

**Isolierung, Strukturaufklärung und stereochemische
Untersuchungen von sesquiterpenoiden Inhaltsstoffen aus
ätherischen Ölen von *Bryophyta* und höheren Pflanzen**

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereichs Chemie der Universität Hamburg

vorgelegt von

Yücel Saritas

Hamburg 2000

1. Gutachter: Prof. Dr. W. A. König

2. Gutachter: Prof. Dr. K.-H. Kubeczka

Mündliche Prüfungen

08.06.2000 Organische Chemie Prof. Dr. W. A. König

09.06.2000 Pharmazeutische Biologie Prof. Dr. K. -H. Kubeczka

19.06.2000 Lebensmittelchemie Prof. Dr. H. Steinhart

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von September 1995 bis Oktober 1998 unter der Leitung von Herrn *Prof. Dr. W. A. König* am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg durchgeführt.

Meinem verehrten Lehrer Herrn *Prof. Dr. W. A. König* danke ich für die interessante Themenstellung und seine freundliche Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Verwendete Abkürzungen

Abb.	Abbildung
abs.	absolut
Ac	Acetyl
Ac ₂ O	Acetanhydrid
br.	breit
<i>c</i>	Konzentration
COLOC	correlation via long range couplings
COSY	correlated spectroscopy
d	dublett
DEPT	distortionless enhancement by polarization transfer
ee	enantiomeric excess
EI	electron impact
FPP	Farnesyldiphosphat
GC	Gaschromatograph, -graphie
h	Stunde(n)
HMBC	heteronuclear multiple bond correlation
HMQC	heteronuclear multiple quantum correlation
isoth.	isotherm
<i>J</i>	Kopplungskonstante
<i>m/z</i>	Massenzahl pro Ladung
Me	Methyl(gruppe)
MS	Massenspektrometrie/-spektrum
NMR	nuclear magnetic resonance
NOE	nuclear Overhauser effekt
NOESY	nuclear Overhauser enhancement and exchange spectroscopy
NPP	Nerolidyldiphosphat
OMe	Methylester
PDC	Pyridiniumdichromat
Pe	Pentyl
präp.	präparativ
s	Singulet
t	Triplett
<i>tert</i>	tertiär

Für Cyclodextrinderivate wurde folgende Schreibweise verwendet:

2,6-Me-3-Pe-β-CD entspricht Heptakis(2,6-di-*O*-methyl-3-*O*-pentyl)-β-Cyclodextrin

6-TBDMS-2,3-Me-β-CD entspricht Heptakis(6-*O*-tert-butyl-dimethylsilyl-2,3-di-*O*-methyl)-β-Cyclodextrin

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Zielsetzung	5
3	Allgemeiner Teil	6
3.1	Flüchtige Pflanzeninhaltsstoffe - Ätherische Öle	6
3.2	Biosynthese der Terpene	7
3.3	Methoden der Gewinnung von ätherischen Ölen	11
3.3.1	Wasserdampfdestillation	11
3.3.2	Extraktion	11
3.3.3	Weitere Methoden zur Gewinnung der ätherischen Öle	12
3.4	Isolierung von Einzelkomponenten aus ätherischen Ölen	12
3.4.1	Dünnschicht- und Säulenchromatographie	14
3.4.2	Hochleistungsflüssigchromatographie	14
3.4.3	Präparative Gaschromatographie	15
3.4.4	Weitere Methoden zur präparativen Isolierung von Naturstoffen	16
3.5	Strukturaufklärung	17
3.5.1	NMR-Spektroskopie	19
3.5.2	Massenspektrometrie und Kopplungstechniken mit anderen Analysemethoden	25
3.5.3	Derivatisierungsreaktionen	27
3.5.4	Enantiomerenanalytik und enantioselektive Gaschromatographie	27
3.5.5	Absolute Konfiguration	29
4	Spezieller Teil	30
4.1	Amyrisöl	31
4.1.1	Isolierung von Muurolo-4,11-dien (22) und Cadina-4,11-dien (27) aus Amyrisöl	33
4.1.2	Strukturaufklärung von Muurolo-4,11-dien (22) aus Amyrisöl	35
4.1.2.1	Bestimmung der absoluten Konfiguration von Muurolo-4,11-dien (22)	41
4.1.3	Strukturaufklärung von Cadina-4,11-dien (27) aus Amyrisöl	44
4.1.3.1	Bestimmung der absoluten Konfiguration von Cadina-4,11-dien (27)	48

4.2 Die Pestwurz	50
4.2.1 Analytik der Sesquiterpenkohlenwasserstoffe aus dem ätherischen Öl von Pestwurz (<i>Petasites hybridus</i>)	52
4.2.2 Isolierung von Petasiten (46) aus <i>Petasites hybridus</i>	55
4.2.3 Strukturaufklärung Petasiten (46)	57
4.2.4 Identifizierung des Petasiten-Epoxides (62)	59
4.2.4.1 Synthese von Petasiten (46) und Bestimmung der absoluten Konfiguration	63
4.2.4.2 Hypothetische Biogenese von (-)-Petasiten (46)	67
4.2.5 Isolierung von Pethybren (43) aus <i>Petasites hybridus</i>	70
4.2.6 Strukturaufklärung von Pethybren (43)	72
4.2.6.1 Bestimmung der absoluten Konfiguration von (-)-Pethybren (43)	76
4.2.6.2 Hypothetische Biogenese des (-)-Pethybren (43)	78
4.2.7 Isolierung von 4,5-di- <i>epi</i> -Aristolochen (52) aus <i>Cistus incanus</i>	82
4.2.8 Strukturaufklärung von (-)-4,5-di- <i>epi</i> -Aristolochen (52)	83
4.2.8.1 Bestimmung der absoluten Konfiguration (-)-4,5-di- <i>epi</i> -Aristolochen (52)	85
4.2.8.2 Biogenese von 4,5-di- <i>epi</i> -Aristolochen (52)	88
4.3 Moospflanzen und Inhaltsstoffe aus Moosen	89
4.4 Inhaltsstoffe aus <i>Jungermannia lanceolata</i> (<i>Hepaticae</i>)	90
4.4.1 Isolierung und Strukturaufklärung von α -Neocallitropsen (102) aus <i>Jungermannia lanceolata</i>	93
4.4.2 Isolierung und Strukturaufklärung von β -Acoradien (101) aus <i>Jungermannia lanceolata</i>	97
4.4.3 Isolierung und Strukturaufklärung von <i>trans</i> - β -Bergamoten (103) aus <i>Jungermannia lanceolata</i>	98
4.4.4 Isolierung und Strukturaufklärung von Acorenol B (104) aus <i>Jungermannia lanceolata</i>	99
4.4.4.1 Bestimmung der absoluten Konfiguration von (+)-Acorenol B (104)	102
4.5 Inhaltsstoffe aus <i>Dumortiera hirsuta</i>	104
4.5.1 Identifizierung von Aciphyllen (122) aus <i>Dumortiera hirsuta</i>	107
4.5.2 Identifizierung von (-)-Aristolochen (120) aus <i>Dumortiera hirsuta</i>	109
4.5.3 Isolierung von <i>Z</i> - γ -Bisabolon (57) aus <i>Dumortiera hirsuta</i>	111
4.5.4 Identifizierung von (-)-Isoguaien (123) aus <i>Dumortiera hirsuta</i>	112
4.5.5 Stereochemische Untersuchungen von Bestandteilen aus <i>Dumortiera hirsuta</i>	113
5 Zusammenfassung	116
6 Abstract	120

7 Experimenteller Teil	123
7.1 Meßgeräte und Methoden	123
7.2 Isolierung und Darstellung terpenoider Verbindungen	127
7.2.1 Isolierung von (-)-Muurola-4,11-dien (22) aus Amyrisöl.....	127
7.2.2 Isolierung von (+)-Muurola-4,11-dien (22) <i>Mnium hornum</i>	128
7.2.3 Isolierung von Cadina-4,11-dien (27) aus Amyrisöl	128
7.2.4 Selektive partielle Hydrierung von (-)-Muurola-4,11-dien (22).....	129
7.2.5 Total Hydrierung von (-)-Muurola-4,11-dien (22)	130
7.2.6 Isolierung der Komponenten 38, 40, 44, 45, 47 aus <i>Silphium perfoliatum</i>	131
7.2.7 Isolierung von Presilphiperfol-7-en (39) aus <i>Matricaria perforata</i>	133
7.2.8 Isolierung von Petasiten (46) aus <i>Petasites hybridus</i>	134
7.2.9 Herstellung von Petasiten-Epoxid (62).....	135
7.2.10 Isolierung von (-)-Alben (37) aus <i>Petasites hybridus</i>	135
7.2.11 Darstellung von Albenon (65)	136
7.2.12 Darstellung von Albanon (64)	137
7.2.13 Darstellung von Petasitanol (63).....	137
7.2.14 Darstellung von Petasiten (46).....	138
7.2.15 Isolierung von Pethybren (43) aus <i>Petasites hybridus</i>	138
7.2.16 Umlagerung von (-)-Pethybren (43) zum (-)- α -Isocomen (34)	139
7.2.17 Isolierung von (-)-4,5-di- <i>epi</i> -Aristolochen (52) aus <i>Cistus incanus</i>	139
7.2.18 Isolierung von (-)- α -Neocallitropsen (102) aus <i>Jungermannia lanceolata</i>	140
7.2.19 Darstellung von (+)-Acorenon aus (-)- α -Neocallitropsen (102).....	141
7.2.20 Isolierung von (-)-Acorenon (106) aus <i>Acorus calamus</i>	142
7.2.21 Isolierung von (+)- β -Acoradien (101) aus <i>Jungermannia lanceolata</i>	142
7.2.22 Isolierung von (-)-trans- β -Bergamoten (103) aus <i>Jungermannia lanceolata</i>	142
7.2.23 Isolierung von (+)-Acorenol B (104) aus <i>Jungermannia lanceolata</i>	143
7.2.24 Reduktion von Acorenon B (105).....	144
7.2.25 Isolierung von (+)-Aciphyllen (122) aus Patchouliöl	144
7.2.26 Synthese von (-)-Aristolochen (120) aus (+)-Nootkaton (126).....	145
7.2.27 Isolierung von Z- γ -Bisabolen (57).....	147
7.2.28 Isolierung von (-)-Isoguaien (123).....	147
8 Spektrenanhang	149
9 Gefahrstoffanhang	165
10 Literaturverzeichnis	166

1 Einleitung

Man kann auf jedem Felde der Wissenschaft nur ein kleinstes Teilstückchen bearbeiten, und dennoch hofft und glaubt man, von einer Teilfrage her ausweitend und umgreifend schließlich die ganze Kenntnis gewinnen zu können. Endlich mag man zu einem Wissensstand gelangen, der es gestattet, manche Fakten zu einem Bild zusammenzufügen. Aber waren die hierzu notwendigen Vereinfachungen erlaubt? Das Bild wird alsbald wieder trivial. Man sammelt von neuem, ergänzt, fügt zusammen und hofft auf ein vollständigeres Zusammenstimmen. Jene Polarität zwischen Synthese und Analyse, zwischen Experiment und Theorie, zwischen Handeln und Denken bewegt unsere experimentelle Wissenschaft.

[F. Cramer, Der Zeitbaum]

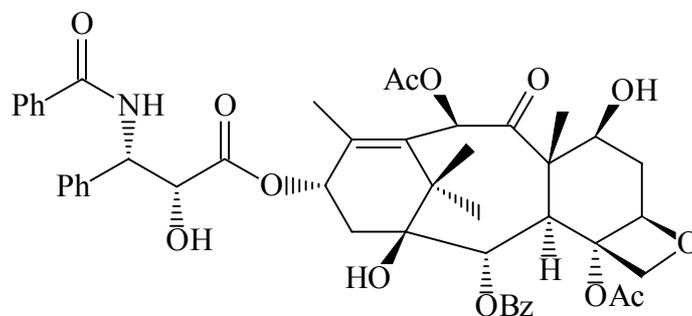
Sekundäre Naturstoffe

Die enormen Fortschritte in dem Verständnis der Krankheitsbilder auf molekularer Ebene haben es ermöglicht, daß eine Reihe von biologischen Targets und neuartigen Testsystemen für die zielgerichtete Leitstruktur- bzw. Wirkstoffsuche zugänglich wurden. Mittlerweile automatisierte Testverfahren (Hochdurchsatz-Screening), die einen Probendurchsatz von mehr als 100.000 Proben pro Jahr ermöglichen, und eine Reihe von methodischen Entwicklungen der letzten Jahre besonders auf den Gebieten Spektroskopie und Chromatographie haben wesentlich dazu beigetragen, daß die Zahl isolierter und charakterisierter Naturstoffe stetig steigt.^[1] Mehr als 110.000 Naturstoffeⁱ sind derzeit bekannt. Dazu kommen jährlich mehr als 2.000 neue Verbindungen und sicherlich werden gleichzeitig eine sehr viel höhere Zahl bekannter Naturstoffe nachisoliert.^[2]

Bekanntlich stellen die sekundären Naturstoffe einen sehr bedeutenden Bereich der Naturstoffe dar. Es ist daher nicht überraschend, daß viele Verbindungen, die isoliert und aufgeklärt werden, zu den sekundären Naturstoffen gehören.

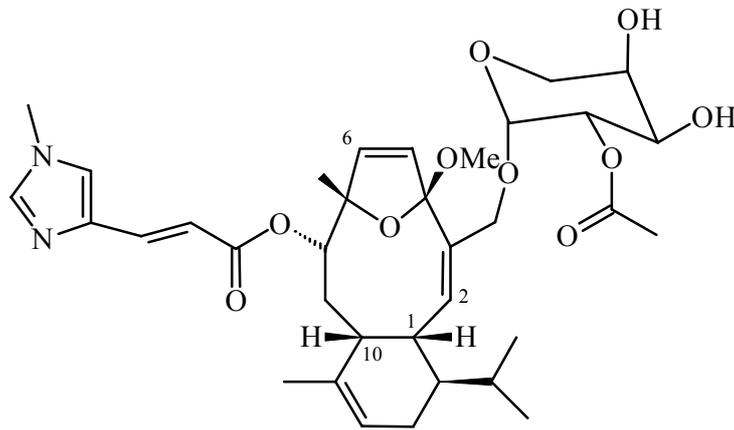
ⁱ Stand 1995

Der Sekundärmetabolismus umfaßt im Gegensatz zu dem Primärmetabolismus, welcher in allen Lebewesen vorkommt und überall die gleiche Funktion hat, zum Beispiel die Synthese und den Abbau von Nucleotiden und Nucleinsäuren, der Aminosäuren und Proteine, Umsatz von Glucose und verwandten Kohlenhydraten, und spezielle Stoffwechselwege, die zu einer Vielzahl mitunter sehr kompliziert aufgebauter chemischer Substanzen führen, die als Sekundärmetaboliten beziehungsweise sekundäre Naturstoffe bezeichnet werden.^[3] Der Sekundärstoffwechsel verläuft in bestimmten Entwicklungsstadien in bestimmten Geweben oder Organen von Pflanzen, Mikroorganismen, Pilzen, marinen Organismen und Tieren. Die Tatsache, daß viele dieser Verbindungen biologische Aktivität zeigen, machte sie für den Menschen seit jeher interessant. So etablierten sich im Laufe der Zeit verschiedene sekundäre Naturstoffe, zum Beispiel Morphin und verwandte Substanzen des Schlafmohns (*Papaver somniferum*), Chinin und seine Derivate aus Chinarindenbäumen sowie Strychnin aus dem Brechnußbaum (*Strychnos nuxvomica*) als pflanzliche Arzneimittel.^[4] Auch in jüngerer Zeit wurden wichtige Arzneistoffe, die zu den sekundären Naturstoffen gehören, isoliert: darunter verschiedene Cytostatika aus dem Madagaskar-Immergrün (*Catharanthus roseus*) oder Taxol (**1**), ein in der Rinde der nordamerikanischen Eibenart *Taxus brevifolia* vorkommendes Antikrebsmittel,^[5] sowie weitere Substanzen aus verschiedenen Pflanzen.

Taxol (**1**)

Die sekundären Naturstoffe aus den höheren Pflanzen bilden keineswegs die einzige Gruppe für biologisch aktive Substanzen. Mikroorganismen, Moose und Meeresorganismen produzieren ebenfalls eine Reihe von Sekundärmetaboliten aus sehr unterschiedlichen Verbindungsklassen, die biologisch aktiv sind, und als Leitstrukturen für die Wirkstoffentwicklung nicht nur im pharmazeutischen Bereich eingesetzt werden, sondern auch dem Pflanzenschutz dienen. Ein Beispiel ist der Naturstoff Eleutherobin (**2**),^[6] isoliert aus der Weichkoralle *Eleutherobia*, ein potentes Cytotoxin. Das Eleutherobin verdankt diese Eigenschaft dem gleichen Wirkmechanismus, der auch Taxol (**1**) zu einem potenten

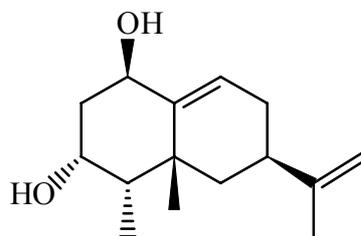
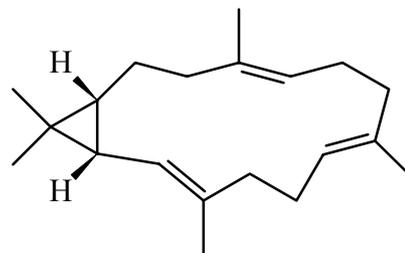
Antitumor-Wirkstoff macht.^[7] Die biologisch aktiven Inhaltsstoffe der Moose (Bryophyta), die mit 25.000 bekannten Arten etwa 5% des Pflanzenreichs ausmachen und seit Jahrhunderten z. B. in der chinesischen Volksmedizin eine Rolle spielen, werden erst in neuerer Zeit untersucht.^[8] So wurden u.a. neuartige Sesqui- und Diterpene, mit antibakteriellen, antifungischen und toxischen Aktivitäten identifiziert.^[8,9]



Eleutherobin (2)

Obwohl die Bedeutung der sekundären Naturstoffe als Inspiration für die Wirkstoffsuche von den Menschen sehr früh erkannt worden war, ist das Wissen über das Vorkommen und den Aufbau der Sekundärmetaboliten sowie deren physiologische und ökologische Bedeutung für den Produzenten sehr bescheiden und lückenhaft. Es gibt zwar keinen Grund anzunehmen, daß all diese Substanzen in ihrer strukturellen Diversität eine physiologische und ökologische Wirkung haben, doch zeigen immer mehr Untersuchungen die enorme funktionelle und strukturelle Bedeutung der sekundären Naturstoffe.^[10,11,12] Viele sekundäre Naturstoffe sind sogar für deren Produzenten geradezu lebensnotwendig. Zum Beispiel besitzen Sekundärstoffe für den Produzenten eine physiologische Effizienz.^[10,13] Sie wirken als Phytohormone und dienen als Wachstumsinhibitor oder können das Zellstreckungswachstum fördern. Die Phytohormone lassen sich nach ihrer chemischen Struktur in terpenoide Verbindungen, Steroide und ungesättigte Kohlenwasserstoffe einteilen. Sekundäre Naturstoffe zeigen allelochemische Wechselwirkungen.^[10,13] Als Allelochemika werden Substanzen bezeichnet, die von Organismen einer Art gebildet und abgegeben werden und sich auf Wachstum, Verhalten oder Fortpflanzung einer anderen Art auswirken. Ein bekanntes Beispiel für eine Pflanze-Pflanze-Interaktion ist der Sekundärmetabolit Juglon. Diese Verbindung wirkt bei vielen Pflanzen als Wachstumsinhibitor. Sekundäre Naturstoffe wirken artspezifisch.^[10,13] Dabei handelt es

sich um Wirkstoffe der innerartlichen Kommunikation. Sie werden von einem Individuum einer gegebenen Art abgegeben und lösen bei einem anderen Individuum dieser Art eine bestimmte Reaktion aus. Solche sekundären Naturstoffe werden unter dem Begriff Pheromone zusammengefaßt. Zu den Pheromonen gehören terpenoide Verbindungen sowie biosynthetisch erzeugte Derivate von Fettsäuren (langkettige Alkohole, Aldehyde oder Ester). Sekundäre Naturstoffe üben phytoalexine Wirkungen aus.^[10,13] Ein gewöhnlicher Abwehrmechanismus der Pflanzen gegenüber Pathogenen ist die Bildung von Phytoalexinen. Als Phytoalexine werden niedermolekulare, antimikrobielle und vor allem fungizide Wirkstoffe bezeichnet, die von Pflanzen nach einer Infektion gebildet werden. Eine große Gruppe von Phytoalexinen bilden die terpenoiden Verbindungen. Bisher sind mehr als 200 terpenoide Sekundärstoffe als Phytoalexine bekannt.^[14] Neben den häufig vorkommenden sesquiterpenoiden Phytoalexinen sind auch di- und triterpenoide Phytoalexine bekannt. Ein Beispiel für sesquiterpenoide Phytoalexine ist die Verbindung Capsidiol (**3**). Sie wird als fungizider Wirkstoff von der Tabak-Pflanze gebildet.^[15] Ein anders Beispiel für terpenoide Phytoalexine stellt die Verbindung Casben (**4**) dar. Dieser Diterpenkohlenwasserstoff wird in Samen von *Ricinus communis* L. produziert, wenn diese Pflanze von Pilzen befallen wird.^[16]

(-)-Capsidiol (**3**)Casben (**4**)

Die für den Menschen als Arznei, Pflanzenschutzmittel, Geschmack-, Duft- und Farbstoff oder auch als Rohstoff für technische Prozesse so wichtigen sekundären Naturstoffe lassen sich in vier Hauptklassen – Terpene, Acetylenverbindungen, Phenol-Verbindungen und N-haltige-Stoffe – zusammenfassen.^[13] Dabei stellen die terpenoiden Verbindungen eine der umfangreichsten Gruppe der sekundären Naturstoffe dar. Trotz der beeindruckenden Vielfalt bereits isolierter und charakterisierter terpenoider Verbindungen, lassen sich aus verschiedenen Quellen immer noch terpenoide Sekundärmetaboliten mit unbekanntem Strukturen isolieren, die auch Gegenstand der vorliegenden Arbeit sind.

2 Zielsetzung

Die Isolierung und Strukturaufklärung von unbekanntem Naturstoffen ist nach wie vor ein hochaktuelles Forschungsgebiet der organischen Chemie. Die stürmische Entwicklung in der Spektroskopie, besonders auf dem Gebiet der NMR-Spektroskopie, und der Chromatographie haben dazu geführt, daß immer mehr Verbindungen, die in geringen Konzentrationen vorkommen, isoliert und charakterisiert werden.

König und *Hardt*^[17] haben bereits gezeigt, daß man die vielfältigen Möglichkeiten, die Cyclodextrinderivate in der Kapillargaschromatographie bieten, auch zur präparativen Isolierung von reinen oder angereicherten Enantiomeren nutzen kann. In mehreren Arbeiten von *König et al.*^[18,19] wurde gezeigt, daß sich modifizierte Cyclodextrin-Phasen in gepackten GC-Säulen auch hervorragend für die Trennung und Isolierung einzelner Komponenten von ätherischen Ölen und anderer unzersetzt verdampfbarer Substanzen eignen. Aufgrund dieser methodischen Entwicklung können Verbindungen aus ätherischen Ölen isoliert werden, die bisher kaum für die Strukturaufklärung zugänglich waren. Die Isolierung und Strukturaufklärung ist auch das Hauptanliegen der vorliegenden Arbeit.

Im einzelnen wurden die Arbeitsschwerpunkte wie folgt definiert:

- Isolierung und NMR-spektroskopische Strukturaufklärung von unbekanntem, in der Literatur noch nicht beschriebenen Sesquiterpenkohlenwasserstoffen bzw. oxigenierten Sesquiterpenen aus verschiedenen ätherischen Ölen.
- Strukturaufklärung durch chemische Derivatisierungsreaktionen und Synthese der neuen Verbindungen.
- Überprüfung und gegebenenfalls Ergänzung von Strukturvorschlägen bereits bekannter Verbindungen.
- Konfigurationsbestimmung verschiedener Pflanzeninhaltsstoffe mit Hilfe der enantioselektiven und zweidimensionalen Gaschromatographie.

Um Konfigurationsbestimmungen durchführen zu können, benötigt man racemische Referenzsubstanzen. Da allerdings nur eine kleine Auswahl von Verbindungen als Standards kommerziell erhältlich sind, bildet die Herstellung solcher Standards durch Isolierung aus ätherischen Ölen im präparativen Maßstab ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit.

3 Allgemeiner Teil

3.1 Flüchtige Pflanzeninhaltsstoffe - Ätherische Öle

Verbindungen, die die ätherischen Öle ausmachen, zählen zu den Sekundärstoffen der Pflanzen. Unter ätherischen Ölen versteht man die durch Wasserdampfdestillation oder Pressen gewonnenen Inhaltsstoffe der Pflanzen.^[20,21,22] Sie sind chemisch heterogen, d.h. sie stellen ein vielfältiges Gemisch von Stoffen dar. In den höheren Pflanzen werden ätherische Öle in Exkretzellen, Exkretträumen oder -gängen abgelagert oder durch Drüsenhaare ausgeschieden.^[23,24] Die einzelnen Komponenten der ätherischen Öle gehören überwiegend zur Gruppe der Terpene: in vielen ätherischen Ölen findet man ausschließlich Mono- und Sesquiterpene. Zahlreiche ätherische Öle enthalten auch aromatische Verbindungen (z.B. Phenylpropan-Derivate) oder Produkte aus dem Fettsäurestoffwechsel. Obwohl die physiologische und ökologische Bedeutung der ätherischen Öle für den Produzenten und die Umwelt erst durch neuere Untersuchungen bekannt werden,^[10,11] haben ätherische Öle seit Jahrtausenden in vielen Kulturkreisen eine wichtige Bedeutung. Bereits im Jahr 3.200 v. Chr. gewannen die Ägypter Zedernholzöl und verwendeten es zur Einbalsamierung.^[25,26] Weihrauch gehört zu den ältesten Duftstoffen der Menschheit. Schon in 16. Jahrhundert fanden einige ätherische Öle Anwendung in der Medizin.^[21] Heute haben ätherische Öle vermehrt an industrieller Bedeutung gewonnen. Im wesentlichen werden ätherische Öle für kommerzielle Zwecke aus höheren Pflanzen gewonnen. Ätherische Öle werden neben ihrer Verwendung in der Kosmetik, Parfümherstellung, und Lebensmittelindustrie, wegen ihrer physiologischen Wirkung auf den lebenden Organismus auch in der Aromatherapie eingesetzt.^[21] In jüngster Zeit werden die ätherischen Öle der Lebermoose (*Hepaticaea*) intensiv untersucht.^[8,27] Wie die Drüsenhaare und Exkretträume von Samenpflanzen enthalten die Ölkörper der Lebermoose (*Hepaticaea*) reichlich Sekundärstoffe. Viele Lebermoose zeichnen sich durch einen intensiven Geruch aus, der im wesentlichen auf leichtflüchtige Monoterpene zurückzuführen ist. Es handelt sich fast ausschließlich um Verbindungen, die auch aus höheren Pflanzen bekannt sind. Mehr oder weniger flüchtige Sesqui- und Diterpene bilden den Hauptanteil des ätherischen Öles der Lebermoose. Ätherische Öle der Lebermoose besitzen auffällige Eigenschaften.^[8,27] Einige der nachgewiesenen Sesqui- und Diterpentypen sind vorläufig ausschließlich im Metabolismus von Lebermoosen bekannt geworden (Abb. 1).^[28,29] König et al.^[30] konnten

die Sesquiterpene vom Bazzanen- und Barbatentyp, die bisher als charakteristisch für Lebermoose galten, in *Meum athamanticum*, einer höheren Pflanze identifizieren. Viele Sesquiterpene der *Hepaticae* sind enantiomer zu den entsprechenden Verbindungen der höheren Pflanzen.^[31] Sie zeigen antibiotische, cytotoxische, ichthyotoxische (= piscizide) hautirritierende, allergene und (oder) Pflanzenwachstumshemmende Wirkungen.^[8,9]

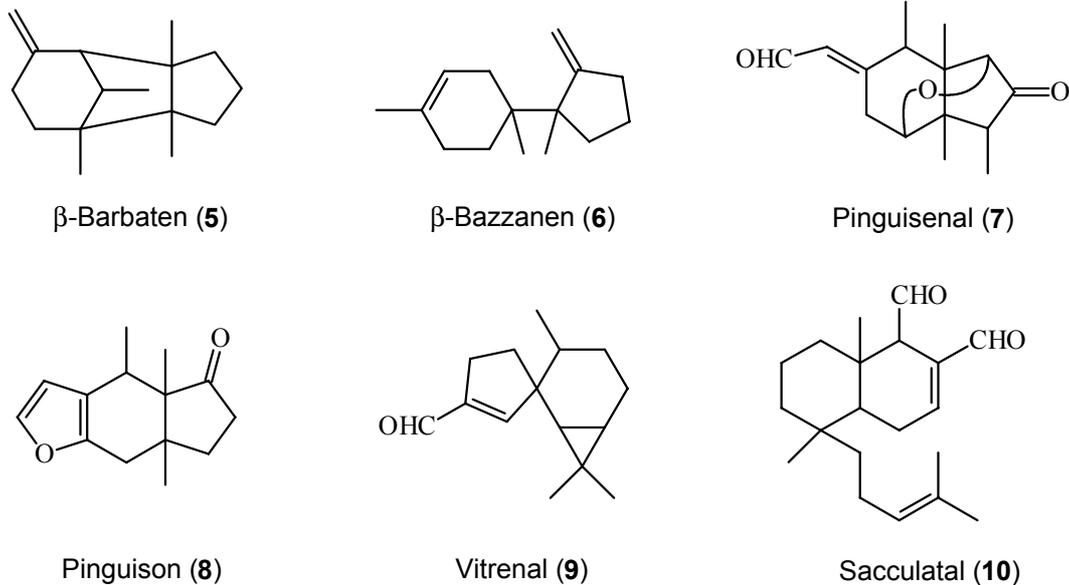


Abb. 1: Einige charakteristische Bestandteile der ätherischen Öle und Extrakte von Lebermoosen

3.2 Biosynthese der Terpene

Die Fortschritte der Terpenchemie hängen eng mit der Aufstellung der Isoprenregel zusammen. Die Anfänge der Entdeckung der Isoprenregel gehen auf *O. Wallach* zurück.^[32] Das zunächst von *O. Wallach* 1887 aus empirischen Beobachtungen vorgeschlagene Aufbauprinzip der Mono- und Sesquiterpene wurde von *L. Ruzicka* 1921 aufgegriffen und weiterentwickelt. Im Jahre 1953 konnte *L. Ruzicka*^[33] in einem Vortrag „The Isoprene Rule and the Biogenesis of Terpenoid Compounds“ anhand zahlreicher Beispiele der Mono-, Sesqui- und anderer Terpengruppen zeigen, daß die Isoprenregel folgendermaßen definiert werden kann:

„Bei der Biogenese der Terpene entstehen aus Isopreneinheiten vom Typ Isopentenylpyrophosphat (IPP) und Dimethylallylpyrophosphat (DMAP) zuerst die aliphatischen Vorstufen der Terpene Geraniol, Farnesol, Geranylgeraniol, Squalen und anderer Isoprenologen, die cyclisiert, umgelagert und weiter umgeformt werden können.“

Dieser Ansatz von *L. Ruzicka* wurde im Laufe der Zeit weiterentwickelt. Die Biogenese der terpenoiden Verbindungen beginnt nach dem heutigen Wissensstand mit der Biosynthese von Isopentenylidiphosphat (IPP). Die Biosynthese von IPP aus Acetyl-Coenzym A über Mevalonsäure galt bis vor kurzem als einziger bekannter Biosyntheseweg (Mevalonat-abhängige Route).^[34] In den letzten Jahren konnte gezeigt werden, daß die plastidären Isoprenoid-Komponenten sowie β -Carotin, Lutein und die Phytol-Seitenkette von Chlorophyll durch eine alternative, Mevalonat-unabhängige Biosyntheseroute aus IPP gebildet werden.^[35,36,37,38] Als Ausgangspunkt dieser Synthese ist die Kondensation einer aktiven C₂-Einheit, die aus Pyruvat entsteht, und Glycerinaldehyd-3-phosphat anzusehen. Das nach der Abspaltung von Thiamindiphosphat (TPP) entstehende 1-Desoxyxylulose-5-phosphat wird durch mehrere intramolekulare Umlagerungen zu IPP metabolisiert.^[35,39] In Abbildung 2 sind die beiden Biosyntheserouten von IPP dargestellt. Nach mehreren Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß die Biosynthese von IPP in verschiedenen Zellkompartimenten der Pflanze simultan realisiert wird. Der Mevalonat-unabhängige Biosyntheseweg von IPP wird bevorzugt bei der Biosynthese der Mono- und Diterpene in den Plastiden verwendet, während Sesqui- und Triterpene überwiegend aus Mevalonsäure-abhängigen IPP im Cytosol aufgebaut werden.^[40] Jedoch ist diese Trennung nicht eindeutig. Es ist bekannt, daß eine gestreßte Pflanze, besonders bei Blockade der Mevalonat-abhängigen Route, steigende Anteile des plastidären IPP bei der Biosynthese ihrer Sesquiterpene als Phytoalexine nutzt. Die Frage, ob dieser flexiblen Ressourcenverwaltung eine zentrale Bedeutung für den pflanzlichen Terpenstoffwechsel zukommt, ist noch offen.^[41] Die Biosynthese der terpenoiden Verbindungen setzt sich mit der Bildung von Vorstufen fort. Isopentenylidiphosphat steht mit seinem Doppelbindungs-Isomer Dimethylallyldiphosphat im Gleichgewicht.^[34,42,43] Das IPP greift als nucleophiles Reagenz an der C-1 Position des Dimethylallylpyrophosphat an, und es entsteht durch diese „Kopf-Schwanz-Kondensation“ das Geranyldiphosphat. Anschließend wird an Geranyl-diphosphat eine weitere Einheit aktives IPP addiert, so daß Farnesyldiphosphat (FPP) erhalten wird. Auf diese Weise entstehen die acyclischen Vorläufer der natürlichen terpenoiden Verbindungen. Die Biosynthese der Sesquiterpene setzt sich mit der Cyclisierung von FPP durch Synthasen (Cyclasen) fort (Abb.3).^[43] Die Enzyme der Terpene lassen sich in zwei Klassen einteilen: Einerseits in hochspezifische Enzyme,^[44] die an der Bildung der Grundgerüste – oft mit definierter Stereochemie – einer Reihe von Verbindungen beteiligt sind, und andererseits in solche Enzyme, die die Modifikation dieser Grundgerüste bewirken – zum Beispiel

