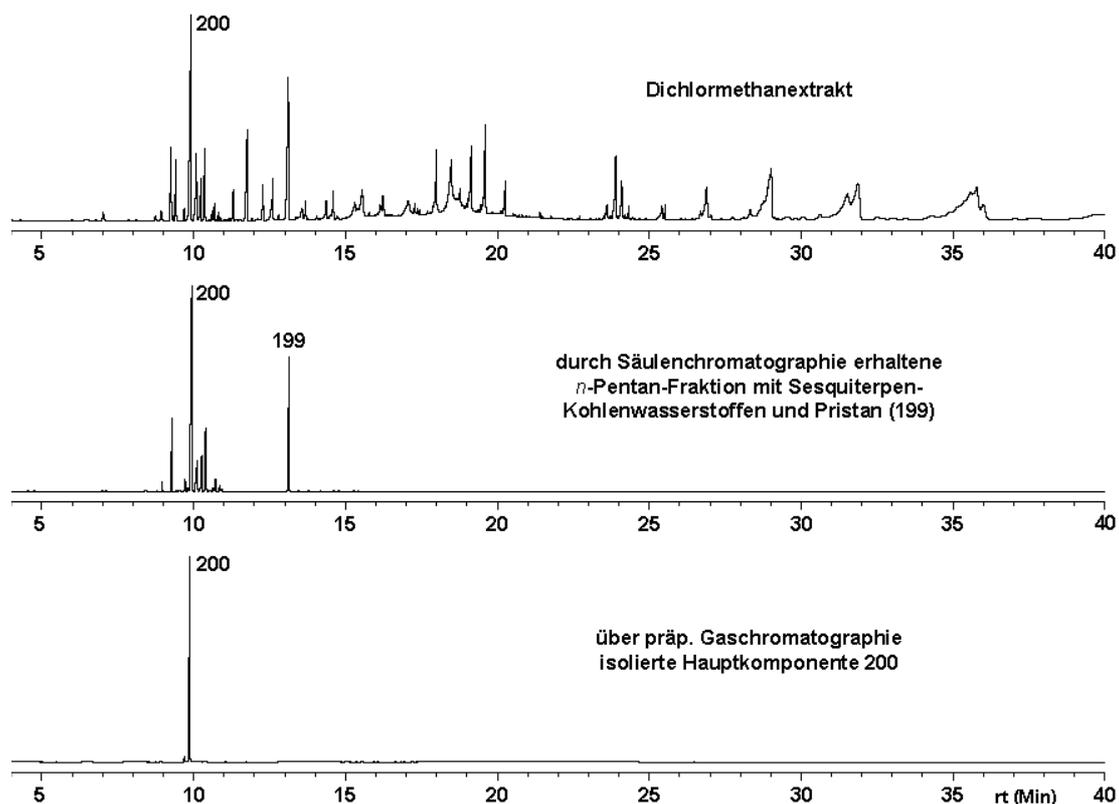
$^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ):  $\delta$  = 0.88 (d, 3 H, 15- $\text{CH}_3$ ), 1.03 (d, 3 H, 14- $\text{CH}_3$ ), 1.2 (m, 1 H, 8- $\text{CH}_{2/a}$ ), 1.36 (m, 2 H, 3- $\text{CH}_2$ ), 1.50 (m, 1 H, 9- $\text{CH}_{2/a}$ ), 1.63 (m, 1 H, 9- $\text{CH}_{2/b}$ ), 1.63 (m, 1 H, 8- $\text{CH}_{2/b}$ ), 1.69 (s, 3 H, 12- $\text{CH}_3$ ), 1.75 (m, 2 H, 2- $\text{CH}_2$ ), 1.84 (m, 1 H, 4- $\text{CH}$ ), 2.49 (m, 1 H, 7- $\text{CH}$ ), 2.90 (m, 1 H, 10- $\text{CH}$ ), 2.83 (m, 1 H, 1- $\text{CH}$ ), 4.94 (d, 2 H, 13- $\text{CH}_2$ ), 5.52 (m, 1 H, 6- $\text{CH}$ )

$^{13}\text{C}$  (100.6 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ):  $\delta$  = 15.80 (q, C-15), 19.91 (q, C-14), 21.42 (q, C-12), 26.11 (t, C-2), 30.30 (t, C-9), 33.56 (t, C-3), 34.10 (t, C-8), 34.18 (d, C-4), 41.39 (d, C-7), 46.07 (d, C-1), 47.95 (d, C-10), 111.32 (t, C-13), 122.90 (d, C-6), 146.59 (s, C-11), 150.61 (s, C-5)

Im Folgenden soll näher auf die Isolierung und Strukturaufklärung des unbekanntes Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffs **200** und oxygenierter Verbindungen (**201** - **205**) eingegangen werden.

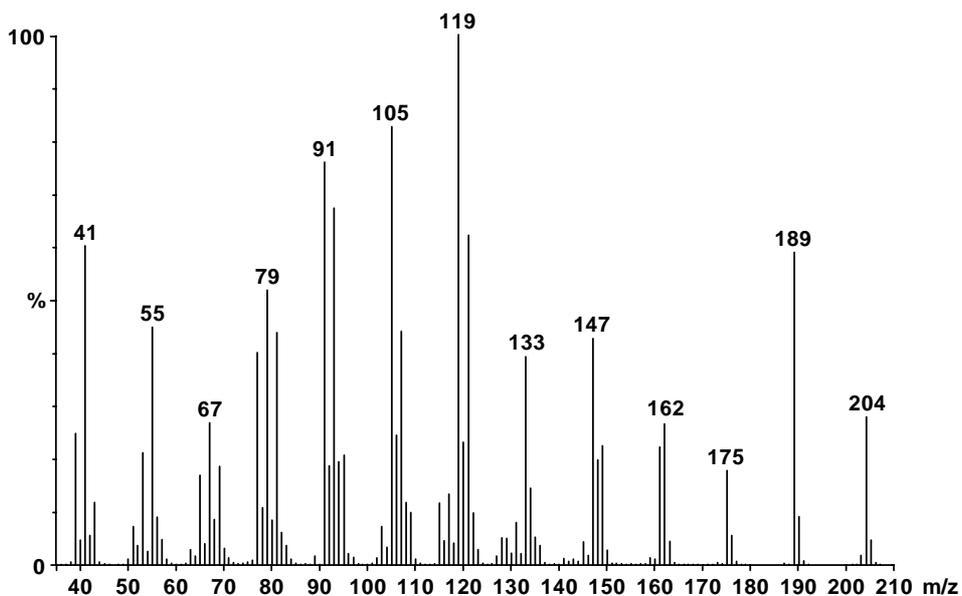
### 9.3. Strukturaufklärung des Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffs 200

Die Hauptkomponente des Wasserdampfdestillats **200** wurde durch präparative Gaschromatographie als Reinsubstanz isoliert und stand für eine NMR-spektroskopische Strukturaufklärung in ausreichenden Mengen zur Verfügung.



**Abbildung 140:** Schrittweise Isolierung der Sesquiterpen-Hauptkomponente **200** für die Strukturaufklärung mittels NMR-Spektroskopie. [Säule: HP-1, 30 m, Temperaturprogramm: 50 °C, 10 °C/min, 300 °C]

Bei **200** handelte es sich um einen Sesquiterpen-Kohlenwasserstoff mit dem Molekulargewicht von 204 g/mol. Obwohl keine Hochauflösungsdaten für die Summenformel vorliegen, kann davon ausgegangen werden, dass es sich bei dieser Verbindung aufgrund ihrer Polarität um einen Kohlenwasserstoff handeln muss, der die Zusammensetzung  $C_{15}H_{24}$  besitzt. Das Massenspektrum dieser Verbindung ist in Abbildung 141 gezeigt.



**Abbildung 141:** Massenspektrum von **200** (EI, 70 eV)

Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum dieser Komponente ist in Abbildung 142 und dessen  $^{13}\text{C}$ -PENDANT-Spektrum in Abbildung 143 dargestellt. Im  $^{13}\text{C}$ -PENDANT-Spektrum sind vier olefinische Kohlenstoffatome erkennbar, bei denen es sich um eine olefinische Methylengruppe ( $\delta_{\text{C}} = 112.24$  ppm), ein  $\text{sp}^2$ -hybridisiertes tertiäres ( $\delta_{\text{C}} = 126.43$  ppm) und um zwei quartäre Kohlenstoffatome ( $\delta_{\text{C}} = 147.74$  und  $140.35$  ppm) handelt.

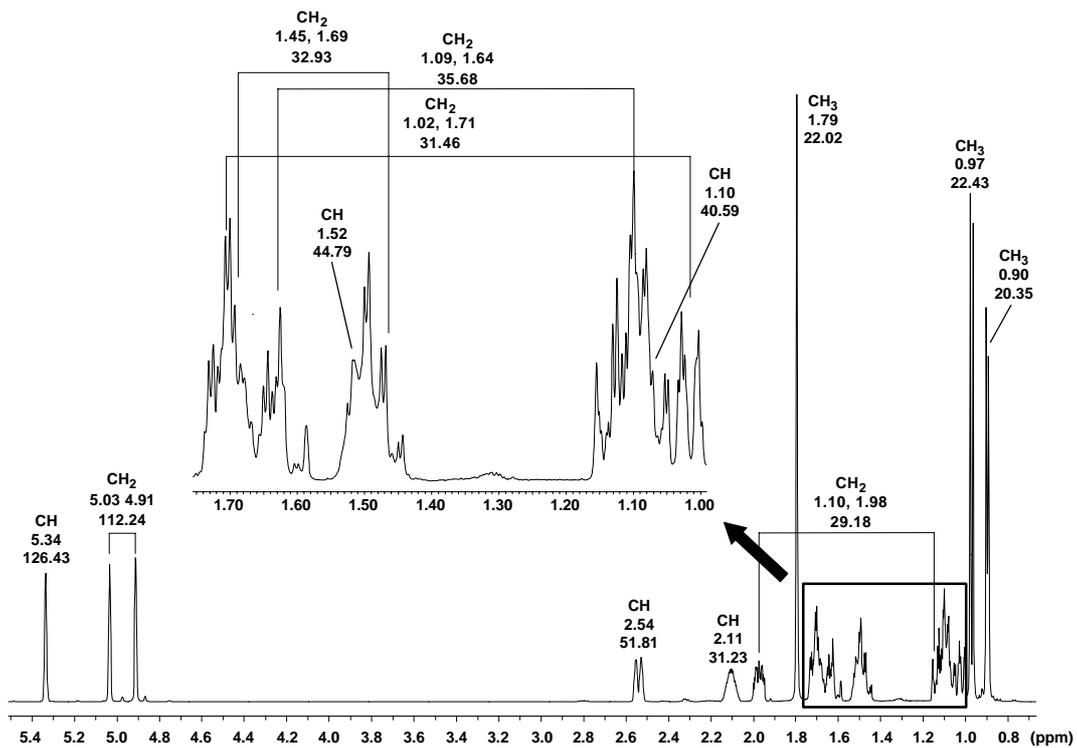


Abbildung 142:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **200** [500 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Die chemischen Verschiebungen der Protonen und Kohlenstoffatome sind angegeben. Der Ausschnitt von 1.0 - 1.8 ppm ist vergrößert dargestellt.\*

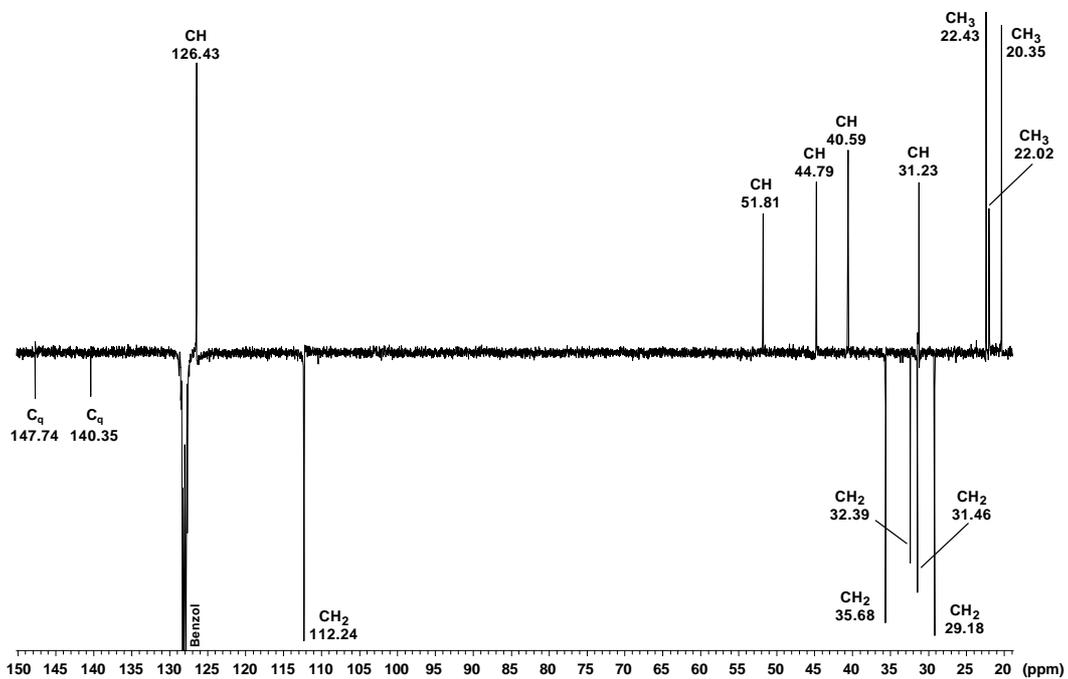


Abbildung 143:  $^{13}\text{C-PENDANT}$ -Spektrum von **200** [100.6 MHz, Benzol- $d_6$ ].

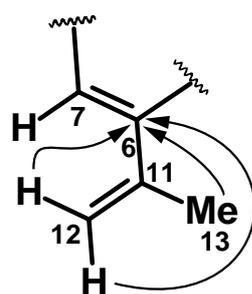
\* Die Protonen von in Ringsystemen enthaltenen Methylengruppen sind in diesem und den folgenden Spektren durch Linien miteinander verbunden. Die chemische Verschiebung des Signalschwerpunktes der einzelnen Protonen und des zugehörigen Kohlenstoffatoms sind angegeben.

Die elementare Zusammensetzung von C<sub>15</sub>H<sub>24</sub> entspricht vier Doppelbindungsäquivalenten. Im <sup>13</sup>C-PENDANT-Spektrum sind zwei Doppelbindungen (4 olefinische Kohlenstoffatome = 2 Doppelbindungsäquivalente) zu erkennen, so dass für **200** eine bicyclische Struktur resultiert.

Pos.	$\delta$ ( <sup>13</sup> C) [ppm]	$\delta$ ( <sup>1</sup> H) [ppm]	Int.	J [Hz]	<sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H-COSY	HMBC	NOESY
1	44.79	1.51 - 1.54	1H	m	5-H	C-2, C-3, C-5	15-CH <sub>3</sub>
2	40.59	1.04 - 1.16	1H	m	-	C-1, C-3, C-4, C-10, C-15	-
3	35.68	1.04 - 1.16	1H	m	3-H <sub>b</sub> , 4-CH <sub>2</sub>	-	-
		1.61 - 1.66	1H	m	3-H <sub>a</sub> , 4-CH <sub>2</sub>	C-1, C-2, C-4, C-5, C-6, C-10, C-11, C-15	-
4	32.39	1.43 - 1.55	1H	m	3-CH <sub>2</sub> , 4-H <sub>b</sub> , 5-H	C-2, C-3, C-5	12-H <sub>a</sub>
		1.66 - 1.75	1H	m	3-CH <sub>2</sub> , 4-H <sub>b</sub> , 5-H	-	-
5	51.81	2.54	1H	d	1-H, 4-CH <sub>2</sub> , 7-H	C-1, C-3, C-4, C-6, C-7, C-11, C-12, C-13	7-H, 12-H <sub>a</sub> , 13-CH <sub>3</sub>
6	140.35	-	-	-	-	-	-
7	126.43	5.34	1H	s	8-H, 13-CH <sub>3</sub> , 14-CH <sub>3</sub>	C-1, C-5, C-8, C-9, C-14	5-H, 8-H, 12-CH <sub>2</sub> , 13-CH <sub>3</sub> , 14-CH <sub>3</sub>
8	31.23	2.06 - 2.15	1H	m	7-H, 9-CH <sub>2</sub> , 14-CH <sub>3</sub>	C-6, C-7, C-9, C-10, C-14	7-H, 14-CH <sub>3</sub>
9	31.46	0.99 - 1.04	1H	m	8-H, 9-H <sub>b</sub> , 10-CH <sub>2</sub>	C-1, C-7, C-10, C-14	-
		1.66 - 1.75	1H	m	8-H, 9-H <sub>a</sub> , 10-CH <sub>2</sub>	-	-
10	29.18	1.04 - 1.16	1H	m	1-H, 9-CH <sub>2</sub> , 10-H <sub>b</sub>	-	-
		1.94 - 2.01	1H	m	9-CH <sub>2</sub> , 10-H <sub>a</sub>	C-1, C-2, C-6, C-7, C-8	15-CH <sub>3</sub>
11	147.74	-	-	-	-	-	-
12	112.24	4.91	1H	s (m)	12-H <sub>b</sub> , 13-CH <sub>3</sub>	C-5, C-6, C-11, C-13	4-H <sub>a/b</sub> , 5-H, 7-H, 13-CH <sub>3</sub>
		5.03	1H	s (m)	12-H <sub>a</sub> , 13-CH <sub>3</sub>	C-6, C-11, C-13	7-H, 13-CH <sub>3</sub>
13	22.02	1.79	3H	s	7-H, 12-CH <sub>2</sub>	C-5, C-6, C-11, C-12	5-H, 7-H, 12-CH <sub>2</sub>
14	22.43	0.97	3H	d, J = 6.9	7-H, 8-H	C-6, C-7, C-8, C-9	7-H, 8-H
15	20.35	0.90	3H	d, J = 6.0	2-H, 3-CH <sub>2</sub>	C-1, C-2, C-3, C-4	1-H, 3-H <sub>a</sub> , 10-H <sub>a</sub>

**Tabelle 49:** Chemische Verschiebungen der Kohlenstoffatome und Protonen sowie enthaltene Kopplungskonstanten [<sup>1</sup>H: 500 MHz bzw. <sup>13</sup>C: 100.6 MHz, Benzol-*d*<sub>6</sub>]. Die Kopplungen im <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-, HMBC- und NOESY-Spektrum sind angegeben.

Ausgangspunkt für die Diskussion der NMR-Daten zur Strukturaufklärung des vorliegenden

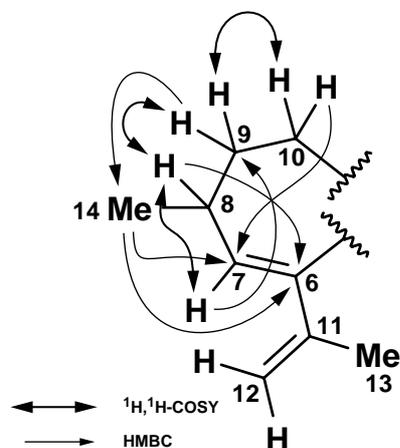


**Abbildung 144:** Partialstruktur einer Isopropenylgruppe, die aus den HMBC-Daten abgeleitet wurde.

Sesquiterpens ist das sp<sup>2</sup>-hybridisierte Kohlenstoffatom C-12 ( $\delta_{\text{CH}_2} = 4.91$  und  $5.03$  ppm /  $\delta_{\text{C}} = 112.24$  ppm), das anhand des HMBC-Spektrums als Bindungsnachbar zum quartären, olefinischen Kohlenstoffatom C<sub>q</sub>-11 ( $\delta_{\text{C}} = 147.74$  ppm) auszumachen ist. 12-CH<sub>2</sub> und die Methylgruppe 13-CH<sub>3</sub> ( $\delta_{\text{H}} = 1.79$  ppm) sind über C<sub>q</sub>-11 zu einer Isopropenylgruppe gebunden. Das Singulett zeigt eindeutig deren Bindung an einem quartären Kohlenstoffatom. Beide Gruppen, sowohl die olefinische Methylengruppe als auch die Methylgruppe 13-CH<sub>3</sub>, zeigen Vicinalkopplungen (<sup>3</sup>J<sub>H,C</sub>-Kopplungen) zu einem weiteren quartären, olefinischen Kohlenstoffatom ( $\delta_{\text{C}_q-6} = 140.35$  ppm), das mit dem olefinischen Kohlenstoffatom C-7 ( $\delta_{\text{C}} = 126.43$  /  $\delta_{\text{H}} = 5.34$  ppm)

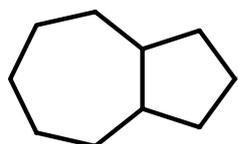
die zweite Doppelbindung bildet. Es kann damit das in Abbildung 144 wiedergegebene konjugierte Dien als erste Substruktur abgeleitet werden.

Unmittelbar benachbart zu 7-H ist das Methinproton 8-H ( $\delta_{\text{H}} = 2.11$  ppm), an dessen Kohlenstoffatom C-8 die Methylgruppe 14-CH<sub>3</sub> ( $\delta_{\text{H}} = 0.97$  /  $\delta_{\text{C}} = 22.43$  ppm) gebunden ist. Diese Methylgruppe kann ihre Umgebung durch Kopplungen im HMBC-Spektrum identifizieren. So koppeln deren Protonen zum benachbarten Kohlenstoffatom (C-8), aber auch in die Doppelbindung von C<sub>q</sub>-6 und C-7 und zu einer weiteren Methylengruppe (9-CH<sub>2</sub>;  $\delta_{\text{C-9}} = 31.46$  ppm). Die HMBC-Daten werden durch Kopplungen im <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum gestützt. Es können anhand der intensiven Kopplungen von 8-H mit dem Methinproton 7-H und den Protonen der Methylengruppe 9-CH<sub>2</sub> diese Gruppen als unmittelbare Nachbarn dieses Protons identifiziert werden. 9-CH<sub>2</sub> wiederum weist zusätzliche <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-Kopplungen zu den benachbarten Protonen von 10-CH<sub>2</sub> ( $\delta_{\text{H}} = 1.10$  und 1.98 ppm /  $\delta_{\text{C}} = 29.18$  ppm) auf, die diese beiden Methylengruppen eindeutig als benachbarte Gruppen identifizieren (s. Abbildung 145).



**Abbildung 145:** Weitere Strukturinformationen, die den <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H- und HMBC-Spektren zu entnehmen sind.

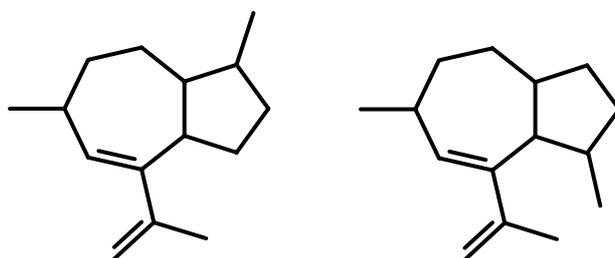
Wird die in Abbildung 145 hergeleitete Substruktur zu Grunde gelegt, muss das restliche Molekül eine Methyl-, zwei Methylen- sowie drei Methingruppen enthalten. Da es sich um ein bicyclisches System handelt, kann anhand der bisher abgeleiteten Struktur wahrscheinlich von einem Siebenring mit anellierten Fünfring, also einem Bicyclo[5.3.0]decan-Grundgerüst, ausgegangen werden (s. kleine Abbildung).



Molekül eine Methyl-, zwei Methylen- sowie drei Methingruppen enthalten. Da es sich um ein bicyclisches System handelt, kann anhand der bisher abgeleiteten Struktur wahrscheinlich von einem Siebenring mit anellierten Fünfring, also einem Bicyclo[5.3.0]decan-Grundgerüst, ausgegangen werden (s. kleine Abbildung).

Das <sup>1</sup>H-NMR-Signal der verbleibenden Methylgruppe 15-CH<sub>3</sub> ist zu einem Dublett aufgespalten, was eindeutig darauf hinweist, dass diese an einem tertiären und nicht an einem ringverbrückendem Kohlenstoffatom, welches dann quartärer Natur wäre, geknüpft ist. Das <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum enthält zudem Informationen über die verbleibenden Methylengruppen (3-CH<sub>2</sub> und 4-CH<sub>2</sub>), deren vier Protonen untereinander starke Kopplungen zeigen und somit benachbart sein müssen. Geht man wiederum von dem bereits postulierten Bicyclo[5.3.0]decan-Grundgerüst aus, kann die Methylgruppe 15-CH<sub>3</sub> und dessen benachbartes Kohlenstoffatom C-2 im Fünfring nur direkt neben einem der beiden Brückenkopf-

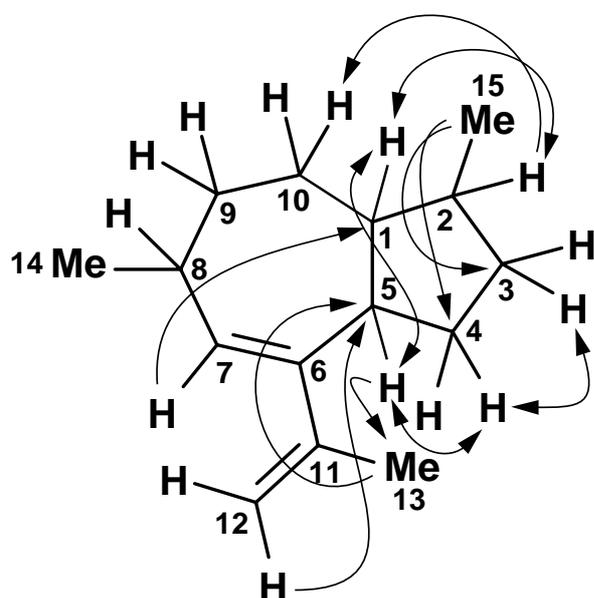
atome gebunden sein (s. Abbildung 146). Deren Position im Molekül konnte wiederum anhand zweidimensionaler NMR-Spektren geklärt werden.



**Abbildung 146:** Die Position der Methylgruppe 15-CH<sub>3</sub> im Fünfring kann sich aufgrund der benachbarten Methylengruppen 3-CH<sub>2</sub> und 4-CH<sub>2</sub> im Fünfring nur direkt neben einem der Brückenkopf-atome befinden.

Zunächst muss die Lage der zwei verbleibenden Brückenkopfprotonen 1-H und 5-H innerhalb des Moleküls, die aufgrund eines starken Kreuzsignals im <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum benachbart sind, anhand des HMBC-Spektrums eindeutig zugeordnet werden.

Hierbei sind die Kopplungen der Methylgruppe 15-CH<sub>3</sub> in den Fünfring sowie <sup>4</sup>J<sub>H,C</sub>-Kopp-



**Abbildung 147:** Wichtige Kopplungen im <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H- und HMBC-Spektrum, die die Struktur des Fünfrings und die Verknüpfung mit dem Siebenring zum Bicyclo[5.3.0]decan-Grundgerüst verdeutlichen.

Kopplungen von der Methylgruppe 15-CH<sub>3</sub> zu C-5 fehlen vollständig.

lungen der in der Isopropylgruppe befindlichen Methyl- (13-CH<sub>3</sub>) und der olefinischen Methylengruppe (12-CH<sub>2</sub>) zu einem der beiden Brückenkopf-atome hilfreich (s. Abbildung 147).

Die erwähnten <sup>4</sup>J<sub>H,C</sub>-Kopplungen der in der Isopropenylgruppe gebundenen Protonen erkennen das tertiäre Kohlenstoffatom bei  $\delta_C = 51.81$  ppm mit dem entsprechenden Proton bei  $\delta_H = 2.54$  ppm (Dublett). Es handelt sich demnach bei diesem Kohlenstoffatom um C-5.

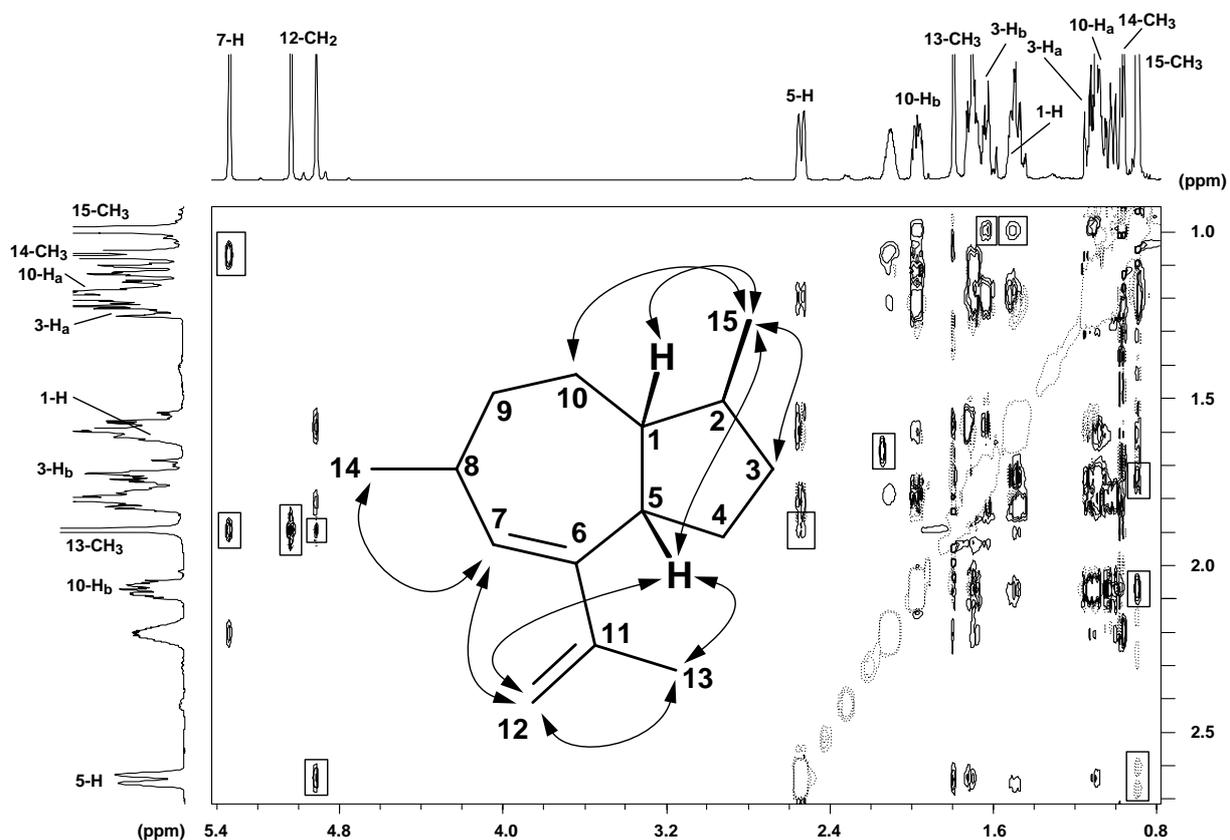
Bei den Kopplungen der Methylgruppe 15-CH<sub>3</sub> handelt es sich um <sup>3</sup>J<sub>H,C</sub>-Kopplungen zu C-1 und C-3 sowie <sup>4</sup>J<sub>H,C</sub>-Kopplungen zu

Auf der Basis dieser Interpretation, die alle NMR-Daten einbezieht, konnte für das vorliegende Grundgerüst die in Abbildung 146 links gezeigte Struktur festgelegt werden. Es handelt sich demnach um ein 1,6,8-trisubstituiertes Bicyclo[5.3.0]decan-Grundgerüst.

Zusätzlich liefert 5-H anhand des  $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY-Spektrums durch sein im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum separiertes Signal bei  $\delta_{\text{H}} = 2.54$  ppm wertvolle Strukturinformationen. Neben einer Kopplung zum benachbarten Methinproton 1-H, ist eine Allylkopplung mit 7-H zu erkennen. Die wichtigsten Informationen liefern die Kopplungen zu den beiden Methylenprotonen von 4- $\text{CH}_2$ .

Somit sind das Bindungssystem des Fünfrings und die Verknüpfungen zum Siebenring geklärt.

Die relative Konfiguration wurde anhand von NOESY-Daten ermittelt.

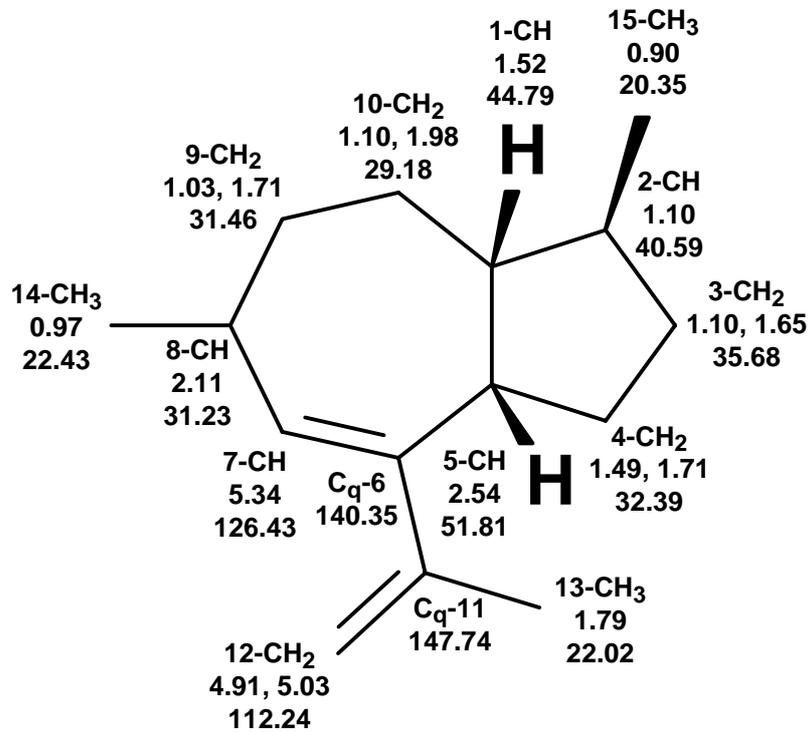


**Abbildung 148:** Ausschnitt aus dem NOESY-Spektrum von **200** [500 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Wichtige NOESY-Wechselwirkungen sind markiert.

Zunächst konnte anhand des NOESY-Spektrums die chemische Umgebung der Isopropenyl- und der beiden Methylgruppen bestimmt bzw. mit den bereits gewonnenen Daten verglichen werden.



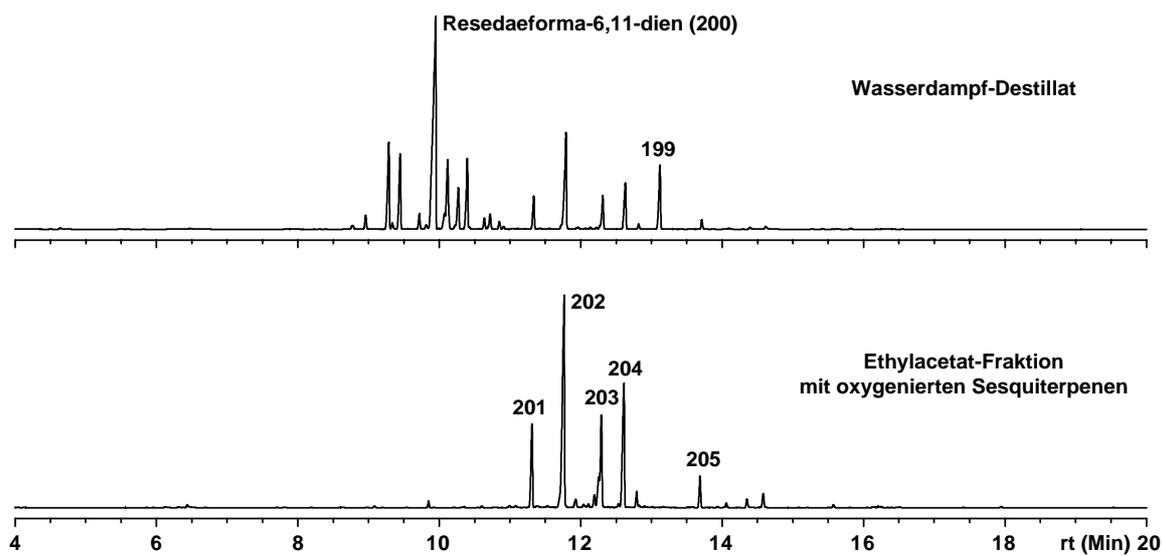
Abbildung 150 zeigt Resedaeforma-6,11-dien (**200**) und die chemischen Verschiebungen der einzelnen Kohlenstoffatome sowie die der enthaltenen Protonen.



**Abbildung 150:** Chemische Verschiebungen der Protonen und Kohlenstoffatome von Resedaeforma-6,11-dien (**200**)

## 9.4. Oxygenierte Verbindungen aus *P. resedaeformis*

Die nach Chromatographie des Wasserdampfdestillates erhaltene Ethylacetat-Fraktion enthält fünf Verbindungen (**201** - **205**, Abbildung 151), die durch präparative Gaschromatographie getrennt und deren atomare Zusammensetzungen durch hochauflösende Massenspektrometrie bestimmt werden konnten.



**Abbildung 151:** Chromatographierte Ethylacetat-Fraktion, die fünf oxygenierte Verbindungen enthält (**201** - **205**) [Säule: HP-1, 30 m, Temperaturprogramm: 50 °C, 3 °C/min, 300 °C]

Da die Massenspektren nur wenige Informationen über deren Strukturen lieferten, wurde die vollständige NMR-spektroskopische Strukturaufklärung angestrebt. Unter Zuhilfenahme ein- und zweidimensionaler NMR-Spektren konnte anhand der massenspektrometrischen Hochauflösungsdaten die in den einzelnen Molekülen enthaltenen Doppelbindungsäquivalente, Doppelbindungen und Ringe (s. Tabelle 50) ermittelt werden. Bei den ersten vier Verbindungen handelt es sich um Sesquiterpenalkohole mit drei bzw. vier Doppelbindungsäquivalenten. Drei von ihnen sind bicyclisch (**202**, **203** und **204**) und eine tricyclisch (**202**)\*. Anhand ihres chromatographischen Verhaltens und ihrer Massenspektren können die Verbindungen eindeutig als Alkohole identifiziert und z. B. Etherstrukturen ausgeschlossen werden.

Für **205** kann anhand der NMR-Daten die Struktur eines Acetates eines bicyclischen Sesquiterpenalkohols festgestellt werden.

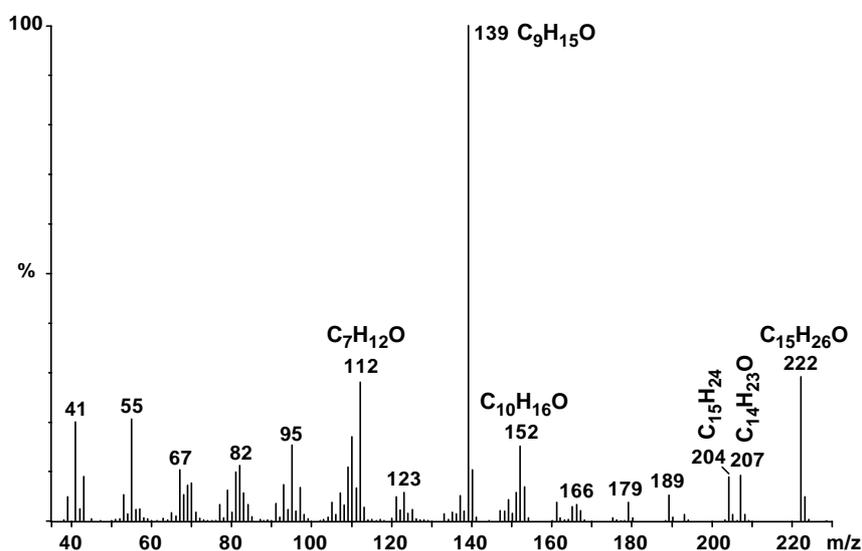
\* Aufgrund zu geringer Substanzmenge, konnten für die tricyclische Verbindung keine aussagekräftigen NMR-Daten erhalten werden. Es wird nur das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum abgebildet.

	Masse	Scan	Retentions-index	Summen-formel	Doppelbindungs-äquivalente	Anzahl Doppelbindungen	Anzahl Ringe
<b>201</b>	222	789	1503	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	3	1	2
<b>202</b>	220	827	1540	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	4	1	3
<b>203</b>	222	877	1589	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	3	1	2
<b>204</b>	220	903	1615	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	4	2	2
<b>205</b>	262	997	1710	C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	5	3	2

**Tabelle 50:** Daten der hochaufgelösten Massenspektren für die Verbindungen **201** - **205**.

### 9.4.1. Strukturaufklärung des Sesquiterpenalkohols **201**

Bei **201** handelt es sich um einen Sesquiterpenalkohol mit der Summenformel C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O und der Masse von 222 g/mol, dessen Massenspektrum in Abbildung 152 gezeigt ist.

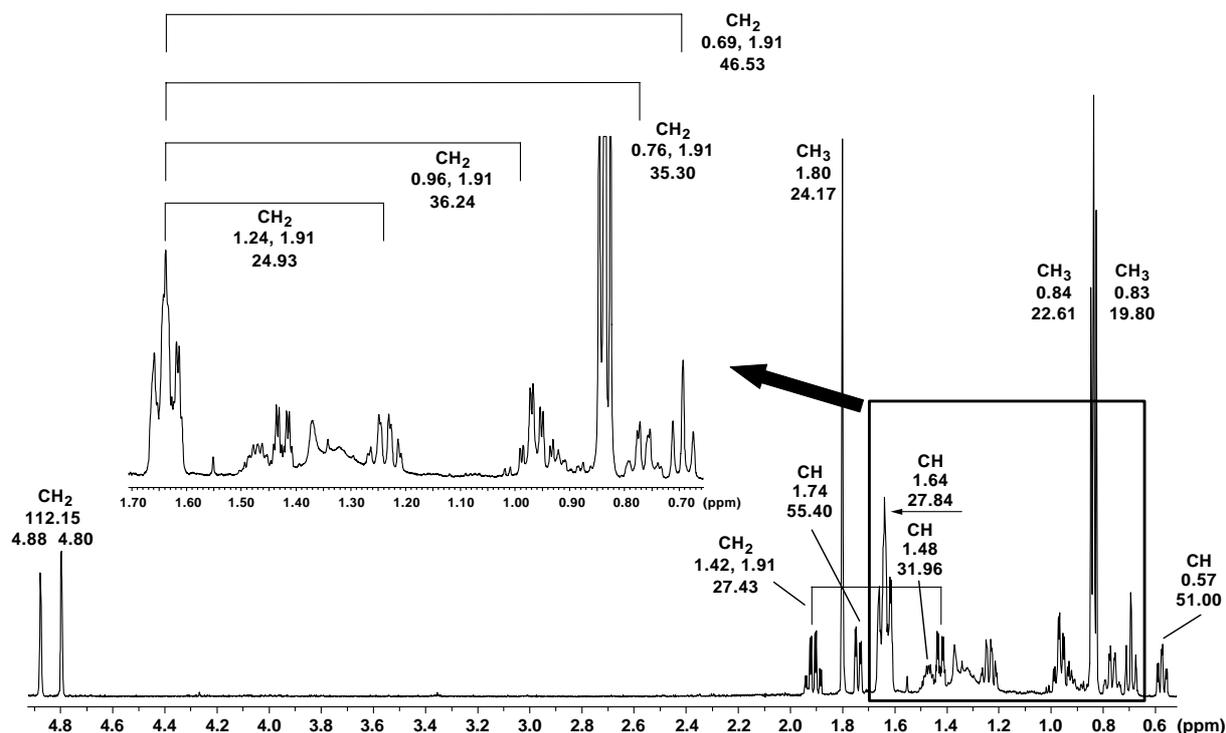


**Abbildung 152:** Massenspektrum von **201** (EI, 70 eV)

[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summen-formel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungs-äquivalente
222	222.197	222.198	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	1.8	8.2	3
207	207.173	207.175	C <sub>14</sub> H <sub>23</sub> O	1.4	7.0	3.5
204	204.186	204.188	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1.8	8.8	4.0
189	189.164	189.164	C <sub>14</sub> H <sub>21</sub>	0.7	4.0	4.5
152	152.119	152.120	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	1.3	8.8	3.0
139	139.115	139.112	C <sub>9</sub> H <sub>15</sub> O	- 2.3	- 16.8	2.5
112	112.092	112.089	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O	- 3.4	- 30.1	2.0
95	95.085	95.086	C <sub>7</sub> H <sub>11</sub>	1.2	12.2	2.5
69	69.071	69.070	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub>	- 0.1	- 1.4	1.5
55	55.056	55.055	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub>	- 1.0	- 17.9	1.5
41	41.040	41.099	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub>	- 0.4	- 9.5	1.5

**Tabelle 51:** Atomare Zusammensetzung des Molekülions und wichtiger Fragmentionen von **201**

Abbildung 153 zeigt das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **201**.



**Abbildung 153:**  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Sesquiterpenalkohols **201** [700 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Die chemischen Verschiebungen der Protonen und Kohlenstoffatome sind angegeben. Der Ausschnitt von 0.65 - 1.7 ppm ist vergrößert dargestellt.

Durch Integration der Signale sowie Abgleich mit dem HSQC-Spektrum werden in dieser Verbindung zwei Methylgruppen bei  $\delta_{\text{H}} = 0.83$  und  $0.84$  ppm nachgewiesen, die jeweils zu einem Dublett aufspalten. Eine Methylgruppe bei  $\delta_{\text{H}} = 1.80$  ppm tritt als Singulett auf. Des Weiteren sind fünf  $\text{sp}^3$ -hybridisierte Methylengruppen im HSQC-Spektrum bei  $\delta_{\text{C}} = 24.93$ ,  $27.43$ ,  $35.30$ ,  $36.24$  und  $46.53$  ppm erkennbar. Zusätzlich ist eine  $\text{sp}^2$ -hybridisierte Methylengruppe bei  $\delta_{\text{C}} = 112.15$  ppm und deren Protonen bei  $4.80$  bzw.  $4.88$  ppm sichtbar. Das Spektrum wird durch vier aliphatische Methinprotonen bei  $\delta_{\text{H}} = 0.57$ ,  $1.48$ ,  $1.64$  und  $1.74$  ppm abgerundet.

Das HMBC-Spektrum liefert die Information, dass zwei quartäre Kohlenstoffatome in dieser Verbindung enthalten sind. Mit einer charakteristischen Verschiebung von  $\delta_{\text{C}} = 71.64$  ppm ist eines der Kohlenstoffatome eindeutig an einem Sauerstoffatom (s. Hochauflösung) gebunden. Bei  $\delta_{\text{C}} = 148.09$  ppm ist das zweite quartäre und  $\text{sp}^2$ -hybridisierte Kohlenstoffatom zu finden, das mit der olefinischen Methylengruppe ( $\delta_{\text{C}} = 112.15$  ppm) eine Doppelbindung ausbildet.

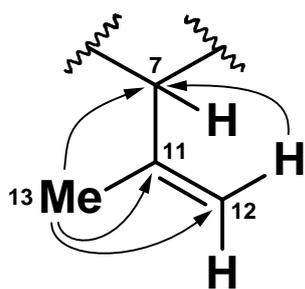
Anhand dieser NMR-Daten lässt sich erkennen, dass nur ein Kohlenstoffatom sauerstoffgebunden ist. Da dieses ein quartäres Kohlenstoffatom ist, kann es sich bei dieser Verbindung nur um einen tertiären Alkohol handeln.

Durch hochaufgelöste Massenspektrometrie sind in dieser Verbindung drei Doppelbindungsäquivalente und durch das  $^1\text{H}$ -NMR- bzw. HMBC-Spektrum eine Doppelbindung nachweisbar. Damit weist **201** eine bicyclische Struktur auf. Tabelle 52 zeigt die Verschiebungen der im Molekül identifizierten Protonen und Kohlenstoffatome.

Pos.	$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ ) [ppm]	$\delta$ ( $^1\text{H}$ ) [ppm]	Int.	$J$ [Hz]	$^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY	HMBC	NOESY
1	51.0	0.55 - 0.60 (axial)	1H	ddd (dt) $^3J_{\text{H,H}} = 11.3$ (2) $^3J_{\text{H,H}} = 3.5$	2-H <sub>a</sub> , 10-H	C-2, C-3, C-10, C-14	3-H <sub>a</sub> , 5-H <sub>a</sub> , 7-H, 9-H <sub>a</sub> , 14-CH <sub>3</sub>
2	24.93	1.20 - 1.27	1H	m	1-H, 3-H <sub>a</sub>	C-3, C-4	-
		1.60 - 1.67	1H	m	-	-	-
3	35.30	0.73 - 0.80	1H	m	2-H <sub>a</sub>	C-2, C-4	15-CH <sub>3</sub>
		1.60 - 1.67	1H	m	-	-	-
4	27.84	1.60 - 1.67	1H	m	-	-	-
5	46.53	0.67 - 0.72 (axial)	1H	dd (t) $^2J_{\text{H,H}} = 13.0$ $^3J_{\text{H,H}} = 13.0$	-	C-3, C-4, C-15	1-H, 7-H, 15-CH <sub>3</sub>
		1.60 - 1.67 (äquatorial)	1H	m	-	-	-
6	71.64	-	C <sub>q</sub> -OH	-	-	-	-
7	55.40	1.72 - 1.76 (axial)	1H	dd $^3J_{\text{H,H}} = 13.0$ $^3J_{\text{H,H}} = 3.3$	-	C-6, C-8, C-9, C-15	1-H, 5-H <sub>a</sub> , 9-H <sub>a</sub>
8	27.43	1.40 - 1.44 (äquatorial)	1H	m	7-H, 8-H <sub>b</sub> , 9-H <sub>a</sub>	C-6, C-7, C-9, C-10	-
		1.88 - 1.95 (axial)	1H	dddd (dq) $^2J_{\text{H,H}} = 13.0$ $^3J_{\text{H,H}} = 13.0$ (2) $^3J_{\text{H,H}} = 3.9$	7-H, 8-H <sub>a</sub> , 9-H <sub>a</sub>	C-6, C-7, C-9, C-10	-
9	36.24	0.94 - 1.00	1H	m	8-CH <sub>2</sub> , 10-H	C-1, C-7, C-8, C-10	1-H, 7-H, 14-CH <sub>3</sub>
		1.60 - 1.67	1H	m	-	-	-
10	31.96	1.44 - 1.51	1H	m	1-H, 9-H <sub>a</sub> , 14-CH <sub>3</sub>	C-9, C-14	-
11	148.09	-	-	-	-	-	-
12	112.15	4.80	1H	br s	-	C-7, C-13	7-H, 8-H <sub>b</sub>
		4.88	1H	br s	-	C-7, C-13	5-H <sub>a</sub> , 13-CH <sub>3</sub>
13	24.17	1.80	3H	s	-	C-6, C-7, C-11, C-12	5-H <sub>a</sub> , 8-CH <sub>2</sub>
14	19.80	0.83 (äquatorial)	3H	d, $J = 6.8$	9-H <sub>a</sub> , 10-H	C-1, C-9, C-10	1-H, 9-H <sub>a</sub>
15	22.61	0.84 (äquatorial)	3H	d, $J = 7.7$	4-H	C-3, C-4, C-5	3-H <sub>a</sub> , 5-H <sub>a</sub>

**Tabelle 52:** Chemische Verschiebungen der Kohlenstoffatome (aus HSQC- und HMBC-Spektrum) und Protonen sowie enthaltene Kopplungskonstanten [700 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Die Kopplungen im  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-, HMBC- und NOESY-Spektrum sind angegeben.

Als erste Teilstruktur konnte eine Isopropenylgruppe identifiziert werden. Diese enthält die



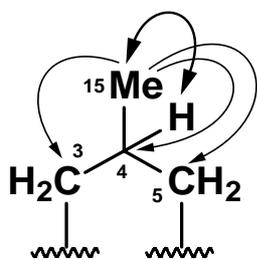
**Abbildung 154:** Strukturaufklärung einer enthaltenen Isopropenylgruppe

Methylgruppe 13-CH<sub>3</sub> ( $\delta_{\text{H}} = 1.80 / \delta_{\text{C}} = 24.17$  ppm) und die bereits erwähnte Doppelbindung. Auf Grund der Singulettstruktur und fehlender Kopplungspartner von 13-CH<sub>3</sub> im <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum sowie intensiver Kopplungen im HMBC-Spektrum zum quartären Kohlenstoffatom C<sub>q</sub>-11 ( $\delta_{\text{C}} = 148.09$  ppm) und zu der daran gebundenen sp<sup>2</sup>-hybridisierten Methylengruppe bei  $\delta_{\text{C}} = 112.15$  ppm (12-CH<sub>2</sub>) konnten diese Strukturelemente einer Isopropenylgruppe zugeordnet werden. Des Weiteren konnten aus den HMBC-Signalen

von 13-CH<sub>3</sub> zwei weitere benachbarte Kohlenstoffatome identifiziert werden. Es existieren ein intensives Kreuzsignal zu einem tertiären Kohlenstoffatom C-7 ( $\delta_{\text{C}} = 55.40$  ppm) und eine schwache Kopplung zu einem quartären, die Hydroxylgruppe tragenden, Kohlenstoffatom bei  $\delta_{\text{C}} = 71.64$  ppm. Gestützt werden diese Verknüpfungen durch Kopplungen im HMBC-Spektrum der ungesättigten Protonen zum Kohlenstoffatom C-7, das Bestandteil eines der Ringe sein muss.

Daneben sind im Molekül noch zwei weitere Methylgruppen enthalten, so dass das bicyclische Grundgerüst aus zehn Kohlenstoffatomen bestehen muss.

Im nächsten Schritt kann die chemische Umgebung der zwei weiteren Methylgruppen



**Abbildung 155:** Die chemische Umgebung der Methylgruppen 14- und 15-CH<sub>3</sub>.

(14- und 15-CH<sub>3</sub>) geklärt werden. Da beide jeweils zu einem Dublett aufspalten, liegt die Vermutung nahe, dass sie an tertiäre Kohlenstoffatome gebunden sind. Die Methylgruppe 15-CH<sub>3</sub> kann über das HMBC-Spektrum eindeutig benachbart zur CH-Gruppe ( $\delta_{\text{C-4}} = 27.84$  ppm) angeordnet werden (s. Abbildung 155 links). Ein intensives Kreuzsignal zwischen den Protonen der Methylgruppe und dem Methinproton im <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum belegt diese Teilstruktur. Ausgehend von der Methylgruppe zeigen weitere Kopplungen im HMBC-Spektrum zwei Methylengruppen ( $\delta_{3\text{-CH}_2} = 35.30$  und  $\delta_{5\text{-CH}_2} = 46.53$  ppm) als direkte Nachbarn zu der fraglichen CH-Gruppe 4-CH.

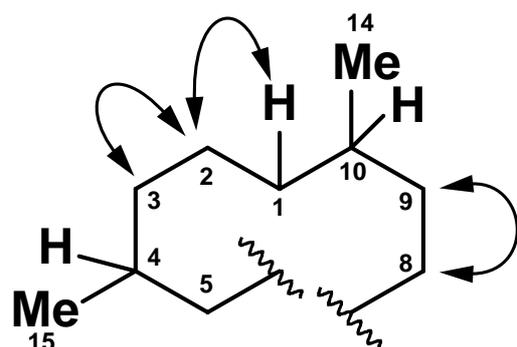
Für die Methylgruppe 14-CH<sub>3</sub> kann analog dazu über das HMBC-Spektrum die direkte Umgebung identifiziert werden. Im Gegensatz zu 15-CH<sub>3</sub> sind zwei Kohlenstoffatome ( $\delta_{\text{C-10}} = 31.96$  und  $\delta_{\text{C-1}} = 51.0$  ppm) und eine Methylengruppe ( $\delta_{9\text{-CH}_2} = 36.24$  ppm) als chemische

(14- und 15-CH<sub>3</sub>) geklärt werden. Da beide jeweils zu einem Dublett aufspalten, liegt die Vermutung nahe, dass sie an tertiäre Kohlenstoffatome gebunden sind. Die Methylgruppe 15-CH<sub>3</sub> kann über das HMBC-Spektrum eindeutig benach-

Umgebung zuzuordnen. Der direkte Nachbar von 14-CH<sub>3</sub> kann wiederum zweifelsfrei über das <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum als das Methinproton 10-H ( $\delta_{\text{H}} = 1.48 \text{ ppm} / \delta_{\text{C}} = 31.96 \text{ ppm}$ ) zugeordnet werden. Bei dem zu 10-H benachbarten Methinproton handelt es sich um 1-H ( $\delta_{\text{H}} = 0.57 / \delta_{\text{C}} = 51.00 \text{ ppm}$ ) und bei der Methylengruppe um 9-CH<sub>2</sub> ( $\delta_{\text{C}} = 36.24 \text{ ppm}$ ).

Somit wurden bisher alle Atome bis auf zwei Methylengruppen ( $\delta_{\text{C}} = 24.93$  und  $27.43 \text{ ppm}$ ) und das quartäre Kohlenstoffatom bei  $\delta_{\text{C}} = 71.64 \text{ ppm}$  diskutiert.

Weitere Informationen liefert das <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum, durch das die beiden noch aus-



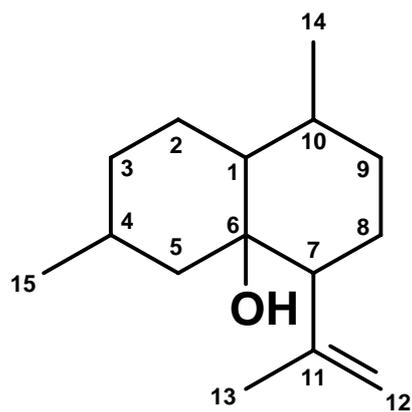
**Abbildung 156:** Über das <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum identifizierte, benachbarte Protonen

stehenden Methylengruppen zugeordnet werden können. Die Protonen der Methylengruppe 3-CH<sub>2</sub> ( $\delta_{\text{C}} = 35.30 \text{ ppm}$ ) sind über das <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum denen bei 2-CH<sub>2</sub> ( $\delta_{\text{H}} = 24.93 \text{ ppm}$ ) als benachbart zuzuordnen. Die zweite noch nicht zugeordnete Methylengruppe ( $\delta_{\text{H}} = 27.43 \text{ ppm}$ ) kann ebenfalls über das zweidimensionale <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum als unmittelbarer Nachbar der bereits diskutierten Methylengruppe 9-CH<sub>2</sub> ( $\delta_{\text{H}} = 36.24 \text{ ppm}$ ) identifiziert werden.

Ein Bindeglied bei den bisher diskutierten Substrukturen stellt das Proton 1-H dar, das eindeutig anhand des <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrums als unmittelbarer Nachbar der Methylengruppe 2-CH<sub>2</sub> ( $\delta_{\text{C}} = 24.93 \text{ ppm}$ ) auftritt. Somit ist jetzt bereits das in Abbildung 156 gezeigte Strukturschema festgelegt.

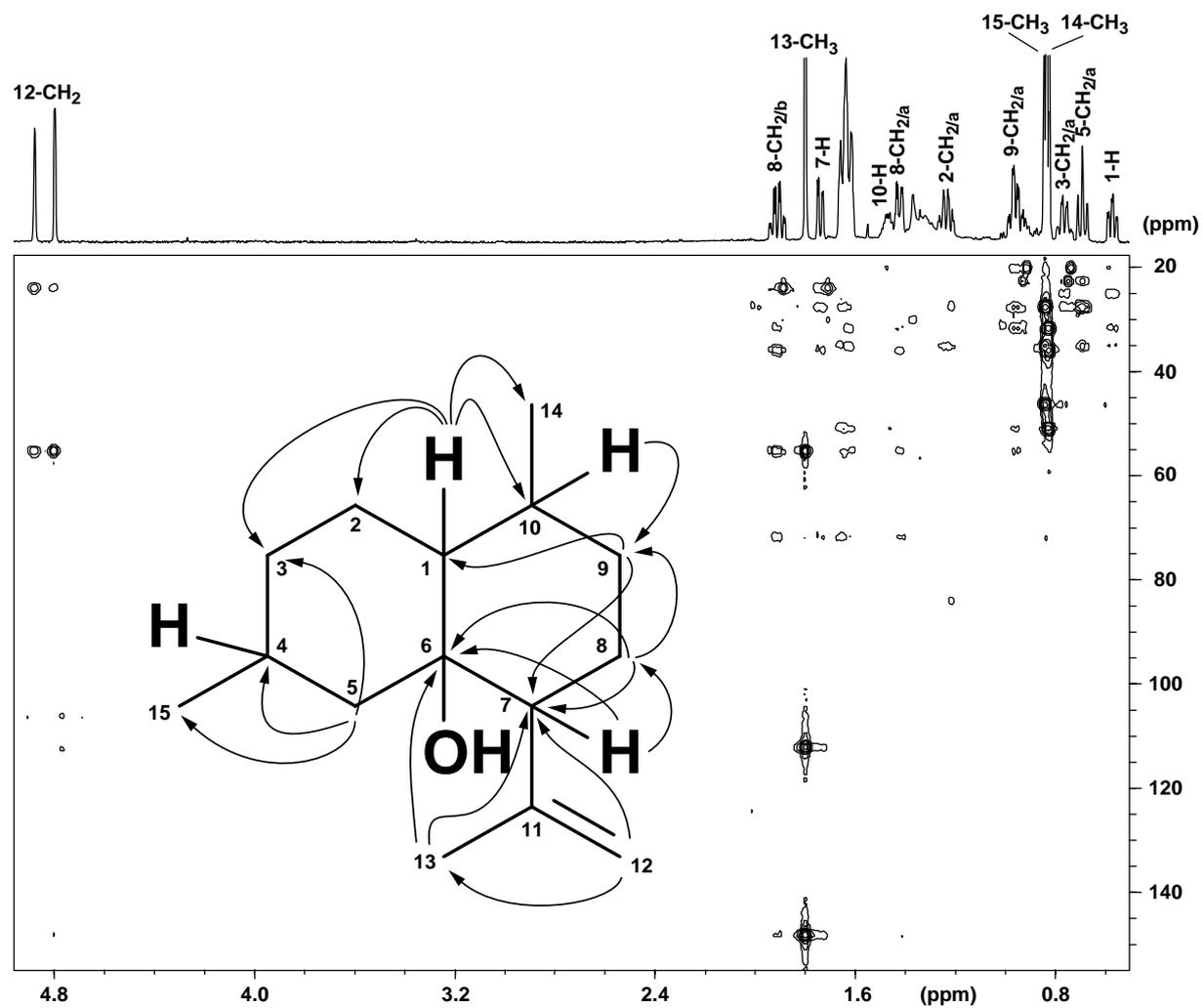
Anhand von Abbildung 157 wird klar, wie die Isopropenylgruppe und das quartäre Kohlenstoffatom, das die Hydroxy-Funktion trägt, mit der hergeleiteten Substruktur zu einer plausiblen Gesamtstruktur zusammengefügt werden kann.

Die hier verwendete Nummerierung der Sesquiterpen-Grundgerüste bezieht sich wie bei den Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffen auf die in dem Standardwerk von D. Joulain und W. A. König gezeigten Grundgerüste<sup>165</sup>, wobei darauf hingewiesen sei, dass diese Nomenklatur wiederum von der IUPAC-Nomenklatur abweicht und auch in der Literatur keine einheitliche Bezeichnung der Sesquiterpene verwendet wird.



**Abbildung 157:** Das über zweidimensionale NMR-Spektren hergeleitete Grundgerüst von **201**.

Zusätzlich sind die wichtigsten Kopplungen im HMBC-Spektrum, die zur Strukturaufklärung beitragen, in Abbildung 158 dargestellt.



**Abbildung 158:** HMBC-Spektrum des Alkohols **201** [700 MHz, Benzol- $d_6$ ].

Aus dem Protonenspektrum ist eine Reihe von Kopplungskonstanten zu entnehmen, die zur Strukturaufklärung beitragen und die das anhand zweidimensionaler NMR-Spektren postulierte Decalin-Grundgerüst (Bicyclo[4.4.0]-System) untermauern.

Die Strukturen **201** - **205** wurden eindeutig als Decalin-Derivate identifiziert und durch Betrachtungen von Kopplungskonstanten klar von Bicyclo[5.3.0]-Systemen abgegrenzt. In bestimmten Protonensignalen treten Kopplungskonstanten in der Größenordnung von ca. 13 Hz auf, die, wie Tabelle 53 verdeutlicht, nur im Cyclohexan und davon abgeleiteten Strukturen zu finden sind (Karplus-Beziehung). Es handelt sich dabei um die 1,2-*trans*-diaxialen Kopplungen (180°-Kopplungen) zwei benachbarter Protonen in einem der Ringe.

	Fünfring-Derivate $J$ [Hz]		Sechsring-Derivate $J$ [Hz]
$^2J_{\text{gem}}$	- 8 bis - 18	$^2J_{\text{gem}}$	- 11 bis - 14
$^3J_{\text{cis}}$	5 bis 10	$^3J_{\text{ax,ax}}$	<b>8 bis 13</b>
$^3J_{\text{trans}}$	5 bis 10	$^3J_{\text{äq,ax}}$	2 bis 6
		$^3J_{\text{äq,äq}}$	2 bis 5

**Tabelle 53:** Kopplungskonstanten in alicyclischen Fünfring- und Sechsring-Derivaten<sup>166</sup>

Das Signal des Protons 1-H ( $\delta_{\text{H}} = 0.58$  ppm) spaltet zu einem ddd-System auf und enthält zwei Kopplungskonstanten von je 11.3 Hz und eine von 3.5 Hz. Da das Methinproton 1-H mit drei Protonen koppelt (2-CH<sub>2a/b</sub> und 10-H), entsprechen die zwei großen Kopplungskonstanten der für gesättigte Sechsringsysteme typischen vicinalen *trans*-1,2-diaxialen Kopplungen. Diese sind in der Größenordnung von 8 bis 13 Hz anzutreffen.<sup>166</sup> Demnach muss 1-H axial angeordnet sein, das mit zwei weiteren axialen Protonen (10-H und 2-CH<sub>2/ax</sub>) und dem verbliebenen äquatorial ständigen Proton der Methylengruppe 2-CH<sub>2</sub> koppelt.