Dehydrogenasen, Monooxygenasen, Methyltransferasen und Glycosyltransferasen, die, obwohl für die Stereochemie der Stammverbindung zwingend notwendig – weniger spezifisch für das Substitutionsmuster dieser Stammverbindungen sind.^[45] Kürzlich konnte *C. O. Schmidt* zeigen, daß an der Biosynthese von (+)- und (-)-Germacren D zwei enantioselektive Germacren D- Synthasen beteiligt sind.^[46]

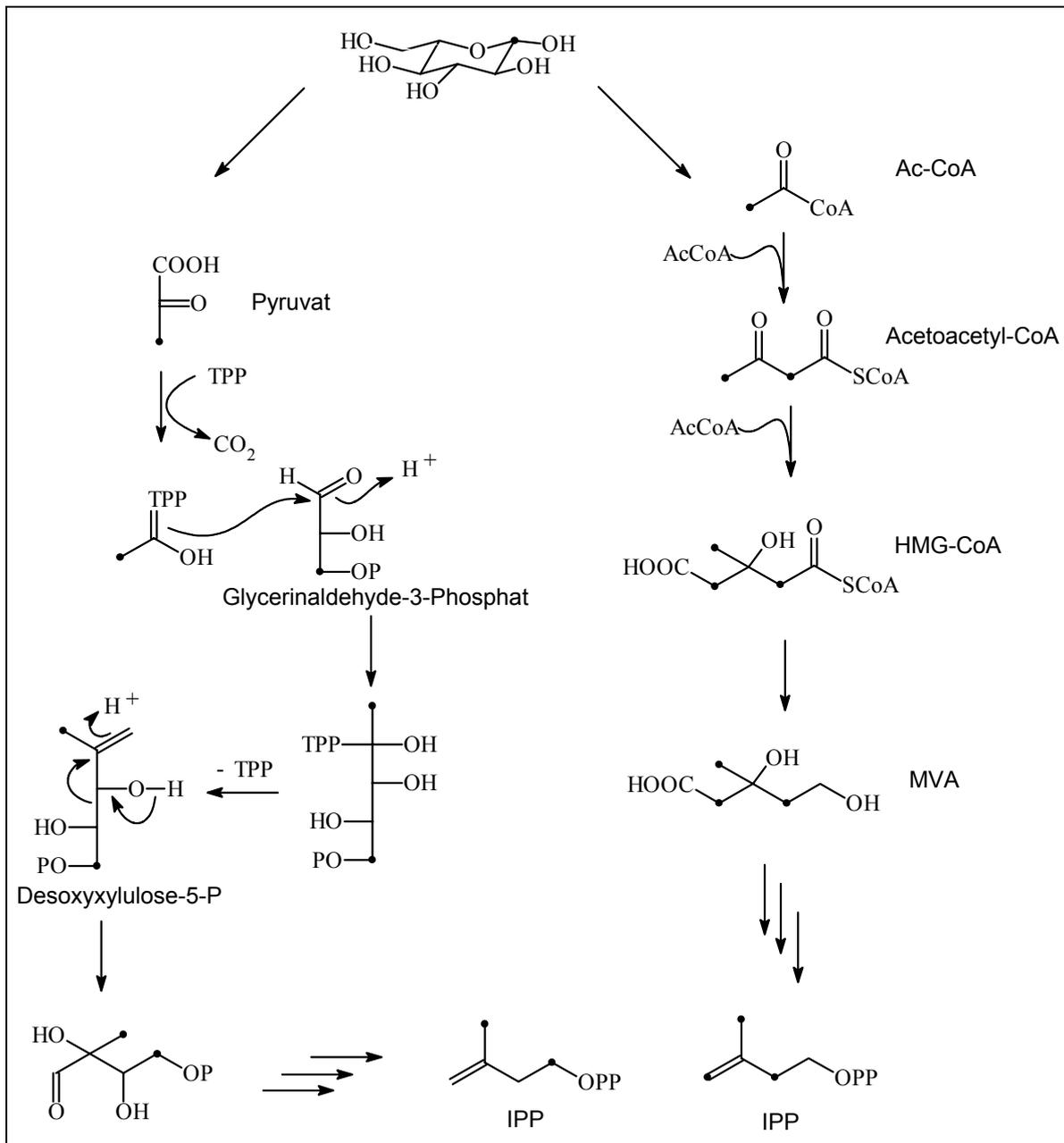


Abb. 2: Biosynthese von Isopentenylidiphosphat (IPP) mit [1-¹³C] isotopenmarkierter Glucose. Ac-CoA = Acetyl-Coenzym A, HMG-CoA = Hydroxy-methyl-glutaryl-Coenzym A, MVA = Mevalonsäure, TPP = Thiamindiphosphat, P = Phosphat, PP = Diphosphat, •: ¹³C-Markierungsposition.^[39]

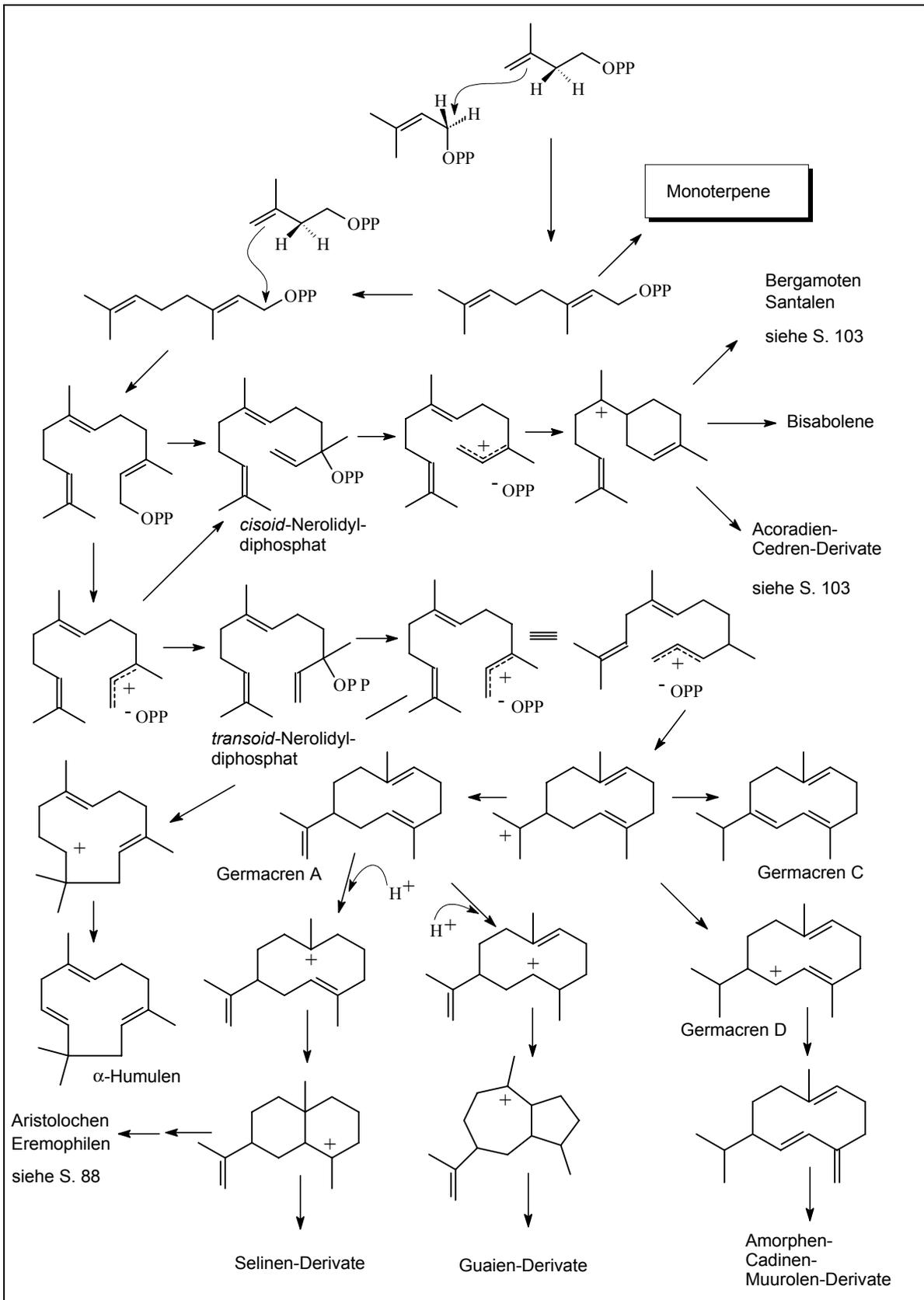


Abb. 3: Biogenese einiger ausgewählter Sesquiterpenkohlenwasserstoffe.

3.3 Methoden der Gewinnung von ätherischen Ölen

Da die qualitative und quantitative Zusammensetzung der ätherischen Öle stark von der Gewinnungsmethode abhängt, sollte dem ersten Schritt, der Abtrennung von ätherischen Ölen aus dem biologischen Material, besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden. Artefaktbildungen und thermische und sauerkatalysierte Umlagerungen sind die Hauptprobleme, die bei der Isolierung bestehen. Deswegen kommen für die Isolierung nur solche Methoden in Frage, bei denen diese auf ein Minimum reduziert bzw. vollständig unterdrückt werden.

3.3.1 Wasserdampfdestillation

Am häufigsten wird bei der Isolierung flüchtiger Pflanzeninhaltsstoffe die Wasserdampfdestillation gewählt.^[47,48] Artefaktbildung und thermische Umlagerungen sind trotz dafür günstiger Faktoren (hohe Temperatur, katalytisch-wirkende Verunreinigungen im Wasser) nur selten vorzufinden. Vielmehr sind zwei andere Faktoren zu nennen, die den Unterschied zwischen der Probenzusammensetzung im Wasserdampfdestillat und der ursprünglichen Zusammensetzung in der Pflanze verursachen. Zum einen ist die Destillationsdauer zu nennen, da die Verbindungen unterschiedlich rasch aus dem Pflanzenmaterial freigesetzt werden, und nur solche Verbindungen mit dem Wasser in die Dampfphase übergehen. Zum anderen werden wegen der verwendeten kontinuierlichen Destillation die wasserlöslichen Komponenten (z. B. kurzkettige Alkohole) aus der „Hexan-Vorlage“ wieder in den Destillationskolben zurückgespült. Dennoch bietet die Wasserdampfdestillation wegen des relativ geringen Arbeitsaufwandes eine gute Möglichkeit zur Gewinnung ätherischer Öle.

3.3.2 Extraktion

Die Extraktion zählt neben der Wasserdampfdestillation zu den ältesten Methoden, die für die Gewinnung der niedermolekularen Inhaltsstoffe aus einer festen Matrix (Zellulose, Lignin etc.) verwendet wird.^[49] Die Inhaltsstoffe einer Lösungsmittelextraktion unterscheiden sich von den ätherischen Ölen, die durch Wasserdampfdestillation gewonnen werden. Diese enthalten im Gegensatz zu den ätherischen Ölen Wachse, Paraffine und andere schwerflüchtige Komponenten. Da die Zusammensetzung des Extraktes stark von der Selektivität des eingesetzten Extraktionsmittels und der verwendeten Arbeitstechniken abhängt, richtet sich die Auswahl des Lösungsmittels im Allgemeinen nach der Polarität der zu extrahierenden Stoffgruppe. Um Verluste bei der Abtrennung des Extraktionsmittels zu vermeiden, werden meist niedrig siedende Lösungsmittel bevorzugt. Eine Alternative zu der

Lösungsmittelextraktion stellt die Extraktion mit superkritischen Gasen (z.B. Kohlendioxid, Ethylen), die sogenannte „Solvent-free-extraction“ dar.^[50] Da das flüssige CO₂ bei Normalbedingungen leicht abgedampft werden kann, ist eine Konzentrierung des Extrakts sehr gut möglich.

3.3.3 Weitere Methoden zur Gewinnung der ätherischen Öle

Neben den oben beschriebenen klassischen Verfahren existieren eine Reihe weiterer Methoden, um flüchtige Inhaltsstoffe aus dem Pflanzenmaterial zu gewinnen. Seit etwa 20 Jahren werden „Headspace-Verfahren“ in den Forschungslaboratorien der Aroma- und Riechstoffindustrie zur Isolierung von Blütenduftstoffen eingesetzt.^[51] Bei der sogenannten „Vacuum-Headspace“-Technik werden die flüchtigen Bestandteile bei hohem Vakuum von dem frischen Blütenmaterial abgetrennt und in mit flüssigem Stickstoff gekühlten Fallen ausgefroren. Eine weitere Methode zur schonenden Gewinnung flüchtiger Bestandteile aus Blütendüften ist die „Closed Loop Stripping“ Technik.^[51] Hierbei werden die von der Blüte freigesetzten Duftstoffe von einem Trägerstrom mittransportiert und an einem geeigneten Adsorbens - z.B. Aktivkohle - konzentriert. Anschließend können die Duftstoffe in ein organisches Lösungsmittel überführt und chromatographisch bzw. spektroskopisch analysiert werden.

In seltenen Fällen werden Pflanzeninhaltsstoffe durch Gefriertrocknung gewonnen.^[52,53] Durch die Gefriertrocknung ist es möglich, die in verdünnten wäßrigen Lösungen enthaltenen Pflanzeninhaltsstoffe aufzukonzentrieren, ohne daß dabei ein organisches Lösungsmittel verwendet wird. Eine andere, bislang erst wenig angewandte Methode ist die „Solid-Sample“-Technik.^[54]

3.4 Isolierung von Einzelkomponenten aus ätherischen Ölen^[55]

Die Trennung des Öles in Einzelkomponenten bildet den zweiten Schritt in der Analyse der ätherischen Öle. Ätherische Öle sind, abgesehen von einzelnen Ausnahmen (z.B. *Solidago canadensis*),^[56] komplexe Stoffgemische, die sich sowohl aus einer Vielzahl von Verbindungen aus der gleichen Substanzklasse als auch Stoffen mit unterschiedlichen funktionellen Gruppen zusammensetzen.^[20] Obwohl die Trennung verschiedener Verbindungsklassen zum größten Teil einfach gelingt, können für die Isolierung von Einzelkomponenten einer Substanzklasse mehrere Isolierungsschritte erforderlich sein (siehe Abb. 49, Seite 149). Bei der Untersuchung von Naturstoffgemischen, insbesondere

aus Arzneipflanzen, kommen heute vorwiegend chromatographische Methoden zum Einsatz. Die letzten 30 Jahre brachten zahlreiche methodische und apparative Verbesserungen in der Chromatographie, die für die Trennung von Naturstoffen von großer Bedeutung sind. Trotz dieser Verbesserungen existiert keine universelle Methode für alle Trennprobleme. Die Abbildung 4 zeigt eine allgemeine Vorgehensweise bei der Isolierung von Verbindungen aus komplexen Naturstoffgemischen.

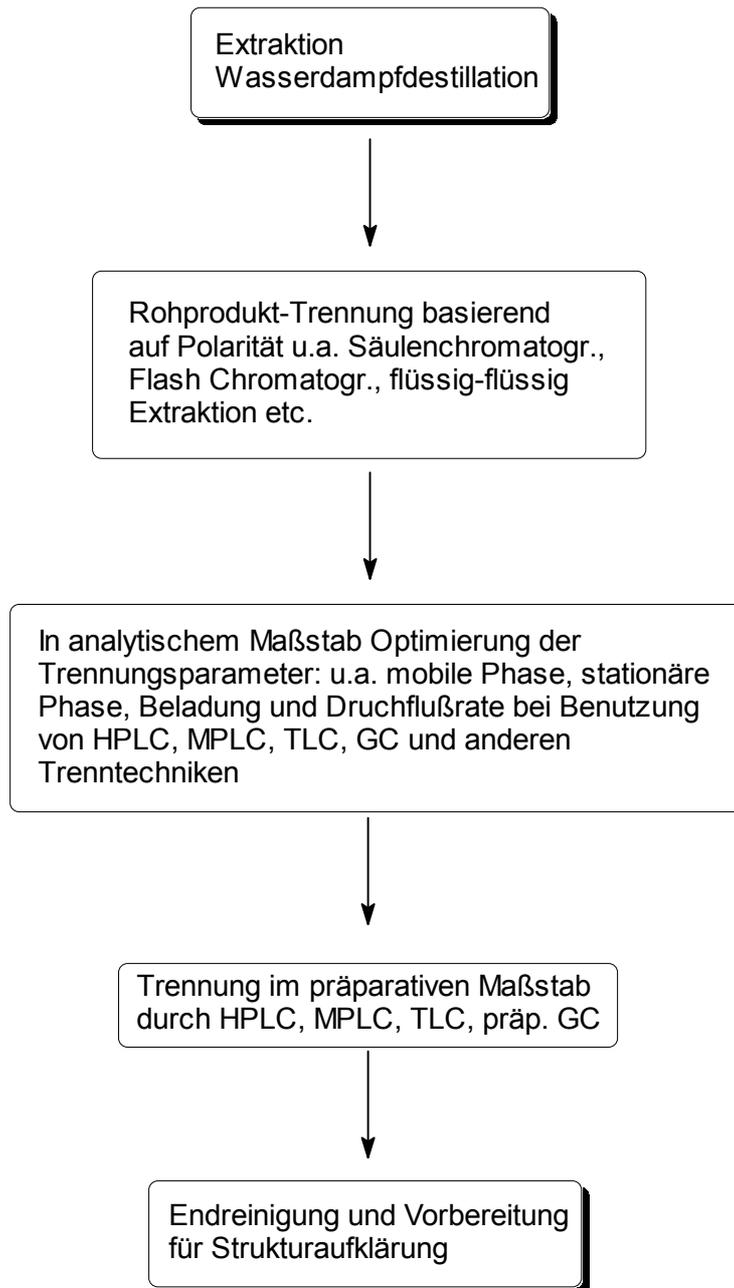


Abb. 4: Isolierungsprozedur für Verbindungen aus Naturstoffgemischen.

3.4.1 Dünnschicht- und Säulenchromatographie

Die moderne Dünnschichtchromatographie (Thin layer chromatography TLC) zählt zu den Verfahren, die bevorzugt zur Analytik organischer Substanzen eingesetzt werden. Die TLC hat eine ganze Reihe von Vorteilen gegenüber den übrigen chromatographischen Verfahren. Neben ihrer einfachen Durchführbarkeit und hohen Empfindlichkeit ist sie für Screening Tests geeignet. Außerdem stehen dem Anwender heute eine Vielzahl verschiedener stationärer Phasen (Kieselgel, Aluminiumoxid, Cellulose, Polyamid, Reversed-Phase) zur Verfügung, so daß eine schnelle und kostengünstige Optimierung der Trennung durch Wechseln der mobilen und stationären Phase möglich ist.

Die Säulenchromatographie bietet neben der TLC eine unerläßliche Methode zur Trennung organischer Substanzen. Es sind bereits diverse säulenchromatographische Verfahren zur Trennung der ätherischen Öle in der Literatur bekannt.^[55,57] Jedoch begnügen sich diese Methoden, ebenso wie die Dünnschichtchromatographie, in der Analytik der ätherischen Öle mit einer Abtrennung der Kohlenwasserstoffe von den polaren sauerstoffhaltigen Komponenten. Eine sprunghafte Verbesserung bei der Trennung von Kohlenwasserstoffen wurde durch mit Silbernitrat imprägnierten stationären Phasen erzielt. Hierbei wird die Bildung von Charge-Transfer-Komplexen unterschiedlicher Stabilität zwischen einem Elektronendonator und einem Elektronenakzeptor für die chromatographische Auftrennung von Stoffgemischen herangezogen. Mit Silbernitrat imprägnierte stationäre Phasen trennen Olefine, Fettsäureester, Steroide, Terpenoide und andere ungesättigte Verbindungen in Abhängigkeit von der Anzahl, Geometrie und Lage der Doppelbindungen.^[58,59]

3.4.2 Hochleistungsflüssigchromatographie

Die Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC = High Performance Liquid Chromatography) zählt neben den bewährten chromatographischen Methoden wie Säulenchromatographie, Dünnschichtchromatographie und Gaschromatographie zu den Standardverfahren in der modernen Analytik.^[60,61] Die HPLC ermöglicht durch die Verwendung kleinerer Sorbenteilchen (im analytischen Bereich 3 bis 10 µm, in präparativen Applikationen 20-40 µm) hochauflösende Trennungen in einem weiten Substanz-Bereich in kurzer Zeit. Die HPLC eignet sich sehr gut zur Trennung von schwerflüchtigen und thermolabilen Verbindungen. In den vergangenen Jahren wurden wesentliche Erfolge bei der Trennung und Isolierung von Naturstoffen mit der HPLC erzielt.^[55]

Ebenso wurden die Einsatzmöglichkeiten der HPLC bei der Isolierung von flüchtigen Bestandteilen der ätherischen Öle untersucht. *Kubeczka et al.*^[62] konnten zahlreiche Sesquiterpenkohlenwasserstoffe in hoher Reinheit abtrennen. Obwohl die Leistungsfähigkeit der HPLC – vor allem bei Verwendung von mit Silbernitrat imprägnierten Säulen – in verschiedenen Arbeiten gezeigt wurde,^[63,64,65] spielt die HPLC in dieser Arbeit wegen den mit der präparativen GC erreichbaren guten Resultaten nur eine untergeordnete Rolle.

3.4.3 Präparative Gaschromatographie

Im Gegensatz zur Dünnschichtchromatographie, die nur bedingt zur Analyse flüchtiger Verbindungen eingesetzt werden kann, und zur HPLC, die hauptsächlich bei der Isolierung von schwerflüchtigen und thermolabilen Verbindungen zum Einsatz kommt, eignet sich die präparative Gaschromatographie besonders gut für die Isolierung leichtflüchtiger Verbindungen, die durch Erhitzen unzersetzt verdampfbar sind.

Die präparative Gaschromatographie ergänzte bereits frühzeitig die klassischen Trennmethoden. Die grundlegenden theoretischen und experimentellen Fragestellungen wurden Anfang der siebziger Jahre von *Sakodynski* und *Volkov*^[66] erforscht. Mit der Erkenntnis, daß die Auflösung, die Geschwindigkeit und die getrennte Substanzmenge so miteinander verknüpft sind, daß nicht einer dieser Parameter verbessert werden kann, ohne mindestens einen anderen zu verschlechtern, verminderte sich die Forschungsintensität auf diesem Gebiet. Es wurden hauptsächlich analytische Hochauflösungsgaschromatographen entwickelt. Im Prinzip gibt es im Aufbau zwischen den analytischen und den präparativen Gaschromatographen kaum einen Unterschied. Im wesentlichen unterscheiden sie sich durch die eingesetzten Säulentypen und die Trennleistung. Obwohl die Trennleistung der Kapillarsäulen-Gaschromatographie kaum mit gepackten Säulen zu erreichen sind, ist die Trennleistung der präparativen Gaschromatographie dennoch unter den präparativen Methoden für die Isolierung von flüchtigen Bestandteilen aus ätherischen Ölen unumstritten. Neue Impulse erhielt die präparative Gaschromatographie durch Einführung von neuen stationären Phasen. *König et al.*^[17] konnten die enorme Substratselektivität der Cyclodextrinderivate, die überwiegend bei der Enantiomerentrennung flüchtiger Verbindungen in der Kapillarsäulen-Gaschromatographie zum Einsatz kommen, auch als gepackte Säulen bei der präparativen gaschromatographischen Enantiomerentrennung ausnutzen.

Inzwischen haben *König* et al. in mehreren Arbeiten die hervorragenden Trennleistungen von Cyclodextrinderivaten als Phasen in gepackten Säulen bei der präparativen Isolierung von unpolaren Komponenten aus ätherischen Ölen demonstriert.^[17,18,30]

3.4.4 Weitere Methoden zur präparative Isolierung von Naturstoffen

Als Alternative zu den herkömmlichen Batch-Prozessen bei der Isolierung von Wirkstoffen, besonders bei der chromatographischen Enantiomerentrennung racemischer Arzneistoffe und Naturstoffe, hat sich in der Produktion aber auch im Labormaßstab die kontinuierliche Chromatographie nach dem Simulated-Moving-Bed-(SMB)-Verfahren etabliert. Das Prinzip der kontinuierlichen chromatographischen Verfahren besteht darin, ein zu trennendes Gemisch nicht am Kopf einer Chromatographiesäule aufzugeben und mit der mobilen Phase durch die gesamte Säule zu bewegen, sondern in der Mitte der Gesamtlänge des Adsorbensbettes zu injizieren. Das Adsorbens wird in gegenläufiger Bewegung zur mobilen Phase transportiert. Bei geeigneter Wahl der Geschwindigkeiten bewegt sich der Teil des Gemisches, dessen Affinität zum Adsorbens geringer ist (Raffinat B, Abbildung 5), parallel zur Fließrichtung der mobilen Phase. Der Teil des Gemisches, dessen Affinität zum Adsorbens größer ist (Extrakt A, Abbildung 5), bewegt sich zusammen mit dem Adsorbens in die Gegenrichtung. An den entgegengesetzten Enden des chromatographischen Bettes werden die reinen Produkte abgezogen.^[67]

Eine weitere Methode zur präparativen Trennung und Isolierung zahlreicher polarer Naturstoffe ist die Counter-Current-Chromatographie (CCC). Sie basiert ebenfalls wie Droblet-Counter-Current-Chromatographie (DCCC) auf dem Prinzip der Flüssig-Flüssig-Verteilungs-Chromatographie.^[55,57]

Die Trennwirkung der CCC wird dadurch erzielt, daß zwei nicht ineinander lösliche Flüssigkeiten, die als Eluens und als stationäre Phase dienen, durch schnelle Schlauchrotationen ständig ineinander verteilt und wieder entmischt werden. CCC-Geräte können Trennstufenzahlen bis zum Vierfachen herkömmlicher HPLC-Geräte erreichen.

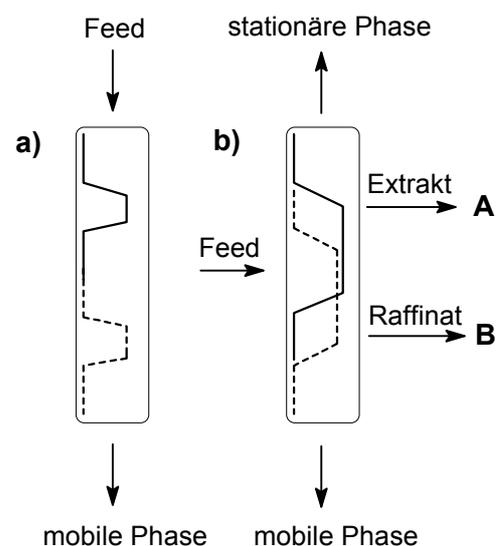


Abb. 5: a) Prinzip der Batch-Chromatographie; b) Prinzip der kontinuierlichen Chromatographie nach dem Simulated-Moving-Bed-Verfahren (SMB).

3.5 Strukturaufklärung

Seit den Anfängen der organischen Chemie haben sich die Chemiker mit großem Geschick und Einfallsreichtum der Strukturaufklärung organischer Moleküle gewidmet. Der Begriff Strukturaufklärung umfaßt die Aufgabengebiete der Konstitutions-, Konfigurations- und Konformationsanalyse. Die Konstitution beschreibt die Konnektivität innerhalb eines Moleküls und führt von der Summenformel zu einem zweidimensionalen Formelbild. Für viele Moleküle müssen zur vollständigen Beschreibung dreidimensionale Strukturen formuliert werden. Die Konfigurationsanalyse liefert die Information über die räumliche Anordnung der einzelnen Atome, wobei diejenigen Anordnungen, die sich voneinander nur durch die Rotation um eine Einfachbindung unterscheiden, nicht berücksichtigt werden. Bei großen Molekülen sind die Rotationen um Einfachbindungen häufig durch sterische Effekte behindert. Dann liegen die Moleküle innerhalb der Energie-Minima zwischen den Rotationsbarrieren als diskrete Spezies vor, die sich durch die Konformationsanalyse voneinander unterscheiden lassen. Die Konformation beschreibt die Struktur der einzelnen Konformere exakt durch Bindungslängen, Bindungswinkel und Torsionswinkel.

Die Strukturaufklärung organischer Verbindungen erfolgt zumeist durch den kombinierten Einsatz von spektroskopischen Meßverfahren. Da sehr viele Naturstoffe nur in minimalen Ausbeuten isoliert werden können, machten erst moderne spektroskopische Methoden solche Verbindungen für die Strukturaufklärung zugänglich. Die enormen apparativen Verbesserungen und zahlreiche neue Meßtechniken, besonders auf den Gebieten der kernmagnetischen Resonanzspektroskopie und Massenspektrometrie sowie der Einsatz von computerunterstützten Datenbanken haben die Aufgabe merklich erleichtert.

Für die Strukturaufklärung kann ein allgemeingültiges und alle Eventualitäten umfassendes Schema nicht angegeben werden; jedoch ist eine mögliche Vorgehensweise in Abbildung 6 dargestellt. Im ersten Schritt der Strukturaufklärung wird die Summenformel bzw. Molmasse des untersuchten Moleküls durch Elementaranalyse oder durch Hochauflösungs-MS festgestellt, anschließend können die Doppelbindungsäquivalente aus der Summenformel errechnet werden. Die funktionellen Gruppen (Alkohol, Keton, Aldehyd, Lacton, Ester) ergeben sich aus IR-, UV- und NMR-Daten. Im nächsten Schritt werden durch zweidimensionale skalare Korrelations-NMR-Spektroskopie die Konnektivitäten ermittelt, so daß die aus diesen Daten gewonnenen Erkenntnisse die Konstitution der untersuchten Verbindung liefern. Im letzten Schritt der Strukturaufklärung werden Informationen über die Konfiguration der untersuchten Verbindung gesammelt. Hierfür

stehen neben der Dipolar-Korrelations-NMR-Spektroskopie, die Röntgenstrukturanalyse, die enantioselektive Gaschromatographie und der Circular dichroismus zur Verfügung.