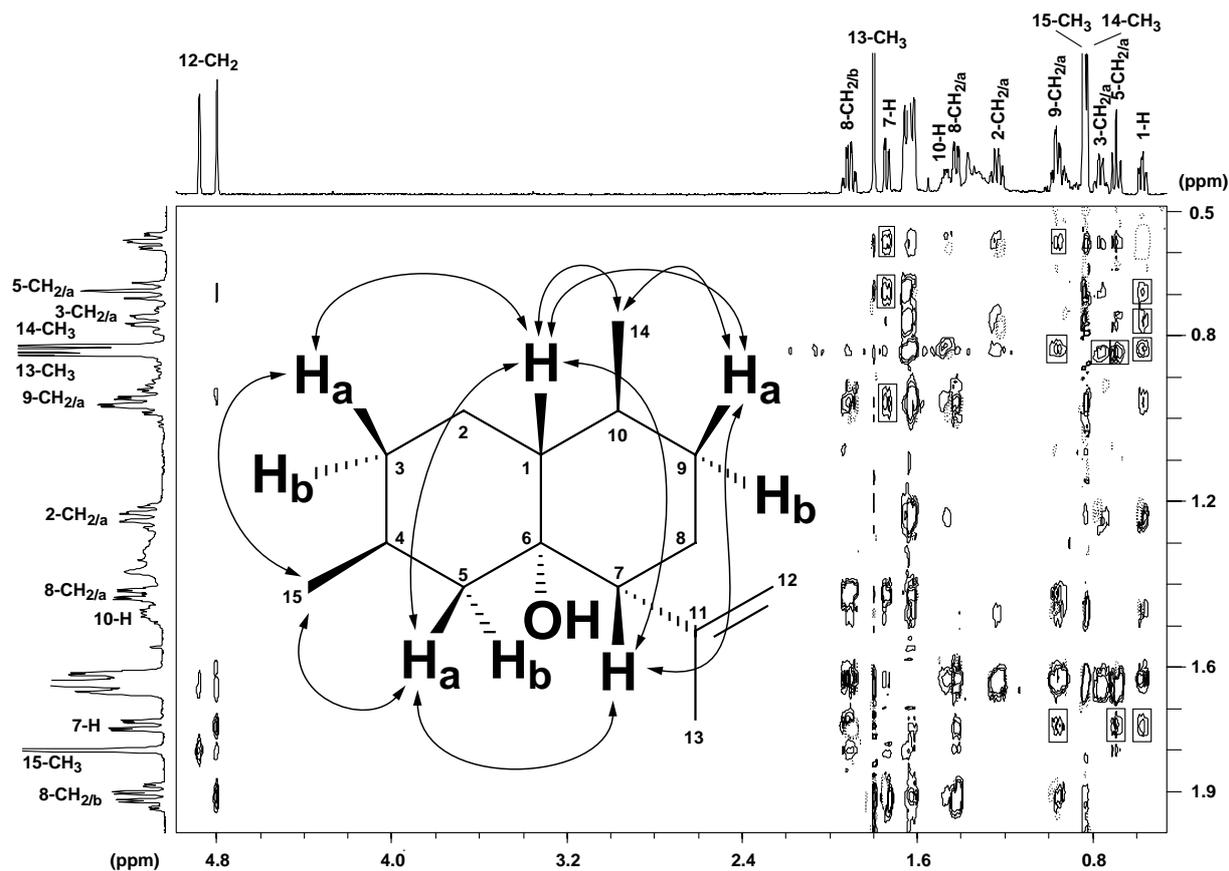
Das Proton 5-CH<sub>2/a</sub> bei  $\delta_{\text{H}} = 0.7$  ppm erzeugt ein Triplett (dd-System) mit demnach zwei gleich großen Kopplungskonstanten von je 13 Hz. Da dieses Proton nur zwei Kopplungspartner besitzt (5-CH<sub>2/b</sub> und 4-H), kann es sich hierbei wiederum nur um ein axial-ständiges Proton handeln, das eine Geminalkopplung ( $^2J_{\text{H,H}}$ -Kopplung) zu 5-CH<sub>2/b</sub> und erneut eine Vicinalkopplung ( $^3J_{\text{H,H}}$ -Kopplung) zum *trans*-1,2-diaxial-ständigen Methinproton 4-H mit gleich großem Betrag von 13 Hz erzeugt. Die Methylgruppe 15-CH<sub>3</sub> ist somit äquatorial angeordnet.

Weitere wichtige Informationen liefern die separierten Signale der beiden Protonen von 8-CH<sub>2</sub> ( $\delta_{\text{H}} = 1.42$  und 1.92 ppm) und das Signal, welches vom benachbarten Methinproton 7-H ( $\delta_{\text{H}} = 1.74$  ppm) erzeugt wird. Bei dem Signal von 7-H handelt es sich um ein klassisches dd-System mit zwei Kopplungskonstanten von 13.0 und 3.3 Hz, wobei die große Konstante

durch eine  $^3J_{\text{H,H}}$ -Kopplung mit dem axial und die kleine Kopplungskonstante mit dem äquatorial angeordneten Proton der Methylengruppe 8-CH<sub>2</sub> herrührt. 7-H ist daher ebenfalls ein axiales Proton. Diese Aussage kann man anhand von Kopplungskonstanten verifizieren, die sich in den beiden separierten Signalen von 8-CH<sub>2</sub> wieder finden lassen. Das Proton bei  $\delta_{\text{H}} = 1.92$  ppm (8-CH<sub>2/b</sub>) enthält vier Kopplungskonstanten, wovon drei mit je 13.2 Hz auftreten, bei denen es sich um eine Geminalkopplung (mit 8-CH<sub>2/a</sub>) und zwei Vicinalkopplungen handelt. Diese Kopplungen sind nur dann möglich, wenn 8-CH<sub>2/b</sub> axial angeordnet ist. Die kleine Kopplung entspricht der zum benachbarten äquatorialen Proton der Methylengruppe CH<sub>2</sub>-9. Eine korrelierbare Aussage liefern die Kopplungskonstanten im Signal 8-CH<sub>2/a</sub>, das dann nur eine äquatoriale Stellung einnehmen kann. Die große Konstante (13.2 Hz,  $^2J_{\text{H,H}}$ -Kopplung) entspricht der Geminalkopplung mit 8-CH<sub>2/ax</sub> und die drei kleinen Kopplungskonstanten von 3.3 Hz entsprechen den 1,2-äquatorial-axialen Kopplungen zu 7-H<sub>ax</sub>, 9-CH<sub>2/ax</sub> und 9-CH<sub>2/äq</sub>.

Zur Bestimmung der relativen Konfiguration wurde das NOESY-Spektrum herangezogen. Bis auf die räumliche Anordnung der Hydroxylgruppe an C-6 konnte die der restlichen Substituenten eindeutig definiert werden (s. Abbildung 159).

Ein deutlicher NOE zwischen der Methylgruppe 14-CH<sub>3</sub> und dem Methinproton 1-H beweist die relative Konfiguration an C-10. Gleichzeitig zeigt 1-H wiederum über den Sechsring einen NOE zum Methinproton 7-H, aus dem die äquatoriale Anordnung der Isopropenyl-Gruppe an C-7 folgt. Damit kann festgelegt werden, dass diese drei Gruppen auf derselben Seite des Molekül stehen müssen.

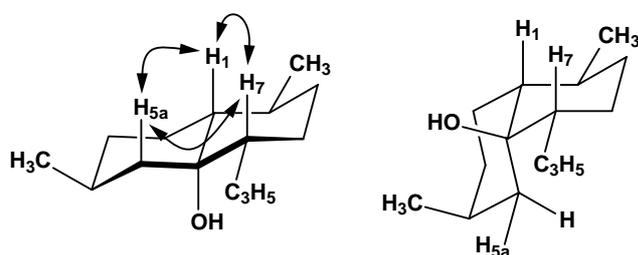


**Abbildung 159:** NOESY-Spektrum des Alkohols **201** [700 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Anhand der markierten Kreuzsignale kann die relative Konfiguration bestimmt werden.

Die Konfiguration der Methylgruppe 15-CH<sub>3</sub> lässt sich dagegen nur über Umwege über die Hochfeld verschobenen Methylenprotonen 3-H<sub>a</sub>, 5-H<sub>a</sub> und 9-H<sub>a</sub> bestimmen.

Das Proton 9-H<sub>a</sub> zeigt deutliche NOEs zu 14-CH<sub>3</sub> sowie 7-H, womit dieses ebenfalls auf der Seite dieser beiden Gruppen angeordnet ist.

1-H und 7-H weisen wiederum Wechselwirkungen mit 3-H<sub>a</sub> bzw. 5-H<sub>a</sub> auf, und gleichzeitig



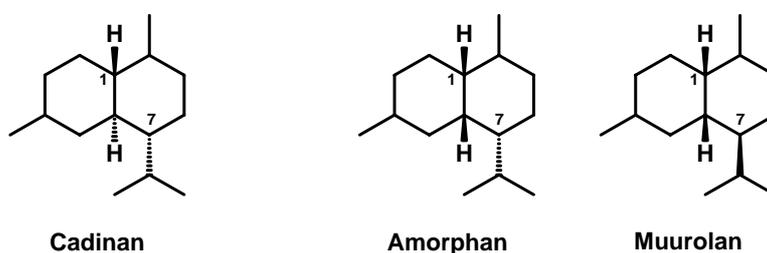
zeigt 1-H eine NOE-Wechselwirkung zu 5-H<sub>a</sub>. Da nun aber sowohl 3-H<sub>a</sub> als auch 5-H<sub>a</sub> einen deutlichen NOE zu 15-CH<sub>3</sub> zeigen, muss diese Methylgruppe ebenfalls wie 1-H, 7-H und auch 14-CH<sub>3</sub> auf einer

Seite des Moleküls angeordnet sein. Da 1-H zu einem Dublett von einem Triplet aufspaltet und zwei große *trans*-diaxiale Kopplungskonstanten von 11.3 Hz und nur eine kleine Kopplungskonstante von 3.5 Hz aufweist, zeigt dies die axiale Position dieses Protons an. Die Ringe sind auf Grund der Kopplungskonstanten des Protons 1-H am Brückenkopfatom und der NOEs in dessen Umgebung *trans*-verknüpft. Aufgrund zweier großer Kopplungs-

konstanten (13.2 Hz) im Signal von 8-H<sub>b</sub> können zwei benachbarte axiale Protonen (7-H und 9-H<sub>a</sub>) festgestellt werden, so dass die Isopropenyl-Gruppe an C-7 äquatorial und das Proton 7-H folglich axial angeordnet sein müssen.

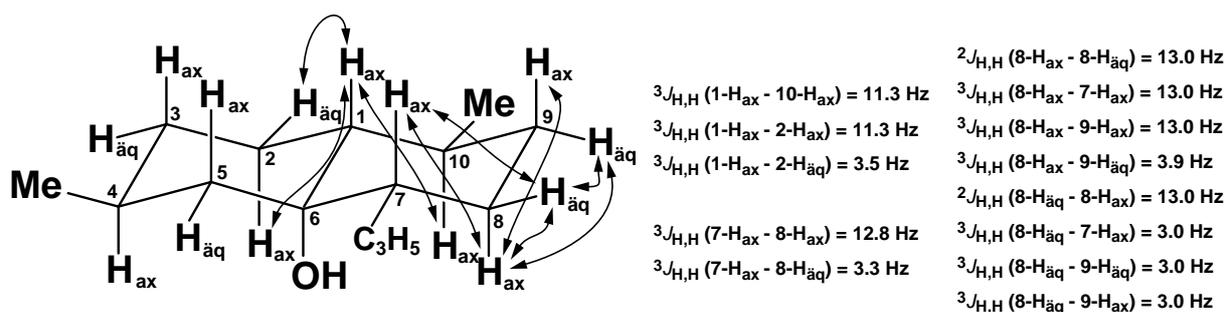
Es zeigt sich anhand dieser Diskussion eine sehr gute Übereinstimmung der aus dem NOESY-Spektrum und anhand von Kopplungskonstanten des Protonenspektrums gewonnenen Daten.

Anhand der NOE-Betrachtungen kann für **201** ein Cadinan-Grundgerüst zugrunde gelegt werden (s. Abbildung 160). Aufgrund der Substituentenanordnung scheiden sowohl ein Amorphan- als auch ein Muurolan-Grundgerüst aus.



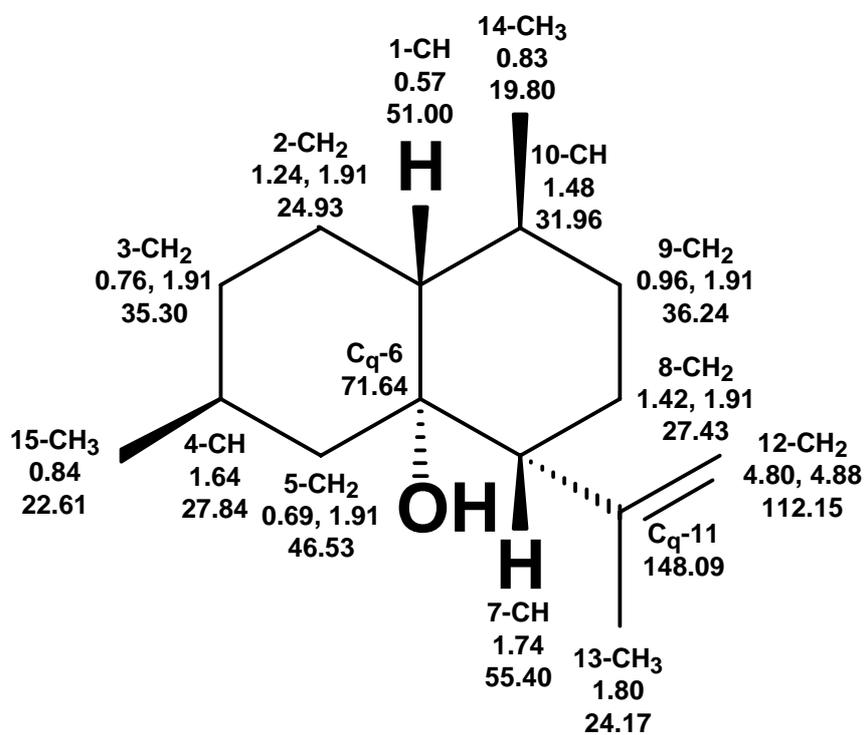
**Abbildung 160:** Für **201** kommt aufgrund von NOE-Betrachtungen nur ein Cadinan-Grundgerüst in Frage.

Mit Hilfe der aus dem Protonenspektrum entnommenen Kopplungskonstanten und der NOE-Daten kann abschließend das Decalin-Grundgerüst, wie in Abbildung 161 gezeigt, dargestellt werden.



**Abbildung 161:** Zur Veranschaulichung sind die Kopplungen nicht überlagerter Signale des Protonenspektrums graphisch dargestellt. Die Kopplungskonstanten sind angegeben.

Es handelt sich bei **201** daher um 11,12-Dehydrocadinan-6-ol, dessen NMR-Daten abschließend in Abbildung 162 gezeigt sind.



**Abbildung 162:** Chemische Verschiebungen der Protonen und Kohlenstoffatome von 11,12-Dehydrocadinan-6-ol (**201**)

### 9.4.2. Massenspektrum und NMR-Daten eines unbekanntes tricyclischen Sesquiterpenalkohols **202**

**202** ist ebenso wie **201** ein Sesquiterpenalkohol, der jedoch zwei Wasserstoffatome weniger enthält. Das Molekülion weist die Zusammensetzung  $C_{15}H_{24}O$  mit insgesamt vier Doppelbindungsäquivalenten auf. Anhand der NMR-Daten ( $^1H$ -NMR- sowie HMBC-Spektrum) konnte nur eine Doppelbindung identifiziert werden, so dass diese Verbindung tricyclisch aufgebaut sein muss. Das Massenspektrum von **202** ist in Abbildung 163 dargestellt.

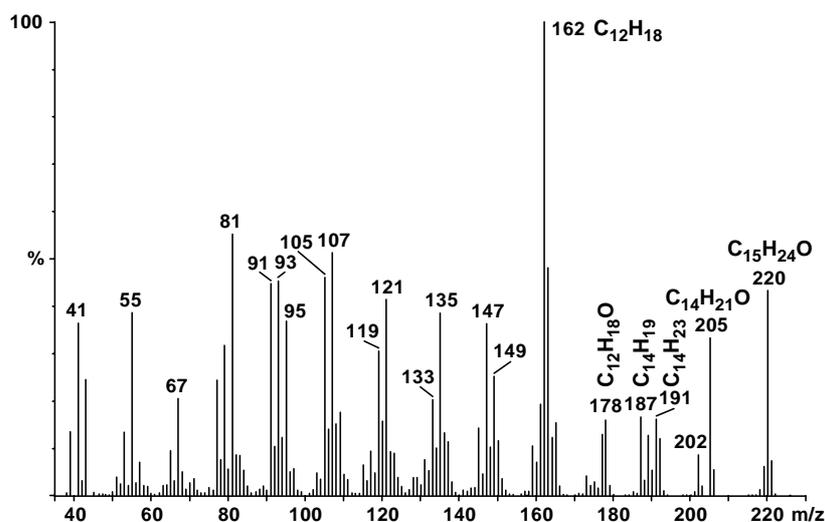
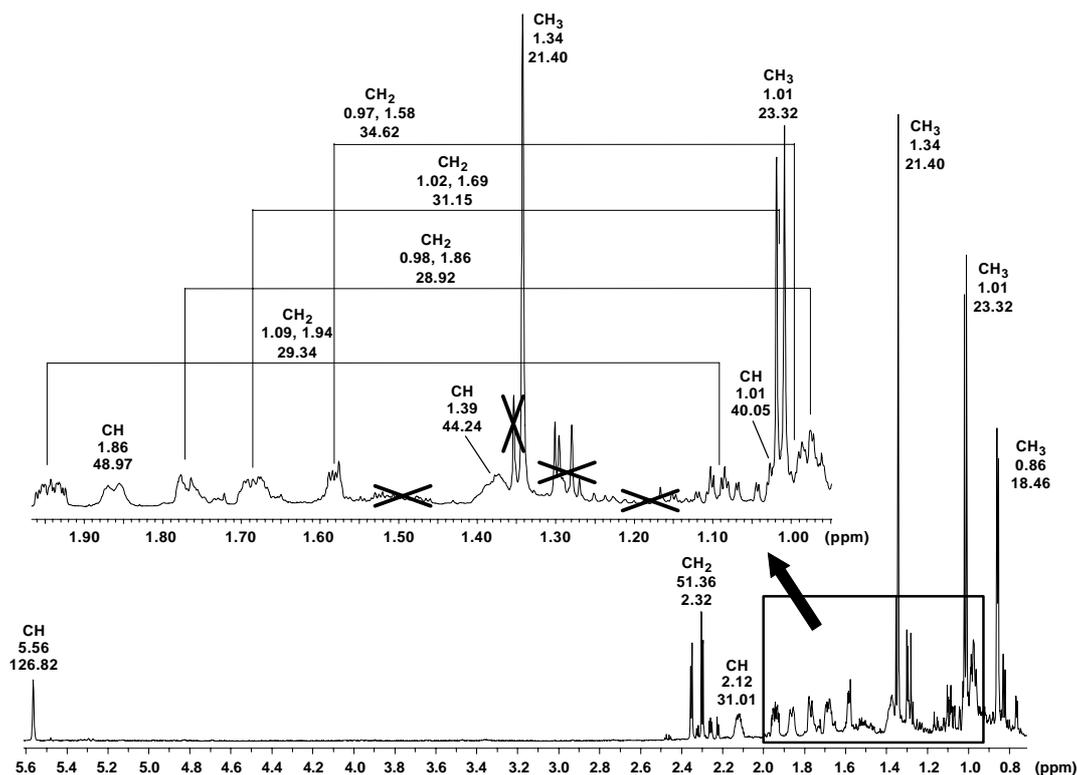


Abbildung 163: Massenspektrum von **202** (EI, 70 eV)

[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungsäquivalente
220	220.180	220.183	$C_{15}H_{24}O$	3.1	14.0	4.0
205	205.163	205.159	$C_{14}H_{21}O$	- 3.8	- 18.3	4.5
202	202.176	202.172	$C_{15}H_{22}$	- 4.1	- 20.5	5.0
191	191.182	191.180	$C_{14}H_{23}$	- 2.2	- 11.6	3.5
189	189.165	189.164	$C_{14}H_{21}$	- 0.8	- 4.3	4.5
187	187.149	187.149	$C_{14}H_{19}$	- 0.4	- 2.0	5.5
178	178.135	178.136	$C_{12}H_{18}O$	0.8	4.8	4.0
162	162.145	162.141	$C_{12}H_{18}$	- 3.7	- 23.0	4.0
147	147.117	147.117	$C_{11}H_{15}$	0.1	0.5	4.5
135	135.118	135.117	$C_{10}H_{15}$	- 0.4	- 3.1	3.5
121	121.106	121.102	$C_9H_{13}$	- 3.9	- 32.0	3.5
119	119.086	119.086	$C_9H_{11}$	0.1	1.0	4.5
95	95.088	95.086	$C_7H_{11}$	- 2.1	- 21.7	2.5
93	93.071	93.070	$C_7H_9$	- 0.9	- 9.6	3.5
81	81.070	81.070	$C_6H_9$	0.8	9.7	2.5
69	69.070	69.070	$C_5H_9$	- 0.1	- 0.8	1.5
67	67.055	67.055	$C_5H_7$	- 0.1	- 1.8	2.5
55	55.055	55.055	$C_4H_7$	- 0.7	- 12.2	1.5
41	41.002	41.003	$C_2HO$	0.4	10.5	2.5

Tabelle 54: Atomare Zusammensetzung des Molekülions und wichtiger Fragmentionen von **202**



**Abbildung 164:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des Sesquiterpenalkohols **202** [700 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Die chemischen Verschiebungen der Protonen und Kohlenstoffatome sind angegeben. Der Ausschnitt von 0.9 - 2.0 ppm ist vergrößert dargestellt.

Pos.	$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ ) [ppm]	$\delta$ ( $^1\text{H}$ ) [ppm]	Int.	$J$ [Hz]
C-1	18.46	0.86	3H	d, $J = 5.9$
C-2	21.40	1.34	3H	s
C-3	23.32	1.01	3H	d, $J = 7.1$
C-4	28.92	0.95 - 1.00	1H	m
		1.84 - 1.88	1H	m
C-5	29.34	1.06 - 1.11	1H	m
		1.92 - 1.97	1H	m
C-6	31.01	2.09 - 2.15	1H	m
C-7	31.15	1.02 - 1.03	1H	m
		1.66 - 1.71	1H	m
C-8	34.62	0.95 - 1.00	1H	m
		1.57 - 1.59	1H	m
C-9	40.05	1.00 - 1.03	1H	m
C-10	44.24	1.36 - 1.41	1H	m
C-11	48.97	1.84 - 1.88	1H	m
C-12	51.36	2.30 - 2.35	$\text{CH}_2\text{-OH}$	dd
C-13	56.76	-	-	-
C-14	126.82	5.56	1H	s
C-15	138.50	-	-	-

**Tabelle 55:** Chemische Verschiebungen der Kohlenstoffatome (aus HSQC- bzw. HMBC-Spektrum) und Protonen sowie enthaltene Kopplungskonstanten von **202**. [700 MHz, Benzol- $d_6$ ]

Aufgrund von Verunreinigungen, zu geringer Substanzmenge sowie starker Signalüberlagerungen in den 2D-NMR-Spektren, konnte für diese Verbindung kein Strukturvorschlag erarbeitet werden.

Es konnten aber trotzdem anhand der Daten qualitative Aussagen über die Struktur gewonnen werden. Man kann annehmen, dass dieses Molekül über kein gespanntes Ringsystem (Drei- oder Vierringe) verfügt, da die charakteristischen Hochfeld verschobenen Protonen (ca. 0.2 - 0.6 ppm) fehlen. Weiterhin können im HMBC-Spektrum keine Kreuzsignale detektiert werden, die auf eine Isopropyl- oder Isopropenyl-Gruppe hindeuten. Die Methylgruppe bei  $\delta_{\text{H}} = 1.34$  bzw.  $\delta_{\text{C}} = 21.40$  ppm ist aufgrund ihrer Multiplizität (Singulett) an ein quartäres Kohlenstoffatom ( $\delta_{\text{C}} = 56.76$  ppm) gebunden. Weder die Methylgruppe bei  $\delta_{\text{C}} = 18.46$  ppm noch die bei  $\delta_{\text{C}} = 23.32$  ppm sind gleichzeitig an dieses quartäre Kohlenstoffatom gebunden. Sie sind in jedem Fall mit zwei verschiedenen tertiären Kohlenstoffatomen verknüpft. Die Doppelbindung ist in das Ringsystem integriert, wobei diese dreifach substituiert sein muss, da nur ein olefinisches Proton zu erkennen ist.

### 9.4.3. Strukturaufklärung des Sesquiterpenalkohols 203

Wie die zuvor besprochene Verbindung **201** ist **203** ein einwertiger Sesquiterpenalkohol mit der Zusammensetzung von  $C_{15}H_{26}O$  und dem Molekulargewicht von 222 g/mol. **203**, dessen Massenspektrum in Abbildung 165 abgebildet ist, enthält damit drei Doppelbindungsäquivalente.

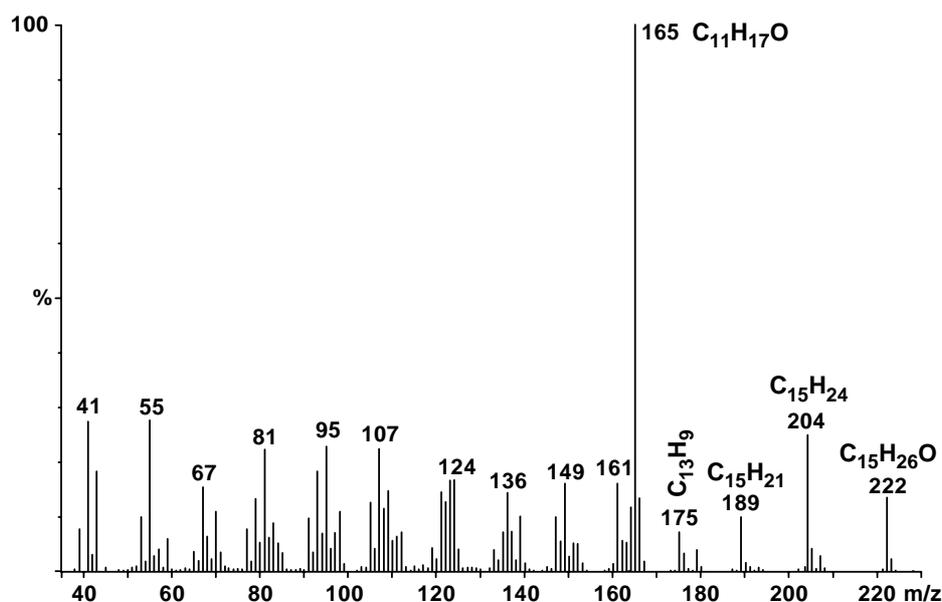
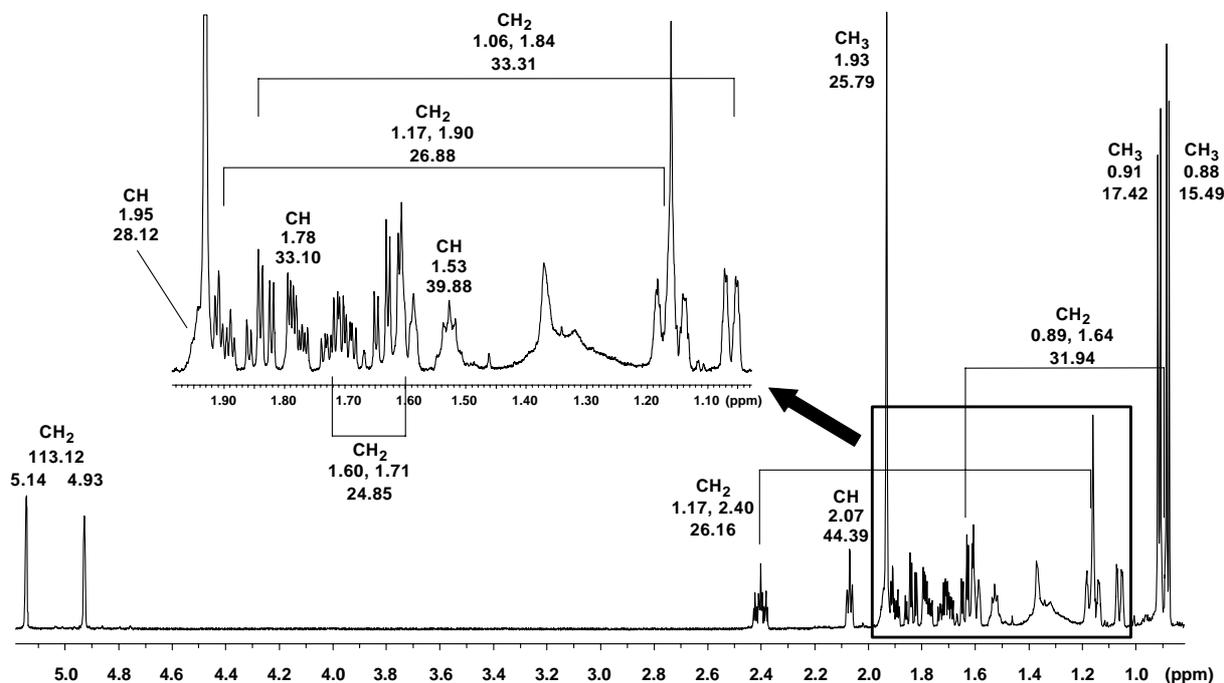


Abbildung 165: Massenspektrum von **203** (EI, 70 eV)

[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungsäquivalente
222	222.200	222.198	$C_{15}H_{26}O$	- 1.7	- 7.5	3.0
204	204.184	204.188	$C_{15}H_{24}$	4.1	20.1	4.0
189	189.167	189.164	$C_{14}H_{21}$	- 2.5	- 13.2	4.5
175	175.148	175.149	$C_{13}H_{19}$	1.2	6.7	4.5
165	165.131	165.128	$C_{11}H_{17}O$	- 2.9	- 17.8	3.5
161	161.140	161.133	$C_{12}H_{17}$	- 6.6	- 41.0	4.5
149	149.130	149.133	$C_{11}H_{17}$	2.8	18.9	3.5
136	136.127	136.125	$C_{10}H_{16}$	- 1.3	- 9.7	3.0
107	107.087	107.086	$C_8H_{11}$	- 1.1	- 10.4	3.5
105	105.072	105.070	$C_8H_9$	- 1.3	- 12.5	4.5
95	95.086	95.086	$C_7H_{11}$	0.0	- 0.5	2.5
81	81.069	81.070	$C_6H_9$	1.7	21.2	2.5
79	79.053	79.055	$C_6H_7$	1.7	21.1	3.5
69	69.071	69.070	$C_5H_9$	- 0.2	- 2.6	1.5
55	55.055	55.055	$C_4H_7$	- 0.3	- 6.0	1.5
53	53.039	53.039	$C_4H_5$	0.1	2.6	2.5
43	43.019	43.018	$C_2H_3O$	- 0.4	- 8.7	1.5
41	41.004	41.003	$C_2HO$	- 1.2	- 19.9	2.5

Tabelle 56: Atomare Zusammensetzung des Moleküliions und wichtiger Fragmentionen von **203**

Das Molekülion  $m/z$  222 spaltet Wasser zu  $m/z$  204 mit der Zusammensetzung  $C_{15}H_{24}$  ab. Der Basispeak  $m/z$  165 besitzt die Summenformel  $C_{11}H_{17}O$  mit 3.5 Doppelbindungsäquivalenten. Das  $^1H$ -NMR-Spektrum von **203** ist in Abbildung 166 gezeigt.



**Abbildung 166:**  $^1H$ -NMR-Spektrum des Sesquiterpenalkohols **203** [700 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Die chemischen Verschiebungen der Protonen und Kohlenstoffatome sind angegeben. Der Ausschnitt von 1.0 - 2.0 ppm ist vergrößert dargestellt.

Durch Integration der Signale lassen sich die 26 Protonen, die durch die MS-Hochauflösung ermittelt wurden, wie folgt zuordnen: Zunächst sind wieder drei Methylgruppen bei  $\delta_H = 0.88$ , 0.91 und 1.93 ppm zu erkennen, wobei die beiden Hochfeld verschobenen zu je einem Dublett aufgespalten sind. Die dritte tritt als Singulett auf, und das entsprechende Kohlenstoffatom besitzt eine chemische Verschiebung von  $\delta_C = 25.79$  ppm.

Des Weiteren sind vier aliphatische Methingruppen sowie fünf aliphatische Methylengruppen erkennbar. Bereits eine Doppelbindung kann anhand des  $^1H$ -NMR-Spektrums eindeutig an den zwei olefinischen Methylenprotonen bei  $\delta_H = 4.93$  und 5.14 ppm erkannt werden. Das an diese  $sp^2$ -hybridisierte Methylengruppe geknüpfte Kohlenstoffatom ist quartär und weist eine Verschiebung von  $\delta_C = 149.47$  ppm auf. Anhand des HMBC-Spektrums kann bereits jetzt festgestellt werden, dass diese Doppelbindung die einzige in diesem Molekül ist und dass **203** bicyclisch sein muss. Bei der Bilanzierung der Kohlenstoffatome kann ein weiteres quartäres, aliphatisches Kohlenstoffatom bei  $\delta_C = 73.05$  ppm detektiert werden, das aufgrund seiner

charakteristischen chemischen Verschiebung die Hydroxy-Funktion tragen muss. Tabelle 57 zeigt die Verschiebungen der im Molekül identifizierten Protonen und Kohlenstoffatome.

Pos.	$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ ) [ppm]	$\delta$ ( $^1\text{H}$ ) [ppm]	Int.	$J$ [Hz]	$^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY	HMBC	NOESY
1	73.05	-	C <sub>q</sub> -OH	-	-	-	-
2	31.94	0.87 - 0.90	1H	m	2-H <sub>b</sub> , 3-CH <sub>2</sub>	-	-
		1.62 - 1.66	1H	m	2-H <sub>a</sub> , 3-CH <sub>2</sub>	C-3	6-H
3	26.88	1.13 - 1.20 (axial)	1H	m	2-CH <sub>2</sub> , 4-H	C-1	15-CH <sub>3</sub>
		1.88 - 1.92 (äquatorial)	1H	dddd $^2J_{\text{H,H}} = 13.6$ $^3J_{\text{H,H}} = 4.2$ (2)	2-CH <sub>2</sub> , 3-H <sub>a</sub>	-	15-CH <sub>3</sub>
4	28.12	1.93 - 1.96	1H	m	-	-	-
5	33.31	1.04 - 1.08 (äquatorial)	1H	ddd (t) $^2J_{\text{H,H}} = 15.8$ $^3J_{\text{H,H}} = 3.0$ (3)	5-H <sub>b</sub>	C-1, C-6	7-H, 12-H <sub>b</sub> , 15-CH <sub>3</sub>
		1.81 - 1.87 (axial)	1H	ddd $^2J_{\text{H,H}} = 13.0$ $^3J_{\text{H,H}} = 13.0$ $^3J_{\text{H,H}} = 4.8$	4-H, 5-H <sub>a</sub>	C-3, C-6, C-15	-
6	33.10	1.76 - 1.80 (axial)	1H	ddd $^3J_{\text{H,H}} = 13.5$ $^3J_{\text{H,H}} = 6.4$ $^3J_{\text{H,H}} = 3.2$	5-H <sub>a</sub> , 7-H	-	2-H <sub>b</sub> , 14-CH <sub>3</sub> , 15-CH <sub>3</sub>
7	44.39	2.05 - 2.09	1H	ddd (t) $^3J_{\text{H,H}} = 6.7$ (2)	6-H, 8-H <sub>b</sub>	C-1, C-6, C-8, C-11, C-12, C-13	5-H <sub>a</sub> , 6-H, 12-H <sub>b</sub> , 13-CH <sub>3</sub>
8	24.85	1.58 - 1.62	1H	m	7-H, 9-CH <sub>2</sub>	-	13-CH <sub>3</sub>
		1.68 - 1.74	1H	m	7-H, 9-CH <sub>2</sub>	C-6, C-7, C-10, C-13	12-H <sub>b</sub> , 14-CH <sub>3</sub>
9	26.16	1.13 - 1.2 (äquatorial)	1H	m	8-CH <sub>2</sub> , 9-H <sub>b</sub>	C-10	12-H <sub>b</sub> , 14-CH <sub>3</sub>
		2.37 - 2.43 (axial)	1H	dddd $^2J_{\text{H,H}} = 14.0$ (2) $^3J_{\text{H,H}} = 4.5$ (2)	8-CH <sub>2</sub> , 9-H <sub>a</sub>	C-8	12-H <sub>b</sub> , 13-CH <sub>3</sub>
10	39.88	1.50 - 1.55	1H	m	9-CH <sub>2</sub> , 14-CH <sub>3</sub>	C-1, C-6, C-8, C-14	15-CH <sub>3</sub>
11	149.47	-	-	-	-	-	-
12	113.12	4.93	1H	s	13-CH <sub>3</sub>	C-7, C-13	13-CH <sub>3</sub>
		5.14	1H	s	13-CH <sub>3</sub>	C-7, C-13	5-H <sub>a</sub> , 7-H, 8-H <sub>b</sub> , 9-CH <sub>2</sub>
13	25.79	1.93	3H	s	12-CH <sub>2</sub>	C-6, C-7, C-11, C-12	5-H <sub>a</sub> , 7-H, 8-H <sub>a</sub> , 9-H <sub>b</sub> , 12-H <sub>a</sub>
14	15.49	0.88	3H	d, $J = 7.2$	10-H	C-1, C-9, C-10	6-H, 8-H <sub>b</sub> , 9-H <sub>a</sub> , 10-H
15	17.42	0.91	3H	d, $J = 7.3$	4-H	C-3, C-5	3-CH <sub>2</sub> , 5-H <sub>a</sub> , 6-H, 10-H

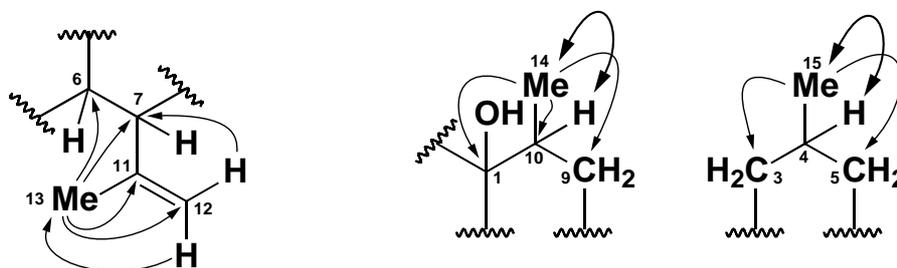
**Tabelle 57:** Chemische Verschiebungen der Kohlenstoffatome (aus HSQC- bzw. HMBC-Spektrum) und Protonen sowie enthaltene Kopplungskonstanten [700 MHz, Benzol-*d*<sub>6</sub>]. Die Kopplungen im  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-, HMBC- und NOESY-Spektrum sind angegeben.

Auch hier eignet sich die als Singulett auftretende Methylgruppe 13-CH<sub>3</sub> ( $\delta_{\text{H}} = 1.93$  /  $\delta_{\text{C}} = 25.79$  ppm) als Ausgangspunkt für die Strukturaufklärung. Das HMBC-Spektrum ergibt, dass diese aus dem quartären Kohlenstoffatom C<sub>q</sub>-11 ( $\delta_{\text{C}} = 149.47$  ppm) und der sp<sup>2</sup>-hybridisierten Methylengruppe 12-CH<sub>2</sub> ( $\delta_{\text{C}} = 113.12$  ppm) gebildeten Vinylgruppe, zu einer Isopropenylgruppe verknüpft ist. Die allylischen Kopplungen der Methylgruppenprotonen zu den olefinischen Protonen im  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-Spektrum unterstreichen diese Aussage.

Sowohl 13-CH<sub>3</sub> als auch 12-CH<sub>2</sub> zeigen im HMBC-Spektrum intensive Kopplungen zu einem tertiären Kohlenstoffatom C-7 ( $\delta_{\text{C}} = 44.39$  ppm). Es ist zusätzlich noch eine schwache

Kopplung im HMBC-Spektrum von der Methylgruppe 13-CH<sub>3</sub> zu einem weiteren tertiären Kohlenstoffatom bei C-6 ( $\delta_C = 33.10$  ppm) erkennbar. Die Kopplung im <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum zwischen 7-H und 6-H zeigt deren unmittelbare Nachbarschaft an.

Auch die beiden weiteren Methylgruppen zeigen im HMBC-Spektrum charakteristische Kopplungen, die über deren chemische Umgebung wertvolle Informationen liefern. Da sie beide zu Dubletts aufgespalten sind, ist davon auszugehen, dass sie jeweils mit einem Methinproton koppeln. Diese Beobachtungen können neben dem HMBC-Spektrum auch anhand der direkten Kopplung der Protonen der Methylgruppen mit den benachbarten Methinprotonen im <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum beobachtet werden.

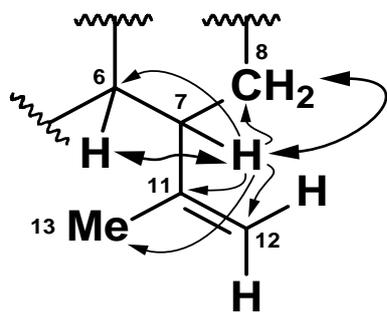


**Abbildung 167:** Über das HMBC- und <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum ermittelte chemische Umgebung der drei Methylgruppen.

Die Methylgruppe 14-CH<sub>3</sub> ( $\delta_H = 0.88$  ppm) koppelt im HMBC-Spektrum intensiv mit drei Kohlenstoffatomen bei  $\delta_C = 26.16$ ,  $39.88$  und  $73.05$  ppm. Gestützt durch das <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum kann damit festgestellt werden, dass 14-CH<sub>3</sub> an das Kohlenstoffatom C-10 ( $\delta_C = 39.88$  ppm) gebunden ist. Demnach liegt das quartäre, die Hydroxy-Funktion tragende Kohlenstoffatom mit der Verschiebung von C<sub>q</sub>-1 ( $\delta_C = 73.05$  ppm) in unmittelbarer Nähe von 14-CH<sub>3</sub>.

Anhand des <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrums kann der direkte Kopplungspartner der Methylgruppe 15-CH<sub>3</sub> als das Methinproton 4-H ( $\delta_H = 1.95$  ppm) identifiziert werden. Die zwei daran geknüpften Kohlenstoffatome weisen die chemischen Verschiebungen von  $\delta_C = 26.88$  und  $33.31$  ppm auf. Es handelt sich dabei um die zwei Methylengruppen 3-CH<sub>2</sub> und 5-CH<sub>2</sub>.

Das Methinproton 7-H ist durch seine zahlreichen Kopplungen im HMBC-Spektrum für die Strukturaufklärung sehr hilfreich. Auch 7-H koppelt sowohl mit den Kohlenstoffatomen



**Abbildung 168:** 7-H zeigt für die Strukturaufklärung im HMBC- und <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum wichtige Kopplungen

C<sub>q</sub>-11, C-12 und C-13 der Isopropenyl-Seitenkette als auch mit seinem Nachbarn C-6. Zusätzlich sind zwei weitere intensive Kopplungen zum quartären Kohlenstoffatom C<sub>q</sub>-1 ( $\delta_C = 73.05$  ppm) und zur Methylengruppe 8-CH<sub>2</sub> ( $\delta_C = 24.85$  ppm) sichtbar. Durch zusätzliche Kopplungen im <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum kann die Methylengruppe 8-CH<sub>2</sub> als unmittelbarer Nachbar zu 7-H erkannt werden.

Bis auf die zwei Methylengruppen 2-CH<sub>2</sub> ( $\delta_C = 31.94$  ppm) und 8-CH<sub>2</sub> ( $\delta_C = 24.85$  ppm) sind damit alle

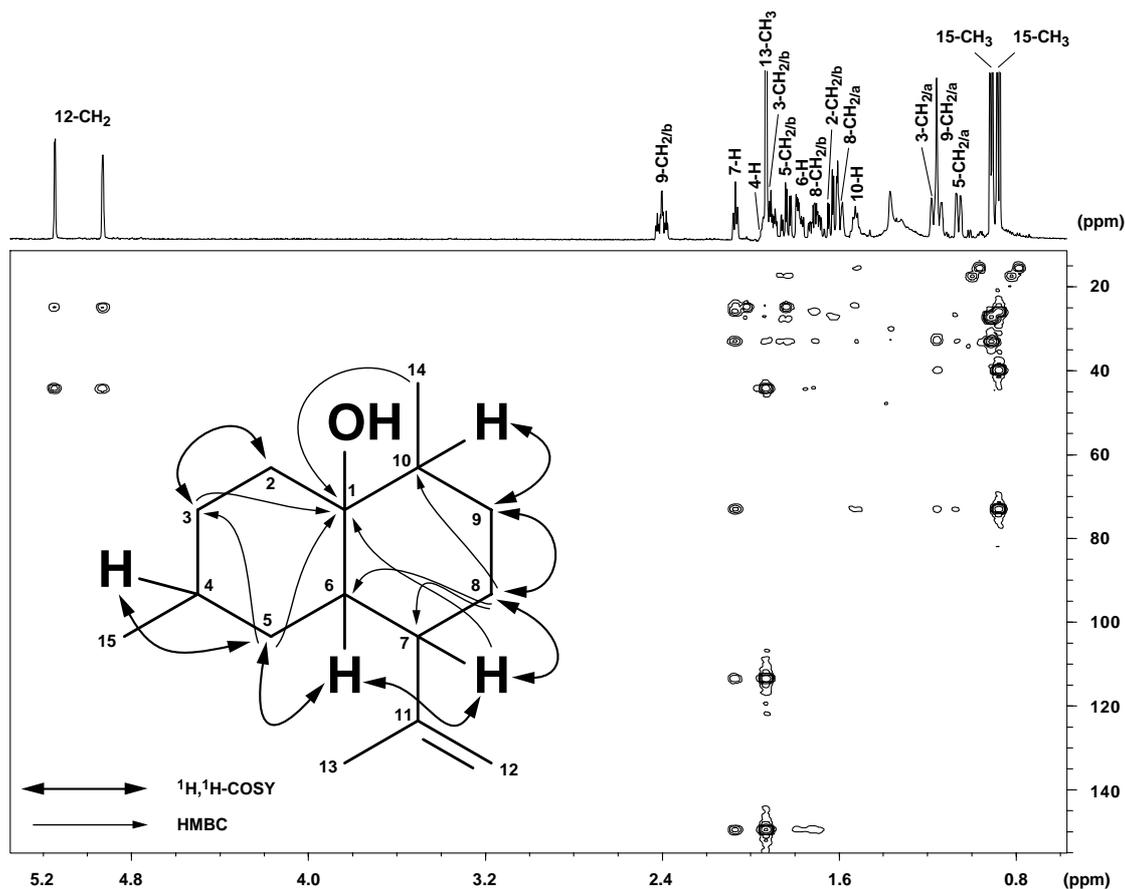
Atome des Moleküls diskutiert worden. Durch intensive Kopplungen der vier Protonen der Methylengruppen 8-CH<sub>2</sub> und 9-CH<sub>2</sub> ( $\delta_C = 26.16$  ppm) im <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum können diese eindeutig als benachbart betrachtet werden. Aufgrund von intensiven Kopplungen im <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum können die Methylengruppen 2-CH<sub>2</sub> ( $\delta_C = 31.94$  ppm) und 3-CH<sub>2</sub> ( $\delta_C = 26.88$  ppm) als unmittelbare Nachbarn angesehen werden.

Da wie **201** auch diese Verbindung bicyclisch ist und die beiden Methyl- sowie die Isopropenylgruppe nicht unmittelbar am Aufbau des Ringsystems beteiligt sind, bilden die restlichen 10 Atome die zwei Ringe.

Das Grundgerüst kann abschließend anhand von Kopplungen im HMBC-Spektrum und restlicher Kopplungen im <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum eindeutig als zwei miteinander anellierte Sechsringe identifiziert werden.

Dazu gehören die Kopplungen im HMBC-Spektrum der Methylengruppen zu den wichtigen (ringverbrückenden) tertiären- oder quartären Kohlenstoffatomen (s. Abbildung 169). Einen großen Beitrag liefert die Methylengruppe 8-CH<sub>2</sub>, die mit allen tertiären Kohlenstoffatomen (C-6, C-7 und C-10) innerhalb ihres Ringes koppelt. Das Gleiche gilt für das bereits diskutierte Proton 7-H.

Im zweiten Sechsring liefern 3-CH<sub>2</sub> und 5-CH<sub>2</sub> entscheidende Hinweise über deren chemische Umgebung.



**Abbildung 169:** HMBC-Spektrum des Alkohols **203** [700 MHz, Benzol- $d_6$ ]. HMBC- und  $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY-Kopplungen sind eingezeichnet.

Analog zu **201** liegt bei **203** wiederum ein anelliertes Sechsring-Sechsring-System vor, welches anhand von 1,2-*trans*-diaxialer Kopplungskonstanten im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum identifiziert werden kann.

Eine entscheidende Rolle spielt das Methinproton 6-H des zugehörigen Brückenkohlenstoffatoms C-6, welches ein ddd-Kopplungsmuster durch drei benachbarte Protonen (5-CH<sub>2</sub> und 7-H) aufweist. Darin sind drei Kopplungskonstanten enthalten (13.4 Hz, 6.4 Hz und 3.2 Hz), die nur von einem axial-ständigen Proton erzeugt werden können, so dass es sich wieder nur um eine *trans*-1,2-diaxiale (Kopplung von 13.4 Hz mit 5-CH<sub>2/ax</sub>) und um zwei 1,2-axial-äquatoriale Kopplungen mit 5-CH<sub>2/äq</sub> und 7-H<sub>äq</sub> handeln kann. Die Anwesenheit weiterer für Cyclohexansysteme charakteristische Kopplungskonstanten von deutlich über 12 Hz können in den Signalen 5-CH<sub>2/a</sub> ( $\delta_{\text{H}} = 1.06$  ppm), 5-CH<sub>2/b</sub> ( $\delta_{\text{H}} = 1.84$  ppm), 3-CH<sub>2/b</sub> ( $\delta_{\text{H}} = 1.90$  ppm) und 9-CH<sub>2/b</sub> ( $\delta_{\text{H}} = 2.40$  ppm) gefunden werden.

Dabei kann wiederum 5-CH<sub>2/a</sub>, dessen Signal nur eine große (15.8 Hz) und drei kleine Kopplungen (3 Hz) enthält, nur ein einer  $^2J_{\text{H,H}}$ -Kopplung mit Proton 5-CH<sub>2/b</sub> koppeln. Proton 5-CH<sub>2/a</sub> ist daher äquatorial- und 5-CH<sub>2/b</sub> axial-ständig. Das NMR-Signal des erwähnten,

axial-ständigen Protons 5-CH<sub>2/ax</sub> enthält neben der Geminalkopplung zu 5-CH<sub>2/äq</sub> (13 Hz) weitere Kopplungskonstanten mit 13 Hz und 4.8 Hz. Da 6-H axial angeordnet ist (Diskussion s. o.), entspricht die zweite große Kopplungskonstante von 13 Hz der Vicinalkopplung von 5-CH<sub>2/ax</sub> mit 6-H<sub>ax</sub>. Die verbleibende kleine Kopplungskonstante von 4.8 Hz kann nur noch der <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub>-Kopplung mit dem äquatorial angeordneten Methinproton H-4 sein, welches aber im Protonenspektrum durch andere Signale überlagert ist.

Das separiert auftretende Signal von 3-CH<sub>2/äq</sub> bei δ<sub>H</sub> = 1.90 ppm enthält ebenfalls nur eine große (13.6 Hz) und zwei kleine Kopplungskonstanten (4.2 Hz), wobei die große Kopplung wiederum einer Geminalkopplung zu 3-CH<sub>2/ax</sub> entspricht. Die weiteren kleinen Kopplungen werden daher nur von einem äquatorial angeordneten Proton 3-CH<sub>2/äq</sub> erzeugt.

Das Proton 9-CH<sub>2/b</sub> bei δ<sub>H</sub> = 2.40 ppm enthält neben zwei kleineren (4.5 Hz) auch zwei große Kopplungskonstanten von 13 Hz. Da unmittelbar benachbart zu diesem Proton eine weitere CH<sub>2</sub>-Gruppe (8-CH<sub>2</sub>) und ein Methinproton (10-H) gebunden sind, können die beiden großen Kopplungskonstanten nur von einem axialen Proton erzeugt werden, die zum einen einer Geminalkopplung zu 9-CH<sub>2/äq</sub> und einer 1,2-*trans*-diaxialen Kopplung zu 8-CH<sub>2/ax</sub> entsprechen.

Auch zur relativen Konfiguration von **203** können anhand des NOESY-Spektrums durch charakteristische Kopplungen eindeutige Aussagen gemacht werden (s. Abbildung 170).

Hierbei spielten die räumliche Lage der Substituenten sowie die der beiden Methinprotonen 6-H und 7-H eine wichtige Rolle.

14-CH<sub>3</sub> und 15-CH<sub>3</sub> zeigen deutliche Wechselwirkungen mit 6-H, die somit auf derselben Seite des Moleküls stehen. Einen deutlichen NOE zeigt zusätzlich 13-CH<sub>3</sub> zu den beiden anderen Methylgruppen.

Es kann somit die in Abbildung 170 gezeigte relative Konfiguration für **203** zugeordnet werden.

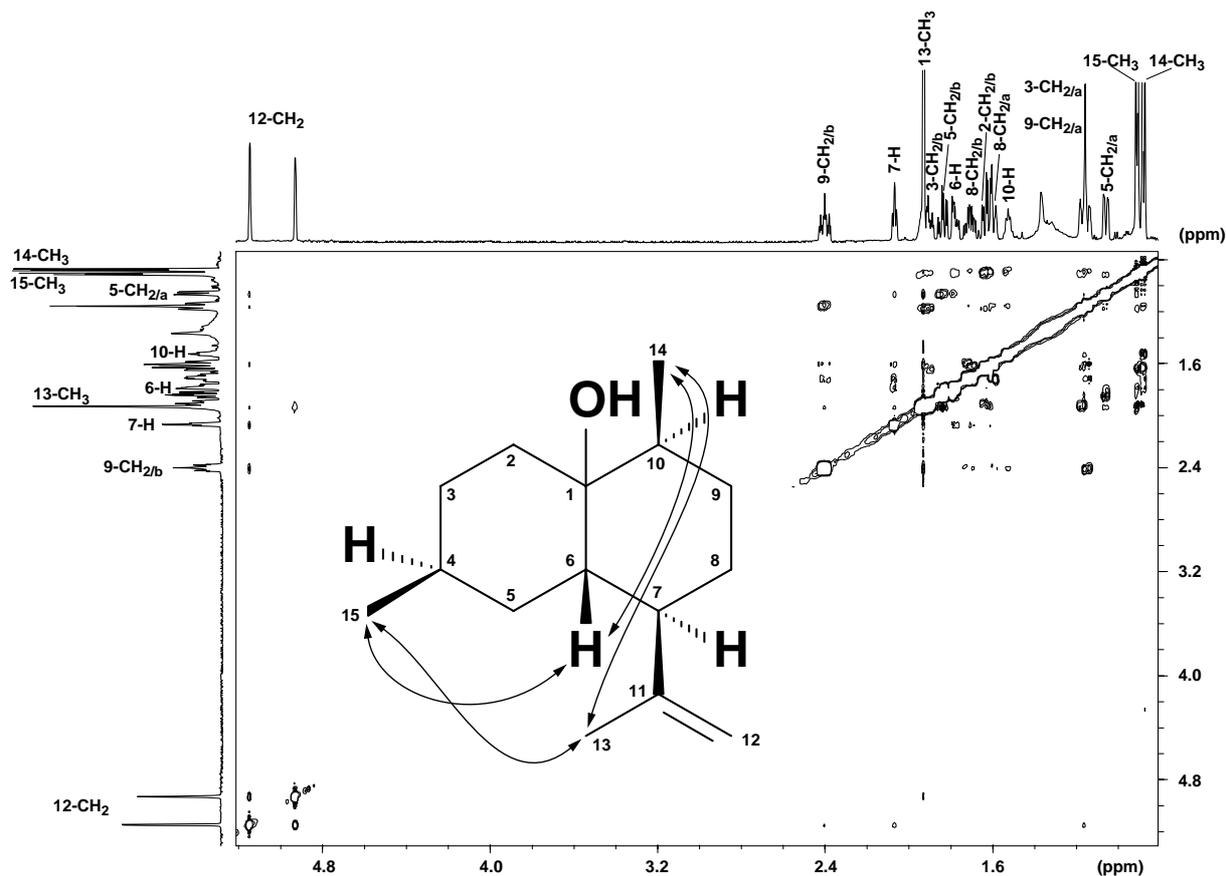


Abbildung 170: NOESY-Spektrum des Alkohols **203** [700 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Anhand der markierten Kreuzsignale kann die relative Konfiguration bestimmt werden.

Bei **203** handelt es sich demnach um 11,12-Dehydrocadinan-1-ol, einen einwertigen Alkohol vom Cadinan-Typ.

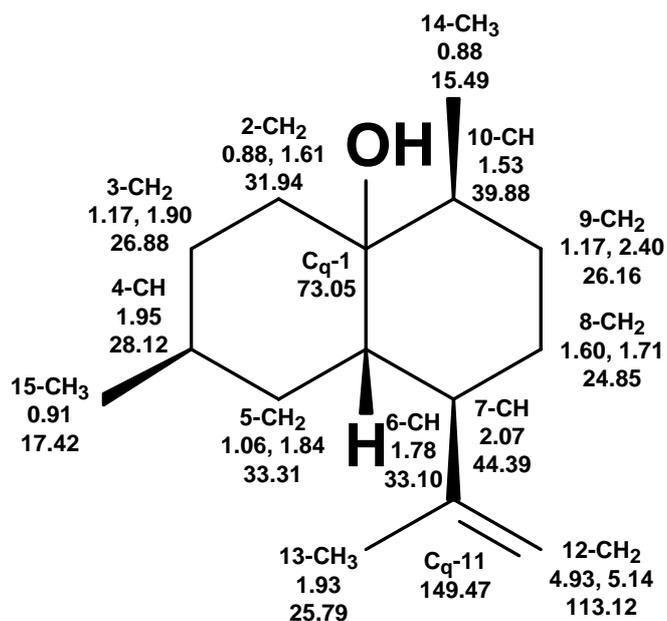


Abbildung 171: Chemische Verschiebungen der Protonen und Kohlenstoffatome von 11,12-Dehydrocadinan-1-ol (**203**).

#### 9.4.4. Strukturaufklärung des Sesquiterpenalkohols 204

Für **204** konnte durch hochauflösende Massenspektrometrie eine Zusammensetzung von  $C_{15}H_{24}O$  und einem Gewicht von 220 g/mol ermittelt werden. Die Verbindung enthält vier Doppelbindungsäquivalente.

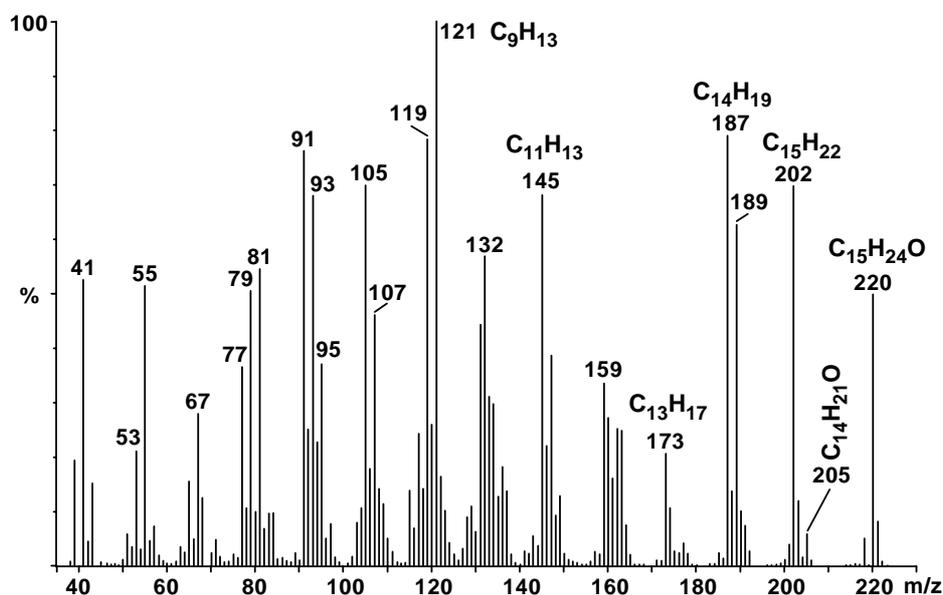
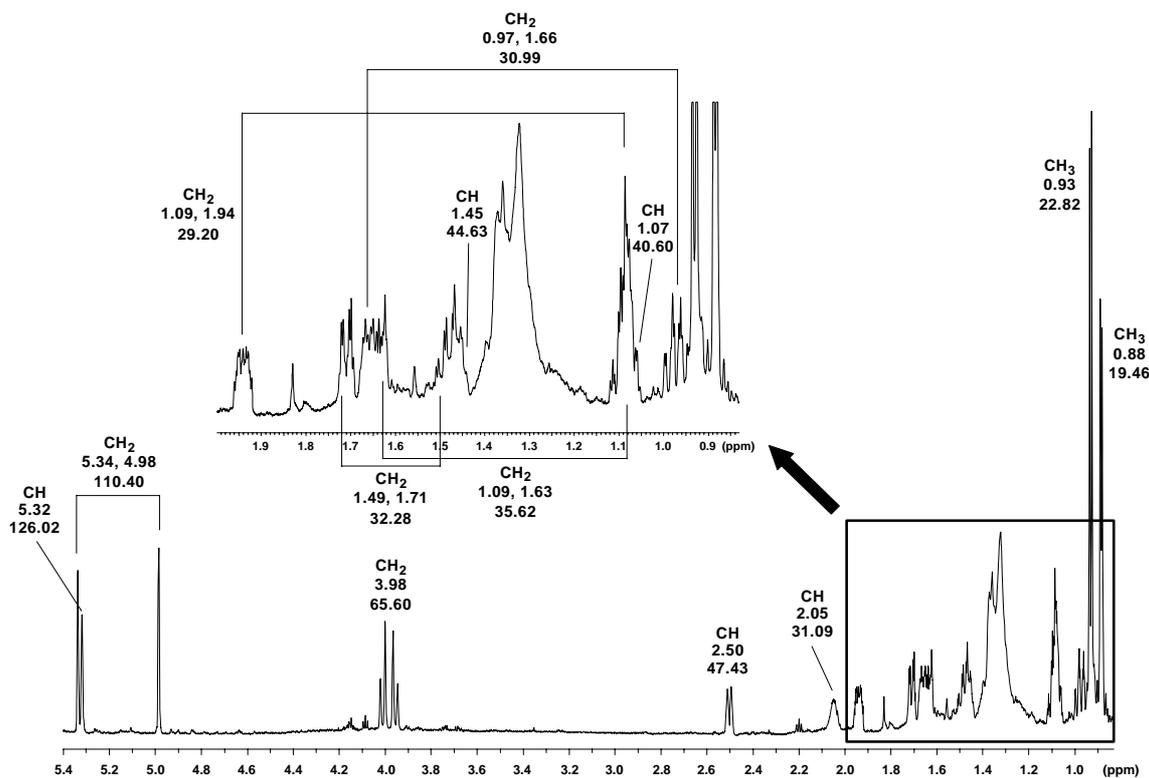


Abbildung 172: Massenspektrum von **204** (EI, 70 eV)

[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungsäquivalente
220	220.178	220.183	$C_{15}H_{24}O$	4.5	20.6	4.0
205	205.164	205.159	$C_{14}H_{21}O$	- 4.3	- 21.0	4.5
202	202.176	202.172	$C_{15}H_{22}$	- 3.6	- 17.8	5.0
189	189.165	189.164	$C_{14}H_{21}$	- 0.9	- 4.8	4.5
187	187.150	187.149	$C_{14}H_{19}$	- 1.6	- 8.7	5.5
173	173.134	173.133	$C_{13}H_{17}$	- 0.8	- 4.3	5.5
147	147.122	147.117	$C_{11}H_{15}$	- 4.8	- 32.4	4.5
145	145.106	145.102	$C_{11}H_{13}$	- 3.8	-26.2	5.5
132	132.093	132.094	$C_{10}H_{12}$	0.7	5.4	5.0
121	121.102	121.102	$C_9H_{13}$	- 0.4	- 3.3	3.5
119	119.086	119.086	$C_9H_{11}$	0.5	4.0	4.5
107	107.086	107.086	$C_8H_{11}$	0.1	0.6	3.5
105	105.070	105.070	$C_8H_9$	0.0	0.5	4.5
93	93.070	93.070	$C_7H_9$	0.2	2.1	3.5
91	91.054	91.055	$C_7H_7$	1.0	11.5	4.5
81	81.069	81.070	$C_6H_9$	1.6	19.6	2.5
79	79.053	79.055	$C_6H_7$	1.9	24.1	3.5
67	67.055	67.055	$C_5H_7$	- 0.7	- 10.7	2.5
55	55.055	55.055	$C_4H_7$	- 0.5	- 8.6	1.5
41	41.039	41.039	$C_3H_5$	- 0.4	- 8.9	1.5

Tabelle 58: Atomare Zusammensetzung des Moleküliions und wichtiger Fragmentionen von **204**

Das Protonenspektrum von **204** ist in Abbildung 173 gezeigt.



**Abbildung 173:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des Sesquiterpenalkohols **204** [700 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Die chemischen Verschiebungen der Protonen und Kohlenstoffatome sind angegeben. Der Ausschnitt von 0.85 - 2.0 ppm ist vergrößert dargestellt.