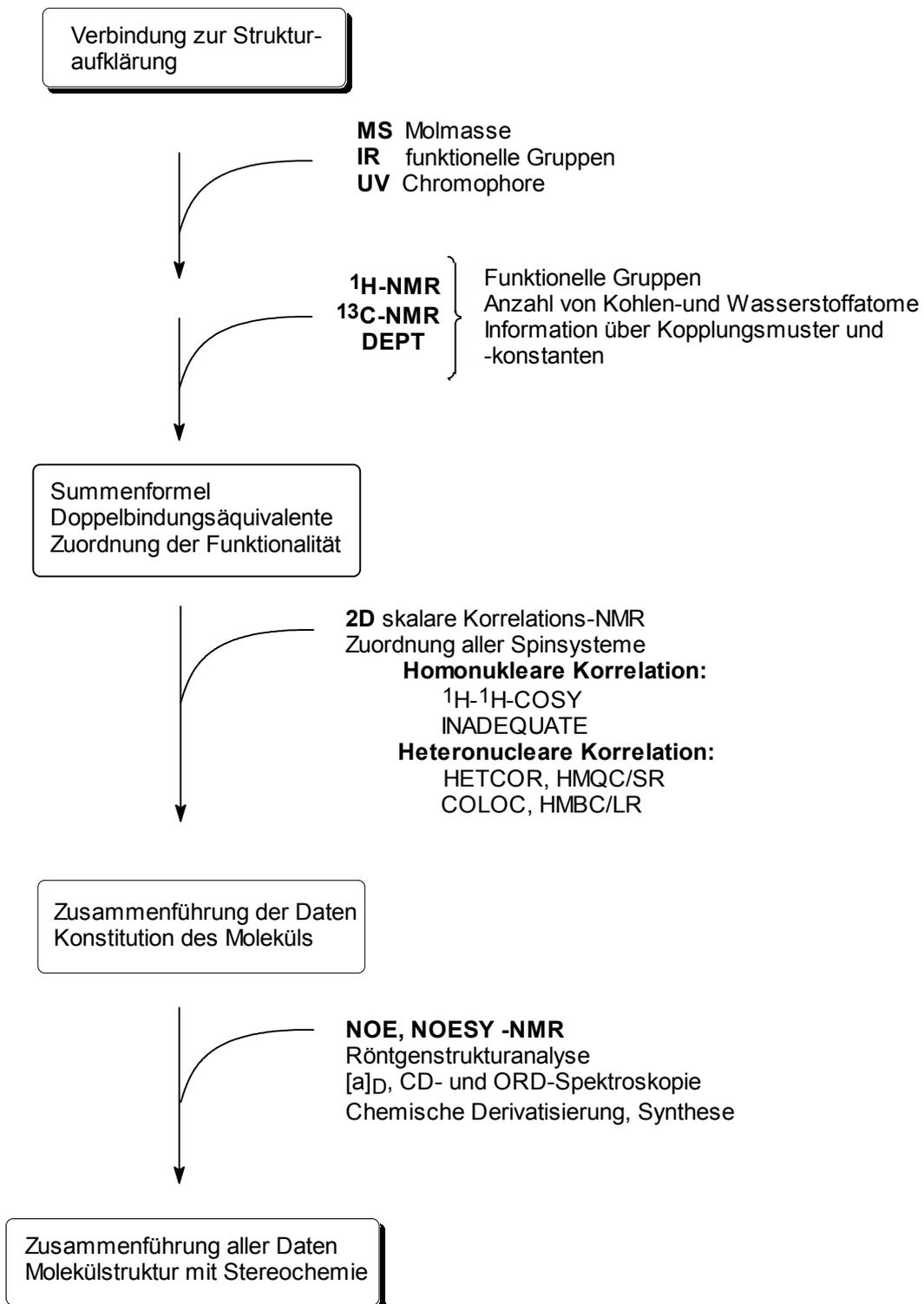


Abb. 6: Eine mögliche Strukturaufklärungsprozedur für eine neue Verbindung.

3.5.1 NMR-Spektroskopie

Die kernmagnetische Resonanz beruht auf der Wechselwirkung zwischen dem magnetischen Moment des Atomkerns und magnetischen Feldern.^[68,69] Das magnetische Moment des Kerns ist mit dem Kernspin I verknüpft. Nur Kerne mit $I \neq 0$ haben ein magnetisches Moment und können untersucht werden. Das heute allgemein verwendete Verfahren zur Aufnahme von 1D-NMR-Spektren ist die von *Ernst* et al.^[70] eingeführte Fourier-Technik, die auch der 2D-NMR-Spektroskopie zugrunde liegt.

Die spektralen Daten eines NMR-Experiments liefern direkte Informationen über den molekularen Aufbau. Die chemische Verschiebung einer Kernsorte ist von der elektronischen Umgebung des Kerns abhängig, somit ist eine Zuordnung der Signale zu den Atomen des Moleküls möglich. Wichtig für die Analytik sind die Wechselwirkungen zwischen den Kernspins. Spin-Spin-Kopplungen werden in der Regel über eine oder mehrere Bindungen durch die Elektronen vermittelt. Hier findet man eine Abhängigkeit der vicinalen Kopplungskonstanten vom Diederwinkel (Karplusbeziehung).^[71,72] Aus Kopplungskonstanten lassen sich somit direkt Geometriedaten errechnen, was für die Strukturanalytik und Konformationsanalyse von zentraler Bedeutung ist. Neben den Spin-Spin-Kopplungen beeinflussen Protonenkernspins gegenseitig ihr Relaxationsverhalten in Abhängigkeit von ihrem Abstand zueinander (Dipolare Kopplungen), welches sich im NOE (Nuclear Overhauser Effect) manifestiert. Die Quantifizierung des NOE-Experiments ermöglicht dann eindeutige Aussagen über die räumliche Anordnung der beteiligten Kerne.^[71,72]

Die Entwicklung der NMR-Spektroskopie hat den Chemikern in den letzten vier Jahrzehnten ständig neue Methoden und Anwendungen in die Hand gegeben. Im folgenden sollen kurz die verwendeten ein- und zweidimensionalen NMR-Techniken vorgestellt werden, ohne daß auf die theoretischen Hintergründe näher eingegangen wird.

¹H-NMR-Experiment: Das ¹H-NMR-Experiment^[71,72] liefert für die Strukturaufklärung wichtige Informationen. Mit Hilfe der ¹H-Verschiebungen lassen sich einige funktionelle Gruppen relativ zuverlässig erkennen. Die Aufspaltungen (Signalmultiplizitäten) der ¹H-Signale verraten häufig die unmittelbare Nachbarschaft der zugehörigen Protonen. So kann man am Erscheinungsbild der Multiplizität der Signale Teilstrukturen erkennen, die oft in organischen Molekülen vorkommen. Die Signalflächen in ¹H-NMR-Spektren sind neben chemischen Verschiebungen und Signalmultiplizitäten ein weiteres Hilfsmittel bei der Strukturaufklärung. Im allgemeinen ist die Absorption eines Signals im ¹H-NMR-Spektrum,

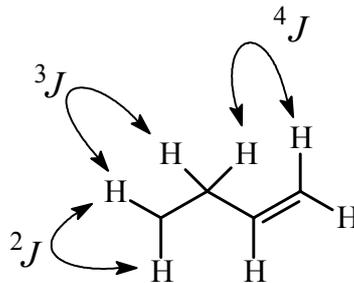
die bei der betreffenden Frequenz zur Resonanz kommt, proportional der Anzahl der Protonen, die diese Absorption liefern. Daher ist auch die Fläche unter den Absorptions-Peak der Anzahl detektierter Protonen proportional.

^{13}C -NMR-Experiment: Von den stabilen Kohlenwasserstoffisotopen ^{12}C und ^{13}C besitzt nur der ^{13}C -Kern, mit einem natürlichen Vorkommen von 1.1 %, ein magnetisches Moment. Wegen des geringen natürlichen Vorkommens und des kleinen gyromagnetischen Moments werden ^{13}C -NMR-Spektren unter Protonen-Breitband-Entkopplung aufgenommen.^[73,74] Damit erreicht man eine wesentliche Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses, weil die Signale der nur wenig empfindlichen ^{13}C -Kerne dann ohne Aufspaltung durch ^1H - ^{13}C -Kopplungen als Singulett erscheinen. Wichtige Anwendungen findet die ^{13}C -NMR-Spektroskopie bei der Charakterisierung funktioneller Gruppen.

DEPT-, INEPT-Experimente: Ein Nachteil der Protonen-Breitband-Entkopplung ist der totale Verlust an Informationen über die Signalmultiplizität, die auf direkte ^1H - ^{13}C -Kopplungen zurückgeht. Die Unterscheidung von quartären (R_4C , Singulett, s), tertiären (R_3CH , Dublett, d), sekundären (R_2CH_2 , Tripplett, t) und primären (RCH_3 , Quartett, q) Kohlenstoffatomen besitzt ohne Zweifel einen großen analytischen Wert. Die INEPT- (Insensitive Nuclei Enhanced by Polarisation Transfer)- und DEPT- (Distorsionless Enhancement by Polarisation Transfer)-Pulssequenzen^[74] erlauben es, die Multiplizität von ^{13}C -Signalen zu bestimmen, ohne den Nachteil der bei Off-Resonance-Spektren üblichen Linienverbreiterungen oder Multipllett-Überlappungen. Bei dieser Pulssequenz werden nach wie vor Protonen-entkoppelte ^{13}C -Spektren erhalten, jedoch werden nur die Signale bestimmter Multiplizität ausgewählt bzw. in verschie-der Phase erhalten. In der Praxis hat sich für die Bestimmung der Multiplizität von ^{13}C -Signalen das DEPT-Experiment bewährt.

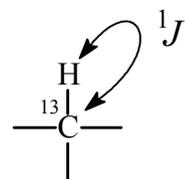
^1H - ^1H -COSY (COrelated SpectroscopY): Die Kombination von erhöhter Empfindlichkeit und Spektrendispersion durch supraleitende Hochfeldmagnete mit der schnellen Bearbeitung großer Datenmengen erlaubt es, zweidimensionale NMR-Spektren zu messen. Unter diesem Sammelbegriff werden Meßtechniken zusammengefaßt, die durch Einführung einer zusätzlichen, zweiten Zeitvariablen charakterisiert sind. Während dieser zweiten Zeitvariablen können verschiedene Pulsfolgen einwirken und es ergeben sich ganze Klassen von neuartigen Meßmethoden.

Eine der wichtigsten zweidimensionalen (2D) Meßtechniken ist das $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-Experiment,^[75] bei dem in beiden Dimensionen die ^1H -chemische Verschiebung aufgetragen wird. Durch das $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-Experiment werden skalare homonukleare $^2J_{\text{H,H}}$, $^3J_{\text{H,H}}$ aber auch $^nJ_{\text{H,H}}$ Kopplungen (mit $n>3$) in Kopplungssystemen nachgewiesen. Hierdurch können zusammenhängende Spinsysteme erkannt werden, deren Auswertung aus eindimensionalen Spektren durch starke Überlagerung nicht möglich ist.

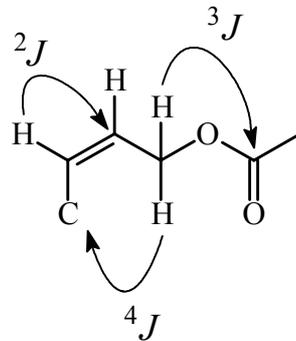


Eine Modifikation des normalen 90° , 90° -COSY-Experiments stellt das **DQF-COSY** dar.^[75] Durch einen Doppel-Quantenfilter erhält man eine verbesserte Auflösung und eine Abschwächung der Diagonalsignale, wodurch Korrelationen von Protonen mit geringer chemischer Verschiebungsdifferenz erkannt werden können. In einem weiteren phasensensitiven homonuklearen Korrelationsexperiment, dem **TOCSY** (**T**otal-**C**orrelation-**S**pectroscop**Y**),^[75] korrelieren alle Protonen innerhalb eines Spinsystems miteinander. Dieses Experiment hat besondere Bedeutung bei der Untersuchung von Peptiden, Polyethern und mehrfach glykosidierten Verbindungen. Für alle drei Experimente werden die gleichen geringen Substanzmengen wie für das 1D-Protonenspektrum benötigt.

^1H - ^{13}C -COSY (HETCOR): Durch dieses Experiment ist eine direkte Verknüpfung der ^1H -NMR-Signale mit den ^{13}C -NMR-Signalen möglich.^[75] Anzeigt werden die 1J -Kopplungen zwischen Protonen und Kohlenstoff. Die Auswertung eines ^1H - ^{13}C -NMR-Spektrums in Zusammenhang mit dem ^1H - ^1H -COSY-NMR-Spektrum kann wertvolle Informationen über das Kohlenstoffgerüst eines organischen Moleküls liefern. Eine wichtige Variante dieser Korrelationsmethode stellt das relayed coherence transfer (Relayed ^1H - ^{13}C -COSY) Experiment dar.^[75] Bei dieser Methode wird zunächst die Magnetisierung zwischen zwei Protonen, die miteinander koppeln, übertragen, und dann auf das Kohlenstoffatom, das an eines dieser beiden direkt gebunden ist, weitergereicht.



COLOC (COrrrelation via LOng range Coupling): Da innerhalb eines Moleküls auch quartäre C-Atome oder Heteroatome auftreten, wodurch die über ^1H - ^1H - und ^1H - ^{13}C -COSY-Daten abgeleiteten Konnektivitätsketten unterbrochen werden, ist das COLOC-Experiment^[75,76] mit den dort auftretenden $^nJ_{\text{CH}}$ -Kopplungen ($n =$ im allgemeinen 2,3; und selten 4,5) eine diagnostisch wertvolle Ergänzung.



Hierdurch lassen sich meist Teilstrukturen zu einer Gesamtstruktur zusammensetzen. Im Gegensatz zu $^1J_{\text{CH}}$ -Kopplungen sind $^nJ_{\text{CH}}$ -Kopplungen wesentlich kleiner und liegen im Bereich von 0 bis 20 Hz. Damit sind lange Evolutionszeiten nötig, um ihre Detektion zu ermöglichen. So können schwächere Signale vollständig relaxieren und nicht mehr detektiert werden.

Inverse Spektroskopie; HMQC und HMBC: Da bei allen bisher beschriebenen heteronuklearen Spektroskopien die Protonenmagnetisierung angeregt und die Heterokernmagnetisierung beobachtet wird, benötigt man für die zweidimensionalen Heterokern-Experimente (HETCOR, COLOC) relativ große Substanzmengen. Diese Methoden sind für Mengen in der Größenordnung kleiner 5 mg nicht mehr geeignet. Einen beträchtlichen Empfindlichkeitsgewinn bei Kernen mit kleinem gyromagnetischen Verhältnis, z.B. dem ^{13}C -Kern, erhält man durch inverse Detektion.^[77] Die inverse Spektroskopie geht ebenfalls von der Protonenmagnetisierung aus und wird – im Gegensatz zu den üblichen heteronuklearen Spektroskopien – aber auch detektiert. Die Empfindlichkeit, die sich aus der inversen Detektion ergibt, ist um den theoretischen Faktor acht mal so groß wie im Falle der ^1H - ^{13}C -NMR bei der konventionellen Detektion. Man gewinnt in der Praxis durch die inverse ^1H - ^{13}C -Verschiebungskorrelation einen Faktor vier in der Empfindlichkeit. Da die Meßzeit in einem NMR-Experiment mit n^2 erhöht wird, um den Faktor n der Empfindlichkeit zu erreichen, bedeutet dies im Falle der inversen Spektroskopie wegen der viermal größeren Empfindlichkeit eine 16mal kürzere Meßzeit.^[77] Dieser Intensitätsgewinn

und die schnelle Durchführung der Experimente macht die inverse NMR-Spektroskopie für die Naturstoffanalytiker sehr attraktiv. Mittlerweile haben inverse Techniken die Methoden mit direkter Detektion des Heterokerns weitgehend verdrängt. Man unterscheidet bei den gängigen inversen Experimenten zwischen HMQC (**H**eteronuclear **M**ultiple **Q**uantum **C**oherenz; 1J -Kopplungen), und HMBC (**H**eteronuclear **M**ultiple **B**ond **C**orrelation; nJ -Kopplungen mit $n = 2,3$). HMQC stellt die inverse Variante des HETCOR-Experiments dar, wobei das HMBC-Experiment dem konventionellen COLOC-Experiment entspricht.

INADEQUATE und INEPT-INADEQUATE: Bei der Strukturaufklärung einer unbekanntes Verbindung wird im Regelfall versucht, zunächst die Konnektivität der Kohlenstoffatome zu ermitteln. Jedoch lassen die bisher beschriebenen NMR-Meßverfahren auch eine indirekte Bestimmung der ^{13}C - ^{13}C -Konnektivitäten zu. Man bestimmt z.B. mit dem ^1H - ^1H -COSY-Spektrum die Konnektivität der ^1H -Kerne und danach mit Hilfe der Heterokorrelationstechniken (HETCOR, HMQC, COLOC, HMBC) oder anderer Experimente, an welchen Kohlenstoffatomen diese Wasserstoffkerne gebunden sind. Schließlich wird so die ^{13}C - ^{13}C -Konnektivität erhalten. Eine direkte Bestimmung der C-C-Verknüpfung aus den ^{13}C - ^{13}C -Kopplungen läßt sich ebenfalls realisieren. Die INADEQUATE (**I**ncredible **N**atural **A**bundance **D**ouble **Q**uantum **T**ransfer **E**xperiment)-Pulssequenz^[78,79] ist vor allem in der zweidimensionalen Variante eine der wichtigsten Meßmethoden für die Ermittlung von ^{13}C - ^{13}C -Konnektivitäten. Leider wird dieses Experiment durch zwei Faktoren erschwert: zum einen sind die ^{13}C , ^{13}C -Kopplungen im aliphatischen Bereich annähernd gleich groß (35-40 Hz), sofern nicht einer der koppelnden ^{13}C -Kerne einen elektronegativen Substituenten trägt. Zum anderen setzt das Auftreten einer ^{13}C - ^{13}C -Kopplung die Verknüpfung zweier ^{13}C -Kerne voraus. Bei dem geringen natürlichen Vorkommen des Isotops ^{13}C ist die Wahrscheinlichkeit, daß eine ^{13}C - ^{13}C -Bindung vorliegt, nur bei ca. jedem zehntausendsten Molekül gegeben.^[78] Daher ist die Empfindlichkeit bei einer solchen Messung selbst bei großer Substanzmenge außerordentlich niedrig.

Es hat nicht an Versuchen gefehlt, das INADEQUATE-Experiment empfindlicher zu machen. Durch Kombination mit Polarisations-Transfer-Pulsfolgen wie z.B. INEPT-INADEQUATE oder DEPT-INADEQUATE aber auch durch verschiedene mathematische Behandlungen kann die Empfindlichkeit des INADEQUATE-Experiments gesteigert werden.^[80,81,82] Leider hat sich keine der angebotenen Lösungen entscheidend durchsetzen können. Nach wie vor werden für solche Messungen große Substanzmengen benötigt, so daß diese Meßtechniken nicht als routinemäßig eingesetzt werden können.

NOE und NOESY: Für die Ermittlung der relativen Konfiguration und Konformation von Molekülen nutzt man die dipolaren Wechselwirkungen zweier Spinsysteme aus. Die dipolare Kopplung ist die Wechselwirkung der magnetischen Momente zweier Spinsysteme durch den Raum. Wegen der dipolaren Kopplungen relaxieren die beiden Spins nicht unabhängig voneinander, sondern beeinflussen sich gegenseitig. Deren gegenseitige Beeinflussung bei der Relaxation führt zu einer Änderung der Signalintensitäten und wird als NOE-Effekt (**Nuclear-Overhauser-Enhancement-Effect**) bezeichnet.^[75] Die Messung der Signalintensitäten durch NOE-Differenzspektroskopie liefert die räumliche Nachbarschaft von Protonen im Molekül, unabhängig von der Zahl der sie trennenden Bindungen. Der Nuclear-Overhauser-Effekt kann auch zweidimensional aufgezeichnet werden (NOESY).^[75] Obwohl die eindimensionale Meßtechnik durch größere Übersichtlichkeit für kleinere Moleküle von Vorteil ist, wird aufgrund zeitaufwendiger Messungen, da Einstrahlungen in jedes Signal erfolgen müssen, die zweidimensionale Variante NOESY eingesetzt.

3.5.2 Massenspektrometrie und Kopplungstechniken mit anderen Analysemethoden

Bei den Untersuchungen von Naturstoff-Extrakten sowie ätherischer Öle findet man oft interessante Verbindungen, die in kaum zu isolierenden Mengen vorkommen. Da die NMR-Spektroskopie auf Proben angewiesen ist, die üblicherweise mindestens 1 mg reine Substanzen enthalten müssen, kann die Kernresonanzspektroskopie trotz aller Vorzüge bei der Strukturaufklärung solcher Verbindungen nicht eingesetzt werden. Die wichtigste spektroskopische Methode in der Analytik von Verbindungen im Nano- bis Microgramm-Bereich ist die Massenspektrometrie und vor allem die Kopplungstechniken mit der Gaschromatographie (GC/MS)^[83] und der Flüssigkeitschromatographie (LC/MS).^[84] Die GC/MS-Technik wird seit mehr als drei Jahrzehnten in der Analytik von flüchtigen Substanzgemischen wie ätherischen Ölen, Umweltproben oder auch Pheromonen erfolgreich eingesetzt. Die LC/MS wird mehr und mehr ein fester Bestandteil in der Analytik der Naturstoffe. Seit einigen Jahren stehen ausgereifte Interface-Techniken wie z.B. Thermospray (TSP), Electrospray (ESI), aber auch Atmospheric pressure chemical ionization (APCI), für die Analytik von polaren, schwer- oder unflüchtigen Verbindungen zur Verfügung.^[85,86] Obwohl die Massenspektrometrie mit einer Vielzahl von Techniken, neben der Molmasse und der Summenformel auch strukturspezifische Informationen liefert, die zum Teil zur Charakterisierung einer neuen Substanz ausreichen, läßt sich die chemische Struktur einer neuen Verbindung in den meisten Fällen so nicht ermitteln. Um die Identifizierung von Substanzen durch MS bzw. GC/MS zu vereinfachen, wurden verschiedene Datenbanken für Massenspektren entwickelt. Die Mass Spectral Data Center (MSDC) Spektrensammlung und das Wiley Mass Spectral Search System (WMSS) zählen zu den umfangreichsten Datenbanken.^[87] In der Literatur wird auch über mehrere kleine massenspektroskopische Datenbanken von speziellen Substanzen bzw. Verbindungsklassen berichtet. Ohne Zweifel können diese Datenbanken bei der Strukturermittlung von Substanzen sehr nützlich sein. Wenn die Identifizierung einer Verbindung jedoch nur auf dem Massenspektrum und auf Referenzdaten beruht, ist zu bedenken, daß dieser Strukturnachweis keinen Anspruch auf Sicherheit erheben kann. Wie die Abbildung 7 verdeutlicht, können verschiedene Verbindungen der gleichen Substanzklasse kaum unterscheidbare Massenspektren aufweisen, so daß eine zuverlässige Identifizierung mit der Massenspektrometrie nicht gewährleistet ist.^[19]

Die Massenspektrometrie stößt dann an ihre Grenzen, wenn in dem zu untersuchenden Gemisch Konstitutionsisomere oder geometrische Isomere zu identifizieren sind (siehe Seite 44). Da in ätherischen Ölen sehr oft Substanzen mit verschiedenen Isomeren vorkommen, ist es dringend notwendig, authentische Proben zu Vergleichszwecken zu besitzen.

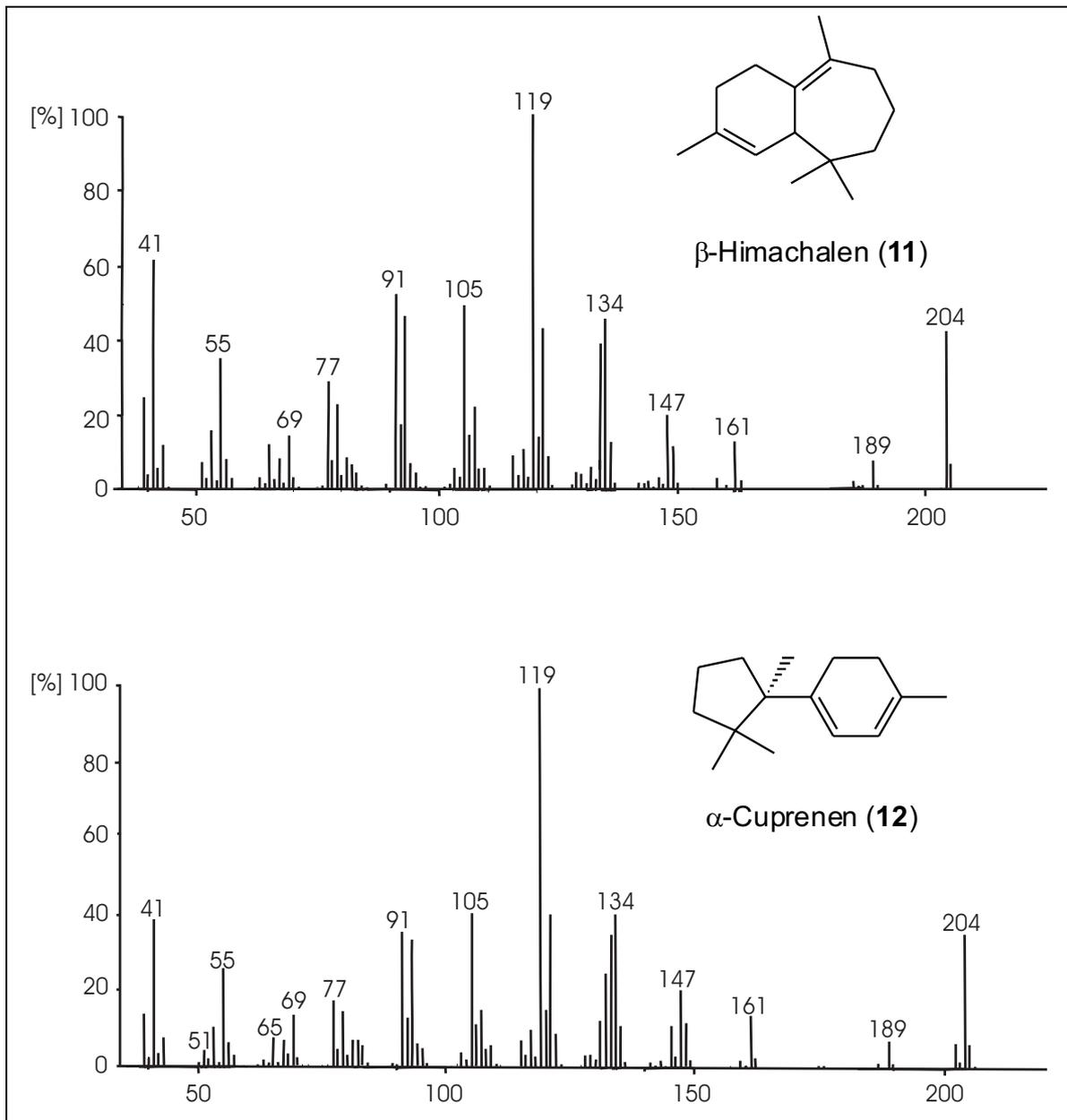


Abb. 7: Zwei Sesquiterpenkohlenwasserstoffe mit unterschiedlichen Grundgerüsten liefern kaum unterscheidbare Massenspektren bei nahezu gleichen Retentionszeiten (GC-MS, EI 70 eV).

3.5.3 Derivatisierungsreaktionen

Zur Identifizierung und Strukturaufklärung isolierter Naturstoffe werden heute überwiegend spektroskopische Methoden eingesetzt, die in den letzten Jahren enorme apparative Verbesserungen erfahren haben. Nach wie vor sind gute Kenntnisse in der organischen Synthese bei der Strukturaufklärung von Vorteil. Derivatisierungsreaktionen können weitere wichtige Informationen über die zu untersuchenden Verbindungen liefern. Die selektive Umsetzung einer funktionellen Gruppe kann eine Reihe von mühsamen spektroskopischen Untersuchungen erübrigen. Dazu zählen Ozonierung und Epoxidierung zur Lokalisierung von Doppelbindungen, Hydrierung zur Charakterisierung ungesättigter Verbindungen, Reduktions- und Oxidationsreaktionen.^[88]

3.5.4 Enantiomerenanalytik und enantioselektive Gaschromatographie

Die Erkenntnis, daß die Chiralität die Chemie des Lebens dominiert, und daß Enantiomere in einer chiralen Umgebung differierende Wirkungen zeigen, machte die stereoselektive Synthese und die Enantiomerenanalytik zu einem Schwerpunkt der organisch-analytischen Chemie.^[89] Die Notwendigkeit einer präzisen Enantiomerenanalytik ist über pharmakologische Anwendungen hinaus auch in der Qualitäts- und Identitätsprüfung chiraler Naturstoffe und den Produkten asymmetrischer Synthesen von großer Bedeutung.^[90]

Während für die Enantiomerenanalytik schwerflüchtiger und thermolabiler Naturstoffe verschiedene chirale Selektoren eingesetzt werden,^[91a,b] wurde mit der Einführung selektiv modifizierter Cyclodextrine als chirale Selektoren zur Enantiomerenanalytik von flüchtigen bzw. unzersetzt verdampfenden Substanzen ein sehr hoher Stand erreicht.^[92a,b]

Cyclodextrine sind Oligosaccharide, die aus sechs, sieben oder acht α -1,4-glycosidisch verknüpften D-Glycopyranoseeinheiten gebildet werden. Sie werden als α -, β - bzw. γ -Cyclodextrin bezeichnet. Cyclodextrine werden durch enzymatischen Abbau von Stärke hergestellt. Durch selektive Ausfällung lassen sich die unterschiedlichen Homologen in hoher Reinheit isolieren.

Das Trennprinzip der modifizierten Cyclodextrin-Phasen in der enantioselektiven Gaschromatographie beruht, wie alle anderen modernen analytischen Methoden darauf, daß die Antipoden mit chiralen stationären Phasen unterschiedlich starke diastereomere Wechselwirkungen eingehen. Diese unterschiedlich stabilen diastereomeren Komplexe führen zu unterschiedlichen Retentionszeiten der Enantiomere.

Da Cyclodextrine definierte Hohlräume besitzen (Abb. 8), können sie in einer Wirt-Gast-Beziehung Substrate einlagern. Möglich werden solche Einlagerungen u.a. durch van-der-

Waals-Wechselwirkungen^[93a,b] und Wasserstoffbrückenbindungen. Aufgrund der unterschiedlichen Reaktivitäten der Hydroxyl-Gruppen und durch den Einsatz von Schutzgruppen gelingt es, Cyclodextrine in jeder gewünschten Position selektiv zu modifizieren.^[94a,b] Heute steht eine Vielzahl von modifizierten Cyclodextrin-Phasen zur Verfügung. Mit diesen selektiv modifizierten Cyclodextrin-Phasen lassen sich chirale Vertreter von nahezu allen Stoffklassen, die flüchtig bzw. unzersetzt verdampfbar sind, mittels Kapillar-Gaschromatographie enantioselektiv trennen.

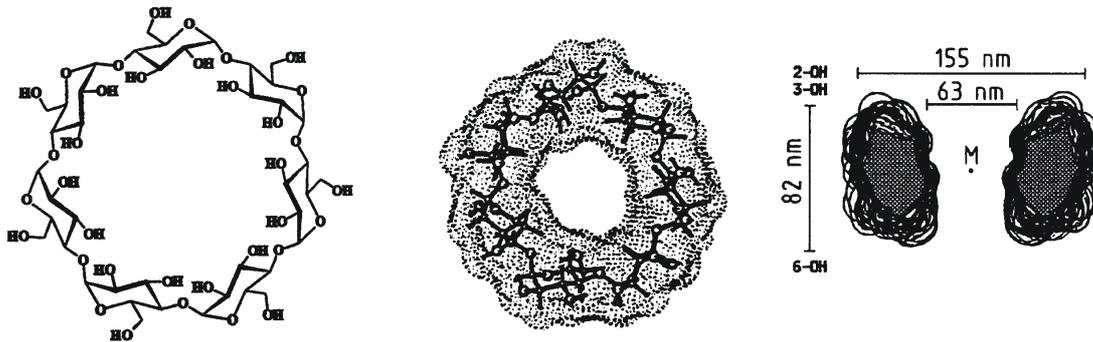


Abb. 8: Struktur und Dimensionen der nativen β-Cyclodextrin.^[95]

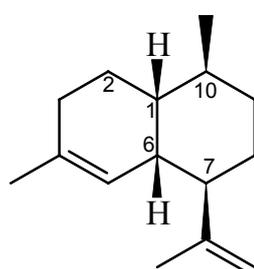
Die modifizierten Cyclodextrin-Phasen eignen sich auch hervorragend zur Enantiomerenanalytik der Komponenten aus ätherischen Ölen. Da die meisten Bestandteile – Mono-, Sesqui- oder Diterpene – der ätherischen Öle ein oder mehrere Chiralitätszentren besitzen, ist neben der eigentlichen Strukturaufklärung die Enantiomeren-analytik dieser Verbindungen von elementarer Bedeutung.

Zur Enantiomerenanalytik der Bestandteile von ätherischen Öle mittels enantioselektiver Gaschromatographie sind Referenzsubstanzen unerlässlich. Zur Ermittlung der Elutionsreihenfolge zweier Enantiomere werden Co-Injektionen mit enantiomerenreinen Referenzproben durchgeführt.

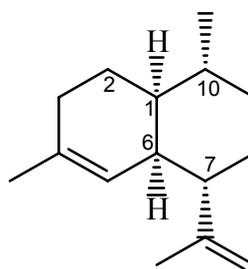
Die enantioselektive zweidimensionale Gaschromatographie (2D-GC) ist die aufschlußreichste Methode, die bei der Enantiomerenanalytik von Verbindungen aus komplexen Mischungen zum Einsatz kommt. Bei der 2D-GC wird die Mischung zunächst über eine achirale Kapillarsäule getrennt und die gesuchte Komponente durch eine „Live-Schaltung“ auf eine chirale stationäre Phase (Hauptsäule) transferiert, wo die eigentliche Enantiomerentrennung stattfindet (siehe Seite 110).

3.5.5 Absolute Konfiguration

Die Bestimmung der absoluten Konfiguration der Naturstoffe gehört bis heute zu den schwierigsten Problemen der Strukturaufklärung. Obwohl die Bestimmung der relativen Konfiguration einer unbekanntes Verbindung meist durch die Ermittlung der skalaren Kopplungskonstanten und dipolaren Kopplungen (z.B. NOESY) mittels NMR-Spektroskopie gelingt, läßt sich die absolute Konfiguration in der Regel nicht so einfach bestimmen. Es bleibt die Frage offen, welches Enantiomer einer neu isolierten und aufgeklärten Verbindung, wie zum Beispiel (-)-Muurolo-4,11-dien (siehe Seite 42), tatsächlich vorliegt.



(-)-[1R, 6R, 7R, 10S]
Muurolo-4,11-dien



(+)-[1S, 6S, 7S, 10R]
Muurolo-4,11-dien

Experimentell wurde eine absolute Konfiguration erstmals von *Bijvoet, Peerdeman* und *van Bommel* 1951 am Natrium-Rubidium-Salz der (+)-Weinsäure mit Hilfe der anomalen Röntgenstreuung bestimmt. Heute wird die Bestimmung der absoluten Konfiguration durch anomale Röntgenstreuung (differentielle *Bijvoet*-Röntgen-Strukturanalyse) routinemäßig durchgeführt, wenn die Substanz ausreichend gut kristallisiert und mindestens ein Sauerstoff- oder ein schweres Atom enthält.

Ein weiteres Verfahren, das häufig zur Ermittlung der absoluten Konfiguration eingesetzt wird, ist die chemische Korrelation mit authentischen Verbindungen bekannter absoluter Konfiguration. Dabei können Verbindungen durch chemische Umwandlungen, die ohne Beteiligung des Chiralitätszentrums stattfinden, ineinander überführt und charakterisiert werden (siehe Seite 42).

4 Spezieller Teil

Die ganze Welt besteht aus zwei Teilen, von denen der eine sichtbar und der andere unsichtbar ist. Der sichtbare ist nur der Abglanz des unsichtbaren.

[J.L. Borges, Buch der Träume]

Einführung

Im Verlauf der vorliegenden Arbeit wurden sesquiterpenoide Inhaltsstoffe aus ätherischen Ölen sowohl von höheren Pflanzen als auch von Lebermoosen isoliert und charakterisiert. In den folgenden Abschnitten werden die Isolierung und die einzelnen Schritte der Strukturaufklärung der neuen Verbindungen, sowie deren stereochemische Untersuchungen behandelt.

Das Kapitel 4.1 beschäftigt sich mit der Isolierung und Strukturaufklärung von zwei neuen Sesquiterpenkohlenwasserstoffen aus dem ätherischen Öl von *Amyris balsamifera*. Außerdem wird die Bestimmung der absoluten Konfiguration durch chemische Korrelation präsentiert. Im Kapitel 4.2 werden ausführliche Untersuchungen der Kohlenwasserstoff-Fraktion des ätherischen Öls von *Petasites hybridus* dargestellt. In diesem Abschnitt wird neben der Isolierung, Strukturaufklärung und Bestimmung der absoluten Konfiguration der Sesquiterpenkohlenwasserstoffe (-)-Petasiten (**46**) und (-)-Pethybren (**43**) auch auf die Synthese von Petasiten (**46**) aus Alben (**37**) eingegangen. Außerdem werden hypothetische Überlegungen zur Biosynthese dieser Verbindungen angestellt. Die Isolierung und Strukturaufklärung der Verbindung (-)-4,5-di-*epi*-Aristolochen (**52**) aus *Cistus incanus*, – ebenfalls eine Komponente des ätherischen Öles von *P. hybridus* – bildet einen weiteren Teil dieses Kapitels. Im Abschnitt 4.3 wird das ätherische Öl des Lebermooses *Jungermannia lanceolata* behandelt. Es wird neben der Isolierung und Strukturaufklärung von (-)- α -Neocallitropsen (**55**) und (+)-Acorenol B (**46**) eine ausführliche Beschreibung der Inhaltsstoffe des Lebermooses geliefert. Außerdem wird die Aufklärung der absoluten Konfiguration von (-)- α -Neocallitropen (**55**) und (+)-Acorenol B (**55**) behandelt. Die stereochemischen Untersuchungen der Kohlenwasserstoff-Fraktion des Lebermooses *Dumortiera hirsuta* werden im Kapitel 4.4 dargestellt.

4.1 Amyrisöl

Amyrisöl wird aus dem Kernholz und den Wurzeln des Baumes *Amyris balsamifera* (Rutaceae) durch Wasserdampfdestillation gewonnen. Dieses Öl wird häufig aufgrund seiner, dem ostindischen Sandelholzöl ähnlichen, Geruchseigenschaften auch „Westindisches Sandelholzöl“ genannt. Amyrisöl findet, ähnlich wie ostindisches Sandelholzöl, wegen seines sehr angenehmen süß-holzigen Geruches, aber auch wegen seiner guten fixierenden Eigenschaften in der Parfümerie seine Hauptanwendung.

Das ätherische Öl von *Amyris balsamifera* besteht praktisch ausschließlich aus Sesquiterpenderivaten (Abb. 9). Das Öl enthält bis zu 82.5 % oxigenierte Sesquiterpenverbindungen, hauptsächlich Sesquiterpenalkohole und 17.5 % Sesquiterpenkohlenwasserstoffe. Die Hauptkomponenten des Amyrisöls, die Sesquiterpenalkohole Valerianol (**20**), Elemol (**15**), 10-*epi*- γ -Eudesmol (**18**), β -Eudesmol (**17**) und γ -Eudesmol (**19**), konnten bereits früh von Rohmer *et al.*^[96] aufgeklärt werden. Eine ausführliche Beschreibung der chemischen Zusammensetzung von Amyrisöl wurde von van Beek *et al.*^[97] geliefert. Über Rohmer hinausgehend bestimmte van Beek das Vorkommen einiger Sesquiterpenkohlenwasserstoffe: 7-*epi*- α -Selinen (**13**), Selina-3,7(11)-dien (**16**) und weitere. Trotz dieses hohen Erkenntnisstandes über die chemische Zusammensetzung des Amyrisöls, gibt es auch heute noch Verbindungen im Bereich der Neben- und Spurenkomponenten, die noch nicht identifiziert sind. Es ist nicht selten, daß derartige Neben- und Spurenkomponenten zu einem wesentlichen Anteil zum Geruchsprofil eines ätherischen Öls beitragen. Daher ist eine vollständige Beschreibung der chemischen Zusammensetzung eines Öls für die Duftstoffforschung von großer Bedeutung. In neuerer Zeit werden verschiedene ätherische Öle auf neue, geruchsaktive Inhaltsstoffe untersucht.^[98] Dabei steht die Isolierung und Strukturaufklärung von Neben- und Spurenkomponenten im Vordergrund.

Im Rahmen der an Amyrisöl durchgeführten Arbeiten konnten neben den bereits oben beschriebenen Inhaltsstoffen zwei Sesquiterpenkohlenwasserstoffe C₁₅H₂₄ ([M⁺] = *m/z* 204) entdeckt werden, deren Massenspektren sich nicht mit Hilfe der vorhandenen Massenspektren-Datenbankⁱ zuordnen ließen. Mit der Annahme, daß es sich um zwei neue Sesquiterpenkohlenwasserstoffe handeln könnte, wurde die Isolierung und Strukturaufklärung dieser Verbindungen vorgenommen.

ⁱ Diese Massenspektren-Datenbank der Sesquiterpenkohlenwasserstoffe wurde über mehrere Jahre von König *et. al.* angelegt.

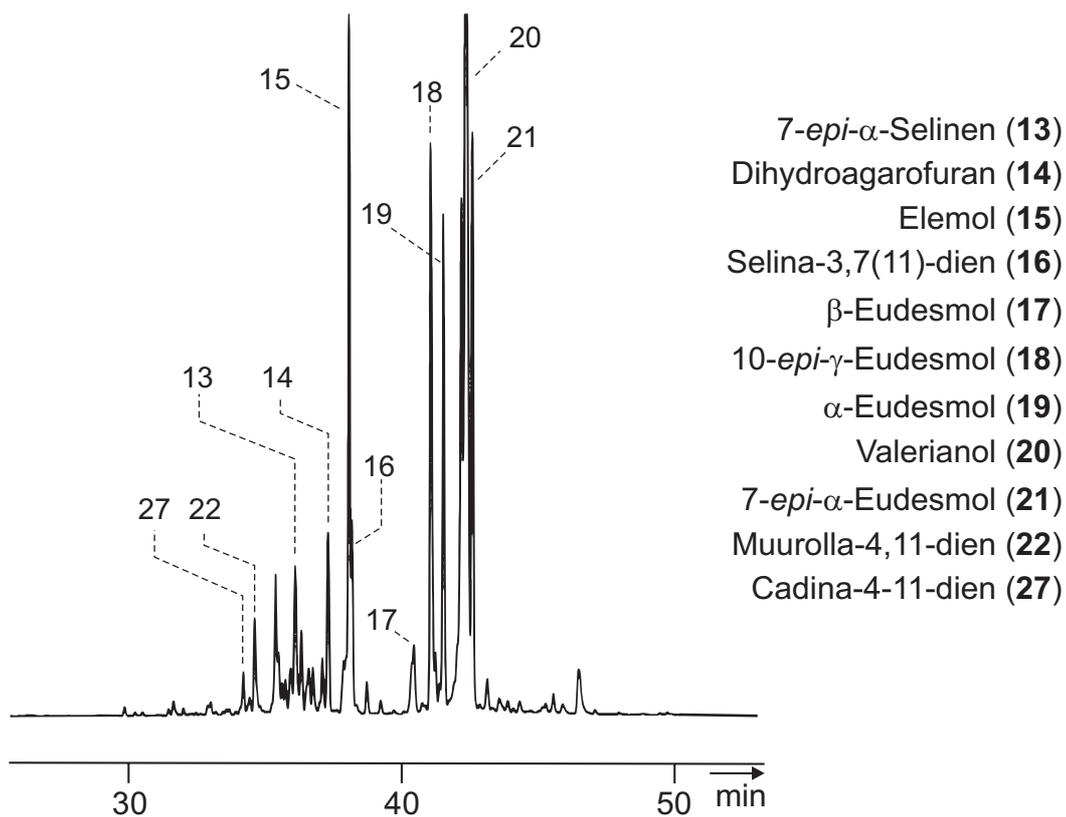


Abb. 9: Gaschromatogramm des ätherischen Öles von *Amyris balsamifera* (25 m fused-silica-Kapillare CpSil-5, 50 °C, 3°C/min, 230 °C).

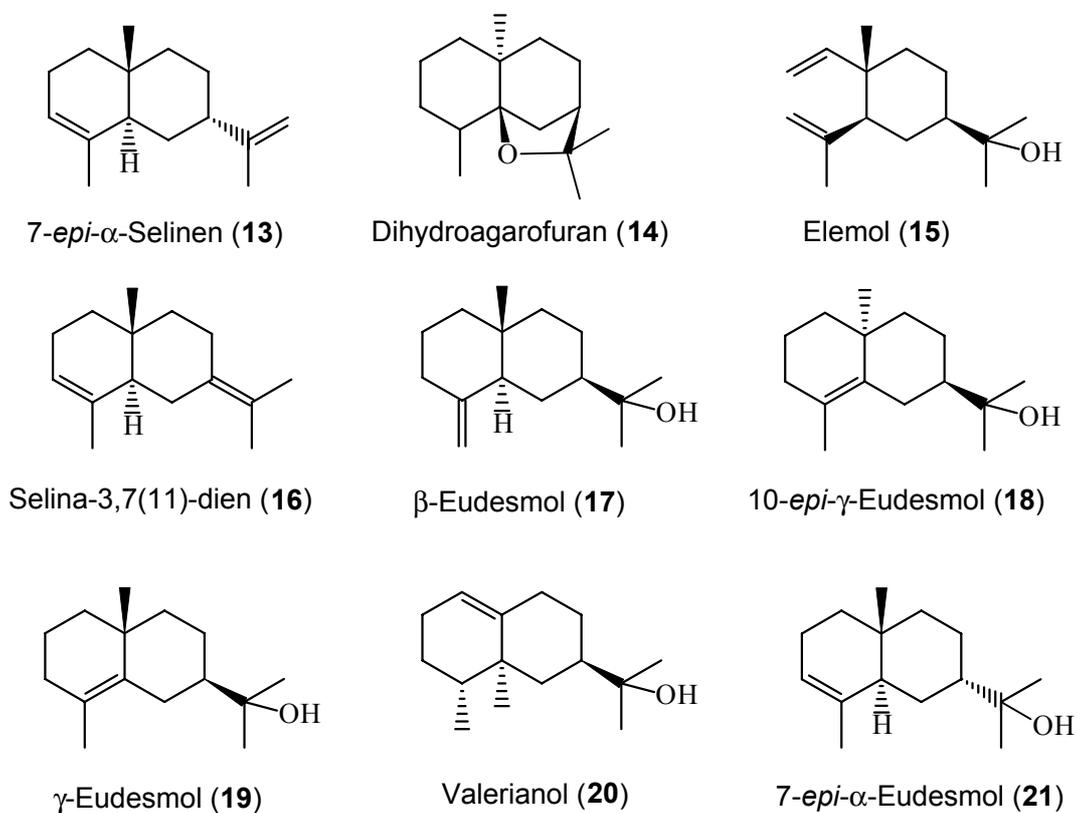


Abb. 10: Sesquiterpenoide Inhaltsstoffe aus *Amyris balsamifera*.

4.1.1 Isolierung der Komponenten – Muurola-4,11-dien (**22**) – und – Cadina-4,11-dien (**27**) – aus Amyrisöl

Zur Isolierung der Reinsubstanzen aus komplexen Mischungen wie z.B. ätherischen Ölen können unter Umständen mehrere verschiedene chromatographische Verfahren notwendig sein. Daher sind weitgehende Kenntnisse über verschiedene Isolierungstechniken von Vorteil.

Die Isolierung der Komponenten **22** und **27** aus Amyrisöl (siehe Abb. 11) erfordert eine Reihe von chromatographischen Verfahren, die sinnvollerweise miteinander gekoppelt werden müssen. In Abbildung 11 sind die einzelnen Trennschritte dargestellt, die für die Isolierung der Komponente **22** notwendig warenⁱ. Nach der Feststellung, daß es sich bei den gesuchten Verbindungen um Sesquiterpenkohlenwasserstoffe $C_{15}H_{24}$ ($[M^+] = m/z 204$) handelt, wurde für die Trennung dieser Verbindungen von den oxigenierten Sesquiterpenverbindungen Kieselgelsäulenchromatographie in Form von „Trockensäulen“ verwendet (Elutionsmittel: p.a. Hexan). Als nächstes wurde die Sesquiterpenkohlenwasserstoff-Fraktion mittels präparativer Gaschromatographie (präp. GC) weiter fraktioniert. Die Trennung der oxigenierten Komponenten von nicht oxigenierten Verbindungen ist für die Fraktionierung mittels präp. GC nicht zwingend notwendig, aber erwies sich aufgrund der kürzeren Trenncyclen bei der präp. GC von großem Vorteil. Nachdem die durch präp. GC erhaltenen Fraktionen mittels analytischer GC und GC-MS untersucht worden waren, konnte festgestellt werden, daß die Komponenten **22** und **27** in der gleichen Fraktion zu jeweils 47% bzw. 16% angereichert waren.

Für die Strukturaufklärung besteht die Notwendigkeit, Verbindungen möglichst rein zu erhalten. Daher wurde die Fraktion mit den Komponenten **22** und **27** im nächsten Schritt einer weiteren Trennung, an einer mit Silbernitrat imprägnierten präparativen Dünnschichtplatte, unterworfen (Elutionsmittel p.a. Hexan/Ethylacetat 5/1). Wie Abbildung 11 zu entnehmen ist, konnten die Verbindungen **22** und **27** durch die Trennung mittels mit Silbernitrat imprägnierter TLC in über 92 % Reinheit isoliert werden. Bei der Trennung mit Silbernitrat imprägnierten Platten wurde die Methode der „Mehrfach- Entwicklung“ verwendet. Auf diese Weise konnten im Falle der Komponente **22** ca. 1-2 mg und bei der Verbindung **27** weniger als 1 mg Substanz für NMR-spektroskopische Untersuchungen bereitgestellt werden.

ⁱ Die Isolierungsschritte (Abb. 11) sind auch für die Komponente **27** – Cadina-4,11-dien – relevant.

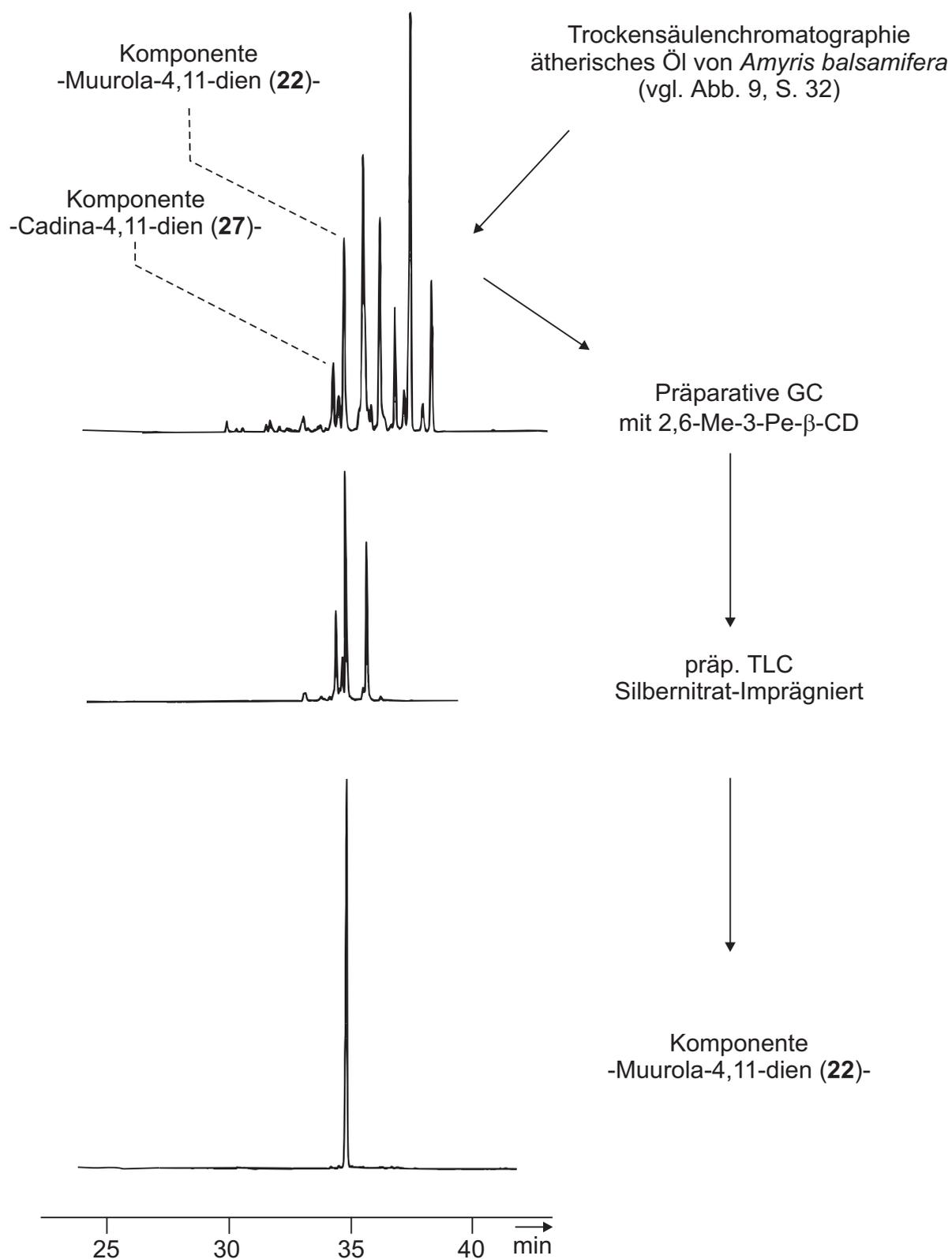


Abb. 11: Isolierung von Muurola-4,11-dien (**22**) aus *Amyris balsamifera* (Kapillar GC-Untersuchungen 25 m fused-silica-Kapillare mit CpSil 5, 50 °C, 3 °C/min, 230 °C).

4.1.2 Strukturaufklärung der Komponente (22) – Muurola-4,11-dien – aus Amyrisöl

Die massenspektrometrisch bestimmte Summenformel der Komponente **22** $C_{15}H_{24}$ ($[M^+] = m/z$ 204) aus Amyrisöl liefert den Startpunkt für die Strukturaufklärung. Das protonenkoppelte ^{13}C -NMR-Spektrum zeigt 15 C-Atome des Moleküls, darunter vier C-Atome im Verschiebungsbereich der Alkene bzw. Aromaten ($\delta_C = 148.51, 133.28, 126.21$ und 110.92 für zwei Doppelbindungen). Aus den durch 1H - und ^{13}C -NMR-Experimenten nachgewiesenen zwei Doppelbindungen und insgesamt aus der Summenformel berechneten vier Doppelbindungsäquivalenten ist ersichtlich, daß die Komponente **22** ein bicyclisches Ringsystem aufweist.

Eine eingehende Interpretation des 1H -NMR-Spektrums zeigt Protonensignale bei $\delta_H = 5.48$ (1H, m) und 4.88 (br. s, 2H), die auf ein olefinisches Proton und zwei weitere exocyclische olefinische Protonen hindeuten. Im Verschiebungsbereich der Methylgruppen erkennt man zwei Singulets, die jeweils aufgrund der chemischen Verschiebungen $\delta_{Me} = 1.63$ (3H, br. s) und 1.68 (3H, br. s) an einer C-C-Doppelbindung gebunden sein müssen. Weiterhin kann im 1H -NMR-Spektrum die Anwesenheit eines Methyldoublets bei $\delta_{Me} = 1.00$ (3H, d, $J = 7.2$ Hz) festgestellt werden.

Aus dem ^{13}C -NMR und dem DEPT-Experiment geht hervor, daß die Komponente **22** aus zwei quartären, fünf tertiären, fünf sekundären und drei primären Kohlenstoffatomen aufgebaut ist. Durch Auswertung der Kopplungskonstanten im 1H -NMR-Spektrum und der Protonenkorrelationen aus den zweidimensionalen NMR-Korrelationsexperimenten 1H - ^{13}C -COSY, HMQC und 1H - 1H -COSY können drei Teilstrukturen A-C (Abb. 12) angegeben werden.

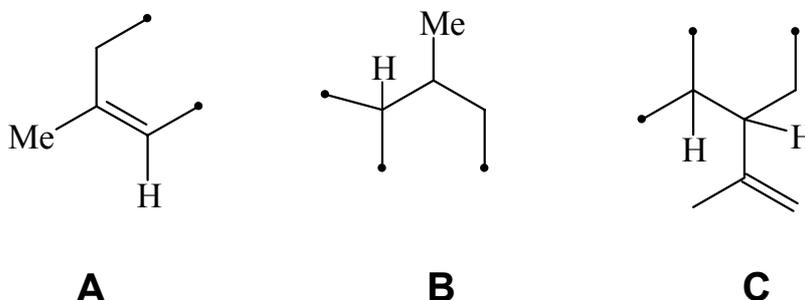


Abb. 12: Teilstrukturen der Komponente (22) aus *Amyris balsamifera*.

Die 2J - bzw. 3J -Korrelationen aus dem 2D-NMR-Experiment HMBC ermittelt werden liefern Informationen über die Verknüpfung der Teilstrukturen. Die Abbildung 13 zeigt einen Ausschnitt des HMBC-Spektrums der Komponente **22**.

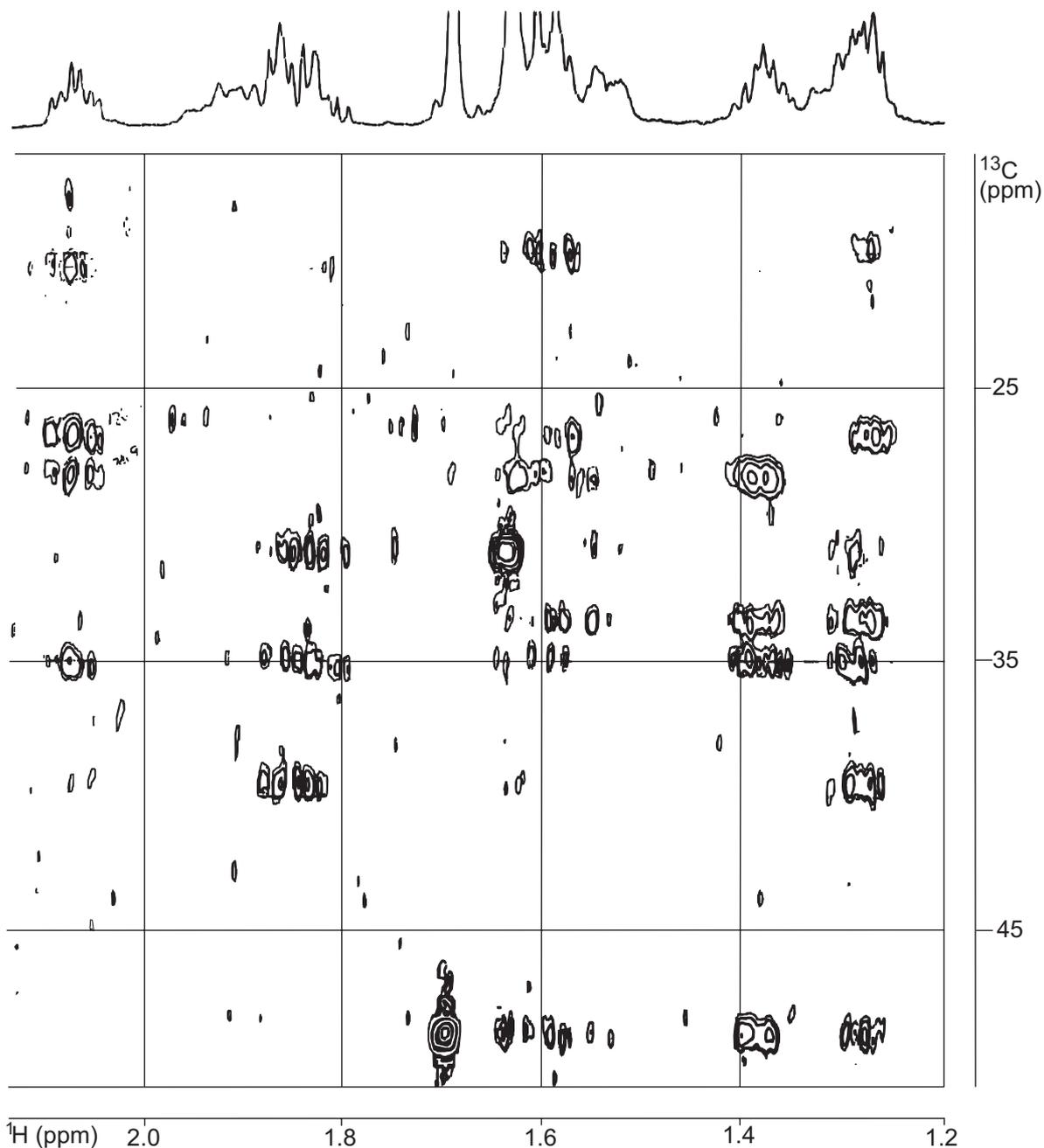


Abb. 13: Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum von Muurola-4,11-dien (**22**)

Die für die Aufklärung des Grundgerüsts relevante Auswertung des HMBC-Spektrums der Komponente **22** ist in Abbildung 14 dargestellt. Unter Berücksichtigung dieser Informationen läßt sich für die Komponente **22** ein Grundgerüst des Typs 1,2,3,4,4a,5,6,8a Octahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethenyl)-naphthalin (**22**) ableiten.

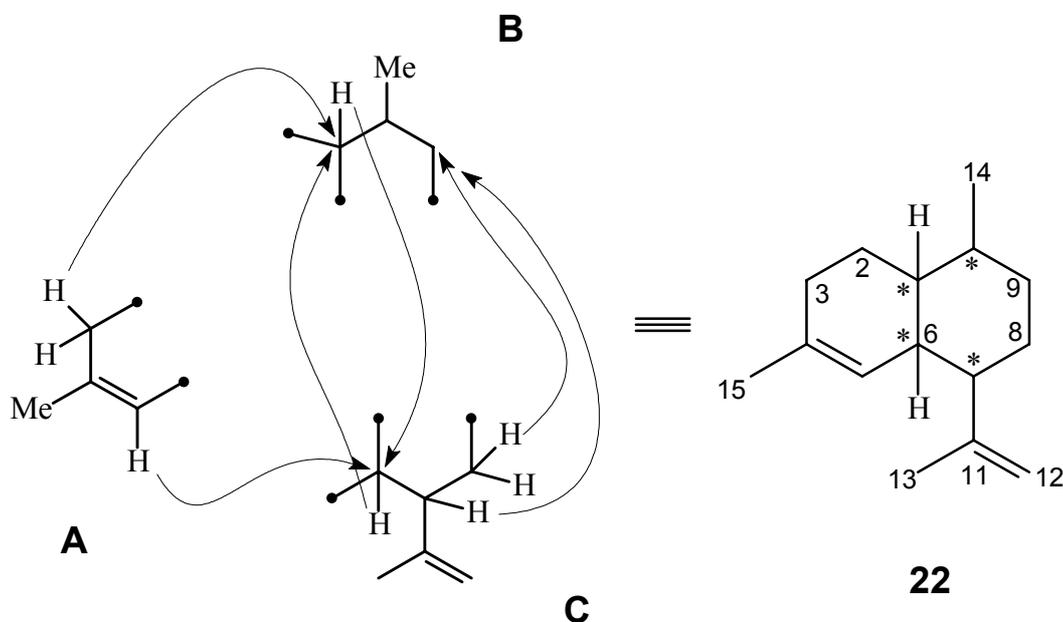
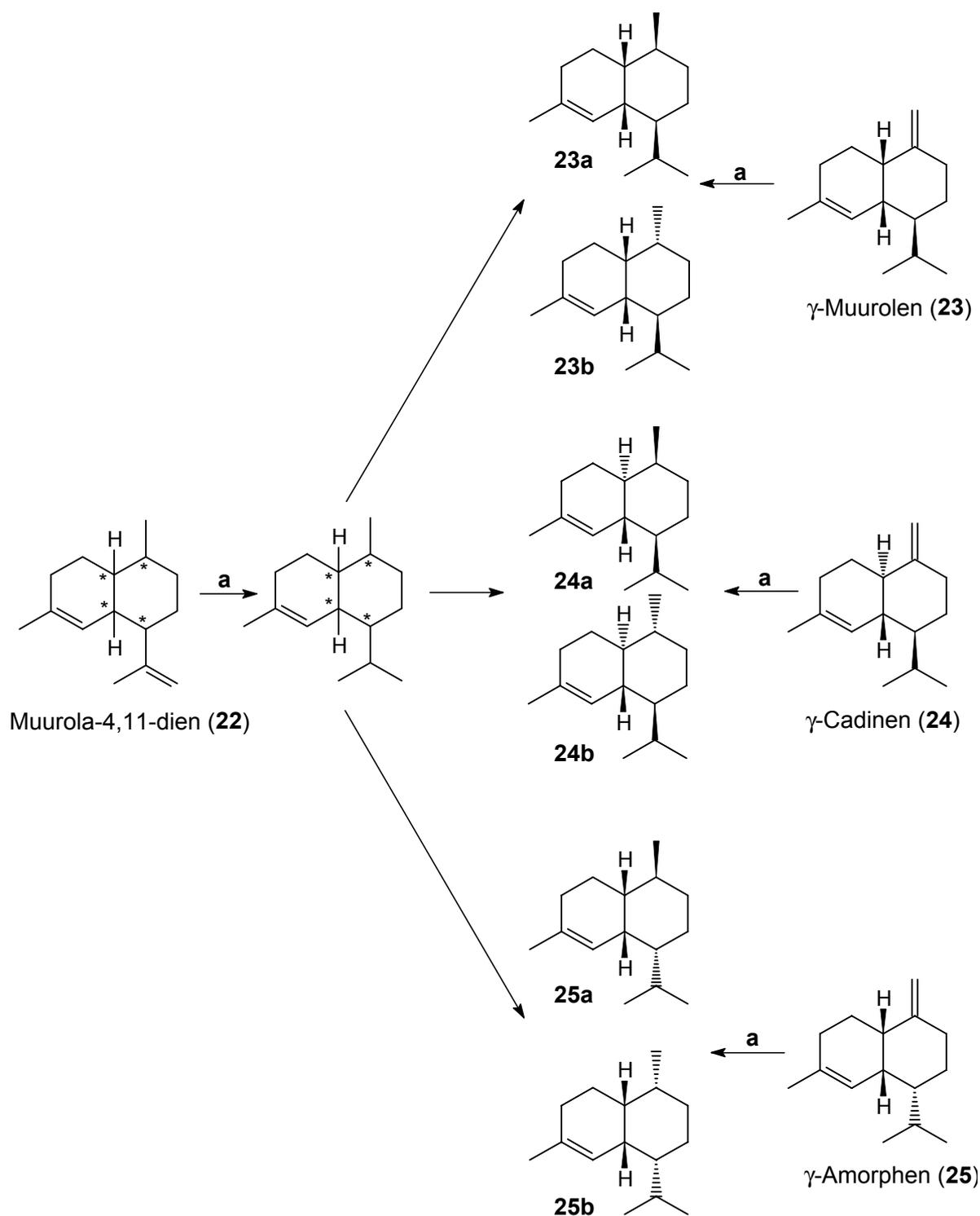


Abb. 14: Einige HMBC-Korrelationen und das Gerüst der Komponente (**22**) – **Muurola-4,11-dien** –

Nach der Aufklärung des Grundgerüsts stellt sich die Frage nach der Stereochemie an den Stereozentren C(1), C(6), C(7) und C(10). Die Frage nach der relativen Konfiguration läßt sich spektroskopisch durch NOE-Differenzspektren bzw. durch die 2D-Variante NOESY beantworten. Eine weitere Möglichkeit für die Bestimmung der relativen aber auch absoluten Konfiguration ist die chemische Korrelation der Komponente **22** mit weiteren Verbindungen, die an den jeweiligen Stereozentren definiert vorliegen. Zur Bestimmung der relativen Konfiguration der Komponente **22** wurden beide Wege eingeschlagen. Für die chemische Korrelation wurde folgende Überlegung angestellt: Für die Komponente **22** müßte unter der Annahme, daß das aus den spektroskopischen Daten abgeleitete Grundgerüst richtig ist, die partielle Hydrierung der exocyclischen Doppelbindung sowohl der Komponente **22** und entsprechend der Vergleichssubstanzen **23-25** Aufklärung über die relative Stereochemie an den Stereozentren C(1), C(6) und C(7) liefern (siehe Schema 1).