Das Protonenspektrum in Abbildung 173 zeigt deutliche Abweichungen zu denen der Alkohole **201** und **203**. Diese Verbindung weist nur zwei Methylgruppen ( $\delta_{\text{H}} = 0.88$  und  $0.93$  ppm) auf. Dafür ist neben einer  $\text{sp}^2$ -hybridisierten Methylengruppe ( $\delta_{\text{H}} = 4.98$  und  $5.34$  ppm) ein weiteres olefinisches Methinproton bei  $\delta_{\text{H}} = 5.32$  ppm zu erkennen. Des Weiteren sind bis  $2.5$  ppm neben vier aliphatischen Methinprotonen auch vier Methylengruppen zu erkennen. Eine fünfte Methylengruppe ist bei  $\delta_{\text{H}} = 3.98$  ppm zu sehen, die sich wegen der charakteristischen Verschiebung ihres Kohlenstoffatoms von  $\delta_{\text{C}} = 65.60$  ppm als primäre Alkoholfunktion erweist. Im HMBC-Spektrum ist erkennbar, dass die olefinische Methylengruppe und das olefinische Methinproton zu zwei verschiedenen Doppelbindungen gehören, da die jeweiligen Protonen zu zwei verschiedenen quartären,  $\text{sp}^2$ -hybridisierten Kohlenstoffatomen koppeln.

Mit diesen zwei Doppelbindungen liegt bei **204** eine bicyclische Struktur vor. Tabelle 59 enthält die chemischen Verschiebungen der in **204** enthaltenen Protonen und Kohlenstoffatome. Wegen zu geringer Substanzmenge konnte auch bei einer Messfrequenz von  $700$  MHz kein NOESY-Spektrum erhalten werden.

Pos.	$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ ) [ppm]	$\delta$ ( $^1\text{H}$ ) [ppm]	Int.	$J$ [Hz]	$^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY	HMBC
1	44.63	1.43 - 1.52	1H	m	2-H <sub>b</sub>	-
2	29.20	1.05 - 1.12	1H	m	-	-
		1.92 - 1.96	1H	m	1-H, 3-H <sub>a</sub>	C-1, C-4, C-6
3	30.99	0.95 - 1.00 (axial)	1H	dddd $^2J_{\text{H,H}} = 12.6$ $^3J_{\text{H,H}} = 10.0$ $^3J_{\text{H,H}} = 2.7$	2-H <sub>b</sub> , 3-H <sub>b</sub> , 4-H	C-1, C-2, C-4, C-5, C-15
		1.64 - 1.68 (äquatorial)	1H	m	3-H <sub>a</sub>	C-2, C-4, C-5
4	31.09	2.05	1H	m	3-H <sub>a</sub> , 5-H, 15-CH <sub>3</sub>	-
5	126.02	5.32	1H	s	4-H, 7-H	C-1, C-4, C-7, C-15
6	140.98	-	-	-	-	-
7	47.43	2.50 (axial)	1H	dd (d) $^3J_{\text{H,H}} = 12.0$	5-H, 8-CH <sub>2</sub>	-
8	32.28	1.43 - 1.52 (axial)	1H	m	7-H, 8-H <sub>b</sub> , 9-H <sub>b</sub>	C-6, C-7, C-9, C-10, C-11
		1.69 - 1.73 (äquatorial)	1H	dddd $^2J_{\text{H,H}} = 12.2$ $^3J_{\text{H,H}} = 3.2$ (3)	7-H, 8-H <sub>a</sub> , 9-H <sub>b</sub>	C-6, C-7, C-9, C-10, C-11
9	35.62	1.05 - 1.12	1H	m	-	-
		1.61 - 1.64	1H	m	8-CH <sub>2</sub> , 14-CH <sub>3</sub>	C-1, C-7, C-8, C-10, C-14
10	40.60	1.05 - 1.12	1H	m	14-CH <sub>3</sub>	-
11	151.47	-	-	-	-	-
12	110.40	4.98	1H	s	12-H <sub>b</sub> , 13-CH <sub>2</sub>	C-7, C-11, C-13
		5.34	1H	s	12-H <sub>a</sub> , 13-CH <sub>2</sub>	C-7, C-11, C-13
13	65.60	3.98	CH <sub>2</sub> -OH	dd	12-CH <sub>2</sub>	C-7, C-11, C-12
14	19.46	0.88	3H	d, $J = 5.7$	9-H <sub>b</sub> , 10-H	C-1, C-9, C-10
15	22.82	0.93	3H	d, $J = 7.0$	4-H	C-4, C-5, C-6

**Tabelle 59:** Chemische Verschiebungen der Kohlenstoffatome (aus HSQC- bzw. HMBC-Spektrum) und Protonen sowie enthaltene Kopplungskonstanten [700 MHz, Benzol-*d*<sub>6</sub>]. Die Kopplungen im  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY- und HMBC-Spektrum sind angegeben.

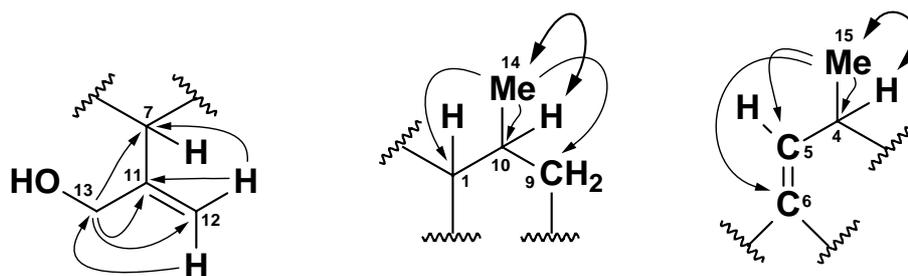
Die Hydroxylgruppe tragende Methylengruppe 13-CH<sub>2</sub> ( $\delta_{\text{H}} = 3.98$  /  $\delta_{\text{C}} = 65.60$  ppm) eignet sich sehr gut für den Einstieg in die Strukturaufklärung von **204**.

Das HMBC-Spektrum zeigt drei Kreuzsignale zu zwei olefinischen und einem aliphatischen Kohlenstoffatom. Als unmittelbar benachbart kann auf jeden Fall die Doppelbindung mit der terminalen sp<sup>2</sup>-hybridisierten Methylengruppe ( $\delta_{12\text{-CH}_2} = 110.40$  ppm) erkannt werden, die mit dem quartären Kohlenstoffatom bei C<sub>q</sub>-11 ( $\delta_{\text{C}} = 151.47$  ppm) gebildet wird. Den dritten Kopplungspartner stellt das aliphatische Methinproton 7-H mit der chemischen Verschiebung von  $\delta_{\text{H}} = 2.50$  ppm bzw. dem zugehörigen Kohlenstoffatom C-7 ( $\delta_{\text{C}} = 47.43$  ppm) dar.

Wie auch bei den vorigen Strukturen liefern HMBC- und  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-Daten der zwei Methylgruppen 14-CH<sub>3</sub> und 15-CH<sub>3</sub> wichtige Informationen über den Strukturaufbau (s. Abbildung 174). Da sie beide zu Dubletts aufgespalten sind, liegt die Vermutung nahe, dass sie mit Methinprotonen koppeln, was durch die jeweiligen  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-Kreuzsignale zu diesen Protonen (10-H bzw. 4-H) bestätigt wird. 14-CH<sub>3</sub> zeigt zusätzlich deutliche Kopplungssignale zu Kohlenstoffatomen einer CH- ( $\delta_{\text{C-1}} = 44.63$  ppm) und einer Methylengruppe ( $\delta_{\text{C-9}} = 35.62$  ppm). Die chemische Umgebung von 15-CH<sub>3</sub> unterscheidet sich von der der

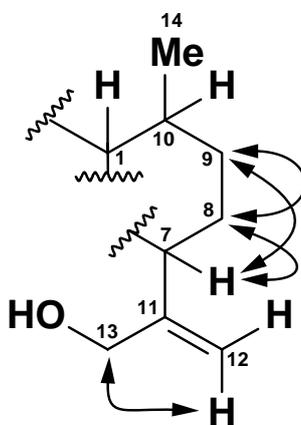
Methylgruppe 14-CH<sub>3</sub>, da sie ausschließlich Kopplungen zu den Kohlenstoffatomen der zweiten Doppelbindung zeigt, wobei die intensive Vicinalkopplung das sp<sup>2</sup>-hybridisierte Kohlenstoffatom C-5 identifiziert. Diese Doppelbindung wird aus der olefinischen Methin-  
 gruppe 5-CH ( $\delta_C = 126.02$  ppm) und dem quartären olefinischen Kohlenstoffatom  $\delta_{C_{q-6}} = 140.98$  ppm aufgebaut.

Es können folgende Substrukturen festgelegt werden:



**Abbildung 174:** Drei Strukturelemente in **204**, die anhand der HMBC- und <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Daten identifiziert wurden.

Im nächsten Schritt erfolgt eine Betrachtung von <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-Kopplungen.



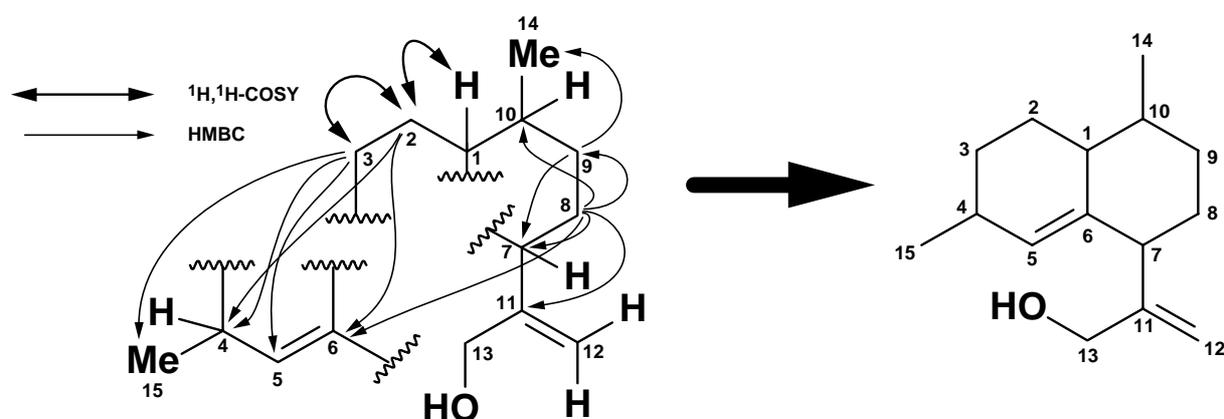
**Abbildung 175:** Über das <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum können zwei Substrukturen aus Abbildung 174 über die Methylengruppe 8-CH<sub>2</sub> miteinander verknüpft werden.

Das bereits diskutierte Methinproton 7-H ( $\delta_H = 2.50$  /  $\delta_C = 47.43$  ppm) zeigt ein eindeutiges Kreuzsignal zu einem Proton der benachbarten Methylengruppe 8-CH<sub>2</sub> ( $\delta_H = 1.71$  ppm /  $\delta_C = 32.28$  ppm), die wiederum eine weitere Kopplung zu einem Proton der Methylengruppe 9-CH<sub>2</sub> bei  $\delta_H = 1.62$  ppm ( $\delta_C = 35.62$  ppm) aufweist.

Daraus kann aus dem linken und mittleren Strukturelement in Abbildung 174 die in Abbildung 175 gezeigte Substruktur zusammengesetzt werden.

Die Protonen der Methylengruppe 2-CH<sub>2</sub> ( $\delta_{\text{H}} = 1.09$  ppm und 1.94 ppm /  $\delta_{\text{C}} = 29.20$  ppm) können über das <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrum ihre beiden unmittelbaren Nachbarn, das Methinproton 1-H ( $\delta_{\text{H}} = 1.48$  ppm /  $\delta_{\text{C}} = 44.63$  ppm) sowie die Methylengruppe 3-CH<sub>2</sub> ( $\delta_{\text{H}} = 0.97$  ppm und 1.66 ppm /  $\delta_{\text{C}} = 30.99$  ppm) erkennen. 1-H wurde bereits erwähnt und übernimmt wahrscheinlich die Rolle eines Brückenkopfatoms.

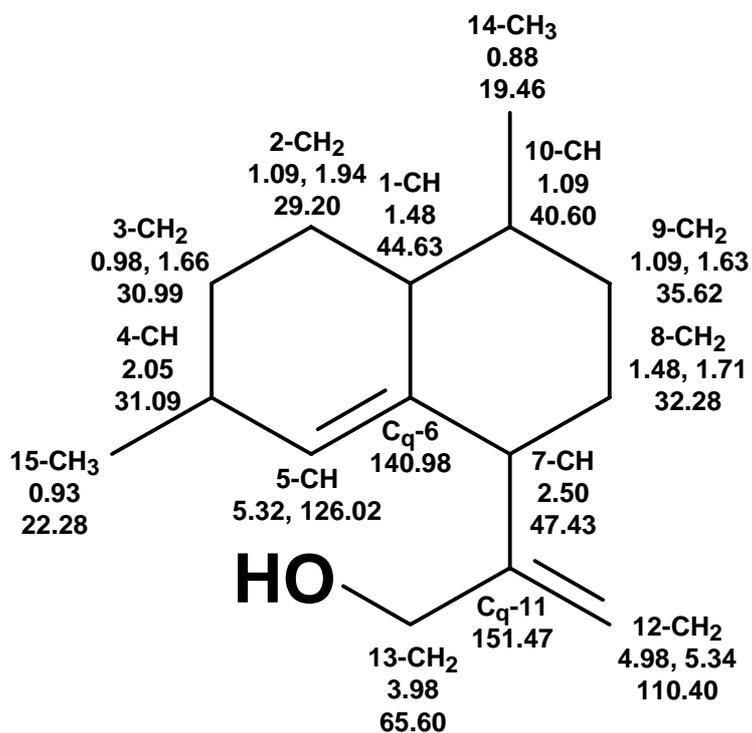
Über charakteristische Kopplungen im HMBC-Spektrum kann jetzt die Substruktur aus Abbildung 175 mit dem in Abbildung 174 rechts gezeigten Teilstück zu einer Struktur zusammengesetzt werden. Eindeutige Kreuzsignale zeigen die Methylengruppen 2-CH<sub>2</sub>, 3-CH<sub>2</sub> und 8-CH<sub>2</sub> in den fehlenden Strukturteil.



**Abbildung 176:** Die Methylengruppen 2-CH<sub>2</sub>, 3-CH<sub>2</sub> und 8-CH<sub>2</sub> liefern durch wichtige Kopplungen im HMBC-Spektrum die entscheidenden Hinweise für die Verknüpfungen zweier Substrukturen.

Das Decalin-System kann auch bei **204** durch unterstützende Betrachtung von Kopplungskonstanten ausgewählter Protonen verifiziert werden. Dazu gehören die zwei Protonen 7-H und 8-CH<sub>2/b</sub> ( $\delta_{\text{H}} = 2.50$  bzw. 1.48 ppm). 7-H enthält einerseits eine Kopplungskonstante von 12 Hz, die einer 1,2-*trans*-diaxialen-Kopplung im Cyclohexansystem entspricht (die Protonen sind im 180°-Winkel angeordnet; Karplus-Beziehung), die im koppelnden Protonensignal von 8-CH<sub>2/b</sub> (12.2 Hz) wieder gefunden werden kann. Andererseits enthält 8-CH<sub>2/b</sub> auch drei kleine Kopplungskonstanten, die wiederum auf ein äquatoriales Proton einer Methylengruppe hindeuten. Für den zweiten Ring können anhand des Protons 3-CH<sub>2/a</sub> ( $\delta_{\text{H}} = 0.98$  ppm) Rückschlüsse auf einen Sechsering gezogen werden. Dessen Signal enthält drei aussagekräftige Kopplungskonstanten, von denen mit 12.6 Hz eine geminale Kopplung, mit 10 Hz eine 1,2-*trans*-diaxiale-Kopplung und mit 2.7 Hz eine 1,2-axial-äquatoriale-Kopplung vorliegt. Es handelt sich bei diesem Proton demnach um 3-CH<sub>2/ax</sub>, das durch seine charakteristische Kopplungskonstante eindeutig Teil eines ungesättigten Sechseringes darstellt.

Bei **204** handelt es sich demnach um 5,6,11,12-Didehydrocadinan-13-ol.



**Abbildung 177:** Chemische Verschiebungen der Protonen und Kohlenstoffatome von 5,6,11,12-Didehydrocadinan-13-ol (**204**)

### 9.4.5. Strukturaufklärung des Acetates 205

**205** unterscheidet sich zu den vier vorhergegangenen Verbindungen, da es sich hierbei um ein Acetat eines primären Sesquiterpenalkohols handelt. Dies ist bereits dem Massenspektrum (s. Abbildung 178) und den MS-Hochauflösungsdaten zu entnehmen.

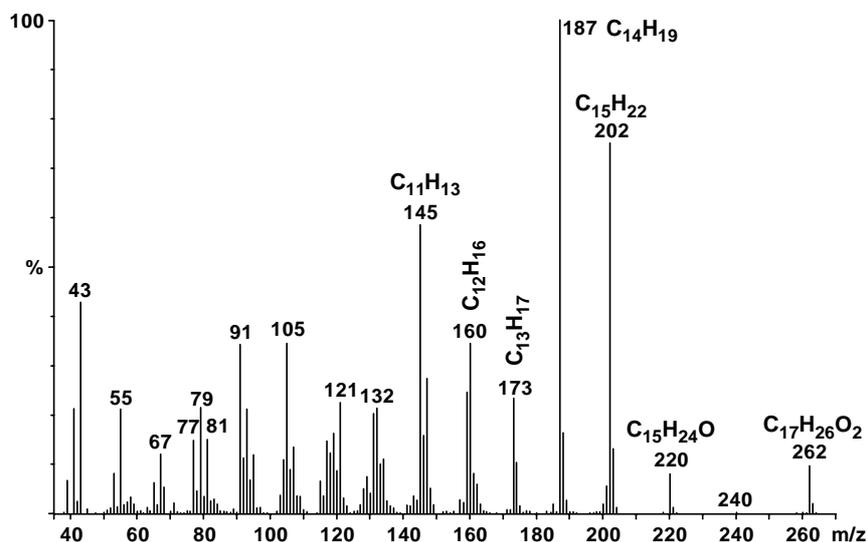
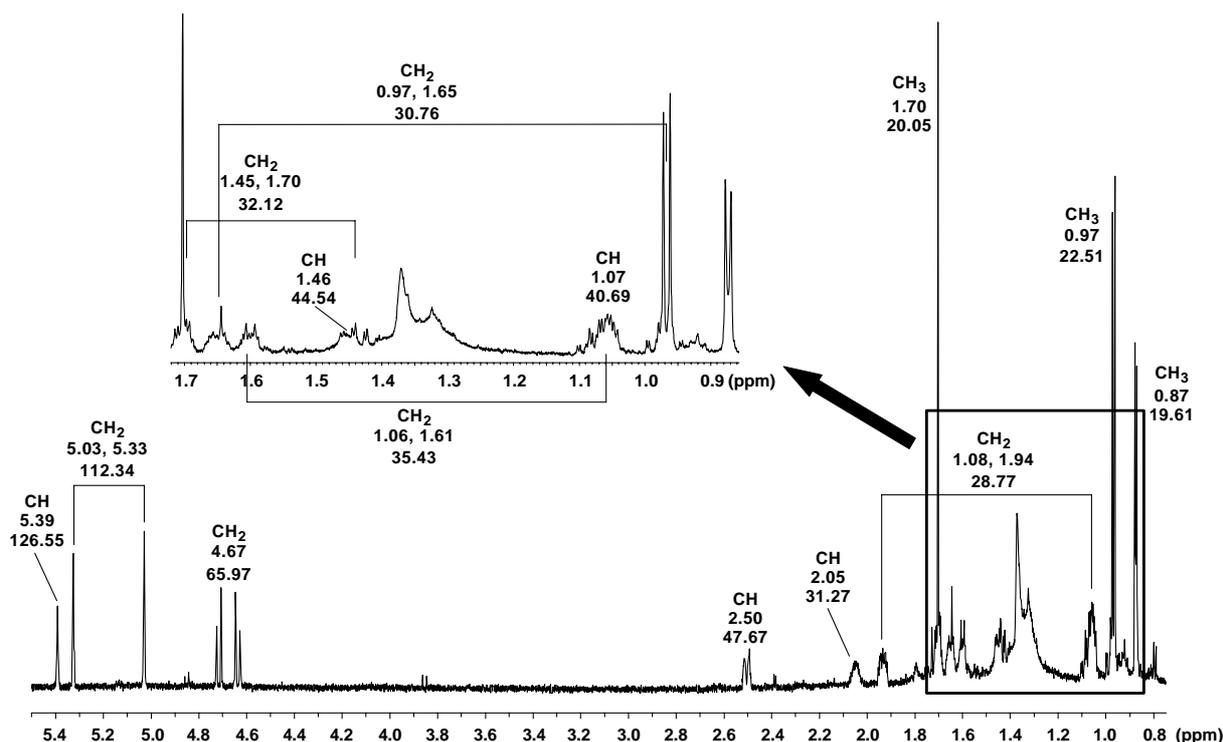


Abbildung 178: Massenspektrum des Acetates **205** mit der Masse 262 g/mol (EI, 70 eV)

[m/z]	gefundene Masse	kalkulierte Masse	Summenformel	Abweichung [mDa]	Abweichung [ppm]	Doppelbindungs-äquivalente
262	262.191	262.193	C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	2.7	10.4	5.0
220	220.183	220.183	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	- 0.7	- 3.2	4.0
202	202.174	202.172	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>	- 1.7	- 8.2	5.0
187	187.152	187.149	C <sub>14</sub> H <sub>19</sub>	- 3.0	- 15.8	5.5
173	173.131	173.133	C <sub>13</sub> H <sub>17</sub>	1.6	9.2	5.5
160	160.126	160.125	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub>	- 1.0	- 6.1	5.0
145	145.101	145.102	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub>	0.7	4.9	5.5
131	131.085	131.086	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub>	0.7	5.5	5.5
119	119.087	119.086	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub>	- 0.6	- 5.0	4.5
105	105.069	105.070	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub>	1.2	11.7	4.5
91	91.056	91.055	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub>	- 1.1	- 11.6	4.5
81	81.069	81.070	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub>	1.2	14.7	2.5
79	79.054	79.055	C <sub>6</sub> H <sub>7</sub>	0.9	11.3	3.5
55	55.053	55.055	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub>	1.3	23.8	1.5
43	43.018	43.018	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O	0.1	2.5	1.5

Tabelle 60: Atomare Zusammensetzung des Moleküliions und wichtiger Fragmentionen von **205**

Das Moleküliion m/z 262 besitzt die Zusammensetzung C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub> und spaltet Essigsäure als acetattypisches Fragment aus dem Moleküliion (M - 60) zu m/z 202 ab, das die Zusammensetzung C<sub>15</sub>H<sub>22</sub> aufweist.



**Abbildung 179:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des Acetates **205** [700 MHz, Benzol- $d_6$ ]. Die chemischen Verschiebungen der Protonen und Kohlenstoffatome sind angegeben. Der Ausschnitt von 0.85 - 1.75 ppm ist vergrößert dargestellt.

**205** weist das in Abbildung 179 gezeigte  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum auf. Nach Abgleich mit dem HSQC-Spektrum kann man drei Methylgruppen erkennen, wobei zwei davon zu je einem Dublett aufgespalten sind ( $\delta_C = 19.61$  und  $22.51$  ppm) und eine als Singulett ( $\delta_C = 20.05$  ppm) zu erkennen ist.

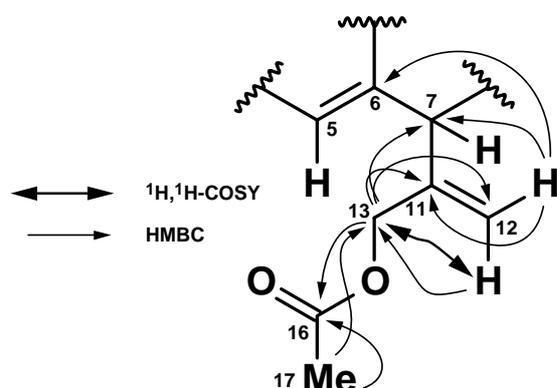
Insgesamt sind in diesem Molekül sechs Methylengruppen enthalten, davon eine olefinische ( $\delta_C = 112.34$  ppm), vier  $\text{sp}^3$ -hybridisierte ( $\delta_C = 28.77$ ,  $30.76$ ,  $32.12$  und  $35.43$  ppm) und eine  $\text{sp}^3$ -hybridisierte, die an einem Heteroatom gebunden ist ( $\delta_C = 65.97$  ppm). Weiterhin sind zusätzlich eine olefinische ( $126.55$  ppm) und vier aliphatische CH-Gruppen ( $\delta_C = 31.27$ ,  $40.69$ ,  $44.54$  und  $47.67$  ppm) zu sehen. Das HMBC-Spektrum zeigt drei quartäre  $\text{sp}^2$ -hybridisierte Kohlenstoffatome ( $\delta_C = 140.37$  und  $146.60$  ppm) und davon mit  $\delta_C = 169.81$  ppm ein Carbonylkohlenstoffatom. Demnach sind neben der Carbonylgruppe zwei Doppelbindungen enthalten, was bei insgesamt fünf Doppelbindungsäquivalenten einer bicyclischen Struktur entspricht. Tabelle 61 zeigt die NMR-Daten der Protonen und Kohlenstoffatome sowie die Kreuzsignale im  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY- sowie im HMBC-Spektrum.

Pos.	$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ ) [ppm]	$\delta$ ( $^1\text{H}$ ) [ppm]	Int.	$J$ [Hz]	$^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY	HMBC	NOESY
1	44.54	1.45 - 1.47	1H	m	5-H, 8-H <sub>b</sub>	-	-
2	28.77	1.06 - 1.10	1H	m	3-CH <sub>2</sub>	-	-
		1.91 - 1.96	1H	m	3-CH <sub>2</sub>	C-4, C-6	-
3	30.76	0.95 - 1.00	1H	m	2-CH <sub>2</sub> , 3-H <sub>b</sub> , 4-H	-	-
		1.63 - 1.67	1H	m	2-CH <sub>2</sub> , 3-H <sub>a</sub> , 5-H	-	-
4	31.27	2.03 - 2.08 (äquatorial)	1H	m	3-H <sub>a</sub> , 17-CH <sub>3</sub>	-	-
5	126.55	5.39	1H	b s	1-H, 3-H <sub>b</sub> , 7-H	C-1, C-4, C-7	13-CH <sub>2</sub> , 17-CH <sub>3</sub>
6	140.37	-	-	-	-	-	-
7	47.67	2.50 (axial)	1H	d $^3J_{\text{H,H}} = 13.0$	5-H, 8-CH <sub>2</sub>	-	12-H <sub>a</sub> , 13-CH <sub>2</sub>
8	32.12	1.41 - 1.48	1H	m	7-H, 9-CH <sub>2</sub>	-	-
		1.68 - 1.72	1H	m	1-H, 7-H, 9-CH <sub>2</sub>	C-1, C-6, C-7, C-9, C-10	-
9	35.43	1.03 - 1.06	1H	m	9-H <sub>b</sub>	-	-
		1.59 - 1.62	1H	m	9-H <sub>a</sub> , 16-CH <sub>3</sub>	C-1, C-7, C-8, C-10	-
10	40.69	1.03 - 1.06	1H	m	16-CH <sub>3</sub>	-	-
11	146.60	-	-	-	-	-	-
12	112.34	5.03	1H	b s	12-H <sub>b</sub> , 13-CH <sub>2</sub>	C-6, C-7, C-11, C-13	7-H, 13-CH <sub>2</sub>
		5.33	1H	D	12-H <sub>a</sub> , 13-CH <sub>2</sub>	C-7, C-11, C-13	13-CH <sub>2</sub>
13	65.97	4.62 - 4.73	CH <sub>2</sub> -OH	dd	12-CH <sub>2</sub>	C-7, C-11, C-12, C-14	5-H, 7-H, 12-H <sub>b</sub> , 15-CH <sub>3</sub>
14	19.61	0.87	3H	d, $J = 5.88$	9-H <sub>b</sub> , 10-H	C-10, C-9, C-10	-
15	22.51	0.97	3H	d, $J = 7.05$	4-H	C-14	5-H
16	169.81	-	C <sub>q</sub> (C=O)	-	-	-	-
17	20.05	1.70	3H	s	-	C-4, C-5, C-6	13-CH <sub>2</sub>

**Tabelle 61:** Chemische Verschiebungen der Kohlenstoffatome (aus HSQC- bzw. HMBC-Spektrum) und Protonen sowie enthaltene Kopplungskonstanten [700 MHz, Benzol-*d*<sub>6</sub>]. Die Kopplungen im  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-, HMBC- und NOESY-Spektrum sind angegeben.

Auch in diesem Falle kann die als Singulett auftretende Methylgruppe ( $\delta_{\text{H}} = 1.70$  ppm,  $\delta_{\text{C}} = 20.05$  ppm) als Ausgangspunkt für die Aufklärung der Struktur genommen werden (s. Abbildung 179).

Aufgrund ihrer Multiplizität (Singulett) muss diese an ein quartäres Kohlenstoffatom gebunden sein. Ein intensives Kreuzsignal im HMBC-Spektrum zum Carbonylkohlenstoffatom C<sub>q</sub>-16 ( $\delta_{\text{C}} = 169.81$  ppm) und aufgrund dessen charakteristischer Verschiebung kann auf



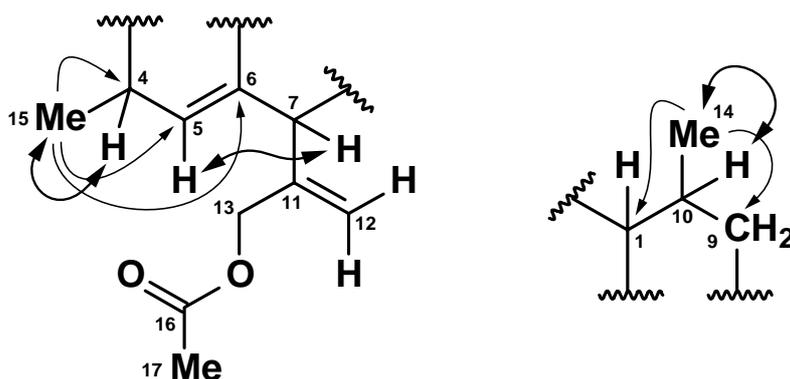
**Abbildung 180:** Die Struktur des Substituenten am Kohlenstoffatom C-7 kann durch zahlreiche Kopplungen im HMBC-Spektrum aufgeklärt werden.

ein als Ester gebundenes Kohlenstoffatom geschlossen werden. Unterstützt wird dies durch Kopplungen im HMBC-Spektrum der Heteroatom gebundenen Methylengruppe ( $\delta_{\text{C}} = 65.97$  ppm). Diese nimmt eine Schlüsselstellung ein, da sie eine Reihe von Kopplungen im HMBC-Spektrum zeigt. An diese Methylengruppe ist eine Vinylgruppe geknüpft, die aus einem quartären Kohlenstoffatom und einer olefinischen Methylengruppe (C<sub>q</sub>-11 und C-12)

besteht. Unmittelbar an diese Vinylgruppe ist wiederum das Ringsystem geknüpft, da der

gerade beschriebene Substituent durch Kreuzsignale an das Kohlenstoffatom C-7 ( $\delta_C = 47.67$  ppm) gebunden ist. Zusätzlich kann durch die olefinischen Protonen der Methylengruppe C-12 in einer Allylkopplung ein weiteres olefinisches, quartäres Kohlenstoffatom ( $\delta_{C-6} = 140.37$  ppm) festgestellt werden. Damit ist nicht auszuschließen, dass unmittelbar an C-7 die zweite Doppelbindung geknüpft ist. Es kann somit folgendes Strukturelement anhand der eben diskutierten  $^1H, ^1H$ -COSY- sowie HMBC-Daten festgelegt werden.

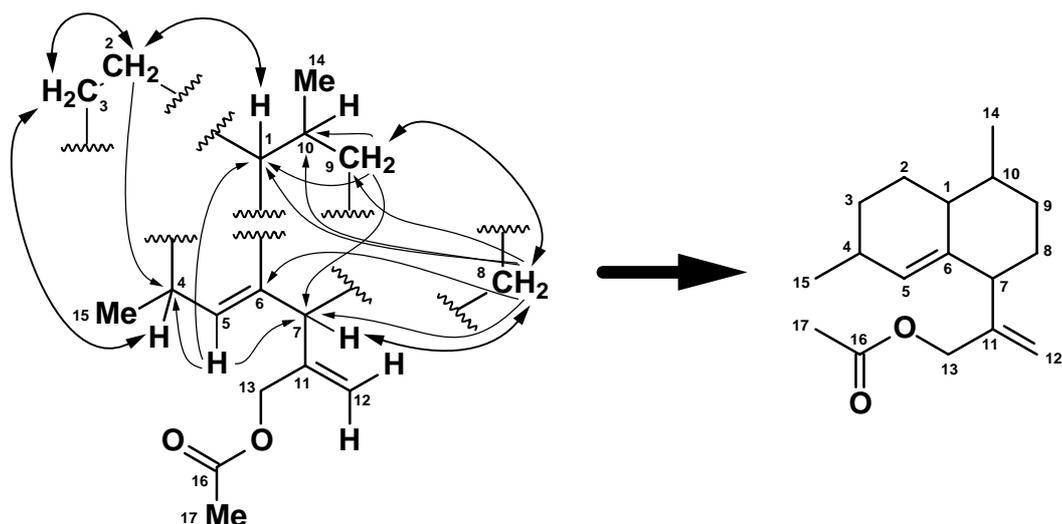
Auch die zwei weiteren Methylgruppen tragen wie bei den vorangegangenen Verbindungen zur Strukturidentifizierung bei (s. Abbildung 181). Die Methylgruppe 14-CH<sub>3</sub> ( $\delta_H = 0.87$  ppm /  $\delta_C = 19.61$  ppm) zeigt drei starke Kreuzsignale im HMBC-Spektrum, zwei zu tertiären Kohlenstoffatomen ( $\delta_C = 40.69$  und  $44.54$  ppm) und eine zu einer Methylengruppe ( $\delta_C = 35.43$  ppm). Anhand des  $^1H, ^1H$ -COSY-Spektrums ist das Methinproton 10-H ( $\delta_H = 1.07$  ppm /  $\delta_C = 40.69$  ppm) als direkter Nachbar der Methylgruppe auszumachen. Bei den beiden anderen Kopplungspartnern handelt es sich um 1-H und 9-CH<sub>2</sub>.