(a): Selektive Hydrierung mit $[(C_6H_5)_3P]_3RhCl / H_2$ in Benzol, EtOH

Schema 1ⁱ

ⁱ Da es bei den partiellen Hydrierungsprodukten für die anschließende Untersuchung mittels nicht enantioselektiver GC nicht entscheidend ist, welches Enantiomer oder ob ein Enantiomergemisch eingesetzt wird, wurde übersichtshalber willkürlich nur ein Enantiomer der Vergleichsverbindung abgebildet.

Die anschließenden GC- und GC-MS-Analysen der Produkte der partiellen Hydrierung zeigen eindeutig, daß die Komponente **22** ein Muurolan-Gerüst besitzt. Somit konnten eindeutig die Stereozentren C(1), C(6) und C(7) festgelegt und die Komponente **22** als Muurola-4,11-dien (**22**) identifiziert werden. Um die relative Konfiguration der Methylgruppe ($\delta_{\text{Me}} = 1.00$, 3H, d, $J = 7.2$ Hz) am Stereozentrum C(10) aufzuklären, wurden NOESY-Spektren zu Hilfe genommen. Mit der Kenntnis, daß ein *cis*-Decalin-System vorliegt, läßt sich die Methylgruppe an C(10) aus den NOESY-Daten einfach zuordnen. Die Abbildung 15 zeigt einen Ausschnitt des NOESY-Spektrums der Verbindung Muurola-4,11-dien (**22**).

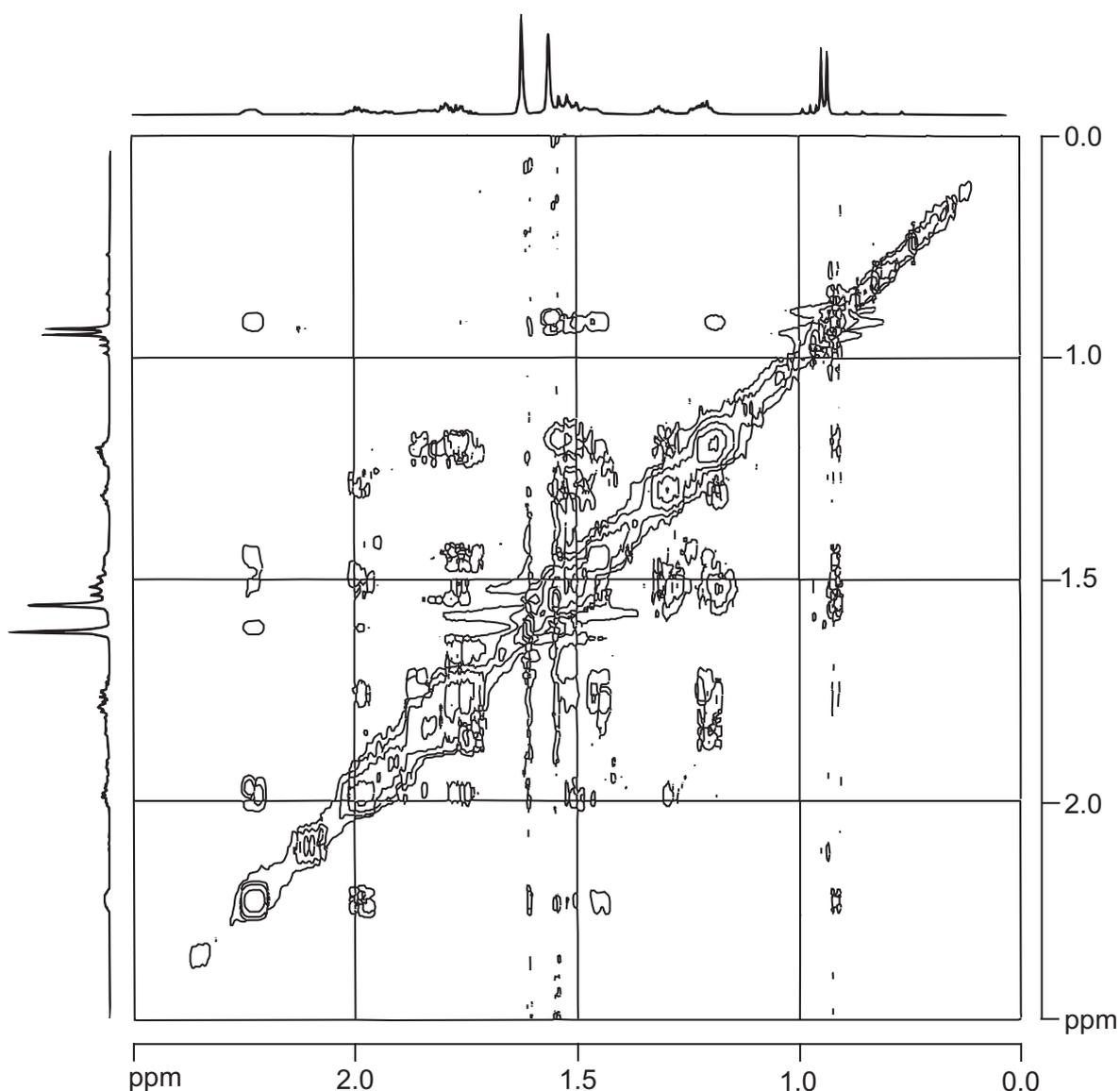


Abb. 15: Ausschnitt aus dem NOESY-Spektrum von Muurola-4,11-dien (**22**)

Die NOESY-Wechselwirkungen der Methylgruppe an C(10) mit den beiden Brückenkopfprotonen – H-C(1), H-C(6) – und der Isopropylengruppe liefern eindeutige Beweise, daß das System bezüglich der Methylgruppe als ein *cis-trans*-Dekalinderivatⁱ vorliegt (Abb. 16).^[99] Somit läßt sich die relative Konfiguration der Verbindung Muurola-4,11-dien (**22**) an den Stereozentren C(1), C(6), C(7) und C(10) als [1R*, 6R*, 7R*, 10S*]ⁱⁱ angeben.

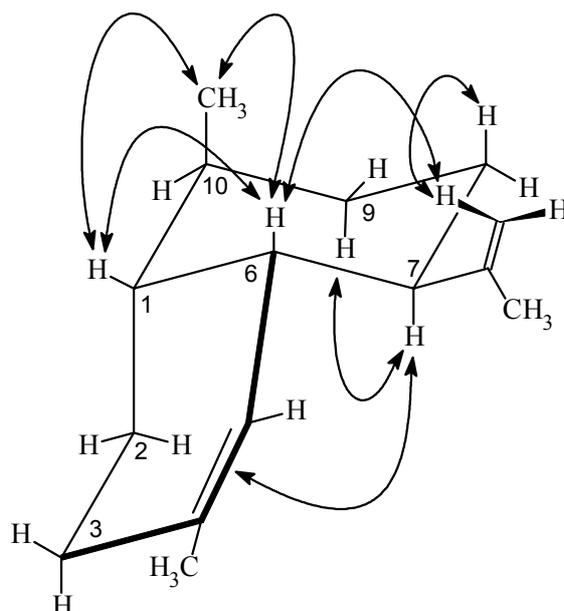
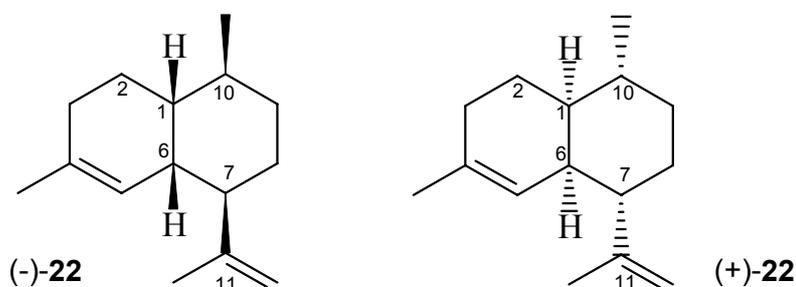


Abb. 16: Die Identifizierung der relativen Konfiguration der Komponente **22** durch NOESY-Wechselwirkungen.

Nach der Aufklärung der relativen Konfiguration bleibt nur noch die Frage nach der absoluten Konfiguration, d.h. welches Enantiomer des Muurola-4,11-diens (**22**) tatsächlich vorliegt, offen.



ⁱ die erste Angabe bezieht sich auf die Ringverknüpfung und die zweite auf die Stellung der Methylgruppe-C(10) relativ zur C(1)-C(2)-Bindung.

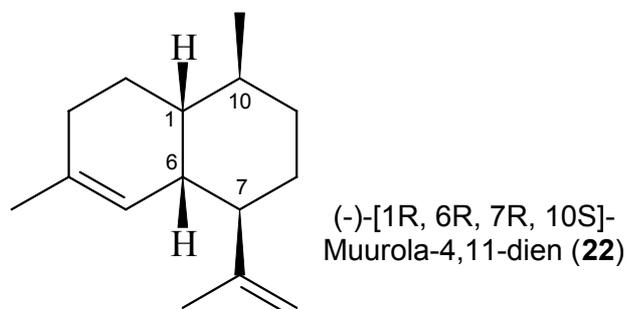
ⁱⁱ die Deskriptoren R*/S* geben die relative Konfiguration an.

4.1.2.1 Bestimmung der absoluten Konfiguration von Muurola-4,11-dien (**22**)

Die Bestimmung der absoluten Konfiguration eines Moleküls kann unter folgenden Voraussetzungen ebenfalls durch chemische Korrelation durchgeführt werden.

- Es müssen authentische Verbindungen mit bekannter absoluter Konfiguration vorhanden sein, und die Enantiomerentrennung dieser Verbindungen muß möglich sein.
- Die mikro-chemischen Reaktionsfolgen müssen für solche Korrelationen stereochemisch eindeutig ablaufen. Es sollten daher bevorzugt Reaktionen vorgenommen werden, die nicht an Chiralitätszentren ablaufen.

Da mit (+/-)- γ -Muurolen (**23**) eine authentische Verbindung mit bekannter absoluter Konfiguration zur Verfügung stand,^[56] die Umwandlungsreaktionen sowohl am γ -Muurolen (**23**) als auch am Muurola-4,11-dien (**22**) nicht an den Chiralitätszentren ablaufen und ferner mit der enantioselektiven GC eine hochempfindliche Technik für die Analyse der Folgeprodukte zur Verfügung stand, waren die Voraussetzungen für die Bestimmung der absoluten Konfigurationen erfüllt. In Abbildung 17 wird die Bestimmung der absoluten Konfiguration von Muurola-4,11-dien (**22**) demonstriert. Zunächst wurde (+/-)- γ -Muurolen (**23**) in einem definierten Enantiomerenverhältnis [(+):(-) = 1:1.3] ausschließlich an der Methylen-Doppelbindung hydriert. Die Hydrierungsprodukte stellen jeweils ein Enantiomerenpaar *cis-cis*-Decalinsystemⁱ und *cis-trans*-Decalinsystem mit dem gleichen Verhältnis zueinander wie im Edukt (+/-)- γ -Muurolen (**23**) dar. Das Enantiomerenpaar mit *cis-cis*-Decalinsystem kann aufgrund der relativen Konfiguration der Methylgruppe an C(10) ausgeschlossen werden. Die Tatsache, daß das Partiale-Hydrierungsprodukt von Muurola-4,11-dien (**22**) mit dem Überschuß-Enantiomer des *cis-trans*-Decalinsystems koeluiert, legt den Schluß nahe, daß die absolute Konfiguration des im Überschuß eingesetzten Enantiomers, also die des (-)- γ -Muurolen (**23**), vorliegt.



ⁱ die erste Angabe bezieht sich auf die Ringverknüpfung und die zweite auf die Stellung der Methylgruppe C(10) relativ zur C(1)-C(2) Bindung.

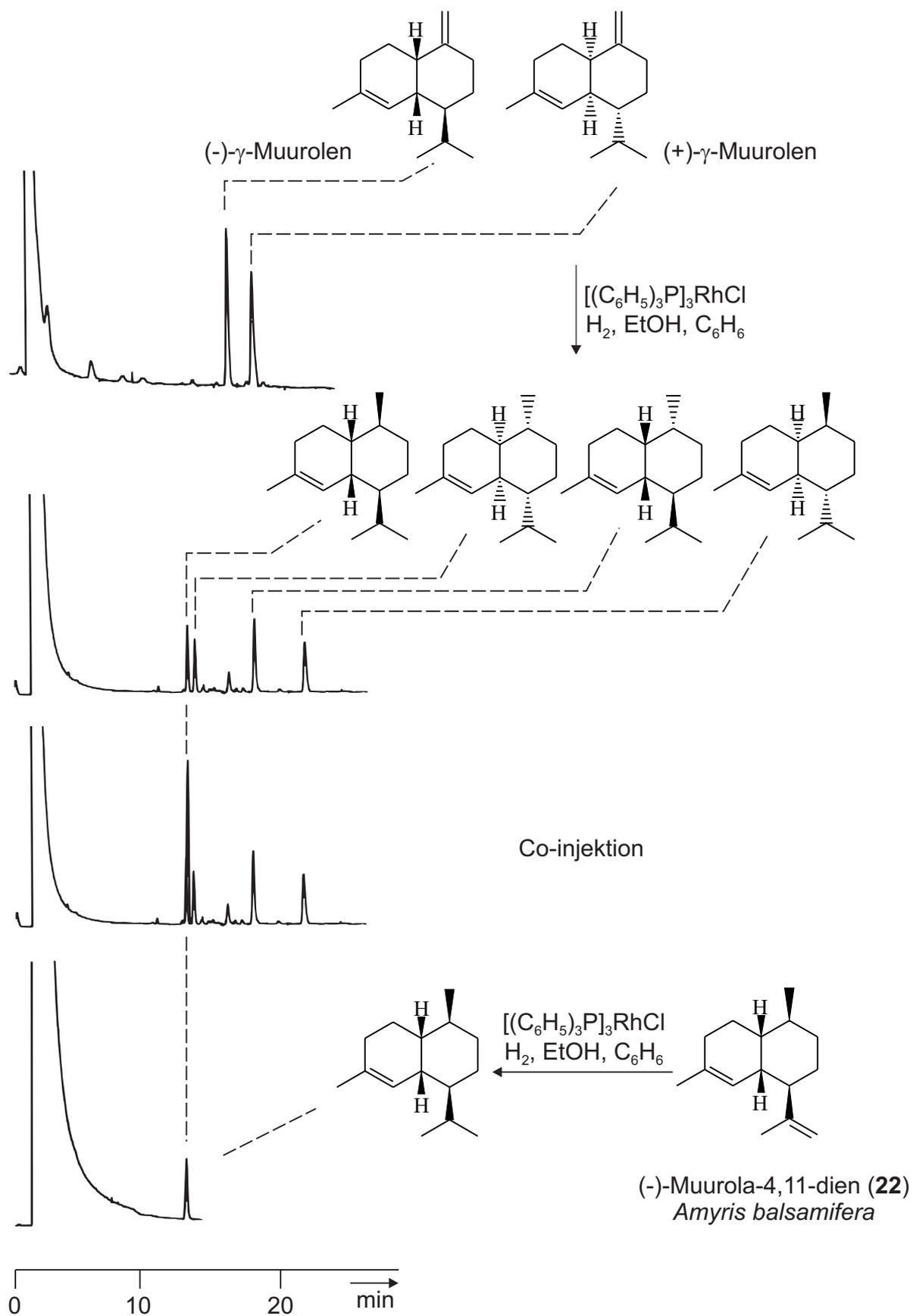


Abb. 17: Bestimmung der absoluten Konfiguration von Muurola-4,11-dien (22) aus *Amyris balsamifera* (25 m fused-silica-Kapillare mit 20 % 2,6-Me-3-Pe- β -CD in OV-1701; 120 °C isoth.).

Es ist bekannt, daß Lebermoose (*Hepaticaceae*) sehr reich an sesquiterpenoiden Inhaltsstoffen sind. Oftmals sind diese Verbindungen Enantiomere zu den aus höheren Pflanzen identifizierten Verbindungen.^[8] Auch in den ätherischen Ölen von Laubmoosen (*Musci*) findet man sesquiterpenoide Verbindungen.^[9] Durch ein systematisches GC-MS-Screening von ätherischen Ölen von Laubmoosen wurde Muurola-4,11-dien (**22**) als Bestandteil des ätherischen Öles von *Mnium hornum* identifiziert. Nach der Isolierung konnte mittels enantioselektiver GC gezeigt werden, daß es sich um das „ungewöhnliche,, Enantiomer handelt (Abb. 18).

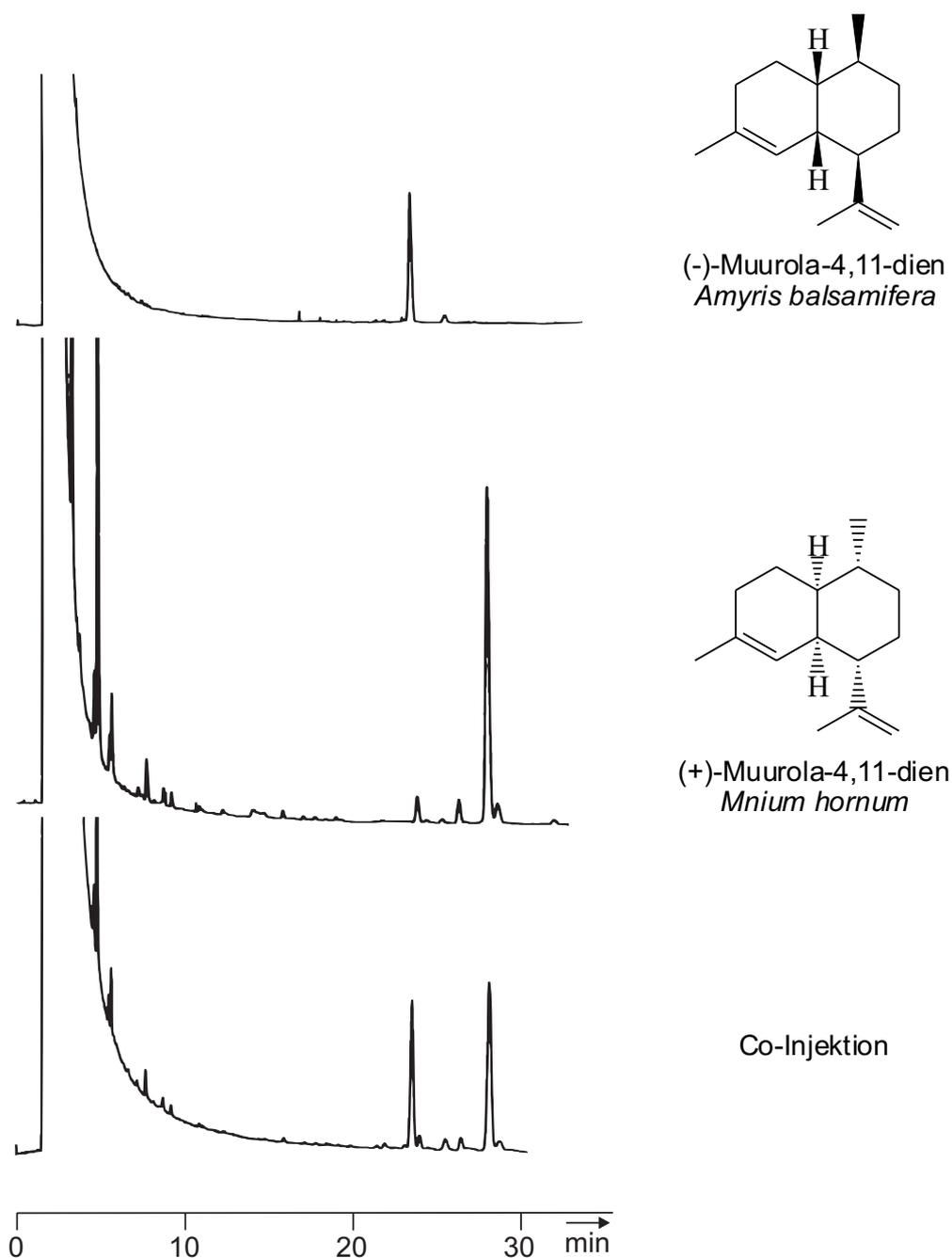


Abb. 18: Enantiomerentrennung von Muurola-4,11-dien (25 m fused-silica-Kapillare mit 50 % 2,6-Me-3-Pe- β -CD in OV 1701; 110 °C isoth.).

4.1.3 Strukturaufklärung der Komponente (27) – Cadina-4,11-dien – aus Amyrisöl

Die Komponente **27** wurde aus dem ätherischen Öl von *Amyris balsamifera* nach dem gleichen Trennprinzip, wie für Muuro-la-4,11-dien (**22**) beschrieben (siehe Abb. 11, Seite 34), isoliert. Aufgrund der Ähnlichkeit der Massenspektren von Komponente **27** und Muuro-la-4,11-dien (**22**) (Abb. 19) und den Informationen aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum muß es sich um eine Verbindung mit identischem Grundgerüst handeln. Im Protonen-NMR-Spektrum treten Signale eines olefinischen Protons ($\delta_{\text{H}} = 5.55$, 1H, m), Signale zweier exocyclischer olefinischer Protonen ($\delta_{\text{H}} = 4.90$, 1H, m und 4.87 , 1H, m) und weitere charakteristische Signale auf. Diese ersten Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß es sich bei der Komponente **27** zum Beispiel um Muuro-la-3,11-dien (**26**) handeln könnte.

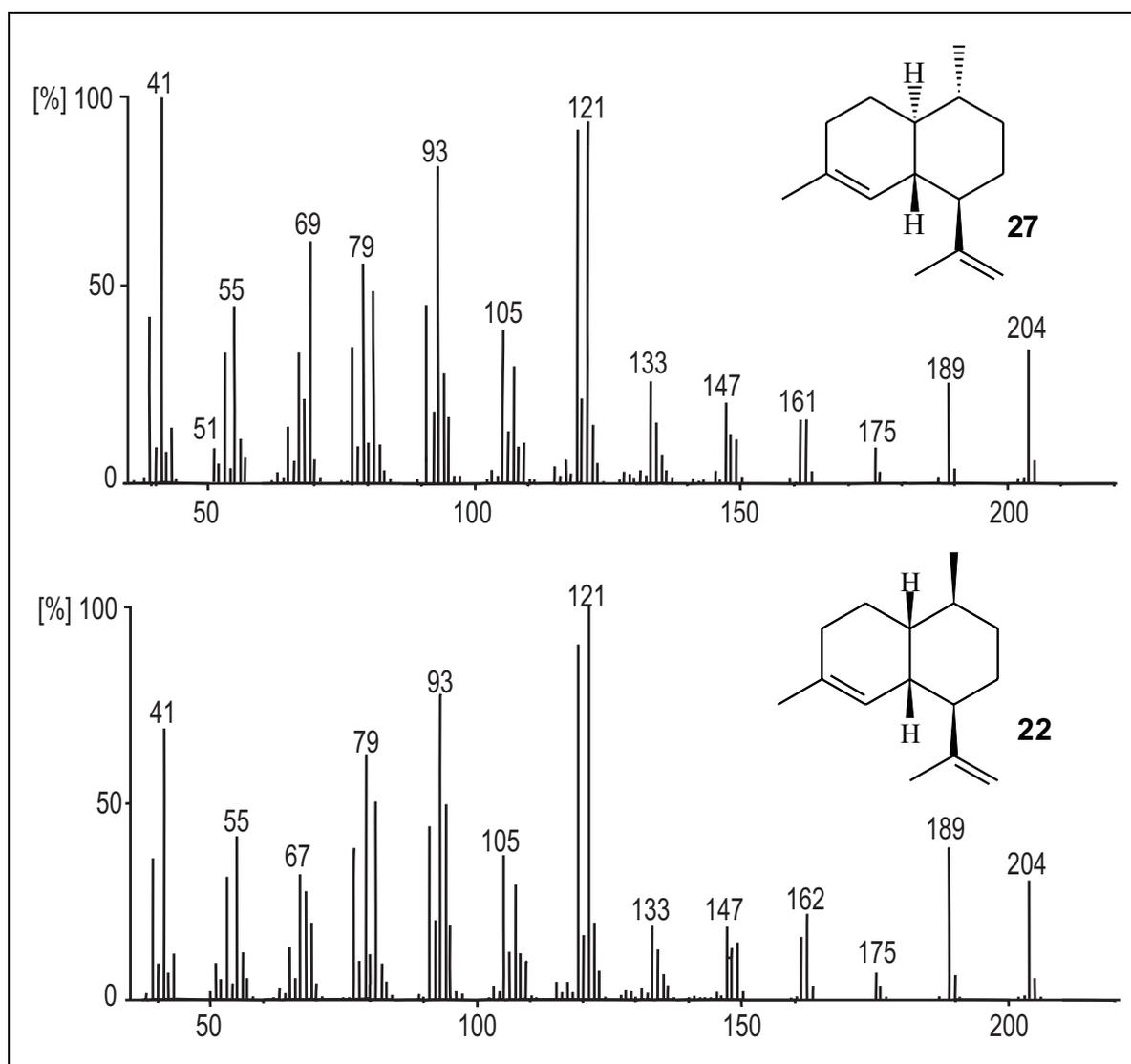
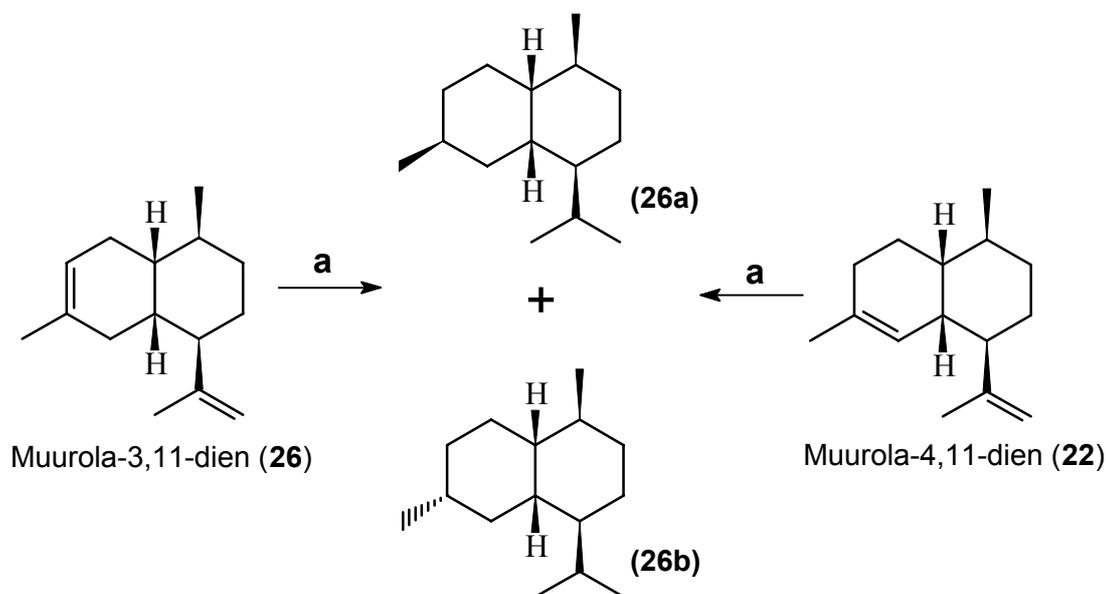


Abb. 19: Massenspektren von Cadina-4,11-dien (**27**) und Muuro-la-4,11-dien (**22**) (GC-MS, EI 70 eV).

Um diese Annahme unter Vermeidung einer umfangreichen NMR-spektroskopischen Untersuchung zu überprüfen, wurden die vollständigen Hydrierungsprodukte der Komponente **27** und des Muurola-4,11-diens (**22**) miteinander verglichen (Schema 2). Bei der vollständigen Hydrierung von Muurola-3,11-dien (**26**) entsteht ein zusätzliches Stereozentrum, welches zwei diastereomere Hydrierungsprodukte liefert, die mit den vollständigen Hydrierungsprodukten von Muurola-4,11-dien (**22**) identisch wären. Wäre die Isolierte Verbindung mit (**26**) identisch, so wäre deren Struktur durch diese Hydrierung bewiesen.



(a): Hydrierung mit Pd/C, H₂ in Hexan

Schema 2

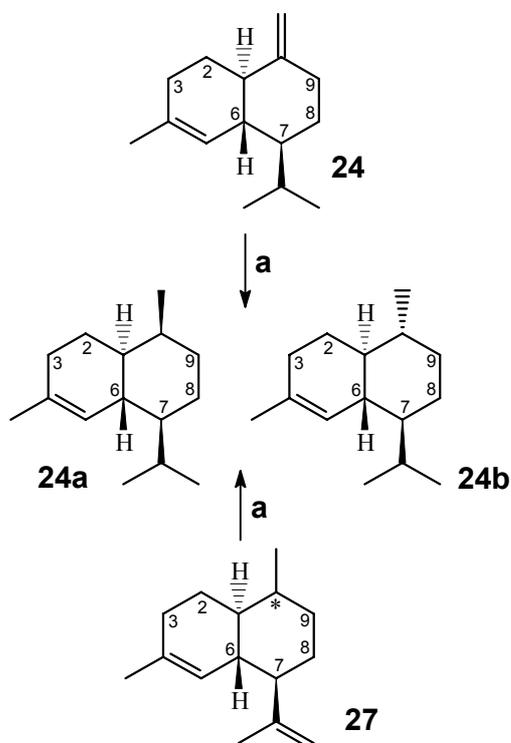
Die anschließenden GC- und GC-MS-Untersuchungen der Hydrierungsprodukte haben jedoch gezeigt, daß es sich bei der Komponente **27** nicht um Muurola-3,11-dien (**26**) handelt. Da sich die Vermutung nicht bestätigen ließ, wurde die Komponente **27** weiteren NMR-Messungen unterworfen. Es konnte trotz der geringen Substanzmenge neben dem ¹H-NMR-Spektrum auch ein ¹H-¹H-COSY, ein HMQC- und ein HMBC-Spektren gemessen werdenⁱ. Die Auswertungen der ¹H-¹H-COSY- und HMQC-Spektren führten zu Teilstrukturen, die auch für Muurola-4,11-dien (**22**) abgeleitet wurden (siehe Abb. 12, Seite 35). Die Verknüpfungen der Teilstrukturen konnten durch das HMBC-Spektrum aufgezeigt werden.

ⁱ Die Substanzmenge reichte weder für ein ¹³C- noch DEPT-Spektrum aus.

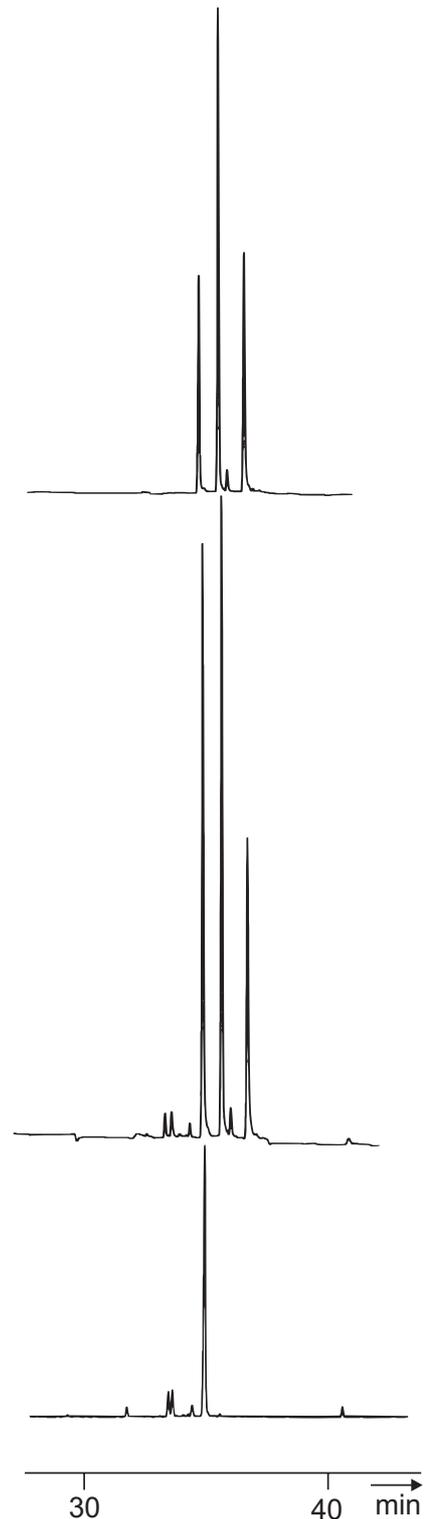
Entsprechend Muurolo-4,11-dien (**22**) (siehe Abb. 14, Seite 37) ergab sich auch für die Komponente **27** ein (1,2,3,4,4a,5,6,8a)-Octahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethenyl)-naphthalin Gerüst.

Im nächsten Schritt wurde zunächst die Bestimmung der relativen Konfiguration der Komponente **27** vorgenommen. Durch partielle Hydrierung der exocyclischen Doppelbindung der Vergleichssubstanzen γ -Cadinen (**24**) und γ -Amorphen (**25**) wurden neue Standards erhalten.^[56]

Diese wurden mit den Partial-Hydrierungsprodukten der Komponente **27** verglichen. Durch GC- und GC-MS-Analysen konnte festgestellt werden, daß die Komponente **27** an den Stereozentren C(1), C(6) und C(7) dem γ -Cadinen (**24**) entspricht. Die Abbildung 20 zeigt die Untersuchung der Partial-Hydrierungsprodukte an einer nicht enantioselektiven GC-Säule.



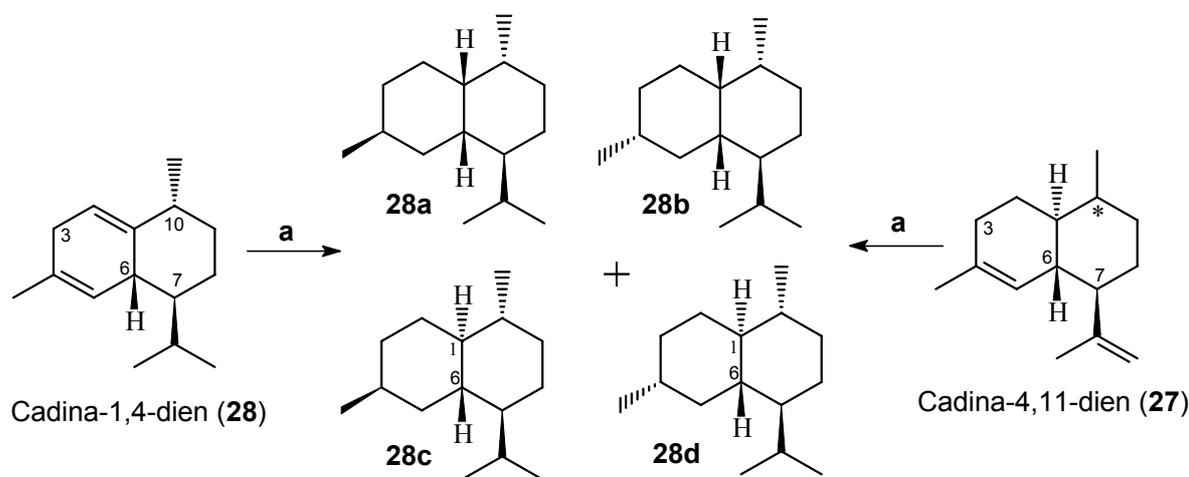
(a): Selektive Hydrierung mit $[(C_6H_5)_3P]_3RhCl$, H_2 in C_6H_6 , EtOH



Schema 3

Abb. 20: oben: Partial-Hydrierungsprodukte von (+/-)- γ -Cadinen (**24**), unten: Partial-Hydrierung von Komponente **27** aus *Amyris balsamifera*, Mitte: Co-Injektion der Partial-Hydrierungsprodukte (CpSil 5, 25 m fused-silica-Kapillare, 50 °C, 3 °C/min, 230 °C).

Um die vollständige relative Konfiguration der Komponente **27** angeben zu können, müßte die Konfiguration an dem Stereozentrum C(10) bestimmt werden. Da leider von der Komponente **27** kein NOESY-Spektrum vorliegt, konnte dies, analog der Verbindung Muurolo-4,11-dien (**22**) (siehe Seite 40), nicht spektroskopisch bestimmt werden. Eine Lösung dieses Problems ist die chemische Korrelation der Komponente **27** mit einer weiteren Cadinan-Verbindung, die an dem Stereozentrum C(10) bekannte Stereochemie besitzt. Ein solches Cadinan-Derivat ist die Verbindung Cadina-1,4-dien (**28**)ⁱ. Die vollständige Hydrierung von Cadina-1,4-dien (**28**) lieferte vier diastereomere Hydrierungsprodukte. Unter der Voraussetzung, daß die Komponente **27** ein *trans*-Decalin-System bezüglich der Stereozentren C(1) und C(6) besitzt, ergeben sich bei vollständiger Hydrierung von Komponente **27** zwei Produkte, die identisch mit **28c** und **28d** aus der Hydrierung von Cadina-1,4-dien (**28**) (Schema 4) sind. Die Hydrierungsprodukte mit *cis*-Decalin-System **28a** und **28b** können anhand der vorhergehenden Untersuchung (siehe partielle Hydrierung von γ -Cadinen (**24**) S. 46) ausgeschlossen werden.



(a): Hydrierung mit Pd /C, H₂ in Hexan

Schema 4

ⁱ Cadina-1,4-dien (**28**) wurde aus dem ätherischen Öl von *Cedrela odorata* als Referenzsubstanz isoliert und NMR-spektroskopisch charakterisiert.

Wie aus den GC- und GC-MS-Untersuchungen hervorgeht, koeluierten tatsächlich zwei der insgesamt vier Hydrierungsprodukte von Cadina-1,4-dien (**28**) mit den zwei Hydrierungsprodukten der Komponente **27**. Somit läßt sich für das Stereozentrum C(10) bezüglich der Stereozentren C(1) und C(6) ein *trans-cis*-Dekalinsystem zuordnen. Durch diese Untersuchungen kann für die Komponente **27** die Struktur Cadina-4,11-dien mit der relativen Konfiguration (1S*, 6R*, 7R*, 10R*) angegeben werden.

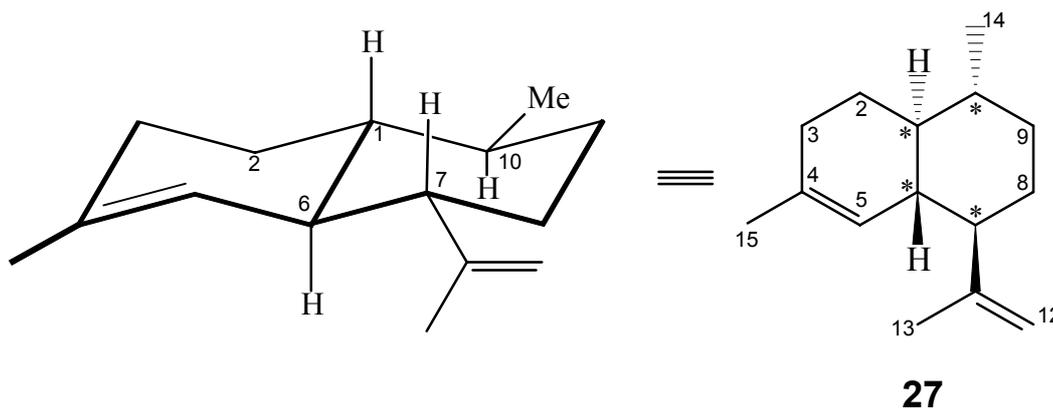


Abb. 21: Die Komponente **27** aus *Amyris balsamifera* konnte als Cadina-4,11-dien mit der relativen Konfiguration (1S*, 6R*, 7R*, 10R*) bestimmt werden.

4.1.3.1 Bestimmung der absoluten Konfiguration von Cadina-4,11-dien (**27**)

Die Bestimmung der absoluten Konfiguration von Cadina-4,11-dien (**27**) läßt sich durch die chemische Korrelation mit einer authentischen Probe von (+/-)- γ -Cadinen (**24**) durchführen.^[56] Analog zu der Bestimmung der absoluten Konfiguration von Muurolo-4,11-dien (**22**) (siehe S. 42) wurden auch bei der Bestimmung der absoluten Konfiguration von Cadina-4,11-dien (**27**) die Produkte der selektiven Hydrierung der exocyclischen Doppelbindung sowohl von (+/-)- γ -Cadinen (**24**) mit einem definierten Enantiomerenverhältnisⁱ, als auch von Cadina-4,11-dien (**27**) mittels enantioselektiver Gaschromatographie an einer Säule mit 2,6-Me-3-Pe- β -CD untersucht. Abbildung 22 zeigt, daß das partielle Hydrierungsprodukt von Cadina-4,11-dien (**27**) eindeutig mit den Hydrierungsprodukten von (-)- γ -Cadinen koeluiert. Aus dieser Tatsache heraus konnte für Cadina-4,11-dien (**27**) die absolute Konfiguration (1R, 6S, 7S, 10S) bestimmt werden.

ⁱ Da das Enantiomerenverhältnis des eingesetzten (+/-)- γ -Cadinen (**24**) nicht zu eindeutigen Aussagen führte, wurde auch eine authentische (+)- γ -Cadinen-Probe zur Untersuchung herangezogen.

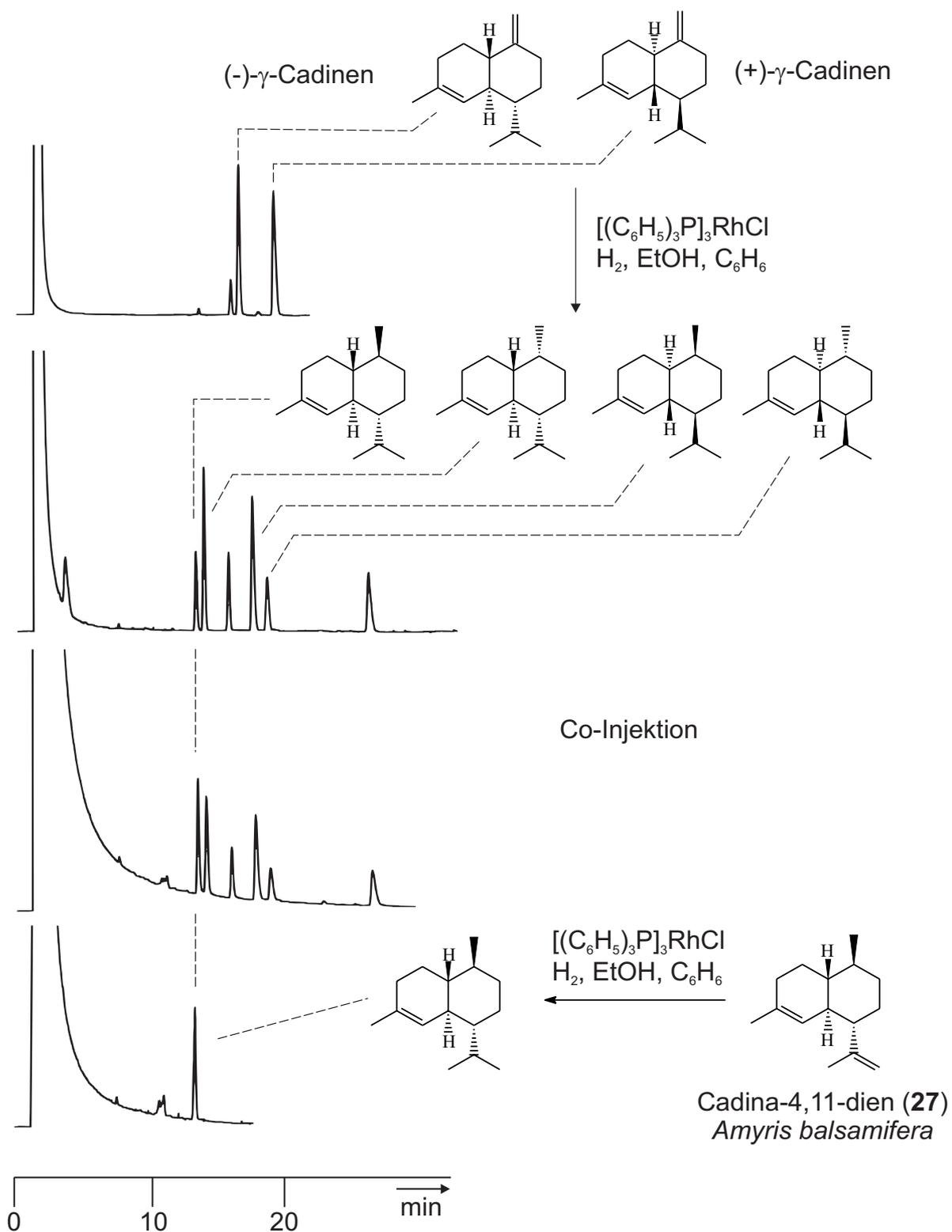


Abb. 22: Bestimmung der absoluten Konfiguration von Cadina-4,11-dien (**27**) aus *Amyris balsamifera* (25 m fused-silica-Kapillare mit 2,6-Me-3-Pe- β -CD in OV 1701; 120 °C isoth.).

4.2 Die Pestwurz

Die gemeine Pestwurz (*Petasites hybridus*) ist eine in Mitteleuropa heimische Pflanze aus der Familie der Korbblütler (*Asteraceae*). Sie stellt in Europa die am weitesten verbreitete Art der Gattung *Petasites* MILLER dar und man findet sie häufig auf feuchten, tonigen Böden, an Waldrändern, Bach- und Flußufern. Ihre kolbenförmigen, rötlichen Blütenstände entwickeln sich in unseren Breiten bereits im März. Ihre Blätter, die einen Durchmesser von über einem Meter erreichen können, bilden sich erst im Sommer heran.

Bereits im 1. Jahrhundert n. Chr. wurde die gemeine Pestwurz als Heilpflanze erwähnt. Auch im Mittelalter wurde die Pestwurz in Büchern über Heilpflanzen als bedeutendes Arzneimittel aufgeführt.

In der Neuzeit geriet die Pestwurz zunehmend in Vergessenheit. Die Feststellung von *Bucher*,^[100] daß der methanolische Rohextrakt aus frisch ausgegrabenen *P. hybridus*-Wurzeln auf isoliertem Meerschweinchendarm eine antispastische Wirkung ausübt, erregte erneut wissenschaftliches Interesse. In der Folge befaßten sich verschiedene Arbeitsgruppen mit der Isolierung und Strukturaufklärung von Hauptkomponenten dieser Extrakte. *Aebi et al.*^[101] und *Stoll et al.*^[102] konnten die spasmolytisch wirksamen Substanzen aus der Pestwurz isolieren und ihre Struktur aufklären. Es handelte sich hierbei vor allem um Tiglinsäureester der zwei Grundgerüste Petasin (**29**) und Isopetasin (**30**), die zur Klasse der Eremophilan-Sesquiterpene gehören. Außerdem wurden die beiden entsprechenden Alkohole Petasol (**31**) und Isopetasol (**32**) aus *Petasites hybridus* identifiziert.

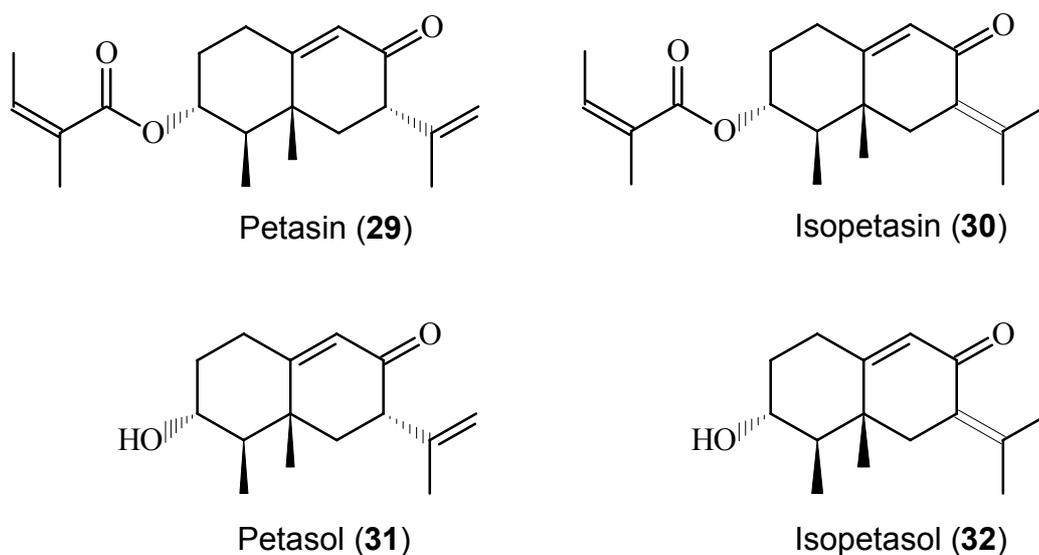


Abb. 23: Spasmolytisch wirksame Verbindungen Petasin (**29**) und Isopetasin (**30**) und die entsprechenden Alkohole aus *P. hybridus*.

Die Aufklärung der absoluten Konfiguration dieser Verbindungen gelang *Djerassi* 1960 mit Hilfe der CD-Spektroskopie und dem Abbau zu bekannten Verbindungen.^[103]

Später gelang es *Novotny*,^[104a,b] *Takagi*^[105] und *Neuschwander*^[106a-c] weitere Sesquiterpene aus verschiedenen *Petasites*-Arten zu isolieren. Es handelte sich dabei um eine Vielzahl verschiedener Ester der C(4)-Epimeren Petasol und Isopetasol sowie verschiedener dehydrierter Furanoide (**33**) und Lactone (**34**) mit dem Eremophilan-Grundgerüst (Abb. 24).

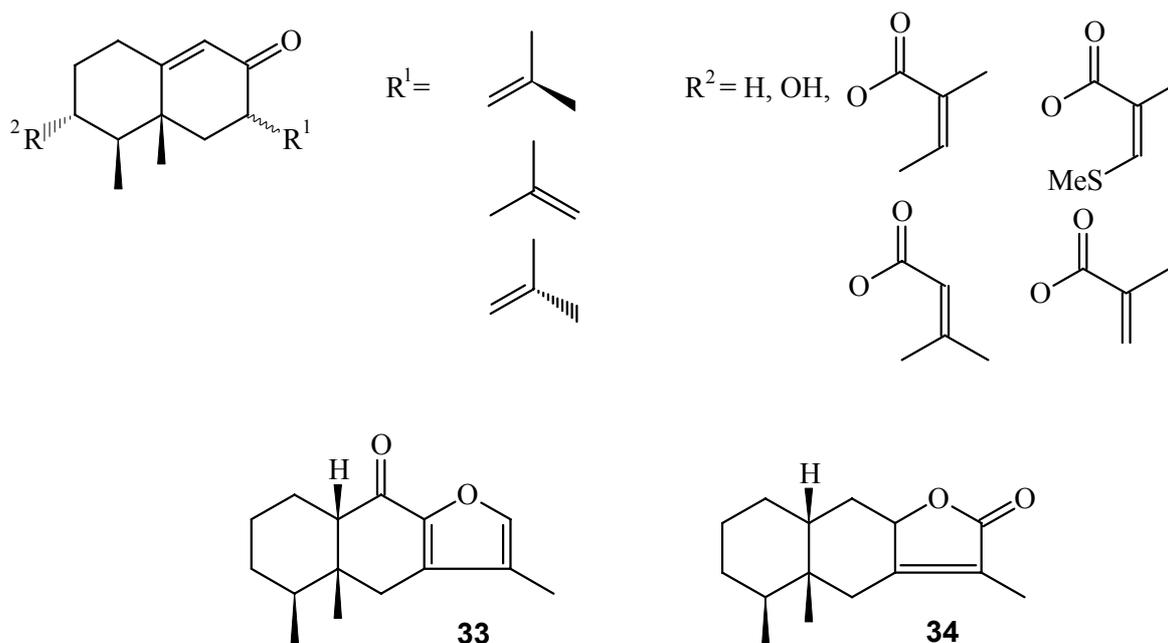


Abb. 24: Einige Extrakt-Bestandteile aus *Petasites hybridus*

Im Gegensatz zu den Extrakten sind die wasserdampfvlüchtigen Bestandteile der *Petasites hybridus* weniger intensiv untersucht worden. Wie eine Literaturrecherche ergab, ist der Kenntnisstand über die Sesquiterpenkohlenwasserstoffe von *P. hybridus* äußerst spärlich.^[107] Es finden sich Hinweise auf häufig vorkommende Sesquiterpenkohlenwasserstoffe wie Eremophilen (**54**), β -Bisabolen (**56**), γ -Bisabolen (**57**), α -Humulen (**51**), γ -Humulen (**53**) und einige weitere Sesquiterpenkohlenwasserstoffe wie α -Santalen (**48**) und *epi*- β -Santalen (**50**) (siehe Abb. 25, Seite 53).^[108]

Im Hinblick auf neue Verbindungen mit der Molmasse 204 ($C_{15}H_{24}$) wurde die Kohlenwasserstoff-Fraktion des ätherischen Öls von *P. hybridus* untersucht. Im folgenden wird über die Sesquiterpenkohlenwasserstoffe des ätherischen Öls von *P. hybridus* berichtet, die im Rahmen dieser Arbeit identifiziert und charakterisiert worden sind.

4.2.1 Analytik der Sesquiterpenkohlenwasserstoffe aus dem ätherischen Öl von Pestwurz (*Petasites hybridus*)

Gewinnung des ätherischen Öls aus *Petasites hybridus*: Für die Untersuchungen wurden ca. 10 kg *Petasites hybridus*-Wurzeln in Hamburg gesammelt. Das Pflanzenmaterial wurde nach dem Auswaschen zerkleinert und portionsweise (ca. 500 g) einer 2.5 stündigen Wasserdampfdestillation unterzogen, wobei die von Sprecher^[109] beschriebene Apparatur unter Vorlage von 1 ml p.a. *n*-Hexan verwendet wurde.

Bereits aus der anschließenden GC-Analyse geht hervor, daß das ätherische Öl von *P. hybridus* Verbindungen aus verschiedenen Substanzklassen enthält. In Abbildung 25 ist das Gaschromatogramm des ätherischen Öls von *P. hybridus* dargestellt. Die Sesquiterpenkohlenwasserstoffe bilden mit ca. 45 % den Hauptteil des gesamten Öls. Im Retentionsbereich der oxigenierten Sesquiterpenverbindungen sind lediglich zwei Hauptkomponenten, die einen Anteil von etwa 34 % am Gesamtöl ausmachen, und einige weitere Verbindungen mit ca. 11 % Anteil. Im Bereich der Monoterpene sind zwei Komponenten mit einem Anteil von 10 % zu finden.

Bei der anschließenden GC-MS-Untersuchung des Gesamtöles ließen sich Sesquiterpenkohlenwasserstoffe wie z.B. Eremophilen (**54**), β -Bisabolen (**56**), α -Humulen (**51**), γ -Humulen (**53**), α -Santalen (**48**), *epi*- β -Santalen (**50**) und einige weitere häufig vorkommende Sesquiterpenkohlenwasserstoffe über ihre Massenspektren und Retentionsindices mit Hilfe der vorhandenen Massenspektren-Datenbankⁱ identifizieren. Eine große Anzahl von Sesquiterpenkohlenwasserstoffen, deren Identifizierung auf diesem Weg nicht möglich war, wurden für die Charakterisierung vorgesehen.

Für einige der unbekanntes C₁₅H₂₄-Komponenten (Peak Nr. (**38**), (**39**), (**40**), (**44**), (**45**) und (**47**) siehe Abb. 25) konnte ein tricyclisches System angenommen werden, da bereits aus anderen Vertretern der *Asteraceae* solche Verbindungen isoliert und charakterisiert worden sind.^[110] So war es unumgänglich, verschiedene *Asteraceae*-Arten näher zu untersuchen. Eine Literaturrecherche ergab, daß solche tricyclischen Sesquiterpenkohlenwasserstoffe – z. B. Isocomene aus *Isocoma wrightii*,^[111] Silphinene aus *Silphium*-Arten,^[112] Presilphiperfolane und verwandte Verbindungen z.B. aus *Senecio* und *Eriopyllum* species^[113a,b] – von verschiedenen Arbeitsgruppen isoliert und charakterisiert wurden.

ⁱ Diese Massenspektren-Datenbank wurde von Prof. König und seinen Mitarbeitern angelegt.

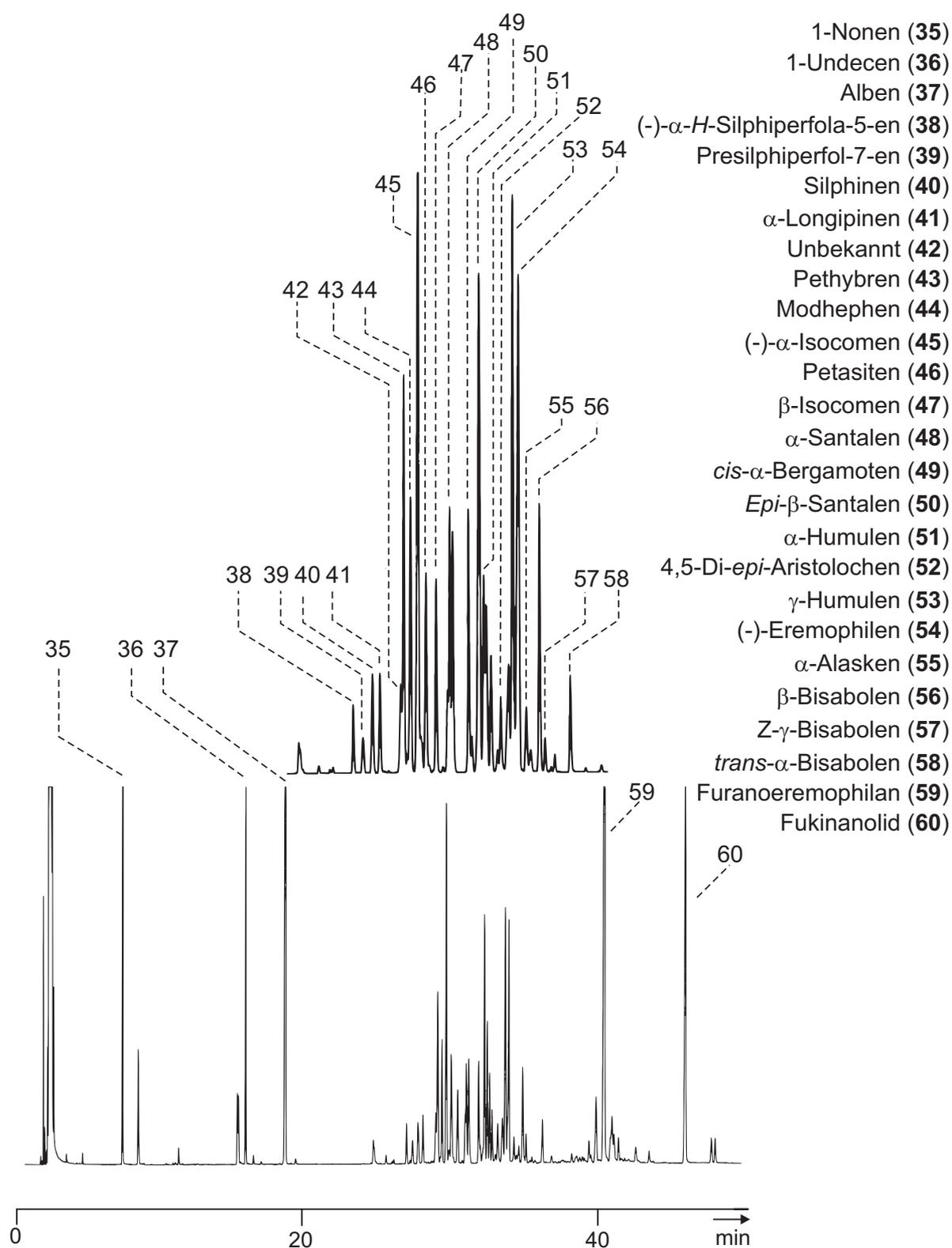


Abb. 25: Gaschromatogramm des ätherischen Öles von *Petasites hybridus* (25 m fused-silica-Kapillare CpSil-5; 50 °C, 3 °C/min, 230 °C).

Um Referenzverbindungen für die weitere Untersuchung von *P. hybridus* zu erhalten, wurden α -Isocomen (45), β -Isocomen (47), Silphinen (40), Modhephen (44) und 7- α -H-Silphiperfol-5-en (38) aus dem ätherischen Öl von *Silphium perfoliatum* und Presilphiperfol-7-en (39) aus *Matricaria perforata* isoliert und NMR-spektroskopisch charakterisiert (Abb.26).

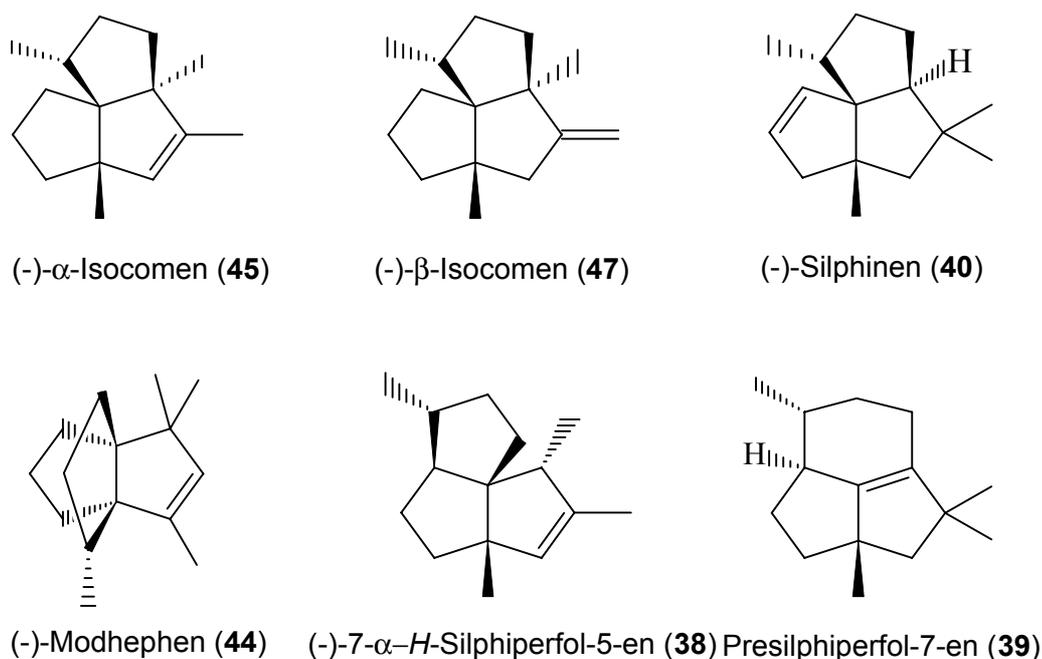


Abb. 26: Die Komponenten 38, 40, 44, 45, 47 wurden aus dem ätherischen Öl *Silphium perfoliatum* und die Komponente 39 aus *Matricaria perforata* als authentische Proben isoliert.

Durch Co-Injektionenⁱ und durch den Vergleich der Massenspektren konnten diese Verbindungen zum erstenmal als Bestandteile des ätherischen Öles von *Petasites hybridus* identifiziert und charakterisiert werden. Diese Verbindungen wurden ebenfalls als Bestandteile des ätherischen Öles von *Petasites albus* (weiße Pestwurz) identifiziert. Im ätherischen Öl von *P. hybridus* sind weitere Bestandteile mit der Molmasse 204 enthalten, die sich nicht durch Literaturrecherchen identifizieren ließen.

Im Rahmen dieser Arbeit konnten zwei dieser Komponenten isoliert und charakterisiert werden, welche im nächsten Abschnitt ausführlich beschrieben werden.

ⁱ Die Co-Injektionen wurden an einem zwei Kanal-Gerät (Orion) unter Verwendung zweier Säulen mit den Phasen CpSil-5, und CpSil-19, durchgeführt.

4.2.2 Isolierung der Komponente 46 – Petasiten – aus *Petasites hybridus*

Für die Isolierung der Komponente **46** mit dem unten abgebildeten Massenspektrum (Abb. 27) waren mehrere Trenn- und Reinigungsschritte notwendig. In Abbildung 28 ist die Isolierung der Komponente **46** dargestellt. Als erstes wurde das durch Wasserdampfdestillation erhaltene ätherische Öl von *P. hybridus* (siehe Abb. 25, S. 53) einer Trockensäulenchromatographie unterzogen, um die Sesquiterpenkohlenwasserstoffe von den sauerstoffhaltigen Substanzen zu trennen. Zu diesem Zweck wurden die Kohlenwasserstoffe mittels *n*-Hexan von der Säule eluiert. Die oxigenierten Verbindungen wurden nach der Abtrennung der Kohlenwasserstoffe mit Diethylether von der Säule eluiert. Im nächsten Schritt wurde die Kohlenwasserstoff-Fraktion mittels präp. GC an der Phase 2,6-Me-3-Pe- β -CD aufgetrennt. Wie die kapillargaschromatographische Analyse zeigt (Abb. 28), ergab diese Trennung lediglich eine Anreicherung (25 % in der entsprechenden Fraktion *A*) der Komponente **46**. Da für die NMR-spektroskopischen Untersuchungen dieser Reinheitsgrad nicht ausreicht, wurden weitere Reinigungsschritte für die Isolierung der Komponente **46** aus der Fraktion *A* erforscht. Die Auftrennung der Fraktion *A* mittels präp. GC an der Phase 6T-2,3-me- β -CD lieferte die besten Trennergebnisse: Komponente **46** konnte aus der Fraktion *A* mit einer Reinheit von 93 % isoliert werden.