**Abbildung 181:** Die zwei weiteren Methylgruppen liefern zusätzliche Strukturinformationen.

Die zweite Methylgruppe 15-CH<sub>3</sub> ( $\delta_H = 0.97$  ppm /  $\delta_C = 22.51$  ppm), die an das tertiäre Kohlenstoffatom C-4 ( $\delta_C = 31.27$  ppm /  $\delta_{4-H} = 2.05$  ppm) gebunden ist, kann anhand des HMBC-Spektrums durch ein intensives Kreuzsignal zum olefinischen Kohlenstoffatom C-5 als Nachbargruppe zur Doppelbindung (C-5, C<sub>q</sub>-6) aufgefasst werden. Eine deutliche Allylkopplung zwischen den Protonen 5-H und 7-H ist ebenfalls im  $^1H, ^1H$ -COSY-Spektrum zu erkennen.

Die beiden Strukturteile aus Abbildung 181 lassen sich gut über Kopplungen im HMBC-Spektrum aneinanderfügen. Auskunft gibt darüber 5-H, das in einer  $^2J_{H,C}$ -Kopplung mit C-4 sowie zwei Allylkopplungen ( $^4J_{H,C}$ -Kopplungen) zu den jeweiligen tertiären Kohlenstoffatomen C-7 und C-1 koppelt.

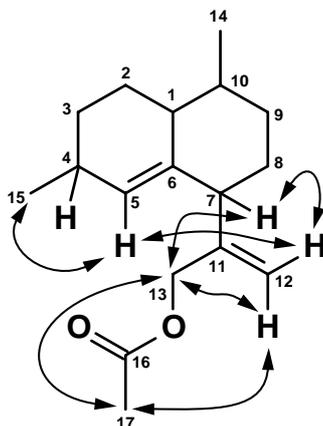


**Abbildung 182:** Die restlichen Gruppierungen können wiederum durch Kopplungen im  $^1\text{H},^1\text{H}$ -COSY- und HMBC-Spektrum, in das Molekül eingepasst werden.

Abbildung 182 zeigt vier Substrukturen, die mit Hilfe geeigneter Kopplungen im  $^1\text{H},^1\text{H}$ - und HMBC-Spektrum zur abgebildeten Struktur (*rechts*) zusammengeführt werden können. Dazu gehören die benachbarten Methylengruppen (2- $\text{CH}_2$  und 3- $\text{CH}_2$ ), die Methylengruppe 8- $\text{CH}_2$  und die zwei in Abbildung 181 diskutierten Untereinheiten.

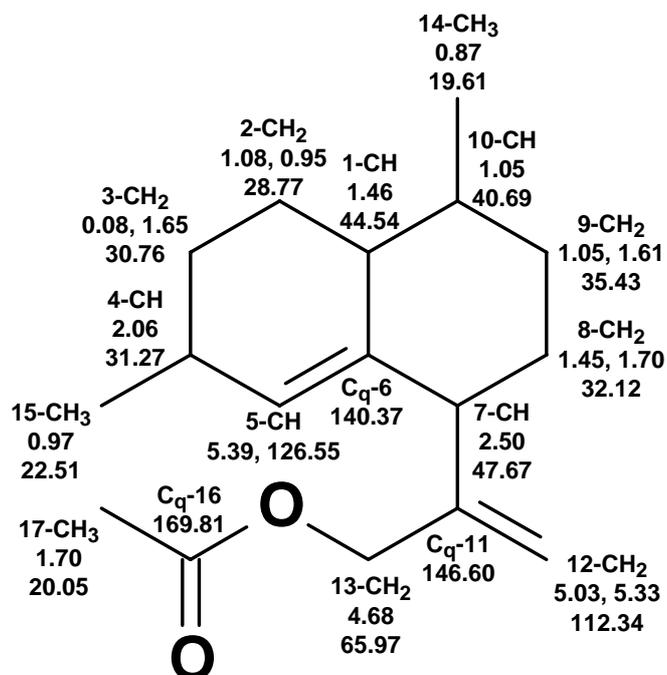
Anhand von zwei ausgewählten Signalen im Protonenspektrum kann auch für **205** ein anelliertes Sechsring-Sechsring-System festgelegt werden. Das Signal von 7-H ( $\delta_{\text{H}} = 2.50$  ppm) enthält eine Kopplungskonstante von 13.3 Hz, welche wiederum einer 1,2-*trans*-diaxialen-Kopplung im Sechsring (zu 3- $\text{CH}_{2/\text{ax}}$ ) entspricht. Anhand des Signals des Methinprotons 4-H ( $\delta_{\text{H}} = 2.05$  ppm) können Informationen über den zweiten Sechsring dieser Struktur gewonnen werden. Das Signal 4-H ist komplex und lässt sich daher nicht vollständig auflösen, so dass eine Abschätzung der Kopplungskonstanten eine Lösung versprechen könnte. Die Summe aller Kopplungskonstanten im Signal von 4-H beträgt 29.8 Hz. Davon entsprechen ca. 21 Hz der Kopplungen von 4-H mit den drei Protonen der benachbarten Methylgruppe 15- $\text{CH}_3$  (7 Hz beträgt die durchschnittliche Kopplungskonstante, die 4-H mit einem Proton der Methylgruppe 15- $\text{CH}_3$  erzeugt). Die restlichen ca. 9 Hz enthalten Kopplungskonstanten zu drei weiteren benachbarten Protonen (3- $\text{CH}_{2/\text{ax}}$ , 3- $\text{CH}_{2/\text{äq}}$  und 5-H), was nur dann möglich sein kann, wenn das diskutierte Proton 4-H äquatorial im Ringsystem angeordnet ist, weil nur dann keine 1,2-*trans*-diaxiale Kopplung auftreten kann.

Bezüglich der relativen Konfiguration können aufgrund zu starker Signalüberlagerungen im NOESY-Spektrum keine detaillierten Informationen gewonnen werden. Lediglich die separierten, ungesättigten und Heteroatom gebundenen Protonen geben Auskunft über ihre chemische Umgebung, so dass die räumliche Zuordnung des Allylacetat-Substituenten zum restlichen Molekül überprüft werden kann (s. Abbildung 183).



**Abbildung 183:** Über das NOESY-Spektrum von **205** können nur Teile des Moleküls bestimmt werden.

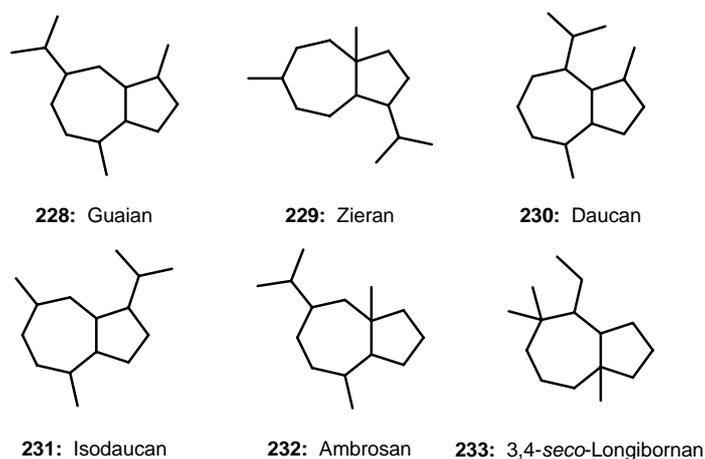
Es handelt sich also bei **205** um 5,6,11,12-Didehydro-13-acetoxycadinan, dessen NMR-Daten abschließend in Abbildung 162 gezeigt sind.



**Abbildung 184:** Chemische Verschiebungen der Protonen und Kohlenstoffatome von 5,6,11,12-Didehydro-13-acetoxycadinan (**205**).

## 9.5. Diskussion

Bisher sind nur die in Abbildung 185 bekannten Bicyclo[5.3.0]decan-Skelette mit den entsprechenden Substitutionsmustern in der Literatur bekannt. Dazu gehören das Guaian-Gerüst (**228**), das bereits in Kapitel 5 in Form des Guajazulens (**31**), Lactarazulens (**24**) und von diesen Aromaten abgeleitete Halogenderivate aus *Hymedesmia paupertas* erwähnt wurden. Hinzu kommen die Zieran-, Daucan-, Isodaucan-, Ambrosan- und 3,4-*seco*-Longibornan-Skelette (**229** - **233**). Mit Resedaeforman (**224**) bzw. dem konjugierten Dien Resedaeforma-6,11-dien (**200**) konnte aus *P. resedaeformis* ein weiteres Sesquiterpen-Grundgerüst mit bisher unbekanntem 2,6,8-Trisubstitutionsmuster isoliert und aufgeklärt werden.

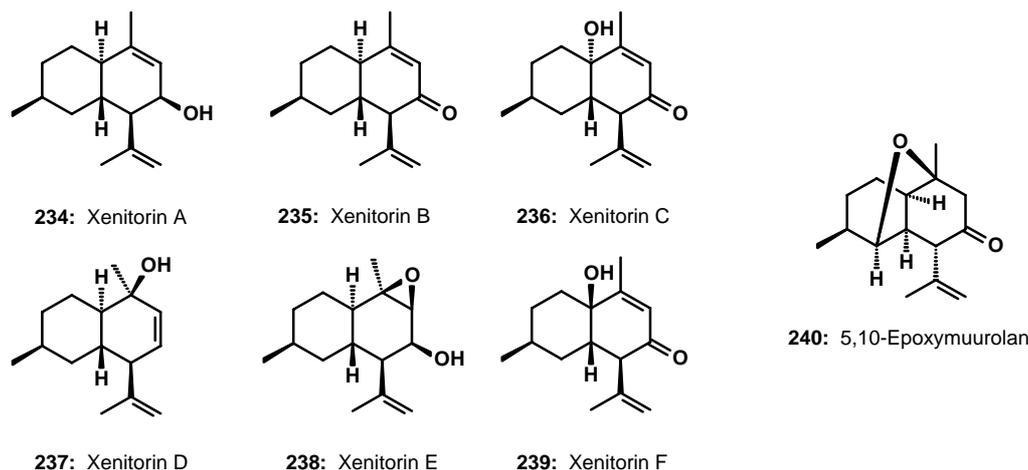


**Abbildung 185:** Bekannte Bicyclo[5.3.0]decan-Grundgerüste

Des Weiteren wurden aus dieser Koralle drei bisher unbekannte Alkohole (**201**, **203** und **204**) und ein Acetat vom Cadinan-Typ (**205**) isoliert und deren Struktur durch NMR-spektroskopische Untersuchungen aufgeklärt.

In der Literatur sind Sesquiterpene mit Cadinan-, Amorphan- bzw. Muurolan-Grundgerüsten aus verschiedenen marinen Organismen, wie Schwämmen, Schnecken oder Braunalgen bekannt.

Auch aus Korallen wurden diese Verbindungen isoliert, so z. B. die cytotoxischen Xenitorine A-F (**234** - **239**) aus *Xenia puerto-galerae* mit Cadinen-Skelett<sup>167</sup> und das 5,10-Epoxy-muurolan (**240**) aus der Weichkoralle *Gorgonia ventalina*.<sup>168</sup>



**Abbildung 186:** Die Xenitorie A - F (234 - 239) aus *Xenia puerto-galerae* mit Cadinen-Skelett besitzen cytotoxische Eigenschaften gegen verschiedenen Krebszelllinien. Das 5,10-Epoxymurolan (240) wurde aus der Weichkoralle *Gorgonia ventalina* isoliert.

Durch ihre sessile Lebensweise sind Korallen leicht angreifbar für Fraßfeinde oder andere Organismen. Daraus haben sich im Laufe der Evolution chemische Abwehrmechanismen entwickelt. Hinzu kommt die symbiontische Lebensweise mit Mikroorganismen, die möglicherweise für die Produktion dieser Sekundärmetabolite verantwortlich sein könnten, wobei bis heute ungeklärt ist, welche Organismen diese Vielzahl an Sekundärmetaboliten produzieren.<sup>169</sup>

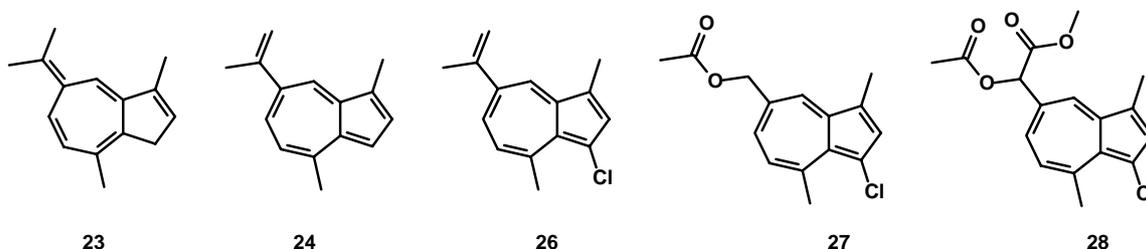
Ebenso ist bis heute größtenteils unerforscht, welche Bedeutung diese Substanzen für die Korallen spielen. Es ist bekannt, das Fäulnis eine Bedrohung für Korallen- und Korallenriffe darstellt, wobei sich Korallen durch die Produktion einer Reihe biologisch aktiver Substanzen vor dieser Gefahr schützen. Daneben produzieren sie ichthyotoxische sowie algizide Substanzen und können große Mengen terpenoider Strukturen an ihr Umgebungswasser abgeben, um benachbarte Organismen zu vertreiben oder sogar abzutöten.<sup>170,171</sup> Bei einer Reihe von Substanzen sind Pheromoneffekte festgestellt worden.<sup>172,173</sup>

## 10. Zusammenfassung

Die Chemie mariner Naturstoffe umfasst ein relativ unentwickeltes Forschungsfeld, das in den letzten Jahren allerdings eine Reihe interessanter Naturstoffe hervorgebracht hat. Oft zeigen diese neuen Verbindungen beträchtliche biologische Aktivität. Einige sind bereits als neue Pharmaka auf dem Markt oder befinden sich in klinischen Studien.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden boreale Schwämme und eine Korallenart im Hinblick auf ihr Inventarium an Naturstoffen untersucht. Bei den untersuchten Schwämmen handelte es sich um die zwei inkrustierenden Arten *Hymedesmia paupertas* und *Aplysilla sulphurea* sowie um *Mycale lingua*. Als Vertreter der Octokorallen stand *Primnoa resedaeformis* für das chemische Screening zur Verfügung.

*H. paupertas* enthielt zahlreiche neue Azulenderivate. Es wurde das neue, nicht aromatische Dihydroazulenderivat 3,7-Dihydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethyliden)azulen (**23**) neben dem aus terrestrischen Pilzen bekannten Lactarazulen (**24**) isoliert. Daneben konnten die chlorierten Azulene 3-Chlorlactarazulen (**26**), 5-Acetoxymethyl-1-chlor-3,8-dimethylazulen (**27**) und 5-Acetoxycarbomethoxymethylen-1-chlor-3,8-dimethylazulen (**28**) isoliert und ihre Strukturen NMR-spektroskopisch aufgeklärt werden.



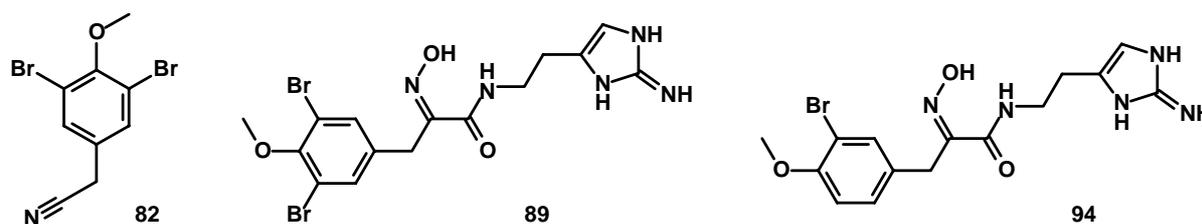
Mit dieser Arbeit wurden erstmals Azulene in Poriferen identifiziert.

Weiterhin wurden anhand ihrer Massenspektren und Vergleich mit den isolierten Komponenten Strukturvorschläge von weiteren zwölf strukturverwandten Verbindungen gemacht. Darunter befanden sich auch vier bromierte Azulene.

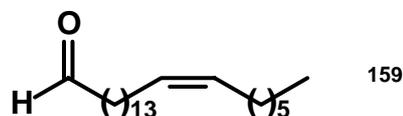
In *Aplysilla sulphurea* wurden eine Vielzahl mono-, di- sowie tribromierter Sekundärmetabolite isoliert und identifiziert. Die Hauptkomponente des Dichlormethanextraktes konnte mit Hilfe präparativer Gaschromatographie isoliert und deren Struktur NMR-spektroskopisch aufgeklärt werden. Dabei handelte es sich um 3,5-Dibrom-4-methoxyphenylacetonitril (**82**). Aus dem *n*-Butanolextrakt wurde die Hauptkomponente über verschiedene chromatographische Reinigungsschritte isoliert, deren elementare Zusammensetzung durch ESI- und

APCI-MS-Untersuchungen bestimmt und die Struktur anhand von NMR-Untersuchungen aufgeklärt. Es handelte sich dabei um das Dibromtyrosinalkaloid Ianthellin (**89**).

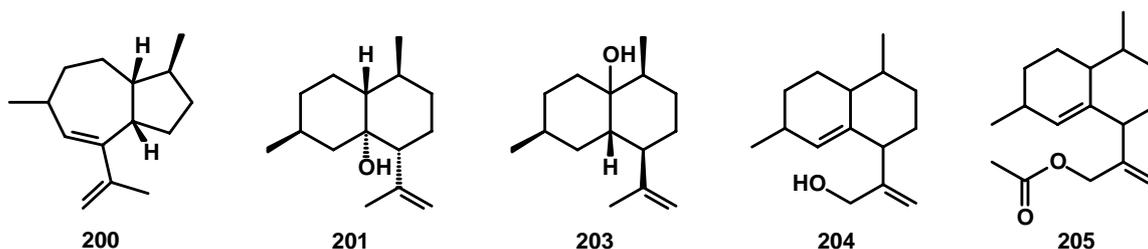
Weiterhin konnten Summenformeln von mehreren mono- und dibromierten Alkaloiden über hochaufgelöste ESI- und APCI-MS-Experimente bestimmt werden. Für diese Spurenkomponenten wurden anhand der isolierten und identifizierten Hauptkomponente Ianthellin (**89**) Strukturvorschläge gemacht. Dabei handelte es sich um die mit **89** strukturverwandten Verbindungen Verongamin (**93**), 5-Bromverongamin (**116**) und 5-Debromoianthellin (**94**). Letztere ist ein neuer Naturstoff.



In *Mycale lingua* wurde ein Lipid nachgewiesen, dessen Struktur aufgrund gaschromatographischer Daten, des Massenspektrums und Derivatisierung als (15*Z*)-Docosenal (**159**) angesehen wurde. Diese Struktur wurde durch unabhängige Synthese verifiziert.



Aus der Oktokoralle *Primnoa resedaeformis* wurde mittels präparativer Gaschromatographie ein Sesquiterpen-Kohlenwasserstoff isoliert. Durch NMR-Untersuchungen wurde diese Substanz als ein Bicyclo[5.3.0]decan-Grundgerüst mit bis dahin unbekanntem 2,6,8-Trisubstitutionsmuster identifiziert. Dieses neue Skelett wurde Resedaeorman genannt. In *P. resedaeformis* liegt das konjugierte Dien **200** vor, bei dem es sich daher um Resedaeorma-6,11-dien handelt. Neben **200** wurden die drei Sesquiterpenalkohole 11,12-Dehydrocadinan-6-ol (**201**), 11,12-Dehydrocadinan-1-ol (**203**), 5,6,11,12-Didehydrocadinan-13-ol (**204**) und dessen Acetat 5,6,11,12-Didehydro-13-acetoxycadinan (**205**) isoliert. Die absoluten Konfigurationen dieser Verbindungen bleiben unbekannt.

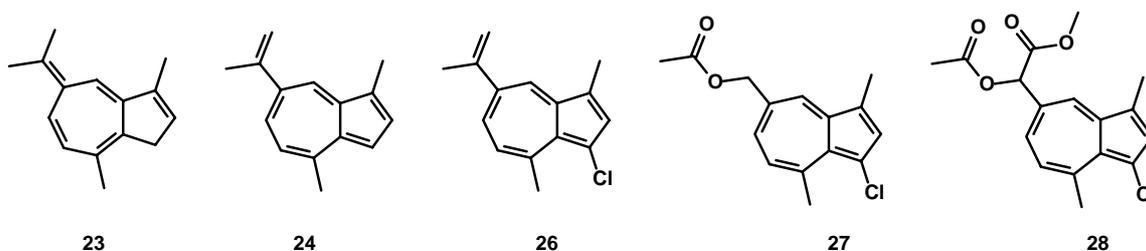


## 11. Summary

Despite its short history, marine natural product chemistry developed rapidly and is still a challenging pool of remarkable structures. Many compounds found in marine organisms have shown to possess strong biological activity, thus being potential drug candidates in medicinal application.

Scope of the present thesis is the analysis of natural products from boreal sponges *Hymedesmia paupertas*, *Aplysilla sulphurea* and *Mycale lingua*, as well as the coral *Primnoa resedaeformis*.

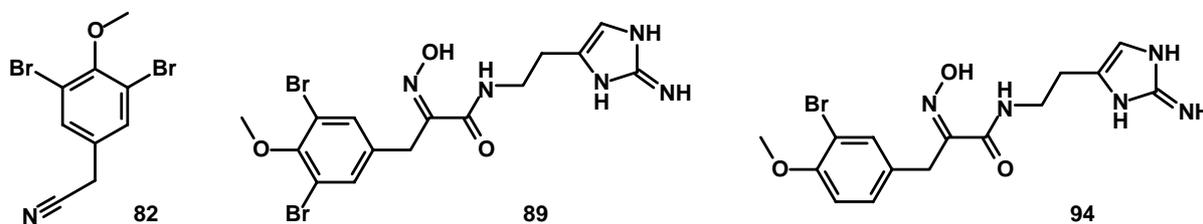
*H. paupertas* produces azulene derivatives, such as lactarazulene (**24**), which is known from terrestrial fungi, and the new non-aromatic dihydroazulene 3,7-dihydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethylidene)azulene (**23**). In addition, the structures of three halogenated azulenes were shown to be 5-acetoxymethyl-1-chloro-3,8-dimethylazulene (**27**), 5-acetoxycarbomethoxymethylene-1-chloro-3,8-dimethylazulene (**28**) and 3-chlorolactarazulene (**26**). The mass spectra of trace compounds, which could not be fully characterised, allowed the suggestion of further structures, among which were four brominated azulenes. This is the first occurrence of azulenes in sponges.



*A. sulphurea* contained several mono-, di-, and tribrominated compounds. Preparative gas chromatography allowed the isolation of the major compound present in the dichloromethane extract. It was identified as 3,5-dibromo-4-methoxyphenylactonitril (**82**), as could be shown by one- and two-dimensional NMR-spectra.

The major compound of the *n*-butanol extract (**89**) could be purified by repeated liquid chromatography. The elemental composition was determined by ESI- and APCI-MS and its structure elucidated by NMR-spectroscopy. As a result **89** was identified as the known dibromotyrosine alkaloid ianthellin.

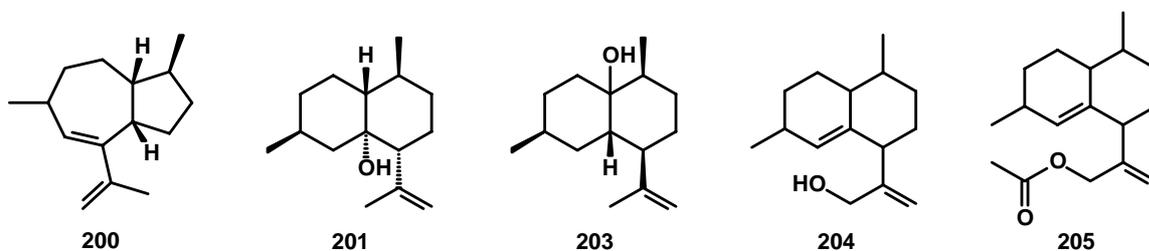
Traces of further mono- and dibrominated alkaloids could be detected in the mass spectra of the extract. With respect to the presence of ianthellin (**89**) the proposed structures of these minor compounds are verongamine (**93**), 5-bromoverogamine (**116**) and the new natural product 5-debromoverogamine (**94**).



GC-MS analysis of the non-polar extract of *Mycale lingua* indicated the presence of (15Z)-docosenal (**159**). The structure of this metabolite was verified by synthesis.



A sesquiterpene hydrocarbon was isolated from the coral *Primnoa resedaeformis* by preparative gas chromatography. NMR investigations of this compound revealed a bicyclo[5.3.0]decane-skeleton with a new substitution pattern, which was called resedaeforman. The structure of the natural product was shown to be resedaeforma-6,11-diene (**200**). In addition, the sesquiterpene alcohols 11,12-dehydrocadinane-6-ol (**201**), 11,12-dehydrocadinane-1-ol (**203**), 5,6,11,12-tetrahydro-13-acetoxycadinane-13-ol (**204**), and its acetate (**205**) were identified. Relative configurations of these compounds could be assigned on the basis of NMR-investigation, however, absolute configuration were not determined.



## 12. Experimenteller Teil

### NMR-Spektroskopie

Mit Hilfe der Geräte AMX-400 (400 MHz für  $^1\text{H}$ ; 101 MHz für  $^{13}\text{C}$ ), DRX500 (500 MHz für  $^1\text{H}$ ; 126 MHz für  $^{13}\text{C}$ ) und Avance 700 (mit Cryo-Probenkopf) (700 MHz für  $^1\text{H}$ , und 176 MHz für  $^{13}\text{C}$ ) wurden die NMR-Spektren aufgenommen. Die Messungen erfolgten bei Raumtemperatur (300 K). Die chemische Verschiebung  $\delta$  wird im ppm angegeben. Weiterhin wurden die  $^{13}\text{C}$ -Signale über PENDANT-Experimente zugeordnet. Alle zweidimensionalen NMR-Experimente ( $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY, HMQC bzw. HSQC, HMBC und NOESY) wurden mit Hilfe der NMR-Spektrometer DRX500 und Avance 700 durchgeführt. Als interner Standard wurde Tetramethylsilan verwendet (TMS,  $\delta = 0$  ppm). In Ausnahmefällen wurde kein TMS verwendet und das Spektrum auf die chemische Verschiebung des betreffenden Lösungsmittelsignals kalibriert ( $\text{CHCl}_3$  in  $\text{CDCl}_3$ :  $\delta = 7.26$  ppm,  $\text{CDHCl}_2$  in  $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ :  $\delta = 5.32$  ppm,  $\text{C}_6\text{D}_5\text{H}$  in  $\text{C}_6\text{D}_6$ :  $\delta = 7.16$  ppm,  $\text{C}_2\text{D}_5\text{HSO}$  in  $\text{C}_2\text{D}_6\text{SO}$ :  $\delta = 2.05$  ppm und  $\text{CD}_3\text{OH}$  in  $\text{CD}_3\text{OD}$ :  $\delta = 3.31$  ppm).

### Gaschromatographie

Gaschromatographische Trennungen wurden mit Hilfe eines Gaschromatographen der Firma Agilent vom Typ HP6890 mit Split/Splitless-Injektor und Flammenionisationsdetektor (FID) durchgeführt. Als Träger- und Brenngas diente Wasserstoff.

Folgende Kapillarsäulen wurden verwendet:

- 30 m HP1, ID 0.25 mm, FD 0.25  $\mu\text{m}$  der Firma Agilent
- 60 m CPSil 8 LowBleed/MS, ID 0.25 mm, FD 0.25  $\mu\text{m}$  der Firma Varian

### Präparative Gaschromatographie

Präparativ gaschromatographische Trennungen wurden mit Hilfe eines Gaschromatographen der Firma Hewlett-Packard vom Typ HP5890, Series II mit Split/Splitless-Injektor und Flammenionisationsdetektor (FID) durchgeführt. Als Träger- und Brenngas diente Wasserstoff.

Für die automatisierte Probenaufgabe wurde ein Autosampler der Firma Hewlett-Packard vom Typ HP7673A verwendet.

Folgende Dickfilmsäulen wurden verwendet:

- 30 m Optima-5, ID 0.53 mm, FD 2 µm der Firma Macherey & Nagel
- 30 m Optima-1701, ID 0.53 mm, FD 2 µm der Firma Macherey & Nagel
- 30 m CPSil 8CB, ID 0.53 mm, FD 1.5 µm der Firma Varian

Die Fraktionierungen der flüchtigen Komponenten erfolgte mit Hilfe eines Fraktionssammlers (Preparative Fraction Collector, PFC) der Firma Gerstel mit 6 Fallengefäßen (Volumen: 1 oder 100 µL) und einer Nullfalle. Die Kühlung der Fallen wurde mit einem Umwälzkühler Thermo Haake K20 und einem Ethylenglycol/Wasser-Gemisch bei - 2 bis - 5 °C durchgeführt. Die isolierten Reinsubstanzen konnten für NMR-Messungen direkt mit NMR-Lösungsmitteln aus den Fallengefäßen gespült werden.

### **Gaschromatographie-Massenspektrometrie**

Die vorliegenden Massenspektren wurden mit folgenden GC-MS-Kopplungen aufgenommen:

- Sektorfeldmassenspektrometer:

VG 70/250 SE der Firma VG Analytical mit Elektronenstoßionisation bei einer Beschleunigungsspannung von 70 eV. Dem Massenspektrometer war ein Gaschromatograph vom Typ HP5890 mit Split/Splitless- und on-column-Injektor der Firma Hewlett-Packard vorgeschaltet. Die Interface- und die Quellentemperaturen betragen 280 °C bzw. 200 °C.

Mit diesem Gerät wurden auch GC-MS-Untersuchungen mit chemischer Ionisation (CI; als Reaktandgas diente Isobutan) durchgeführt sowie hochaufgelöste Massenspektren (EI) aufgenommen. Helium diente als Trägergas.

- Quadrupolmassenspektrometer:

MD800 mit vorgeschaltetem Gaschromatograph vom Typ GC8060 (Split-Splitless-Injektor) der Firma Fisons. Die Ionisation erfolgte durch Elektronenstoß bei 70 eV. Helium diente als Trägergas.

Folgende Kapillarsäulen wurden verwendet:

- 30 m DB5 MS, ID 0.25 mm, FD 0.25 µm der Firma J&W Scientific
- 60 m Optima-5 MS, ID 0.32 mm, FD 0.25 µm der Firma Macherey & Nagel
- 60 m DB1 MS, ID 0.25 mm, FD 0.25 µm der Firma J&W Scientific
- 60 m CPSil 8 LowBleed/MS, ID 0.25 mm, FD 0.25 µm der Firma Varian

In den Massenspektren wird das Masse-Ladungsverhältnis ( $m/z$ ) mit der relativen Intensität (in Klammern dahinter) bezogen auf das stärkste Signal (base-peak) angegeben. Alle Peaks, die eine geringere Intensität als 1 % (bezogen auf den Basispeak) besitzen, werden nicht berücksichtigt.

### **GC-FTIR-Spektroskopie**

Gasphasen IR-Spektren wurden nach gaschromatographischer Trennung (GC: Hewlett-Packard vom Typ HP5890, Serie II mit Split/Splitless-Injektor und nachgeschaltetem Flammenionisationsdetektor (FID)) mittels HP5965A Infrared Detector der Firma Hewlett-Packard bei einer Durchflusszellentemperatur von 290 °C durchgeführt. Die Fourier-Transformation zur Generierung der Spektren erfolgte mit einer Auflösung von  $4 \text{ cm}^{-1}$ .

### **IR-Spektroskopie**

Die Aufnahme der IR-Spektren erfolgte mit einem FT-IR-Spektrometer der Firma Thermo Nicolet vom Typ AVATAR 370 FT-IR (Spektralbereich:  $7800 - 375 \text{ cm}^{-1}$ ; Auflösung:  $< 0.9 \text{ cm}^{-1}$ ) als Kaliumbromid-Pressling oder als Film zwischen Natriumchloridplatten.