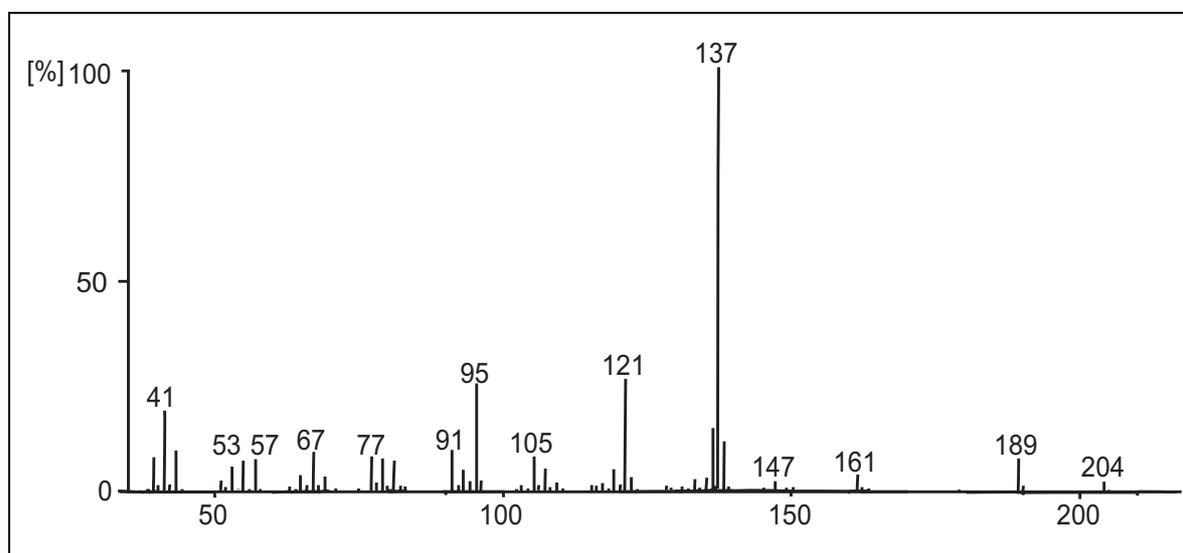


Abb. 27: Massenspektrum der Komponente **46** – Petasiten – aus dem ätherischen Öl von *Petasites hybridus* (GC-MS; EI 70 eV).

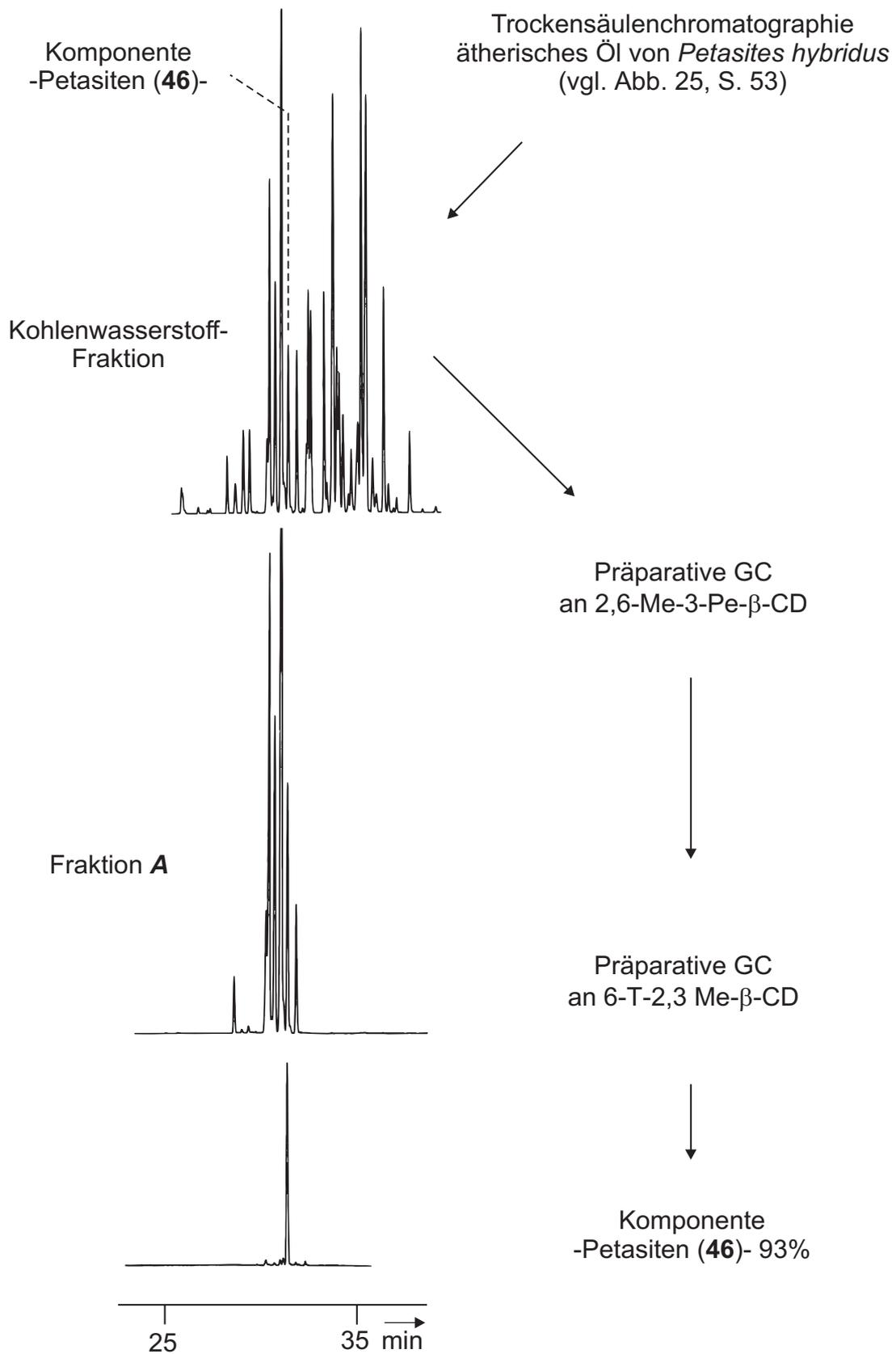


Abb. 28: Isolierung von Komponente 46 - Petasiten - aus *Petasites hybridus* (Kapillar GC-Untersuchungen an CpSil-5, 25 m fused-silica-Kapillar, 50 °C, 3 °C/min, 230 °C).

4.2.3 Strukturaufklärung der Komponente 46 - Petasiten -

Nach Isolierung von 2-3 mg der Komponente **46** aus dem ätherischen Öl von *P. hybridus*, wurde eine vollständige NMR-Untersuchung durchgeführt. Die ersten Analysen der ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren zeigen, daß nur eine Doppelbindung vorliegt. Demnach handelt es sich entsprechend der Doppelbindungsäquivalente um einen tricyclischen Sesquiterpenkohlenwasserstoff, welcher durchaus mit anderen tricyclischen Verbindungen, die in dem ätherischen Öl von *P. hybridus* vorkommen, verwandt sein könnte.

Die detaillierte Analyse der ^1H - und ^1H - ^1H -COSY-Spektren belegt die Anwesenheit einer Isopropylgruppe, zweier tertiärer Methylgruppen, die kaum aufgrund ihrer chemischen Verschiebung zu unterscheiden sind, und eines olefinischen Protons mit einer chemischen Verschiebung von $\delta_{\text{H}} = 5.38$ ppm mit einer Kopplungskonstante 3J von 2.6 Hz. Desweiteren ergibt das ^1H -Spektrum ein AB-System ($\delta_{\text{H}}(\text{A}) = 2.22$ ppm; $\delta_{\text{H}}(\text{B}) = 2.22$ ppm) mit einer geminalen Kopplungskonstanten von $^2J = 8.6$ Hz. Die Analyse der restlichen Alkylsignale zeigt komplexe Signalaufspaltungen, deren Kopplungskonstanten nicht ermittelt werden können. Mit Hilfe eines ^1H - ^1H -COSY-Spektrums lassen sich Kreuzsignale identifizieren, die auf W-Kopplungen zurückgehen und charakteristisch für bicyclische Systeme (z.B. Norbornan) sind. Die Analysen des ^{13}C -NMR-Spektrums und des DEPT-Experiments liefern Hinweise auf das Vorliegen von vier Methylgruppen ($\delta_{\text{Me}} = 17.17, 21.14, 25.41$ und 25.61 ppm), vier tertiären Kohlenstoffatomen ($\delta_{\text{C}} = 27.42, 45.75, 51.39$ und 121.47 ppm), vier sekundären Kohlenstoffatomen ($\delta_{\text{C}} = 24.17, 24.40, 34.89$ und 50.63 ppm), sowie drei quartären Kohlenstoffatomen ($\delta_{\text{C}} = 47.84, 59.08,$ und 156.91 ppm). Nach der eindeutigen Zuordnung der Protonen und Kohlenstoffatome lassen sich drei Teilstrukturen **A-C** (Abb. 29) ermitteln.

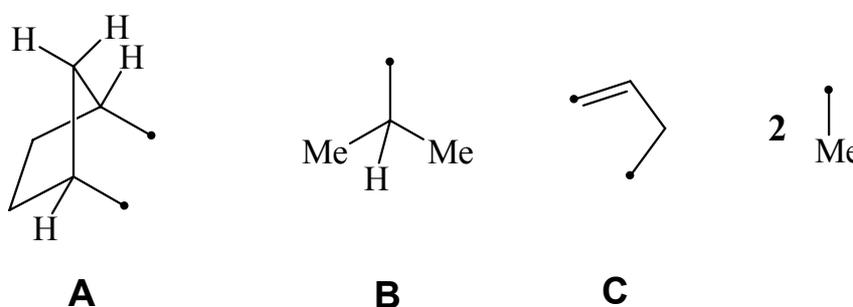
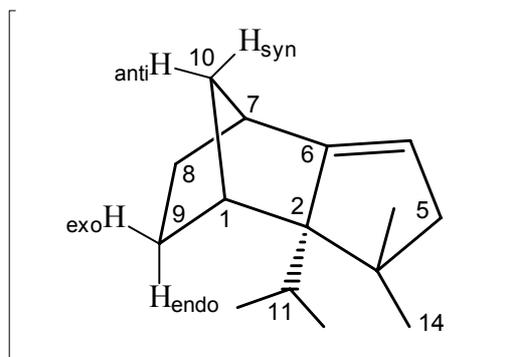


Abb. 29: Teilstrukturen der Komponente **46** – Petasiten – aus *Petasites hybridus*.

Zusätzlich wurden zwei Methylgruppen erkannt, die fast die gleichen chemischen Verschiebungen ($\delta_{\text{Me}} = 0.96$, s, 3H und $\delta_{\text{Me}} = 0.97$, s, 3H) vorweisen. Über die long-range Korrelationssignale (HMBC) der quartären Kohlenstoffatome wurden die Teilstrukturen zunächst zu der hypothetischen Verbindung 2-*exo*-Isopropyl-3,3-dimethyl-tricyclo-[5.2.1.0.^{2,6}]-dec-5-en (**61**) kombiniert.

**61**

Die aus dem NOESY-Spektrum abgeleitete Korrelation zwischen den quartär gebundenen Methylprotonen und den *endo*-Protonen der Ethylenbrücke – C(8)-C(9) – und das Fehlen einer Korrelation dieser Methylprotonen mit dem *syn*-ständigen Proton der Methylenbrücke – C(10) – bestätigen diese Struktur jedoch nicht. Semiempirische Berechnungenⁱ zeigten darüberhinaus eine positive Standardbildungsenthalpie beider Stereoisomere dieser Struktur ($\Delta H_{\text{f}(2\text{-exo})} = 2.18$ kcal/mol; $\Delta H_{\text{f}(2\text{-endo})} = 4.49$ kcal/mol), so daß dieses Molekül nicht stabil sein dürfte.^[114] Aufgrund dieser Tatsachen waren zur Aufklärung der Komponente **46** weitere Untersuchungen notwendig.

Die Hauptschwierigkeit bei der Strukturermittlung mittels NMR-Spektroskopie bestand darin, daß aufgrund der Signalüberlagerungen (konkret die Methylgruppen gebunden an ein quartäres Kohlenstoffatom im ¹H-NMR-Spektrum) eindeutige Zuordnungen der Korrelationen des HMBC-Spektrums nicht möglich waren.

Aufgrund der Überlegung, daß bei der Komponente **46** die Signalüberlagerungen – anvisiert wurden die beiden tertiären Methylgruppen – durch die Einführung eines elektronegativen Atoms partiell aufgehoben werden könnten, wurde für die weitere Untersuchung an der Komponente **46** mittels *m*-Chlorperbenzoesäure (mcpba) ein Epoxid hergestellt.

ⁱ Molekülgeometrien und Standardbildungsenthalpien der durch molekülmechanische (MM2) Berechnungen gefundenen Konformere wurden mit CS MOPAC StdTM Version 3.5, 1996, einem semiempirischen Molecular-Analyzing Programm, bestimmt.

Bei der verwendeten Potentialfunktion PM 3 betragen die Rechenzeiten zwischen 3 und 6 Minuten (Macintosh PPC 8200/120; 32 MB RAM).

4.2.4 Identifizierung des Petasiten-Epoxides (62)

Das diastereoselektiv gebildete Epoxid der Komponente **46** wurde anschließend mittels TLC und präparativer Gaschromatographie an der 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase in 91%-iger Reinheit für NMR-spektroskopische Untersuchungen isoliert. Das Massenspektrum des Epoxid ergibt einen Molekülpeak $[M^+]$ von $m/z = 220$, was die Summenformel $C_{15}H_{24}O$ bestätigt. Die Analyse des 1H -NMR-Spektrums zeigt im Vergleich zu dem 1H -Spektrum von **46** nur eine geringe Überlagerung der Signale.

Tabelle 1: 1H -NMR-Spektrum von der Komponente **46-Epoxid** ($CDCl_3$, 400 MHz)

Proton	δ [ppm]	J [Hz]
1-H	2.18	br. d,
5-H	3.34	d, $^3J_{5,6} = 2.0$
6-H	1.71	dd, $^2J_{6,5} = 14.6$
6-H'	1.82	d, $^2J = 14.6$
8-H	1.77	br. d,
9- <i>exo</i> -H	1.24	m
9- <i>endo</i> -H	1.43	m
10- <i>exo</i> -H	1.32	m
10- <i>endo</i> -H	1.55	m
11- <i>syn</i> -H	1.62	m
11- <i>anti</i> -H	1.09	m
12-H	2.25	qq, $^3J_{12,13;12,14} = 7.1$
2-Me	0.99	s
7-Me	0.83	s
13-Me	0.92	d, $^3J_{13,12} = 7.1$
14-Me	0.91	d, $^3J_{14,12} = 7.1$

Im 1H -NMR-Spektrum läßt sich bei 3.34 ppm das Dublett eines Protons identifizieren (d, 1H, $^3J = 2.0$ Hz), das aufgrund der chemischen Verschiebung an den Oxiranring gebunden sein dürfte. Das Signal eines einzelnen Protons bei 2.25 ppm mit der Aufspaltung zum septett und $J = 7.1$ Hz, deutet auf eine Isopropylgruppe hin, die auch durch das 1H - 1H -COSY-Spektrum bestätigt wird. Weiterhin wurden im 1H -NMR-Spektrum wie erwartet zwei Methylgruppen gefunden, die im Gegensatz zu dem 1H -NMR-Spektrum der Komponente **46** weiter separiert vorlagen ($\delta_{Me} = 0.83$, s, 3H und 0.99, s, 3H). Im ^{13}C -NMR-Spektrum findet man alle 15 Kohlenstoffatome (Tab. 2), deren CH -Multiplizitäten aus dem DEPT-Spektrum hervorgehen.

Die Kohlenstoffatome mit der chemischen Verschiebungen $\delta_c = 62.75$ und 77.61 ppm sind charakteristisch für den Oxiran-Ring. In Abbildung 30 sind die Teilstrukturen **A-G** angegeben, die aus den HMQC- und ^1H - ^1H -COSY-Daten abgeleitet worden sind.

Tabelle 2: ^{13}C -NMR-Daten der Komponente **46-Epoxid** (CDCl_3 , 100 MHz) und die HMBC-Korrelationen

Position	δ [ppm]	HMBC
C-1	42.62, d	
C-2	52.93, s	
C-3	77.61, s	
O-4		
C-5	62.57, d	
C-6	44.53, t	H-C(6) \rightarrow C(7), C(16)
C-7	48.91, s	
C-8	50.01, d	
C-9	21.45, t	H-C(9) \rightarrow C(7)
C-10	22.31, t	H-C(10) \rightarrow C(2)
C-11	33.26, t	
C-12	24.76, d	H-C(12) \rightarrow C(3), C(5), C(2)
C-13	18.31, q	
C-14	19.69, q	
C-15	13.89, q	H-C(15) \rightarrow C(2), C(1), C(7)
C-16	20.98, q	H-C(16) \rightarrow C(7), C(8), C(6)

Um die aus den ^1H - ^1H -COSY und HMQC-Spektren erhaltenen Teilstrukturen zusammenfügen zu können, wurden ^1H - ^{13}C -long-range NMR-Spektren (HMBC) durchgeführt. Die Auswertung der Korrelationen des HMBC-Spektrums führten, beispielsweise ausgehend von der Methylgruppe ($\delta_{\text{Me}} = 0.99$, 3H, s; Teilstruktur **G**) über das quartäre C-Atom ($\delta_{\text{Cq}} = 52.34$, s, Teilstruktur **B**), zu den Teilstrukturen **A** und **D**. Andererseits werden durch die Konnektivitäten der Methylgruppe ($\delta_{\text{Me}} = 0.84$, 3H, s; Teilstruktur **F**) über das quartäre C-Atom ($\delta_{\text{Cq}} = 48.71$, s; Teilstruktur **C**) die Teilstrukturen **A** und **D** zusammengeführt. Daneben lassen sich die Teilstrukturen **G-B-C** und ebenso **F-C-B** durch HMBC-Korrelationen festlegen. Abbildung 30 zeigt einige ausgewählte HMBC-Korrelationen der Komponente **46-Epoxid**. Anhand dieser aus den NMR-Spektren erhaltenen Informationen wurde die Konstitution dieser Verbindung als 3-Isopropyl-2,7-dimethyl-4-oxatetracyclo[6.2.1.0^{2,7}.0^{3,5}]undecan (**62**) ermittelt (Abb. 30).

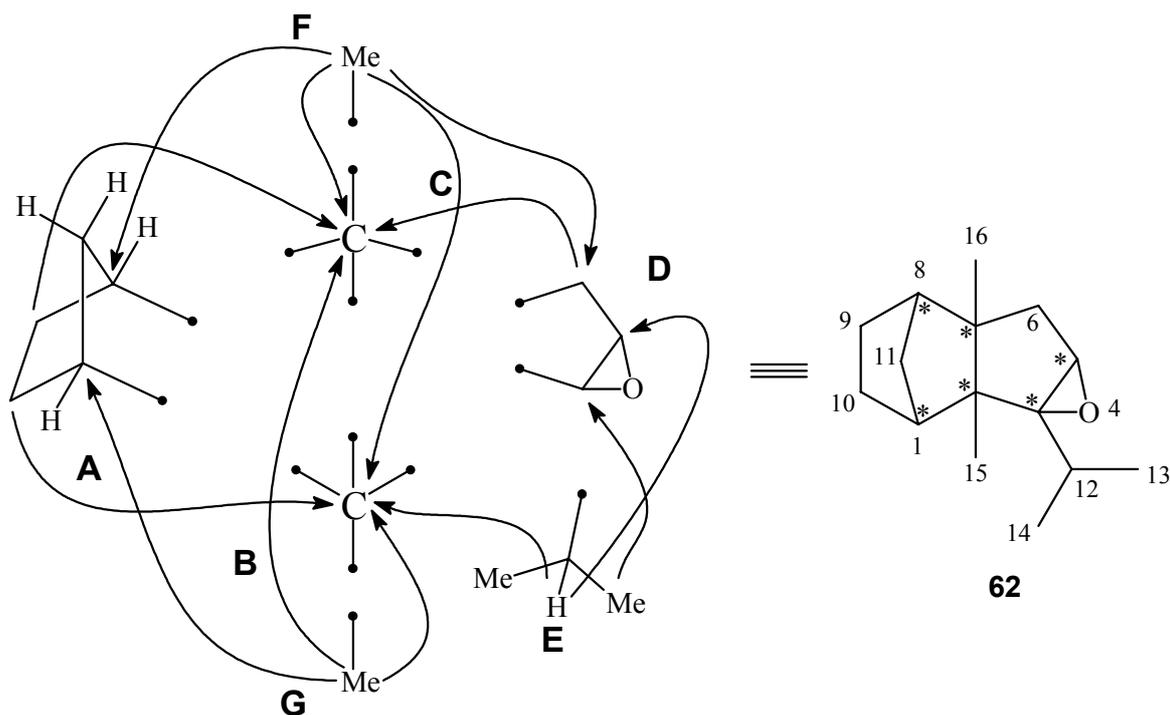


Abb. 30: Durch die HMBC-Korrelationen läßt sich die Konstitution der Komponente **46-Epoxid** als 3-Isopropyl-2,7-dimethyl-4-oxa-tetracyclo[6.2.1.0^{2,7}.0^{3,5}]undecan (**62**) ermitteln.

Die eindeutige Ermittlung der Konstitution der Komponente **46-Epoxid** als 3-Isopropyl-2,7-dimethyl-4-oxa-tetracyclo[6.2.1.0^{2,7}.0^{3,5}]undecan (**62**) führt auch zu der eindeutigen Identifizierung der Komponente **46** aus *P. hybridus*. Da bei der Epoxidierung lediglich die Doppelbindung durch den Sauerstoff ersetzt wird und sonst keine Veränderungen eintreten, kann der Komponente **46** gemäß der Abbildung 31 die Konstitution des 3-Isopropyl-2,6-dimethyl-tricyclo[5.2.1.0^{2,6}]dec-3-en (**46**) zugeschrieben werden.

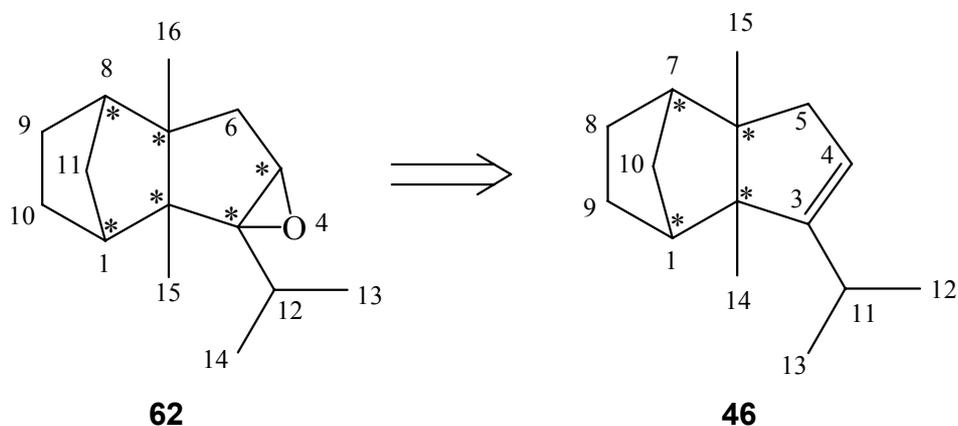


Abb. 31: Die Konstitution der Komponente **46** aus *P. hybridus* wurde als 3-Isopropyl-2,6-dimethyl-tricyclo[5.2.1.0^{2,6}]dec-3-en bestimmt.

Die zur Untersuchung der relativen Konfiguration aufgenommenen NOESY- und ROESY-Spektren der Verbindung **46** zeigen eine Anzahl von NOE-Wechselwirkungen, die die in der Abbildung 32 angegebene relative Konfiguration bestätigen. Die NOE-Kontakte zwischen den Methylgruppen C(14) und C(15) ($\delta_{\text{Me}} = 0.96, 3\text{H, s}$ und $0.97, 3\text{H, s}$) und die *endo*-Protonen der Ethylenbrücke C(8)-C(9) ($\delta_{\text{H}} = 1.56, 1\text{H, m}$ und $1.56, 1\text{H, m}$) beweisen eine *exo*-Konfiguration der Methylgruppen C(14) und C(15). Dadurch ergeben sich die Konfigurationen an C(1) ($\delta_{\text{C}} = 45.75, \text{d}$) und C(7) ($\delta_{\text{C}} = 51.39, \text{d}$) automatisch und werden durch die NOE-Kontakte des *anti*-Protons der Methylenbrücke C(10) ($\delta_{\text{H}} = 1.00, 1\text{H, dt}$) mit den *exo*-Protonen der Ethylenbrücke C(8)-C(9) bzw. des *syn*-Protons C(10) ($\delta_{\text{H}} = 1.23, 1\text{H, m}$) mit den Protonen des AB-Systems C(5) ($\delta_{\text{H AB-sys.}} = 2.22, 2\text{H, dd AB}$) bestätigt.

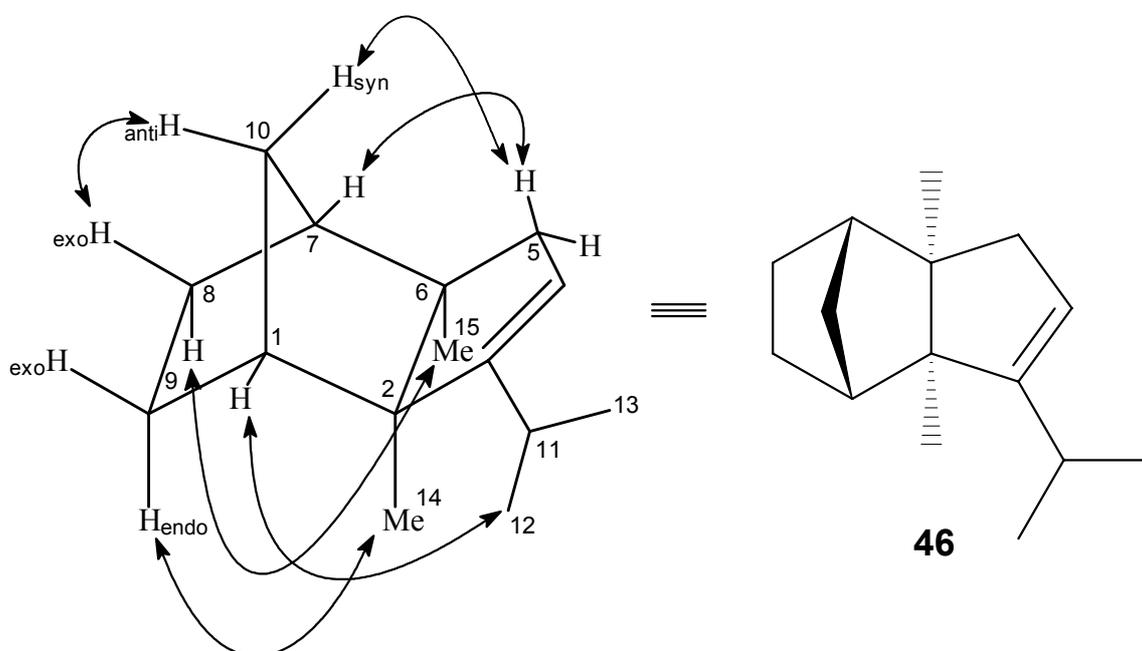


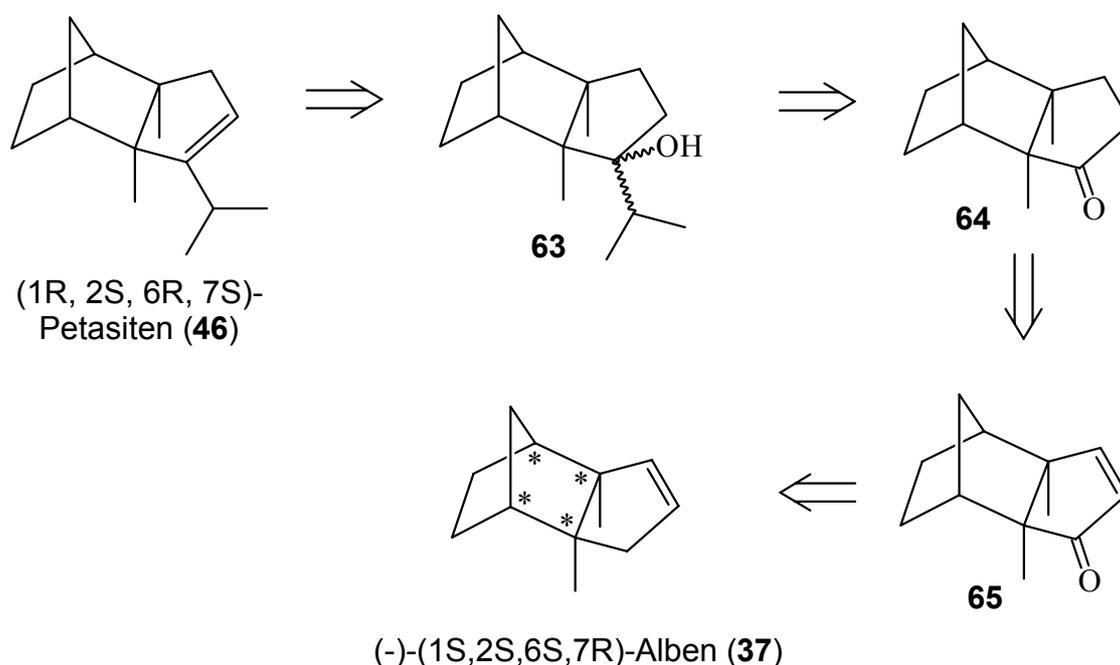
Abb. 32: Ausgewählte NOESY-Korrelationen und relative Konfiguration von Petasiten (**46**) aus *Petasites hybridus*.

Aufgrund dieser Befunde kann für die Verbindung 3-Isopropyl-2,6-dimethyl-tricyclo-[5.2.1.0^{2,6}]dec-3-en (**46**) die relative Konfiguration (1R*, 2S*, 6R*, 7S*) angegeben werden.

Dieser tricyclische Kohlenwasserstoff, welcher den Namen **Petasiten 46** [von *Petasites spp.*] erhält, ist der erste bekannte Sesquiterpenkohlenwasserstoff mit dem Tricyclo-[5.2.1.0^{2,6}]decan-Grundgerüst des erstmals 1962 aus *Petasites albus* isolierten Albens (**37**).^[115]

4.2.4.1 Synthese von Petasiten (46) und Bestimmung der absoluten Konfiguration

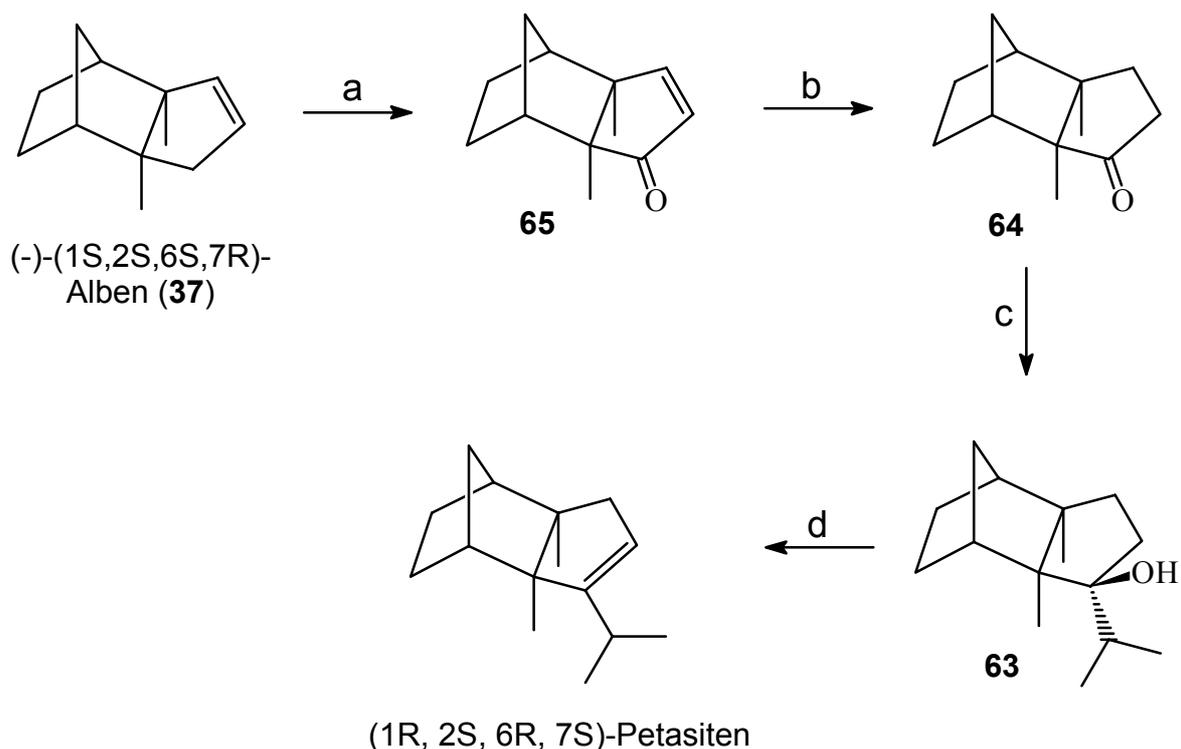
Die Frage nach der absoluten Konfiguration von (-)-Petasiten (46) konnte ebenfalls beantwortet werden. (-)-Petasiten (46) hat vier Asymmetriezentren, deren Konfigurationen nicht voneinander unabhängig sind, sondern die eine durch die Ringgeometrie festgelegte Beziehung zueinander aufweisen. Da diese vier Stereozentren auch in (-)-Alben (37) in der gleichen Weise festgelegt sind, läßt sich die Bestimmung der absoluten Konfiguration des (-)-Petasitens (46) ausgehend von (-)-Alben (37) aus *P. hybridus* mit bekannter absoluter Konfiguration (-)-(1S, 2S, 6S, 7R)-2,6-dimethyl-tricyclo[5.2.1.0^{2,6}]dec-3-en (37) über eine vierstufige Synthese durchführen. Das Schema 5 zeigt eine retrosynthetische Analyse.