### **Elektrospray- / APCI-Tandemmassenspektrometrie; HPLC-MS**

Massenspektrometrische Untersuchungen von Lösungen erfolgten mit einem Sektorfeld-Ionenfallen-MS-MS-Gerät vom Typ MAT95XL der Firma ThermoQuest. Die Ionisation erfolgte wahlweise durch Elektrospray (ESI) oder durch chemische Ionisation unter Atmosphärendruck (APCI) im Negativ- oder Positiv-Modus. Die Zuführung des Analyten in Lösung erfolgte durch eine Spritzenpumpe mit Flussraten zwischen 1 und 20 mL/min oder durch eine HPLC vom Typ ConstaMetric 4100. Für HPLC-MS-Untersuchungen wurde ein UV-Detektor der Firma Knauer vom Typ WellChrom Spectro-Photometer K-2501 verwendet. Bei Messungen mit Elektrospray-Ionisation wurde unter Umständen mit zugeschaltetem Schiessgas (Sheath-Gas) gemessen, das bei APCI-Messungen neben dem Auxiliary-Gas permanent zugeschaltet war. Als Lösungsmittel dienten entweder Methanol/Wasser- oder Acetonitril/Wasser-Gemische. HPLC-Untersuchungen wurden mittels Methanol/Wasser-Gradienten und zugesetzter Trifluoressigsäure (TFA, 0.1 - 0.5 Vol.-%) durchgeführt (HPLC-Trennsäule: *LiChrospher*<sup>®</sup> 100 RP-18e ( $5 \mu\text{m}$ ), Länge: 250 mm, ID: 4 mm der Firma Merck). Die Quellentemperatur wurde bei ESI-Messungen im Bereich von 240 bis 280 °C und das Potential der Kapillare zwischen 2.5 und 3.6 kV gewählt. Die Hochauflösung der

Molekülonen erfolgte bei einer Auflösung von ca. 5000. Für die Durchführung von MS<sup>n</sup>-Experimenten zur Generierung von Tochterionen stand zusätzlich eine Iontrap zur Verfügung.

### **HPLC; HPLC-DAD**

Analytische HPLC-Untersuchungen und Trennungen wurden mit Hilfe einer Merck Hitachi *L-6200 Intelligent Pump* durchgeführt. Als Detektor diente ein Merck Hitachi Dioden-Array-Detektor (DAD) vom Typ *L-4500 Diode Array Detector* (max. Messbereich 190 - 800 nm).

Präparative Trennungen wurden mittels einer Merck Hitachi *L-7150* Pumpe durchgeführt. Als Detektor diente dabei ein Merck Hitachi *L-4000* UV-Detektor.

Folgende HPLC-Trennsäulen wurden verwendet:

- *LiChrospher*<sup>®</sup> 100 RP-18 (5 µm), Länge: 250 mm, ID: 4 mm der Firma Merck
- *LiChrosorb*<sup>®</sup> NH<sub>2</sub> (7 µm), Länge: 250 mm, ID: 7 mm der Firma Merck
- *LiChrospher*<sup>®</sup> 100 RP-18e (5 µm), Länge: 250 mm, ID: 4 mm der Firma Merck
- *Kromasil*<sup>®</sup> 5 NH<sub>2</sub> (5 µm) , Länge: 250 mm, ID: 21.2 mm der Firma Phenomenex
- *Kromasil*<sup>®</sup> 5 C<sub>18</sub> (5 µm) , Länge: 250 mm, ID: 21.2 mm der Firma Phenomenex

Als mobile Phasen wurden verschiedene Acetonitril-/Wasser- bzw. Methanol-/Wasser-Gemische und für die Trennung der Alkaloide mit Trifluoressigsäure (TFA, 0.1 - 0.5 Vol.-%) versetzte Gemische verwendet.

Die Flussraten lagen zwischen 1 und 2 mL/min bei analytischen und zwischen 8 und 15 mL/min bei präparativen Trennungen.

### **Drehwertbestimmung**

Die Drehwerte der optisch aktiven Substanzen wurden auf einem Perkin-Elmer-Polarimeter 341 in 10 cm Küvetten bei einer Wellenlänge von 589 nm bestimmt.

### **Dünnschicht- und säulenchromatographische Trennungen**

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen wurden mit Kieselgelfolien 60 F<sub>254</sub> mit Fluoreszenz-Indikator der Firma Merck verwandt. Die Detektion erfolgte unter UV-Licht. Die nicht durch UV-Licht detektierbaren Substanzen wurden mit Iod oder verschiedenen Sprüh- oder Tauchreagenzien (Molybdätophosphorsäure (1 % in Ethanol) und Anisaldehyd (2 %

Anisaldehyd, 2 % Schwefelsäure, 2 % Essigsäure in Ethanol)) und anschließendem Erhitzen mit einem Heißluftföhn sichtbar gemacht.

Für die säulenchromatographischen Trennungen wurde Kieselgel (Partikelgröße: 32-63 µm, Porengröße: 60 Å) der Firma ICN eingesetzt. Die verwendeten Laufmittel sind den Versuchsvorschriften zu entnehmen. Es wurde bei einem Überdruck von 0.2 bis 0.4 bar gearbeitet.

### **Reaktionen mit hydrolyse- / luftempfindlichen Substanzen**

Reaktionen, die wasser- und sauerstofffreie Bedingungen erforderten, wurden unter einer Stickstoffatmosphäre mit wasserfreien Lösungsmitteln durchgeführt.

### **Chemikalien, Reagenzien und Lösungsmittel**

Die für Synthesen eingesetzten Chemikalien wurden von den Firmen Acros, Aldrich, Bachem, Fluka, ICN, Lancaster und Merck bezogen und wenn nicht anders angegeben, ohne vorherige Reinigung für die Synthesen verwendet.

Für die Bereitstellung der Schwamm- und Korallenextrakte sowie flüssigchromatographische Methoden wurden Lösungsmittel der Firmen Merck in den Reinheitsgraden *SupraSolv*<sup>®</sup> bzw. *LichroSolv*<sup>®</sup> und Acros (HPLC-Grade) verwendet.

Wasserfreie Lösungsmittel wurden ebenfalls bei den Firmen Acros, Aldrich, Fluka, und Merck bezogen oder nach den gängigen Vorschriften absolutiert.<sup>174</sup>

### **Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Herstellung von Schwammextrakten**

20 g Schwamm oder Koralle (Nassgewicht und von Steinen sowie schwer zerkleinerbaren Bestandteilen befreit) werden mit 100 mL Aceton versetzt und mit Hilfe eines Schneidstabes homogenisiert. Das Homogenisat wird in zwei 100 mL Zentrifugengläser gegeben und 10 Minuten im Ultraschallbad extrahiert. Anschließend wird 5 Minuten bei 2500 U/min zentrifugiert. Die überstehende Lösung wird abpipettiert, der Rückstand mit je 20 mL Aceton versetzt und mit einem Spatel aufgelockert. Danach wird erneut für 10 Minuten im Ultraschallbad extrahiert und wiederum zentrifugiert. Dieser Vorgang wird ein drittes Mal wiederholt. Die vereinigten Acetonextrakte werden am Rotationsverdampfer vorsichtig eingengt (300 mbar, 35 °C Wasserbadtemperatur, dann den Druck langsam bis auf 190 mbar verringern): Der zurückbleibende wässrige Extrakt wird mit 50 mL Wasser versetzt und im Scheidetrichter dreimal mit je 20 mL Dichlormethan extrahiert. Der vereinigte Dichlormethanextrakt wird über 1 g Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert. Das Filterpapier und

der zuvor verwendet Kolben werden gründlich mit 10 mL Dichlormethan gespült. Der organische Gesamtextrakt wird am Rotationsverdampfer vorsichtig eingengt (35 °C Wasserbadtemperatur, 600 mbar, dann den Druck auf 100 mbar verringern, dreimal belüften und wieder kurz Vakuum bis auf 100 mbar verringern).

Der nach der Extraktion mit Dichlormethan zurückgebliebene wässrige Extrakt wird dreimal mit je 20 mL *n*-Butanol extrahiert. Unter Umständen muss zur besseren Phasentrennung zentrifugiert werden. Die vereinigten Butanolextrakte werden am Rotationsverdampfer eingengt (35 °C Wasserbadtemperatur, 10 mbar) und anschließend an der Ölpumpe eine Stunde lang getrocknet.

## **Derivatisierungsreaktionen**

### DMDS-Derivatisierung<sup>175,176</sup>

10-20 µL des Naturextraktes werden mit 50 µL Schwefelkohlenstoff, 50 µL Dimethyldisulfid und 5 µL Iodlösung (60 mg I<sub>2</sub> in 1 mL Diethylether) versetzt und über Nacht in einem gasdichten Schraubgläschen bei 60 °C gehalten. Anschließend werden 300 µL *n*-Pentan zugegeben und das überschüssige Iod mit 50-100 µL Natriumthiosulfatlösung (0.5 g in 10 mL Wasser) zerstört. Nach Zugabe einer Spatelspitze Natriumchlorid wird die organische Phase abgetrennt, über Magnesiumsulfat getrocknet, in einen Kapillarkolben gegeben und konzentriert.

### Silylierung

Dafür werden 20 µL des Extraktes mit 10 µL Silyl-991 (BSTFA/TMCS (Kat.) 99:1) versetzt und nach einer Reaktionsdauer von 30 Minuten vorsichtig im Wasserbad vollständig eingengt. Der Rückstand wird für weitere analytische Zwecke in Dichlormethan aufgenommen.

BSTFA: *N,O*-bis-Trimethylsilyltrifluoracetamid

TMCS: Trimethylchlorosilan

### Acetylierung

Der Extrakt wird mit 100 µL abs. Pyridin und 100 µL frisch destilliertem Essigsäureanhydrid versetzt und eine Stunde lang auf 55 °C erhitzt. Anschließend werden zur Neutralisation Natriumhydrogencarbonat und etwas Wasser gegeben. Die wässrige Phase wird mit

Dichlormethan oder Essigsäureethylester extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und für weitere Analysen eingeengt.

### Methylierung<sup>177</sup>

Darstellung von *N*-Methyl-*N*-nitrosoharnstoff<sup>178</sup>:

Zur Darstellung von *N*-Methyl-*N*-nitrosoharnstoff werden 20.1 g (0.3 mol) Methylaminhydrochlorid und 60 g (1 mol) Harnstoff in 150 mL Wasser gelöst und 3 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Anschließend werden 22.1 g (0.32 mol) Natriumnitrit hinzugegeben und auf - 10 °C gekühlt. Die erkaltete Reaktionslösung wird auf ein Gemisch aus 600 g Eis / 100 g konz. Schwefelsäure gegossen. Dabei fällt das Produkt als weiß-gelber Niederschlag aus, der abgesaugt und aus Methanol umkristallisiert wird.

### Darstellung von Diazomethan

In einer kommerziell für die Darstellung von Diazomethan erhältlichen Apparatur (MNNG: diazomethane-generation apparatus, Aldrich) werden einige Spatelspitzen *N*-Methyl-*N*-nitrosoharnstoff mit wenigen Tropfen 40%iger Kaliumhydroxid-Lösung versetzt. Das als gelbes Gas gewonnene Diazomethan wird bis zum Stillstand der Gasentwicklung in *n*-Pentan (SupraSolv<sup>®</sup>) als Lösungsmittelvorlage einkondensiert. Einige Tropfen dieser Lösung werden anschließend zu den eingedampften Naturextrakten gegeben, nach Abreagieren des Diazomethans erneut vollständig eingeengt, in Dichlormethan (SupraSolv<sup>®</sup>) aufgenommen und gaschromatographisch / massenspektrometrisch untersucht.

### Hydrierung

Die Hydrierungen der Extrakte erfolgt im Autoklaven bei 20 bar Wasserstoffdruck in Gegenwart geringer Mengen eines Katalysators (Pd/C - Palladium auf Aktivkohle; Platin auf Aktivkohle).

## Synthese von (15Z)-Docosenal (159)

### Darstellung von (15Z)-Docosen-1-ol (171)



Alle Syntheseschritte werden unter Schutzgas-Atmosphäre durchgeführt.

### Darstellung des Wittig-Reagenzes:

5.3 g (12 mmol (1.2 Äquivalente), bezogen auf 15-Hydroxypentadecansäurelacton (Cyclopentadecanolid; **170**)) gemörsertes und im Ölpumpenvakuum getrocknetes *n*-Heptyl-triphenylphosphoniumbromid werden in 100 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und unter Rühren auf - 20 °C gekühlt. Dann werden 6 mL einer 2 M Lösung Natriumbis(trimethylsilyl)amid in Tetrahydrofuran (entsprechend 12 mmol Natriumbis(trimethylsilyl)amid; äquimolar) zugegeben und das Ylid weitere 15 Minuten bei - 20 °C gerührt und anschließend auf - 50 °C abgekühlt.

### Darstellung des Lactols:

Zu einer gut gerührten Lösung von 2.4 g (10 mmol) **170** in 50 mL abs. Toluol werden vorsichtig bei - 78 °C 12 mL einer 1 M Lösung von frischem Diisobutylaluminiumhydrid in *n*-Heptan (DibalH; entsprechend 12 mmol DibalH; 1.2 Äquivalente) zugetropft. Die Lösung wird weiter bei - 78 °C gerührt und der Reaktionsverlauf gaschromatographisch verfolgt. Die Reaktion ist bereits nach ca. 30 Minuten beendet. Restlicher Überschuss an Diisobutylaluminiumhydrid wird durch Zugabe von 0.1 mL abs. Methanol zerstört.

Im nächsten Schritt wird unter Rühren das Lactols zur Lösung mit dem Wittig-Reagenz gegeben. Die Lösung wird von - 50 °C auf Raumtemperatur gebracht und anschließend weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die Reaktionslösung mit 50 mL 5%iger Salzsäure hydrolysiert. Die Phasen werden getrennt und anschließend die wässrige Phase zweimal mit je 50 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dann mit je 50 mL 5%iger Salzsäure, gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden eingeeengt. Zur Abtrennung des Triphenylphosphinoxids wird der Rückstand mit 100 mL Pentan aufgenommen. Anschließend wird das Filtrat weiter eingeeengt und mit Petrolether (50 - 70 °C) : Ethylacetat 10 : 1 chromatographiert.

Es wurden 0.74 g (2.28 mmol, 22.8 %) (15Z)-Docosen-1-ol (**171**) als Rohprodukt in Form eines gelben Öls erhalten, das beim Stehen als leicht rosa gefärbter Feststoff auskristallisierte.

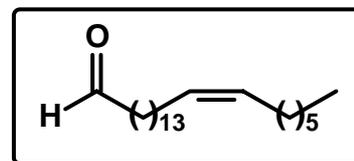
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ [ppm] = 0.88 (t, 3H, 22-CH<sub>3</sub>), 1.2 - 1.42 (m, 30H, CH<sub>2</sub>), 1.54 - 1.59 (tt, *J* = 6.7 Hz, 2H, 2-CH<sub>2</sub>), 2.00 - 2.04 (dt, *J* = 5.1 Hz, 4H, 14-/16-CH<sub>2</sub>), 3.64 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, 1-CH<sub>2</sub>), 5.35 (m, 2H, 15/16-CH)

**<sup>13</sup>C-NMR (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ [ppm] = 14.11 (C-15, CH<sub>3</sub>), 32.84, 31.81, 29.8, 29.77, 29.69, 29.67, 29.63, 29.62, 29.58, 29.46, 29.34, 63.13 (C-1), 129.92 (C-15/16), 130.39 (C-15/16)

Aufgrund von Signalüberlagerungen können nicht alle Methylengruppen zugeordnet werden.

**MS (EI, 70 eV):** [m/z]: 39 (9), 41 (82), 42 (26), 43 (59), 44 (4), 45 (2), 53 (7), 54 (27), 55 (100), 56 (22), 57 (23), 58 (1), 65 (2), 66 (5), 67 (31), 68 (25), 69 (44), 70 (11), 71 (7), 77 (1), 79 (4), 80 (4), 81 (26), 82 (36), 83 (22), 84 (4), 85 (3), 94 (1), 95 (19), 96 (27), 97 (14), 98 (2), 109 (10), 110 (10), 111 (5), 74 (1), 123 (5), 124 (5), 125 (2), 137 (3), 138 (3), 152 (1), 306 (M - 18, 1), 324 (M<sup>+</sup>, 1)

Darstellung von (15Z)-Docosenal (**159**):



Es werden 200 mg (0.62 mmol) (15Z)-Docosen-1-ol (**171**) in 50 mL abs. Dichlormethan gelöst, mit ca. 1 g Molsieb (4 Å) und 348 g (0.92 mmol) (1.5 Äquivalente) Pyridiniumdichromat (PDC) versetzt und anschließend eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Dabei verfärbte sich die Lösung von anfänglich orange über dunkelbraun bis schwarz. Die Reaktion war nach 90 Minuten beendet. Die Lösung wird nach Beendigung der Reaktion mit Dichlormethan über Kieselgel abfiltriert und eingengt.

Es wurden 120 mg (0.37 mmol, 59.7 %) (15Z)-Docosenal (**159**) als gelbes Öl erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ [ppm] = 0.88 (t, 3H, 22-CH<sub>3</sub>), 1.2 - 1.4 (m, 30H, CH<sub>2</sub>), 1.59 - 1.66 (tt, *J* = 7.1 Hz, 2H, 3-CH<sub>2</sub>), 1.99 - 2.04 (dt, *J* = 5.6 Hz, 4H, 14-/16-CH<sub>2</sub>), 2.38 - 2.42 (dt, *J* = 7.4 Hz, *J* = 2 Hz, 2H, 2-CH<sub>2</sub>), 5.30 - 5.38 (m, *J* = 4.6 Hz, 2H, 15-/16-CH), 9.75 (t, *J* = 2 Hz, 1H, 1-H, CHO)

**<sup>13</sup>C-NMR (125.8 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ [ppm] = 14.12 (C-22, CH<sub>3</sub>), 22.14 (C-3), 22.72, 27.25, 29.04, 29.24, 29.37, 29.43, 29.50, 29.62, 29.71, 29.80, 31.86 (C-4 bis C-14 und C-17 bis C-21), 43.94 (C-2, CH<sub>2</sub>), 129.89 (C-15/16, CH<sub>olef.</sub>), 130.37 (C-15/16, CH<sub>olef.</sub>), 202.64 (C-1, CHO)

Aufgrund von Signalüberlagerungen können nicht alle Methylengruppen zugeordnet werden.

**MS (EI, 70 eV):** [m/z]: 39 (5), 40 (2), 41 (49), 42 (10), 43 (44), 44 (10), 45 (1), 53 (5), 54 (22), 55 (100), 56 (28), 57 (35), 58 (4), 59 (2), 65 (2), 66 (3), 67 (35), 68 (18), 69 (56), 70 (24), 71 (17), 72 (3), 73 (1), 77 (1), 78 (1), 79 (7), 80 (9), 81 (31), 82 (31), 83 (35), 84 (16), 85 (9), 86 (2), 87 (1), 93 (5), 94 (6), 95 (27), 96 (22), 97 (27), 98 (23), 99 (4), 100 (1), 101 (1), 107 (4), 108 (4), 109 (11), 110 (8), 111 (12), 112 (7), 113 (2), 114 (1), 115 (1), 121 (8), 122 (3), 123 (6), 124 (5), 125 (6), 126 (2), 127 (1), 128 (1), 135 (4), 136 (2), 137 (3), 138 (3), 139 (2), 140 (1), 141 (1), 142 (1), 149 (2), 150 (1), 151 (1), 152 (2), 153 (1), 154 (1), 155 (1), 163 (1), 165 (1), 166 (1), 167 (1), 169 (1), 180 (1), 181 (1), 195 (1), 209 (1), 304 (M - 18, 1), 322 (M<sup>+</sup>, 1)

### 13. Sicherheitshinweise

Die folgende Liste umfasst sämtliche Verbindungen und Lösungsmittel, mit denen während dieser Arbeit umgegangen wurde. Die Gefahrstoffe sind, soweit vorhanden, mit den jeweiligen Gefahrensymbolen, R- und S-Sätzen versehen worden.

Die Stoffe, für die keine bekannte Einstufung existiert, sind als gefährlich einzustufen. Es ist unbedingt zu vermeiden, dass man sich mit diesen Stoffen in irgendeiner Weise kontaminiert und diese Stoffe in die Umwelt eingebracht werden.

Diese Verbindungen sind in der Liste mit leeren Feldern für die Gefahrensymbole, R- und S-Sätze gekennzeichnet.

Substanzname	Gefahrensymbol	R-Sätze	S-Sätze
Aceton	F	11-36-66-67	(2-)9-16-26
Acetonitril	F, T	11-23/24/25	16-27-45
Benzol	F, T	45-11-48/23/24/25	53-16-45
Dichlormethan	Xn	40	23.2-24/25-36/37
Diethylether	F <sup>+</sup>	12-19-22-66-67	(2-)9-16-29-33
Diisobutylaluminiumhydrid in <i>n</i> -Heptan	F, C, N	11-34-14/15	16-27-27-45-36/37/39
Dimethylaminopyridin	T	23/24/25-36/37/38	26-28-36/37/39-45
Dimethylformamid	T	61-E20/21-36	53-45
Dimethylsulfoxid	Xi	36/38	26
(15 <i>Z</i> )-Docosen-1-al	-	-	-
(15 <i>Z</i> )-Docosen-1-ol	-	-	-
Essigsäureanhydrid	C	10-34	26-45
Ethanol	F	11	7-16
Ethylacetat	F	11-36-66-67	(2-)16-26-33
Guajazulen	-	-	-
Cyclopentadecanolid	-	-	-
Kaliumcarbonat	Xn	22-36/37/38	22-26
Kaliumhydroxid	C	35	26-37/39-45
Lactarazulen	-	-	-
Magnesiumsulfat	-	-	-
Methanol	F, T	11-23/25	7-16-24-45
Natrium-bis(trimethylsilyl)-amid in THF	F, C	11-34	16-26-33-36/37/39-45
Natriumchlorid	-	-	-
Natriumhydrogencarbonat	-	-	-
Natriumhydroxid	C	35	26-37/39-45
Natriumsulfat	-	-	-
<i>n</i> -Heptyltriphenylphosphoniumbromid	-	-	-
<i>n</i> -Hexan	F, Xn	11-36/37-67	(2-)9-16-29-33-36/37-61-62
<i>n</i> -Pentan	F	11	(2-)9-16-29-33-61-62
Petrolether	F, Xn	11-52/53-65	9-16-23.2-24-33-62
Pyridin	F, Xn	11-20/21/22	26-28.1
Pyridiniumdichromat	O, T, N	49-8-43-50/53	53-17-45-60-61
Salzsäure	C	34-37	26-36/37/39-45
Tetrachlorkohlenstoff	T, N	23/24/25-40-48/23-52/53-59	23-36/37-45-59-61
Tetrahydrofuran	F, Xi	11-19-36/37	16-29-33
Toluol	F, Xn	11-20	16-25-29-33
Wasserstoff	F <sup>+</sup>	12	9-16-33

## R - Sätze

- R 1 Im trockenen Zustand explosionsgefährlich
- R 2 Durch Schlag, Reibung, Feuer oder andere Zündquellen explosionsgefährlich
- R 3 Durch Schlag, Reibung, Feuer oder andere Zündquellen besonders explosionsgefährlich
- R 4 Bildet hochempfindliche explosionsgefährliche Metallverbindungen
- R 5 Beim Erwärmen explosionsfähig
- R 6 Mit und ohne Luft explosionsfähig
- R 7 Kann Brand verursachen
- R 8 Feuergefahr bei Berührung mit brennbaren Stoffen
- R 9 Explosionsgefahr bei Mischung mit brennbaren Stoffen
- R 10 Entzündlich
- R 11 Leichtentzündlich
- R 12 Hochentzündlich
- R 14 Reagiert heftig mit Wasser
- R 15 Reagiert mit Wasser unter Bildung hochentzündlicher Gase
- R 16 explosionsgefährlich in Mischung mit brandfördernden Stoffen
- R 17 Selbstentzündlich an der Luft
- R 18 Bei Gebrauch Bildung explosionsfähiger / leichtentzündlicher Dampf-Luftgemische möglich
- R 19 Kann explosionsgefährliche Peroxide bilden
- R 20 Gesundheitsschädlich beim Einatmen
- R 21 Gesundheitsschädlich bei Berührung mit der Haut
- R 22 Gesundheitsschädlich beim Verschlucken
- R 23 Giftig beim Einatmen
- R 24 Giftig bei Berührung mit der Haut
- R 25 Giftig beim Verschlucken
- R 26 Sehr giftig beim Einatmen
- R 27 Sehr giftig bei Berührung mit der Haut
- R 28 Sehr giftig beim Verschlucken
- R 29 Entwickelt bei Berührung mit Wasser giftige Gase
- R 30 Kann bei Gebrauch leicht entzündlich werden
- R 31 Entwickelt bei Berührung mit Säure giftige Gase
- R 32 Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase
- R 33 Gefahr kumulativer Wirkungen
- R 34 Verursacht Verätzungen
- R 35 Verursacht schwere Verätzungen
- R 36 Reizt die Augen
- R 37 Reizt die Atmungsorgane
- R 38 Reizt die Haut
- R 39 Ernste Gefahr irreversiblen Schadens
- R 40 Irreversibler Schaden möglich
- R 41 Gefahr ernster Augenschäden
- R 42 Sensibilisierung durch Einatmen möglich
- R 43 Sensibilisierung durch Hautkontakt möglich
- R 44 Explosionsgefahr bei Erhitzen unter Einschluss
- R 45 Kann Krebs erzeugen
- R 46 Kann vererbare Schäden verursachen
- R 48 Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei länger Exposition
- R 49 Kann Krebs erzeugen beim Einatmen
- R 50 Sehr giftig für Wasserorganismen
- R 51 Giftig für Wasserorganismen
- R 52 Schädlich für Wasserorganismen
- R 53 Kann in Gewässern längerfristig schädliche Wirkungen haben
- R 54 Giftig für Pflanzen
- R 55 Giftig für Tiere
- R 56 Giftig für Bodenorganismen
- R 57 Giftig für Bienen
- R 58 Kann längerfristig schädliche Wirkungen auf die Umwelt haben
- R 59 Gefährlich für die Ozonschicht
- R 60 Kann die Fortpflanzungsfähigkeit beeinträchtigen
- R 61 Kann das Kind im Mutterleib schädigen

- R 62 Kann möglicherweise die Fortpflanzungsfähigkeit beeinträchtigen
- R 63 Kann das Kind im Mutterleib möglicherweise schädigen
- R 64 Kann Säuglinge über die Muttermilch schädigen
- R 65 Gesundheitsschädlich: Kann beim Verschlucken Lungenschäden verursachen
- R 66 Wiederholter Kontakt kann zu spröder oder rissiger Haut führen
- R 67 Dämpfe können Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen
- R 68 Irreversibler Schaden möglich

## **Kombinationen der R-Sätze**

- R 14/15 Reagiert heftig mit Wasser unter Bildung hochentzündlicher Gase
- R 15/29 Reagiert mit Wasser unter Bildung giftiger und hochentzündlicher Gase
- R 20/21 Gesundheitsschädlich beim Einatmen und bei Berührung mit der Haut
- R 20/22 Gesundheitsschädlich beim Einatmen und Verschlucken
- R 20/21/22 Gesundheitsschädlich beim Einatmen, Verschlucken und Berührung mit der Haut
- R 21/22 Gesundheitsschädlich bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken
- R 23/24 Giftig beim Einatmen und bei Berührung mit der Haut
- R 23/25 Giftig beim Einatmen und Verschlucken
- R 23/24/25 Giftig beim Einatmen, Verschlucken und Berührung mit der Haut
- R 24/25 Giftig bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken
- R 26/27 Sehr giftig beim Einatmen und bei Berührung mit der Haut
- R 26/28 Sehr giftig beim Einatmen und Verschlucken
- R 26/27/28 Sehr giftig beim Einatmen, Verschlucken und Berührung mit der Haut
- R 27/28 Sehr giftig bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken
- R 36/37 Reizt die Augen und die Atmungsorgane
- R 36/38 Reizt die Augen und die Haut
- R 36/37/38 Reizt die Augen, Atmungsorgane und die Haut
- R 37/38 Reizt die Atmungsorgane und die Haut
- R 39/23 Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen
- R 39/24 Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens bei Berührung mit der Haut
- R 39/25 Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens beim Verschlucken
- R 39/23/24 Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen und bei Berührung mit der Haut
- R 39/23/25 Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen und durch Verschlucken
- R 39/24/25 Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens bei Berührung mit der Haut und durch Verschlucken
- R 39/23/24/25 Giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen, Berührung mit der Haut und durch Verschlucken
- R 39/26 Sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen
- R 39/27 Sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens bei Berührung mit der Haut
- R 39/28 Sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Verschlucken
- R 39/26/27 Sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen und bei Berührung mit der Haut
- R 39/26/28 Sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen und durch Verschlucken
- R 39/27/28 Sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens bei Berührung mit der Haut und durch Verschlucken
- R 39/26/27/28 Sehr giftig: ernste Gefahr irreversiblen Schadens durch Einatmen, Berührung mit der Haut und durch Verschlucken
- R 40/20 Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens durch Einatmen
- R 40/21 Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens bei Berührung mit der Haut
- R 40/22 Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens durch Verschlucken
- R 48/23/25 Giftig: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen und durch Verschlucken
- R 48/24/25 Giftig: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Berührung mit der Haut und durch Verschlucken
- R 48/23/24/25 Giftig: Gefahr ernster Gesundheitsschäden bei längerer Exposition durch Einatmen, Berührung mit der Haut und durch Verschlucken
- R 50/53 Sehr giftig für Wasserorganismen, kann in Gewässern längerfristig schädliche Wirkungen haben
- R 51/53 Giftig für Wasserorganismen, kann in Gewässern längerfristig schädliche Wirkungen haben
- R 52/53 Schädlich für Wasserorganismen, kann in Gewässern längerfristig schädliche Wirkungen haben
- R 68/20 Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens durch Einatmen

- R 68/20/21      Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens durch Einatmen und bei Berührung mit der Haut
- R 68/20/21/22    Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens durch Einatmen, Berührung mit der Haut und durch Verschlucken
- R 68/20/22      Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens durch Einatmen und durch Verschlucken
- R 68/21          Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens bei Berührung mit der Haut
- R 68/21/22      Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens bei Berührung mit der Haut und durch Verschlucken
- R 68/22          Gesundheitsschädlich: Möglichkeit irreversiblen Schadens durch Verschlucken

## **S - Sätze**

- S 1            Unter Verschluss aufbewahren
- S 2            Darf nicht in die Hände von Kindern gelangen
- S 3            Kühl aufbewahren
- S 4            Von Wohnplätzen fernhalten
- S 5            Unter... aufbewahren (geeignete Flüssigkeit vom Hersteller anzugeben)
- S 5.1          Unter Wasser aufbewahren
- S 5.2          Unter Petroleum aufbewahren
- S 5.3          Unter Paraffinöl aufbewahren
- S 6            Unter... aufbewahren (inertes Gas vom Hersteller anzugeben)
- S 6.1          Unter Stickstoff aufbewahren
- S 6.2          Unter Argon aufbewahren
- S 7            Behälter dicht geschlossen halten
- S 8            Behälter trocken halten
- S 9            Behälter an einem gut belüfteten Ort aufbewahren
- S 12           Behälter nicht gasdicht verschließen
- S 13           Von Nahrungsmitteln, Getränken und Futtermitteln fernhalten
- S 14           Von ... fernhalten (inkompatible Substanzen sind vom Hersteller anzugeben)
- S 14.1        Von Reduktionsmitteln, Schwermetallverbindungen, Säuren und Alkalien fernhalten
- S 14.2        Von oxidierenden und sauren Stoffen sowie Schwermetallverbindungen fernhalten
- S 14.3        Von Eisen fernhalten
- S 14.4        Von Wasser und Laugen fernhalten
- S 14.5        Von Säuren fernhalten
- S 14.6        Von Laugen fernhalten
- S 14.7        Von Metallen fernhalten
- S 14.8        Von oxidierenden und sauren Stoffen fernhalten
- S 14.9        Von brennbaren organischen Substanzen fernhalten
- S 14.10      Von Säuren, Reduktionsmitteln und brennbaren Materialien fernhalten
- S 14.11      Von brennbaren Stoffen fernhalten
- S 15           Vor Hitze schützen
- S 16           Von Zündquellen fernhalten - Nicht rauchen
- S 17           Von brennbaren Stoffen fernhalten
- S 18           Behälter mit Vorsicht öffnen und handhaben
- S 20           Bei der Arbeit nicht essen und trinken
- S 21           Bei der Arbeit nicht rauchen
- S 22           Staub nicht einatmen
- S 23           Gas/Rauch/Dampf/Aerosol nicht einatmen
- S 23.1        Gas nicht einatmen
- S 23.2        Dampf nicht einatmen
- S 23.3        Aerosol nicht einatmen
- S 23.4        Rauch nicht einatmen
- S 23.5        Dampf/Aerosol nicht einatmen
- S 24           Berührung mit der Haut vermeiden
- S 25           Berührung mit den Augen vermeiden
- S 26           Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren
- S 27           Beschmutzte, getränkte Kleidung sofort ausziehen
- S 28           Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel ... (Vom Hersteller anzugeben)
- S 28.1        Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser

- S 28.2 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser und Seife
- S 28.3 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser und Seife, möglichst auch mit Polyethylenglycol 400
- S 28.4 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Polyethylenglycol 300 und Ethanol und anschließend mit viel Wasser und Seife
- S 28.5 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Polyethylenglycol 400
- S 28.6 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Polyethylenglycol 400 und anschließend Reinigung mit viel Wasser
- S 28.7 Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser und saurer Seife
- S 29 Nicht in die Kanalisation gelangen lassen
- S 30 Niemals Wasser hinzugießen
- S 33 Maßnahmen gegen elektrostatische Aufladungen treffen
- S 35 Abfälle und Behälter müssen in gesicherter Weise beseitigt werden
- S 35.1 Abfälle und Behälter müssen durch Behandeln mit 2%-iger Natronlauge beseitigt werden
- S 36 Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen
- S 37 Geeignete Schutzhandschuhe tragen
- S 38 Bei unzureichender Belüftung Atemschutzgerät anlegen
- S 39 Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen
- S 40 Fußboden und verunreinigte Gegenstände mit ... reinigen
- S 40.1 Fußboden und verunreinigte Gegenstände mit viel Wasser reinigen (Material vom Hersteller anzugeben)
- S 41 Explosions- und Brandgase nicht einatmen
- S 42 Bei Räuchern/Versprühen geeignetes Atemschutzgerät anlegen und ... (geeignete Bezeichnungen vom Hersteller anzugeben)
- S 43 Zum Löschen ... (vom Hersteller anzugeben) verwenden (wenn Wasser die Gefahr erhöht, anfügen: "Kein Wasser verwenden")
- S 43.1 Zum Löschen Wasser verwenden
- S 43.2 Zum Löschen Wasser oder Pulverlöschmittel verwenden
- S 43.3 Zum Löschen Pulverlöschmittel, kein Wasser verwenden
- S 43.4 Zum Löschen Kohlendioxid, kein Wasser verwenden
- S 43.6 Zum Löschen Sand, kein Wasser verwenden
- S 43.7 Zum Löschen Metallbrandpulver, kein Wasser verwenden
- S 43.8 Zum Löschen Sand, Kohlendioxid oder Pulverlöschmittel, kein Wasser verwenden
- S 45 Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt hinzuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen)
- S 46 Bei Verschlucken sofort ärztlichen Rat einholen und Verpackung oder Etikett vorzeigen
- S 47 Nicht bei Temperaturen über ... °C aufbewahren (vom Hersteller anzugeben)
- S 48 Feucht halten mit ... (geeignetes Mittel vom Hersteller anzugeben)
- S 49 Nur in Originalbehälter aufbewahren
- S 50 Nicht mischen mit ... (vom Hersteller anzugeben)
- S 50.1 Nicht mischen mit Säuren
- S 50.2 Nicht mischen mit Laugen
- S 50.3 Nicht mischen mit starken Säuren, starken Basen, Buntmetallen und deren Salzen
- S 51 Nur in gut gelüfteten Bereichen verwenden
- S 52 Nicht großflächig für Wohn- und Aufenthaltsräume zu verwenden
- S 53 Exposition vermeiden - vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen
- S 56 Diesen Stoff und seinen Behälter der Problemabfallentsorgung zuführen
- S 57 Zur Vermeidung einer Kontamination der Umwelt geeigneten Behälter verwenden
- S 59 Information zur Wiederverwendung/ Wiederverwertung beim Hersteller/Lieferanten erfragen
- S 60 Dieser Stoff und sein Behälter sind als gefährlicher Abfall zu entsorgen
- S 61 Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Besondere Anweisungen einholen / Sicherheitsdatenblatt zu Rate ziehen
- S 62 Bei Verschlucken kein Erbrechen herbeiführen. Sofort ärztlichen Rateinholen und Verpackung oder das Etikett vorzeigen.
- S 63 Bei Unfall durch Einatmen: Verunfallten an die frische Luft bringen und ruhig stellen
- S 64 Bei Verschlucken Mund mit Wasser ausspülen (nur wenn Verunfallter bei Bewusstsein ist)

## Kombinationen der S-Sätze

S 1/2	Unter Verschluss und für Kinder unzugänglich aufbewahren
S 3/7	Behälter dicht geschlossen halten und an einem kühlen Ort aufbewahren
S 3/9	Behälter an einem kühlen, gut gelüfteten Ort aufbewahren
S 3/9/14	An einem kühlen, gut belüfteten Ort entfernt von ... aufbewahren (inkompatible Substanzen sind vom Hersteller anzugeben)
S 3/9/14.1	An einem kühlen, gut belüfteten Ort, entfernt von Reduktionsmitteln, Schwermetallverbindungen, Säuren und Alkalien aufbewahren
S 3/9/14.2	An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von oxidierenden und sauren Stoffen sowie Schwermetallverbindungen aufbewahren
S 3/9/14.3	An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von Eisen aufbewahren
S 3/9/14.4	An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von Wasser und Laugen aufbewahren
S 3/9/14.5	An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von Säuren aufbewahren
S 3/9/14.6	An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von Laugen aufbewahren
S 3/9/14.7	An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von Metallen aufbewahren
S 3/9/14.8	An einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von oxidierenden und sauren Stoffen aufbewahren
S 3/9/14/49	Nur im Originalbehälter an einem kühlen, gut gelüfteten Ort, entfernt von ... aufbewahren (inkompatible Substanzen sind vom Hersteller anzugeben)
S 3/9/49	Nur im Originalbehälter an einem kühlen, gut gelüfteten Ort aufbewahren
S 3/14	An einem kühlen, von ... entfernten Ort aufbewahren (inkompatible Substanzen sind vom Hersteller anzugeben)
S 7/8	Behälter trocken und dicht geschlossen halten
S 7/9	Behälter dicht geschlossen an einem gut gelüfteten Ort aufbewahren
S 7/47	Behälter dicht geschlossen und nicht bei Temperaturen über ... °C aufbewahren (vom Hersteller anzugeben)
S 20/21	Bei der Arbeit nicht essen, trinken und Rauchen
S 24/25	Berührung mit den Augen und der Haut vermeiden
S 29/56	Nicht in die Kanalisation gelangen lassen und diesen Stoff und seinen Behälter der Problemabfallentsorgung zuführen
S 36/37	Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen
S 36/37/39	Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen
S 36/39	Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen
S 37/39	Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen
S 47/49	Nur im Originalbehälter bei einer Temperatur nicht über ... °C aufbewahren (vom Hersteller anzugeben)

## 14. Literatur

- <sup>1</sup> Y.-Y. Lin, M. Risk, S. M. Ray, D. Van Engen, J. Clardy, J. Golik, J. C. James, K. Nakanishi, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 22, 6773-6775
- <sup>2</sup> M. Murata, A. M. Legrand, Y. Ishibashi, M. Fukui and T. Yasumoto, *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 11, 4380-4386
- <sup>3</sup> C. Doree, *Biochem. J.* **1909**, *4*, 72-106
- <sup>4</sup> P. Friedländer, *Chem. Ber.* **1909**, *42*, 765-770
- <sup>5</sup> W. Bergmann, M. J. McLean, D. Lester, *J. Org. Chem.* **1943**, *8*, 271-282
- <sup>6</sup> W. Bergmann, R. J. Feeney, *J. Org. Chem.* **1951**, *16*, 981-987
- <sup>7</sup> A. J. Weinheimer, R. L. Spraggins, *Tetrahedron Lett.* **1969**, 5185-5188
- <sup>8</sup> P. R. Jensen, W. Fenical, *Ind. Microbiol.* **1996**, *17*, 346-351
- <sup>9</sup> F. Pietra, *A Secret World* **1990**, Birkhäuser Verlag, Basel
- <sup>10</sup> D. J. de Vries, M. R. Hall, *Drug Development Research* **1994**, *33*, 161-173
- <sup>11</sup> G. W. Gribble, *Environ. Sci. & Pollut. Res.* **2000**, 37-49
- <sup>12</sup> G. W. Gribble, *Chem. Soc. Rev.* **1999**, *28*, 335-346 und darin zitierte Literatur
- <sup>13</sup> A. Butler, J. V. Walker, *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1937-1944
- <sup>14</sup> K. L. Rinehart, T. G. Kenneth, N. L. Fregeau, J. G. Stroh, P. A. Keifer, F. Sun, L. H. Li, D. G. Martin, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 15, 4512-4515
- <sup>15</sup> A. Kelecom, *An. Acad. Bras. Ci.* **1999**, *71*, 249-263
- <sup>16</sup> D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* **1998**, *15*, 113-158
- <sup>17</sup> D. J. Faulkner, *Tetrahedron* **1984**, *33*, 1421-1443
- <sup>18</sup> M. A. Sears, D. J. Gerhart, D. Rittschof, *J. Chem. Ecol.* **1990**, *16*, 791-799
- <sup>19</sup> M. Kube, U. Waller, *Marine Naturstoffe in der blauen Biotechnologie*, Technologiestiftung Schleswig-Holstein, **2003**, 25-26
- <sup>20</sup> G. R. Pettit, C. L. Herald, D. L. Doubek, D. L. Herald, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 6846-6848
- <sup>21</sup> K. L. Rinehart, T. G. Kenneth, N. L. Fregeau, J. G. Stroh, P. A. Keifer, F. Sun, L. H. Li, D. G. Martin, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 15, 4512-4515
- <sup>22</sup> Y. Hirata, D. Umemura, *Pure Appl. Chem.* **1986**, *58*, 5, 701-710
- <sup>23</sup> T. D. Aicher, K. R. Buszek, F. G. Fang, C. J. Forsynth, S. H. Jung, Y. Kishi, M. C. Matelich, P. M. Scola, D. M. Spero, S. K. Yoon, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3162-3164

- <sup>24</sup> M. H. G. Munro, J. W. Blunt, E. J. Dumdei, S. J. H. Hickford, R. E. Lill, S. Li, C. N. Battershill, A. R. Duckworth, *J. Biotechnol.* **1999**, *70*, 15-25
- <sup>25</sup> C. N. Battershill, M. J. Page, *Aquac. Updates* **1996**, *16*, 5-6
- <sup>26</sup> M. Litaudon, J. B. Hart, J. W. Blunt, R. J. Lake, M. H. G. Munro, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 9435-9438
- <sup>27</sup> Tawnya C. McKee, Chris M. Ireland, N. Lindquist, W. Fennical, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 3053-3056
- <sup>28</sup> G. R. Pettit, Y. Kamano, C. L. Herald, A. A. Tuinman, F. E. Boettner, H. Kizu, J. M. Schmidt, L. Baczynskyj, K. B. Tomer, R. J. Bontems, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 6883-6885
- <sup>29</sup> K. Margolin, J. Longmate, T. W. Synold, D. R. Gandara, J. Weber, R. Gonzalez, M. J. Johansen, R. Newman, T. Baratta, J. H. Doroshov, *Invest. New Drugs* **2001**, *19*, 4, 335-340
- <sup>30</sup> V. J. Paul, *Ecological roles of marine natural products*, Comstock Publishing, Ithaca, New York, **1992**
- <sup>31</sup> J. R. Pawlik, *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1911-1922
- <sup>32</sup> A. Groweiss, U. Shmueli, Y. Kashman, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 3512-3516
- <sup>33</sup> R. Teeyapant, P. Proksch, *Naturwissenschaften* **1993**, *80*, 369-370
- <sup>34</sup> S. A. Look, W. Fenical, D. van Engen, J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 5026-5027
- <sup>35</sup> L. Jaenicke, W. Boland, *Angew. Chem.*, **1982**, *94*, 9, 659-670
- <sup>36</sup> W. Boland, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1995**, *92*, 37-43
- <sup>37</sup> T. J. Mincer, P. R. Jensen, C. A. Kauffman, W. Fenical, *Appl. Environ. Microb.* **2002**, *68*, 5005-5011
- <sup>38</sup> R. H. Feling, G. O. Buchanan, T. J. Mincer, C. A. Kauffman, P. R. Jensen, W. Fenical, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 355-357
- <sup>39</sup> D. J. Faulkner, *Antonie van Leeuwenhoek* **2000**, *77*, 135-145
- <sup>40</sup> A. Freiwald, J. B. Wilson R. Henrich, *Sediment. Geol.* **1999**, *125*, 1-8
- <sup>41</sup> A. Freiwald, Geobiology of *Lophelia pertusa* (Scleractinia) Reefs in the North Atlantic, Habilitationsschrift, **1998**
- <sup>42</sup> M. Hovland, E. Thomsen, *Mar. Geol.* **1997**, *137*, 159-164
- <sup>43</sup> P. B. Mortensen, M. Hovland, J. H. Fossaa, D. M. Furevik, *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **2001**, *81*, 581-597
- <sup>44</sup> P. B. Mortensen, M. Hovland, T. Brattgard, R. Farestveit, *Sarsia* **1995**, *80*, 145-158

- <sup>45</sup> J. M. Roberts, D. Long, J. B. Wilson, P. B. Mortensen, J. D. Gage, *Marine Pollution Bulletin* **2003**, *46*, 7-20
- <sup>46</sup> S. Sölter, Dissertation: „Identifizierung und Synthese von Naturstoffen aus borealen Schwämmen“, Universität Hamburg, **2004**
- <sup>47</sup> J. N. A. Hooper, R. W. M. van Soest (Editors), *Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges*, Kluwer Academic/Plenum Publishers: New York, **2002**
- <sup>48</sup> W. Westheide, R. Rieger (Hrsg.), „Spezielle Zoologie, Teil 1: Einzeller und wirbellose Tiere“, Gustav Fischer Verlag, **1996**
- <sup>49</sup> J. N. A. Hooper, „Spongeguide“. Guide for Sponge Collection and Identification (Version August 2000)  
Internet: [www.qmuseum.qld.gov.au/organisation/sections/SessileMarineInvertebrates/index.asp](http://www.qmuseum.qld.gov.au/organisation/sections/SessileMarineInvertebrates/index.asp)
- <sup>50</sup> R. W. M. van Soest, B. Picton, C. Morrow, *Sponges of the North East Atlantic*; Springer Verlag: Heidelberg, Electronic Media, **2000**
- <sup>51</sup> K. D. Wellington, R. C. Cambie, P. S. Rutledge, P. R. Bergquist, *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 79-85
- <sup>52</sup> N. B. Perry, L. Ettouati, M. Litaudon, J. W. Blunt, M. H. G. Munro, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 3987-3992
- <sup>53</sup> G. Trimurtulu, D. J. Faulkner, N. B. Perry, L. Ettouati, M. Litaudon, J. W. Blunt, M. H. G. Munro, G. B. Jameson, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 3993-4000
- <sup>54</sup> M. R. Prinsep, J. W. Blunt, M. H. G. Munro, *J. Nat. Prod.* **1989**, *52*, 657-659
- <sup>55</sup> W. Xiang, Y. Li, *Fenxi Ceshi Xuebao* **2001**, *20*, 4, 59-61
- <sup>56</sup> D. J. Bertelli, J. H. Crabtree, *Tetrahedron* **1968**, *24*, 5, 2079-2089
- <sup>57</sup> K. Vokac, Z. Samek, V. Herout, F. Sorm, *Czech. Coll. Czech. Chem. Comm.* **1970**, *35*, 4, 1296-1301
- <sup>58</sup> Eigene NMR-Daten des kommerziell bei Fluka erhältlichen Guajazulens
- <sup>59</sup> T. Nozoe, K. Shindo, H. Wakabayashi, T. Kurihara, S. Ishikawa, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1991**, *56*, 991-1010
- <sup>60</sup> O. Sterner, O. Bergendorff, F. Bocchio, *Phytochemistry* **1989**, *28*, 9, 2501-2502
- <sup>61</sup> S. De Rosa, S. De Stefano, *Phytochemistry* **1987**, *26*, 7, 2007-2009
- <sup>62</sup> H. Friebolin, Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie - Eine Einführung, 2. Auflage, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, **1992**
- <sup>63</sup> A. G. Anderson Jr., J. A. Nelson, J. Tazuma, *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 4980-4989
- <sup>64</sup> J.-R. Llinas, D. Roard, M. Derbesy, E.-J. Vincent, *Can. J. Chem.* **1975**, *53*, 2911-2916

- <sup>65</sup> N. Fusetani, S. Matsunaga, S. Konosu, *Experientia* **1981**, *37*, 680
- <sup>66</sup> M. K. W. Li, P. J. Scheuer, *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 587-590
- <sup>67</sup> M. K. W. Li, P. J. Scheuer, *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 4707-4708
- <sup>68</sup> S. Imre, R. H. Thomson, B. Yalhi, *Experientia* **1981**, *37*, 442-443
- <sup>69</sup> S. Sakemi, T. Higa, *Experientia* **1987**, *43*, 624-625
- <sup>70</sup> M. Ochi, K. Kataoka, A. Tatsukawa, H. Kotsuki, K. Shibata, *Chem. Lett.* **1993**, 2003-2006
- <sup>71</sup> Y. Seo, J. R. Rho, N. Geum, J. B. Yoon, J. Shin, *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 985-986
- <sup>72</sup> H. Willstaedt, *Chem. Ber.* **1935**, *68*, 333-340
- <sup>73</sup> H. Willstaedt, *Chem. Ber.* **1936**, *69*, 997-1001
- <sup>74</sup> S. K. Koul, S. C. Taneja, S. P. Ibrahim, K. L. Dhar, C. K. Atal, *Phytochemistry* **1985**, *24*, 1, 181-182
- <sup>75</sup> O. Bergendorff, O. Sterner, *Phytochemistry* **1988**, *27*, 1, 97-100
- <sup>76</sup> R. Kazlauskas, P. T. Murphy, R. J. Wells, J. J. Daly, *Tetrahedron Lett.* **1979**, 903-906
- <sup>77</sup> P. Karuso, P. R. Bergquist, R. C. Cambie, J. S. Buckleton, G. R. Clark, C. E. F. Rickard, *Aust. J. Chem.* **1986**, *39*, 1643-1653
- <sup>78</sup> P. Karuso, W. C. Taylor, *Aust. J. Chem.* **1986**, *39*, 1629-1641
- <sup>79</sup> W. C. Taylor, S. Toth, *Aust. J. Chem.* **1997**, *50*, 895-902
- <sup>80</sup> P. Karuso, B. W. Skelton, W. C. Taylor, A. H. White, *Aust. J. Chem.* **1984**, *37*, 1081-1093
- <sup>81</sup> Y.-T. Chang, C.-L. Lin, A. T. Khalil, Y. C. Shen, *Chinese Pharmaceutical Journal* **2003**, *55*, 2, 129-133
- <sup>82</sup> E. Topsent, *Archives de Zoologie expérimentale et générale* **1905**, *3*, 8, CLXXI-CXCII
- <sup>83</sup> G. Pulitzer-Finali, R. Pronzato, *Pubblicazioni della Stazione Zoologica di Napoli* **1976**, *40*, 1, 83-104
- <sup>84</sup> P. R. Bergquist, *New Zealand Oceanographic Institute Memoir* **1996**, *107*, 1-53
- <sup>85</sup> Y. M. Goo, K. L. Rinehart, Jr. in: „*Drugs from the Sea, Myth or Reality*“, Editoren: P. N. Kaul, C. J. Sindermann, Univ. Oklahoma Press, Norman, OK, **1978**, 107-115
- <sup>86</sup> Y. Venkateswarlu, R. Chavakula, *J. Nat. Prod.* **1995**, *58*, 7, 1087-1088
- <sup>87</sup> T. V. Goud, M. Srinivasulu, V. L. N. Reddy, A. V. Reddy, T. P. Rao, D. S. Kumar, U. S. Murty, Y. Venkateswarlu, *Chem. Pharm. Bull.* **2003**, *51*, 990-993
- <sup>88</sup> P. Ciminiello, E. Fattorusso, S. Magno, M. Pansini, *J. Nat. Prod.* **1995**, *58*, 5, 689-696
- <sup>89</sup> A. Aiello, E. Fattorusso, M. Menna, M. Pansini, *Biochem. Syst. Ecol.* **1995**, *23*, 4, 377-381
- <sup>90</sup> M. Litaudon, M. Guyot, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 37, 4455-4456
- <sup>91</sup> J. Kobayashi, K. Honma, T. Sasaki, M. Tsuda, *Chem. Pharm. Bull.* **1995**, *43*, 403-407

- <sup>92</sup> A. Benharref, M. Païs, C. Debitus, *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 177-180
- <sup>93</sup> P. Ciminiello, E. Fattorusso, S. Magno, M. Pansini, *J. Nat. Prod.* **1995**, *58*, 5, 689 - 696
- <sup>94</sup> R. Mierzwa, A. King, M. A. Conover, S. Tozzi, M. S. Puar, M. Patel, S. J. Coval, *J. Nat. Prod.* **1994**, *57*, 1, 175-177
- <sup>95</sup> I. Thirionet, D. Daloze, J. C. Braekman, *Nat. Prod. Lett.* **1998**, *12*, 3, 209-214
- <sup>96</sup> G. C. Harbour, A. A. Tymiak, K. L. Rinehart, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 5604-5606
- <sup>97</sup> G. T. Carter, K. L. Rinehart, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 4302-4304
- <sup>98</sup> M. T. Cheng, K. L. Rinehart, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 7409-7411
- <sup>99</sup> A. A. Tymiak, K. L. Rinehart Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 6763-6765
- <sup>100</sup> J. R. Carney, K. L. Rinehart, *J. Nat. Prod.* **1995**, *58*, 7, 971-985
- <sup>101</sup> M. R. Kernan, R. C. Cambie, P. R. Bergquist, *J. Nat. Prod.* **1990**, *53*, 615
- <sup>102</sup> Y. Venkateswarlu, M. R. Rao, U. Venkatesham, *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 1388-1389
- <sup>103</sup> R. Teeyapant, P. Kreis, V. Wray, L. Witte, P. Proksch, *Z. Natuforsch.* **1993**, *48c*, 640-644
- <sup>104</sup> D. M. Roll, C. W. J. Chang, P. J. Scheuer, G. A. Gray, J. N. Shoolery, G. K. Matsumoto, G. D. van Duyne, J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 2916-2920
- <sup>105</sup> R. Copp, C. M. Ireland, L. R. Barrows, *J. Nat. Prod.* **1992**, *55*, 822-823
- <sup>106</sup> S. Tsukamoto, H. Kato, H. Hirota, N. Fusetani, *Tetrahedron*, **1996**, *52*, 8181-8186
- <sup>107</sup> T. Ichiba, P. J. Scheuer, M. K. Borges, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 4149-4150
- <sup>108</sup> S. Liu, X. Fu, F. J. Schmitz, M. K. Borges, *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 614-615
- <sup>109</sup> Kobayashi, J. i.; Tsuda, M.; Agemi, K.; Shigemori, H.; Ishibashi, M.; Sasaki, T.; Mikami, Y. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 6617-6622
- <sup>110</sup> E. Quinoa, P. Crews, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 28, 3229-3232
- <sup>111</sup> J. Shin, H. S. Lee, Y. Seo, J. R. Rho, K. W. Cho, V. J. Paul, *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 9071-9077
- <sup>112</sup> Y. Okamoto, M. Ojika, Y. Sakagami, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 3, 507-510
- <sup>113</sup> Y. Okamoto, M. Ojika, S. Kato, Y. Sakagami, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 32, 5813-5818
- <sup>114</sup> R. Kazlauskas, R. O. Lidgard, P. T. Murphy, R. J. Wells, J. F. Blount, *Aust. J. Chem.* **1981**, *34*, 4, 765-786
- <sup>115</sup> H. Yagi, S. Matsunaga, N. Fusetani, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 18, 3749-3754
- <sup>116</sup> H. Nakamura, H. Wu, J. Kobayashi, Y. Nakamura, Y. Ohizumi, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 4517-4520
- <sup>117</sup> Y. Gopichand, F. J. Schmitz, *Tetrahedron Lett.* **1979**, *41*, 3921-3924

- <sup>118</sup> R. W. M. van Soest, B. Picton, C. Morrow, *Sponges of the North East Atlantic*; Springer Verlag: Heidelberg, Electronic Media, **2000**
- <sup>119</sup> G. Misevic, *U.S. Pat. Appl. Publ.* **2003**, 11 pp.
- <sup>120</sup> Y. Kato, N. Fusetani, S. Matsunaga, K. Hashimoto, *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 3483-3486
- <sup>121</sup> N. B. Perry, J. W. Blunt, M. H. G. Munro, L. K. Pannell, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 4850-4851
- <sup>122</sup> N. Fusetani, K. Yasumuro, S. Matsunaga, K. Hashimoto, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 2809-2812
- <sup>123</sup> S. Matsunaga, Y. Nogata, N. Fusetani, *J. Nat. Prod.* **1998**, 61, 663-666
- <sup>124</sup> S. J. Rochfort, R. W. Gable, R. J. Capon, *Aust. J. Chem.* **1996**, 49, 715-718
- <sup>125</sup> F. Giordano, L. Mayol, G. Notaro, V. Piccialli, D. Sica, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 1559-1561
- <sup>126</sup> G. Notaro, V. Piccialli, D. Sica, L. Mayol, F. Giordano, *J. Nat. Prod.* **1992**, 55, 626-632
- <sup>127</sup> M. J. Ortega, E. Zubia, J. L. Carballo, J. Salva, *Tetrahedron* **1997**, 53, 331-340
- <sup>128</sup> N. M. Carballeira, V. Negron, E. D. Reyes, *J. Nat. Prod.* **1992**, 55, 333-339
- <sup>129</sup> M. Vincenti, G. Guglielmetti, G. Casani, C. Tonini, *Anal. Chem.* **1987**, 59, 694
- <sup>130</sup> G. W. Francis, K. Veland, *J. Chromatog.* **1981**, 219, 379-384
- <sup>131</sup> W. Boland, P. Ney, L. Jaenicke, *Synthesis* **1980**, 12, 1015-1017
- <sup>132</sup> N. M. Carballeira, F. Shalabi, *J. Nat. Prod.* **1994**, 57, 8, 1152-1159
- <sup>133</sup> N. M. Carballeira, V. Negron, E. D. Reyes, *Tetrahedron* **1992**, 48, 6, 1053-1058
- <sup>134</sup> W. Westheide, R. Rieger (Hrsg.), „Spezielle Zoologie, Teil 1: Einzeller und wirbellose Tiere“, Gustav Fischer Verlag, **1996**
- <sup>135</sup> V. Storch, U. Welsch, „Systematische Zoologie“, 4. Auflage, Gustav Fischer Verlag, **1991**
- <sup>136</sup> J. W. Blunt, B. R. Copp, M. H. G. Munro, P. T. Northcote, M. R. Prinsep, *Nat. Prod. Rep.* **2004**, 21, 1-49
- <sup>137</sup> D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* **2000**, 17, 7-55
- <sup>138</sup> S. J. Bloor, F. J. Schmitz, M. B. Hossain, D. van der Helm, *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 1205-1216
- <sup>139</sup> J. Shin, M. Park, W. Fenical, *Tetrahedron* **1989**, 45, 1633-1638
- <sup>140</sup> S. H. Grode, T. R. James Jr., J. H. Cardellina II., *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 5203-5207
- <sup>141</sup> A. Groweiss, S. A. Look, W. Fenical, *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 2401-2406
- <sup>142</sup> P. A. Keifer, K. L. Rinehart Jr., *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 4450-4454

- <sup>143</sup> A. D. Rodriguez, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 4571-4618
- <sup>144</sup> S. Aoki, M. Okano, K. Matsui, T. Itoh, R. Satari, S.-I. Akiyama, M. Kobayashi, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 43, 8951-8957
- <sup>145</sup> C. A. Ospina, A. D. Rodriguez, E. Ortega-Barria, T. L. Capson, *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 357-363
- <sup>146</sup> J. H. Kwak, F. J. Schmitz, G. C. Williams, *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 754-760
- <sup>147</sup> D. B. Stierle, B. Carte, D. J. Faulkner, B. Tagle, and J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5088-5092
- <sup>148</sup> A. D. Rodriguez and O. M. Cobar, *Tetrahedron* **1992**, *49*, 319-328
- <sup>149</sup> O. Kennard, D. G. Watson, L. Riva di Sanseverino, B. Tursch, R. Bosmans, C. Djerassi, *Tetrahedron Lett.* **1968**, *24*, 2879-2884
- <sup>150</sup> A. Groweiss, S. A. Look, W. Fenical, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 11, 2401-2406
- <sup>151</sup> Y.-P. Shi, A. D. Rodriguez, C. L. Barnes, J. A. Sanchez, R. G. Raptis, P. Baran, *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 1232-1241
- <sup>152</sup> S. A. Look, M. T. Burch, W. Fenical, Q. Zheng, J. Clardy, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 5741-5746
- <sup>153</sup> C. Anta, N. Gonzalez, G. Santafe, J. Rodriguez, C. Jimenez, *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 766-768
- <sup>154</sup> J.-R. Rho, M.-S. Oh, K. H. Jang, K. W. Cho, J. Shin, *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 540-543
- <sup>155</sup> D. M. Tapiolas, M. Roman, W. Fenical, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 4682-4683
- <sup>156</sup> M. J. Risk, J. M. Heikoop, M. G. Snow, R. Beukens, *Hydrobiologia* **2002**, *471*, 125-131
- <sup>157</sup> A. H. Andrews, E. E. Cordes, M. M. Mahoney, K. Munk, K. H. Coale, G. M. Cailliet, J. Heifetz, *Hydrobiologia* **2002**, *471*, 101-110
- <sup>158</sup> M. J. Risk, D. E. McAllister, L. Behnken, *Sea Wind* **1998**, *10*, 4, 20-22
- <sup>159</sup> R. R. Upadhyay, S. Liaaen-Jensen, *Acta Chem. Scand.* **1970**, *24*, 8, 3055-3057
- <sup>160</sup> R. C. Cambie, P. A. Craw, J. S. Buckleton, G. R. Clark, C. E. F. Rickard, *Aust. J. Chem.* **1988**, *41*, 365-372
- <sup>161</sup> W. A. König, D. H. Hochmuth, D. Joulain, MassFinder, Vers. 3, Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils, **2004**, ([www.massfinder.com](http://www.massfinder.com))
- <sup>162</sup> R. Brauchli, A. F. Thomas, *J. Agric. Food Chem.* **1991**, *39*, 2, 431
- <sup>163</sup> P. Weyerstahl, V. K. Kaul, M. Weirauch, H. Marschall-Weyerstahl, *Planta Med.* **1987**, *53*, 1, 66-72
- <sup>164</sup> G. M. König, A. D. Wright, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 3837-3840

- <sup>165</sup> D. Joulain, W. A. König, *The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons*, E. B.-Verlag, Hamburg, **1998**
- <sup>166</sup> E. Pretsch, P. Bühlmann, C. Affolter, M. Badertscher, *Spektroskopische Daten zur Strukturaufklärung organischer Verbindungen*, 4., vollständig Überarbeitete und erweiterte Auflage, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, **2001**
- <sup>167</sup> C.-Y. Duh, S.-C. Chien, P.-Y. Song, S.-K. Wang, A. A. H. El-Gamal, C.-F. Dai, *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 1853-1856
- <sup>168</sup> C. Tsitsimpikou, C. Vagias, V. Roussis, *Nat. Prod. Lett.* **1999**, *14*, 1, 17-23
- <sup>169</sup> M. J. Garson, *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1699-1733
- <sup>170</sup> J. C. Coll, B. F. Bowden, D. M. Tapiolas, W. C. Dunlap, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **1982**, *60*, 293-299
- <sup>171</sup> J. C. Coll, B. F. Bowden, D. M. Tapiolas, R. H. Willis, P. Djura, M. Streamer, L. Trott, *Tetrahedron* **1985**, *41*, 1085-1092
- <sup>172</sup> J. C. Coll, B. F. Bowden, A. Heaton, P. J. Scheuer, M. K. W. Li, J. Clardy, G. K. Schulte J. Finer-Moore, *J. Chem. Ecol.* **1989**, *15*, 1177-1191
- <sup>173</sup> J. C. Coll, P. A. Leone, B. F. Bowden, A. R. Carroll, G. M. König, A. Heaton, R. De Nys, M. Maida, P. M. Alino, R. H. Willis, R. C. Babcock, Z. Florian, M. N. Clayton, R. L. Miller, P. N. Alderslade, *Mar. Biol.* **1995**, *123*, 137-143
- <sup>174</sup> Autorenkollektiv, *Organikum*, Kapitel F, 16. Auflage, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, **1986**, 638-659
- <sup>175</sup> M. Vincenti, G. Guglielmetti, G. Casani, C. Tonini, *Anal. Chem.* **1987**, *59*, 694
- <sup>176</sup> G. W. Francis, K. Veland, *J. Chromatog.* **1981**, *219*, 379-384
- <sup>177</sup> K. Blau, A. Darbre, *Handbook of Derivatives for Chromatography*, (Hrsg. K. Blau, J. M. Halket), John Wiley & Sons, New York, **1993**, 11-28
- <sup>178</sup> Autorenkollektiv, *Organikum*, 16. Auflage, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, **1986**, 540

Hiermit erkläre ich, dass ich bisher keine Promotionsversuche unternommen habe. Des Weiteren versichere, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig durchgeführt und keine als die angegebenen Hilfsmittel verwendet habe.

Hamburg, den 25. Juli 2005