Schema 5: Retrosynthese von Petasiten

Wie aus der retrosynthetischen Analyse von Petasiten (46) hervorgeht, werden die Stereozentren des (-)-Albens (37) während der ganzen Synthese keinen Veränderungen unterworfen. Dadurch wird die Synthese des Petasitens (46) mit der absoluten Konfiguration (1R, 2S, 6R, 7S) möglich. Anschließend kann das auf diesem Weg hergestellte (1R, 2S, 6R, 7S)-Petasiten mit dem aus *P. hybridus* isolierten (-)-Petasiten (46) mittels enantioselektiver Gaschromatographie verglichen werden, um die absolute Konfiguration zu bestimmen.

Zunächst wurde für die Synthese des Petasitens ca. 10 mg (-)-Alben (**37**) aus *P. hybridus* mittels präparativer Gaschromatographie isoliert und NMR-spektroskopisch charakterisiert. (-)-Alben (**37**) wurde erstmals 1962 aus *P. albus* von Herout et al.^[115] isoliert und aufgeklärt. Baldwin et al.^[116] konnten die absolute Konfiguration von (-)-Alben (**37**) endgültig als (1S, 2S, 6S, 7R)-2,6-dimethyl-tricyclo[5.2.1.0^{2,6}]dec-3-en (**37**) bestimmen.



(a): PDC, Pyridin (b): H₂/Pd, Et₂O (c): *i*PrLi, Hexan (d): H⁺

Schema 6:

Im ersten Schritt wird (-)-Alben (**37**) mittels allylischer Oxidation in (-)-Albenon (**65**) überführt. Während die Oxidation mit Selendioxid in Ethanol nicht zum Albenon (**65**) führte, lieferte die Reaktion mit Pyridiniumdichromat (PDC) in Pyridin in 90 %-iger Ausbeute die Verbindung (**65**). Die anschließende Hydrierung von **65** lässt sich katalytisch mit 15%-igem Palladium auf Aktivkohle in Diethylether durchführen. Das Produkt (-)-Albanon (**64**) entsteht in bis zu 99 %-iger Ausbeute. Den nächsten Schritt bei der Synthese bildet die nucleophile Addition eines Metallorganyls an die Carbonylverbindung (**64**). Diese Reaktion erwies sich unerwartet als schwierigster Schritt bei der Synthese.

Zunächst blieben Versuche der nukleophilen Addition des Grignard-Reagenzes Isopropylmagnesiumchlorid am Carbonylkohlenstoff (**64**) in verschiedenen Lösungsmitteln erfolglos. Es ist bekannt, daß sperrige Grignard-Verbindungen mit sterisch gehinderten Ketonen nicht zum gewünschten Produkt führen. Als *besseres* Nucleophil addiert sich das Li-Analogon der Grignard-Verbindung an sterisch gehinderte Carbonylverbindungen oft ohne Probleme. Aufgrund dieser Tatsachen wurde **64** als nächstes mit Isopropyllithium in Hexan umgesetzt. Diese Reaktion lieferte das Petasitanol (**63**) jedoch in äußerst schlechten Ausbeuten (ca. 17% nach GC-Analyse). Eine Erklärung für diese unerwartet geringe Ausbeute liegt darin, daß die Carbonylverbindung sowohl von der *re*- als auch von der *si*-Seite stark sterisch gehindert ist.

Anschließende Dehydratisierung des Petasitanols (**63**) mit Amberlyst® 15 in Hexan führt, wie durch GC und GC-MS-Analysen bestätigt wird, ausschließlich zu dem gewünschten Produkt Petasiten (**46**). Da das Petasitanol (**63**) leider nicht in ausreichender Menge synthetisiert werden konnte, ließ sich auch **46** selbst weder für NMR-spektroskopische Untersuchungen noch für Drehwertmessungen in genügender Menge herstellen.

Aus diesem Grund steht eine definitive Beweisführung der absoluten Konfiguration von (-)-Petasiten (**46**) aus *P. hybridus* noch aus. In Abbildung 33 ist die enantioselektive kapillargaschromatographische Untersuchung des synthetischen Petasiten (**46**) mit der absoluten Konfiguration (1R, 2S, 6R, 7S) und des (-)-Petasitens (**46**) aus *P. hybridus* an 6-T-2,3-Me-β-CD dargestellt. Wie aus den Trennergebnissen dieser Cyclodextrin-Phase und zwei weiteren Cyclodextrin-Phasenⁱ deutlich wird, handelt es sich entweder um Verbindungen mit identischen Konfigurationen, also (-)-Petasiten (**46**) mit der absoluten Konfiguration (1R, 2S, 6R, 7S), oder aber die beiden Enantiomere des **46** können nicht getrennt werden. Erfahrungsgemäß läßt sich mit diesen Cyclodextrin-Phasen ein hoher Prozentsatz der Sesquiterpenkohlenwasserstoffe in ihre Enantiomere trennen. Angesichts dieser Tatsache wird für das (-)-Petasiten (**46**) die absolute Konfiguration (1R, 2S, 6R, 7S) sehr wahrscheinlich.

ⁱ Für die enantioselektiven kapillargaschromatographischen Untersuchungen wurden neben der in Abb. 33 gezeigten 6-T-2,3-Me-β-CD-Phase die 2,6-Me-3-Pe-β-CD- und 2,6-Me-3-Pe-γ-CD-Phase verwendet.

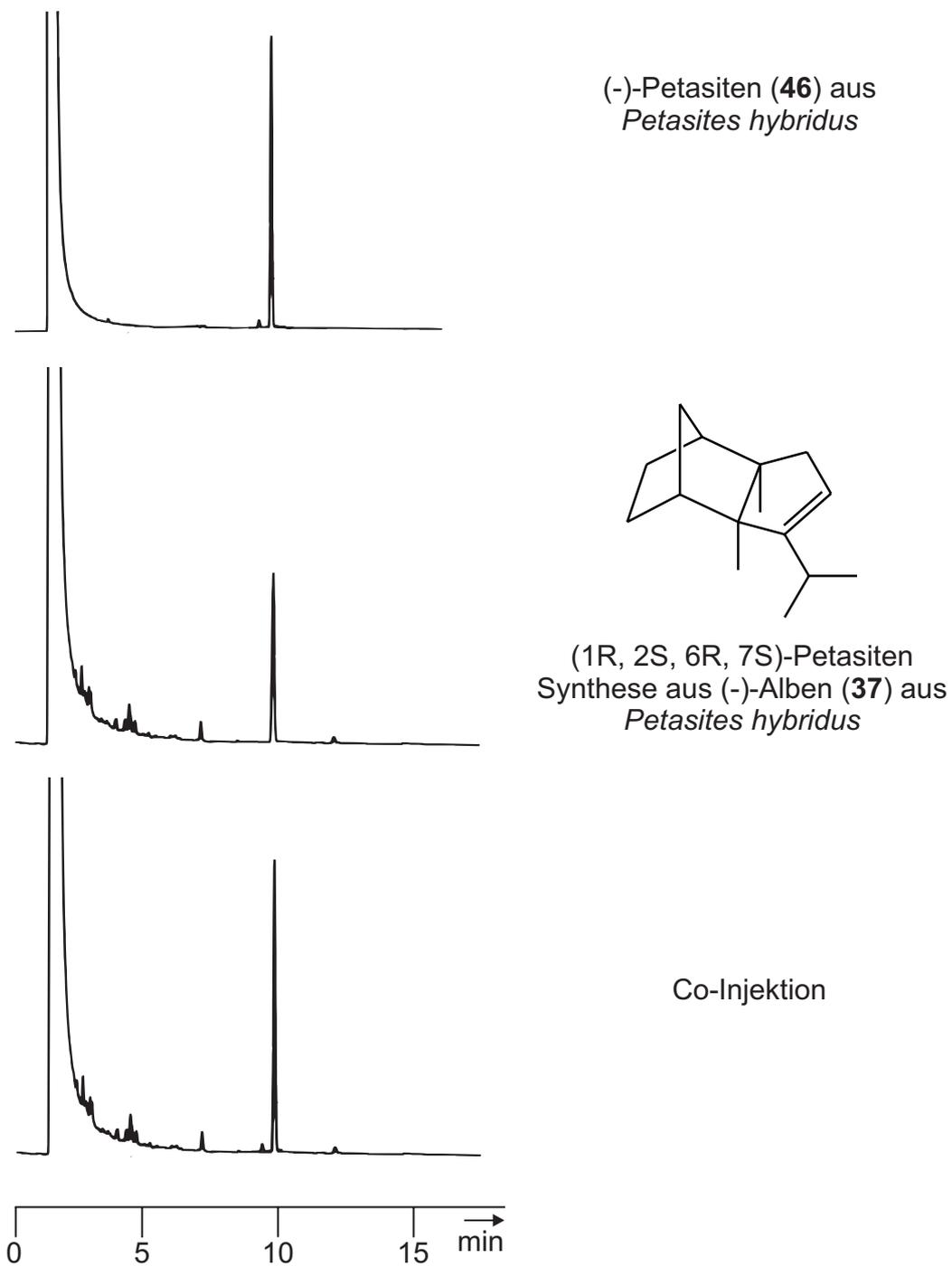
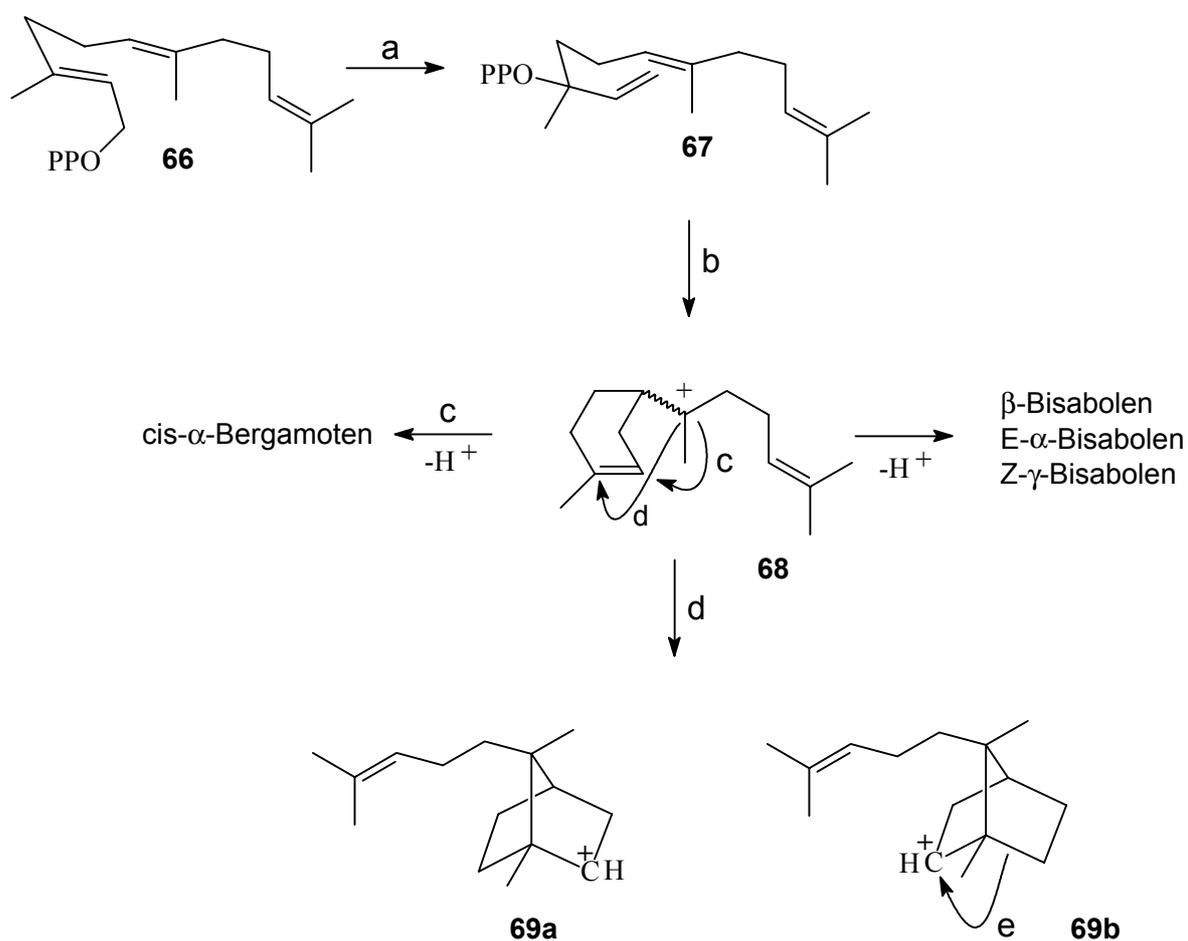


Abb. 33: Bestimmung der absoluten Konfiguration von Petasiten (**46**) aus *Petasites hybridus* mittels enantioselektiver Kapillargaschromatographie (50 % 6-T-2,3-Me- β -CD in OV-1701 bei 115 °C isoth.).

4.2.4.2 Hypothetische Biogenese von (-)-Petasiten (46)

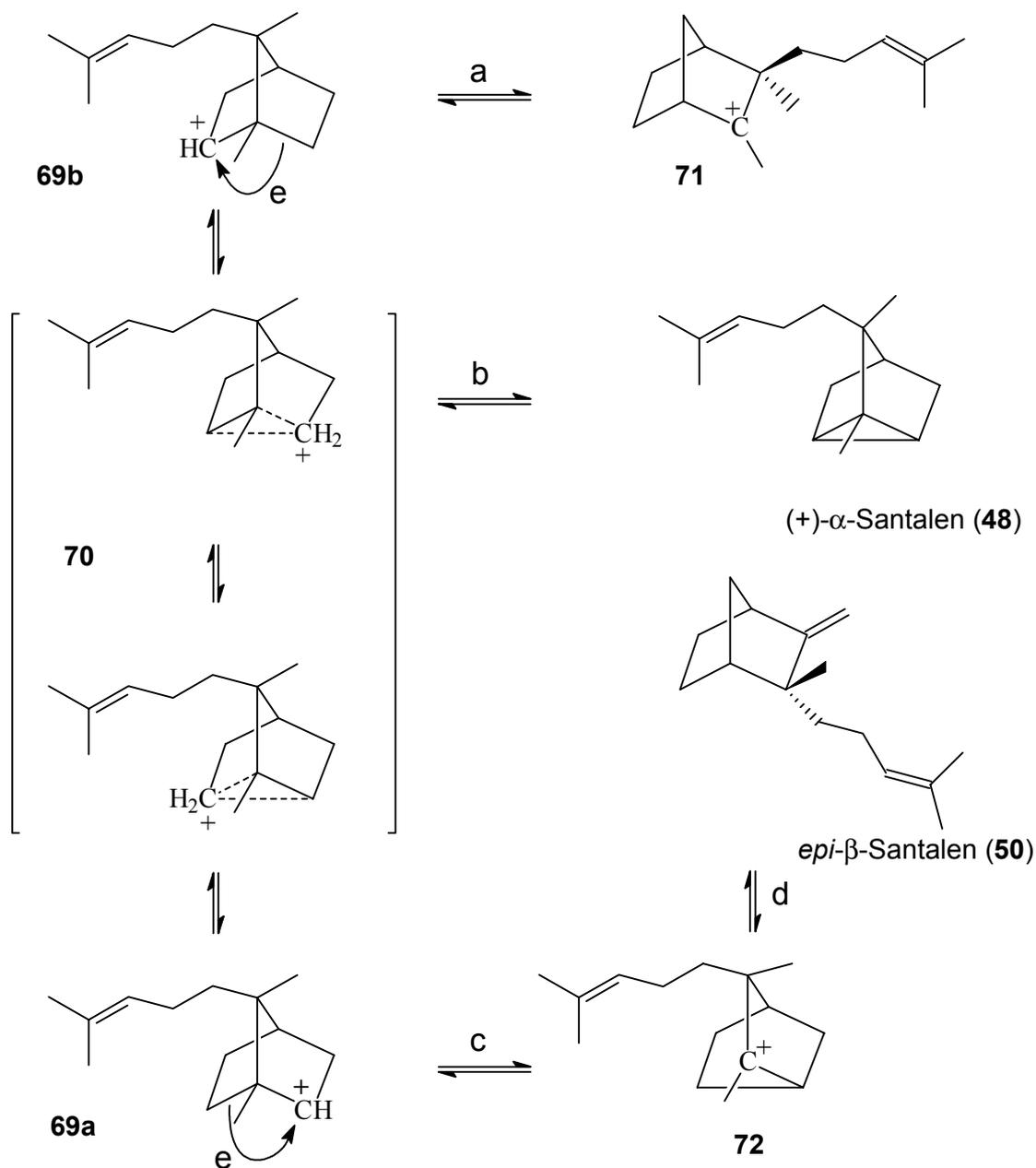
Für die Biogenese des neuen Sesquiterpengerüsts von Petasitens (46) läßt sich folgender hypothetische Weg (Schema 6a-c) diskutieren. Grundsätzlich kann davon ausgegangen werden, daß die Petasitane Cyclisierungsprodukte der Vorstufe des Farnesyldiphosphat (66) bzw. des aus sterischen Gründen anzunehmenden Nerolidyldiphosphat (67) sind. In der folgenden Ausführung (Schema 6a-c) wird gezeigt, wie das (+)- α -Santalens (48) – welches auch im ätherischen Öl von *P. hybridus* vorkommt – als direkter Precursor für die Petasiten-Biogenese dienen könnte. Die absolute Konfiguration von 46 ließe sich ebenfalls mit dieser Annahme in Einklang bringen.



(a): Isomerisierung -OPP, (b): Cyclisierung zum Bisabolyli-Kation, -OPP (c): „Markownikoff-Cyclisierung“ zum Bicyclo-[3.1.1]-heptan-Derivat, (d): „anti-Markownikoff-Cyclisierung“ zum Bicyclo[2.2.1]heptan-Derivat, (e): Wagner-Meerwein-Umlagerung

Schema 6a

Die durch „anti-Markownikoff-Cyclisierung“ entstandenen Bicyclo[2.2.1]heptan-Derivate **69a** und **69b** können unter Hydrid-Verschiebung ineinander überführt werden. Die Deprotonierung dieser nichtklassischen Carbeniumionen (**70**) liefert (+)- α -Santalene (**48**)ⁱ.



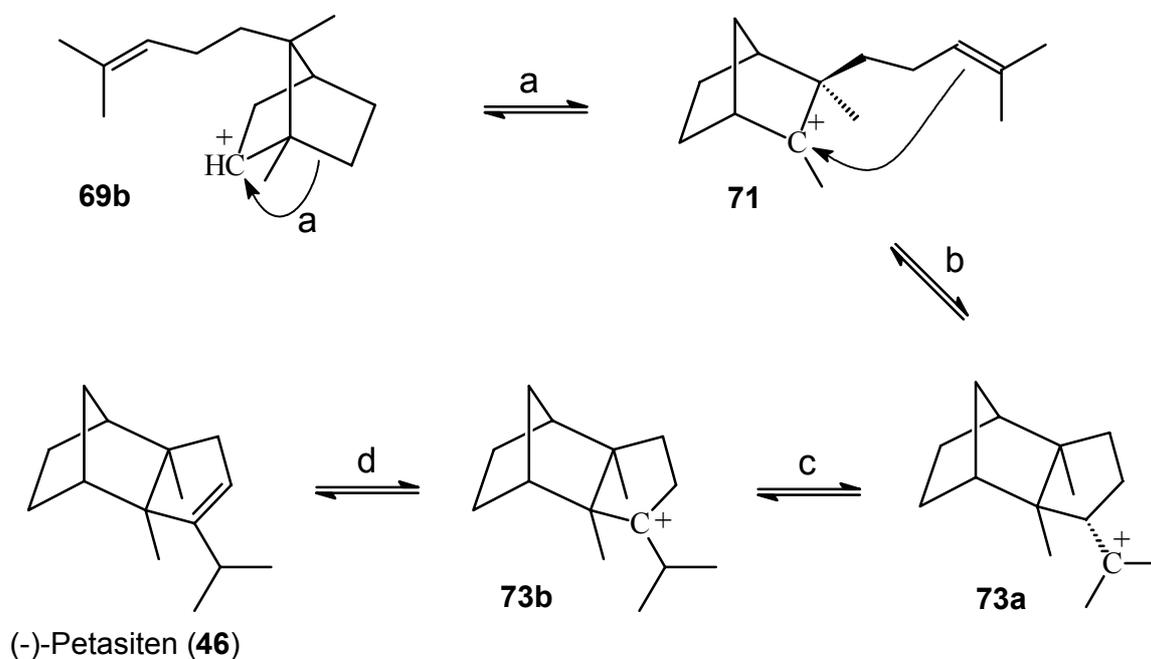
(a): Wagner-Meerwein-Umlagerung, (b): Deprotonierung, (c): Wagner-Meerwein-Umlagerung, (d): Deprotonierung, (e): Wagner-Meerwein-Umlagerung

Schema 6b

ⁱ (+)- α -Santalene (**48**) wurde durch GC- und GC-MS-Untersuchungen mit einer Referenzsubstanz, isoliert aus Patchouliöl, identifiziert.

Das Kation (**69a**) kann durch eine Wagner-Meerwein-Umlagerung in das Carbeniumion (**72**) umgewandelt werden, welches unter einer Deprotonierung zum *epi*- β -Santalol (**50**) führt (Schema 5b). Das *epi*- β -Santalol (**50**) kommt ebenfalls als Bestandteil des ätherischen Öles von *Petasites hybridus* vor und wurde durch GC- und GC-MS-Untersuchungen und Vergleich mit einer authentischen Probe nachgewiesen.

Durch eine analoge Wagner-Meerwein-Umlagerung des Kations (**69b**) entsteht das Carbeniumion **71**, welches nach einer Deprotonierung β -Santalol oder durch eine „Markownikoff-Cyclisierung“ *exo*-konfigurierten Petasiten-Kation (**73a**) liefern könnte. Das gebildete Petasiten-Kation (**73a**) kann durch eine 1,2-Hydrid-Verschiebung unter Aufhebung des Chiralitätszentrums an C(3) in das Carbeniumion (**73b**) übergehen, welches sich unter Deprotonierung zum (-)-Petasiten (**46**) stabilisieren könnte (Schema 6c).



(a): Wagner-Meerwein-Umlagerung, (b): „Markownikoff-Cyclisierung“ zum Petasiten-Kation, (c): 1,2-Hydrid-Verschiebung, (d): Deprotonierung

Schema 6c

4.2.5 Isolierung der Komponente 43– Pethybren – aus *Petasites hybridus*

Die Isolierung der Komponente **43** (Massenspektrum Abb. 34) war äußerst diffizil. Im ersten Trennschritt wurde das ätherische Öl, wie bei der Isolierung von (-)-Petasiten (**46**) einer Trockensäulenchromatographie unterzogen. Die Kohlenwasserstoff-Fraktion wurde anschließend mittels präparativer Gaschromatographie an der Phase 2,6-Me-3-pe- β -CD fraktioniert. Nach diesen beiden Trennschritten konnte die Komponente **43** bis auf 21% angereichert werden (Fraktion *A*). Eine weitere Auftrennung der Fraktion *A* mittels präparativer Gaschromatographie war jedoch, trotz Verwendung verschiedener Cyclodextrin-Phasen, nicht mehr möglich. So wurde für die weitere Auftrennung der Fraktion *A* silbernitratimprägnierte Dünnschichtplatten verwendet. Die anschließenden GC- und GC-MS-Analysen zeigten, daß die Komponente **43** nur im Verhältnis 3:2 zu einer weiteren Verbindung angereichert werden konnte (Fraktion *SilA*). Dies machte einen weiteren Aufreinigungsschritt unumgänglich: die Fraktion *SilA* wurde erneut gaschromatographisch an der Phase 6-T-2,3 Me- β -CD aufgetrennt. Etwa 4 mg der Komponente **43** konnten nach all diesen Trennschritten mit einer Reinheit von 95 % für die NMR-spektroskopischen Untersuchungen bereitgestellt werden (Abb. 35).

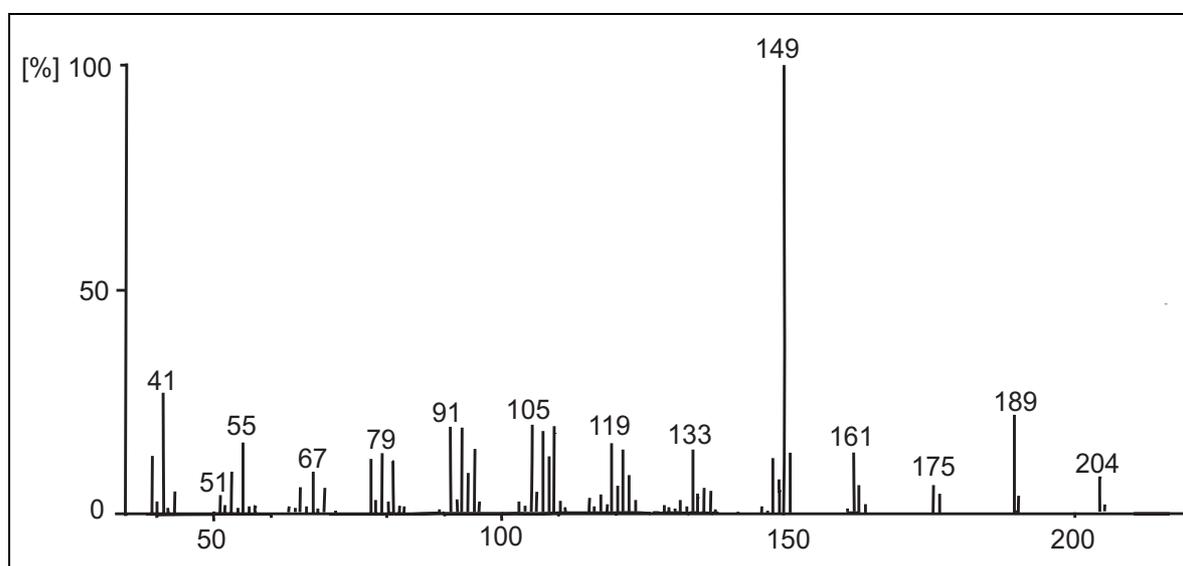


Abb. 34: Massenspektrum der Komponente **43** – Pethybren – aus *Petasites hybridus* (GC-MS; EI 70 eV).

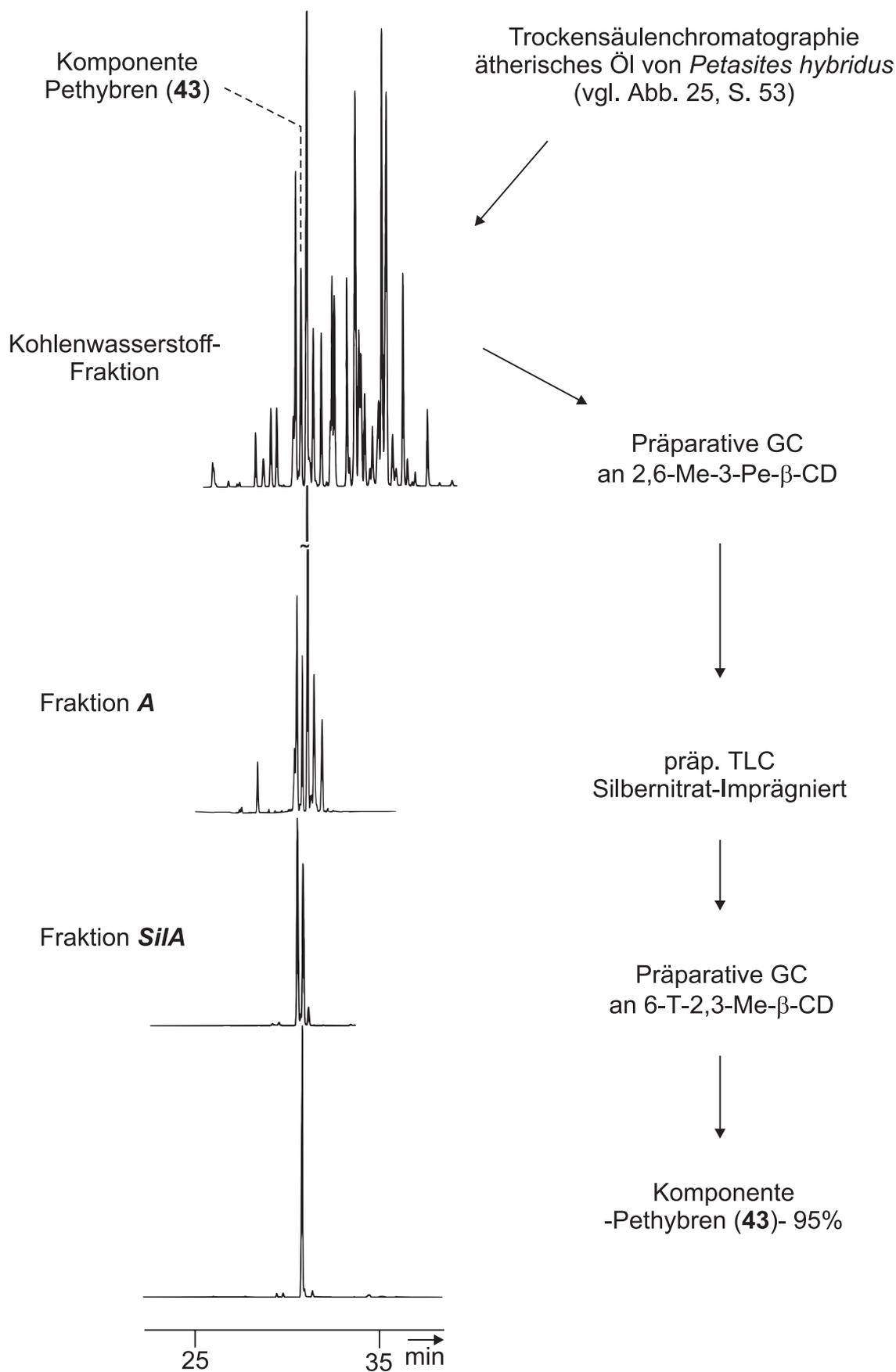


Abb. 35: Isolierung von Komponente 43 -Pethyren - aus *Petasites hybridus* (Kapillar GC-Untersuchungen an 25 m fused-silica-Kapillare CpSil-5, 50 °C, 3 °C/min, 230 °C).

4.2.6 Strukturaufklärung von Pethybren (43)

Nach der Isolierung wurde die Komponente **43** einer vollständigen NMR-Analyse unterzogen. Die ersten Interpretationen der ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren bestätigen die Molmasse 204 der Komponente **43** und zeigen Signale ($\delta_{\text{H}} = 4.80, 1\text{H}, \text{s}$, und $5.04, 1\text{H}, \text{s}$ und $\delta_{\text{C}} = 99.17, \text{t}$, $162.37, \text{s}$) für nur eine Doppelbindung. Demnach handelt es sich wieder um einen tricyclischen Sesquiterpen-Kohlenwasserstoff.

Eine eingehende Analyse der ^1H -NMR-Daten zeigt Protonen-Signale für eine exocyclische Doppelbindung ($\delta_{\text{H}} = 4.80, 1\text{H}, \text{s}$ und $5.04, 1\text{H}, \text{s}$) und drei Methylgruppen. ($\delta_{\text{Me}} = 1.09, 3\text{H}, \text{d}$, $1.26, 3\text{H}, \text{s}$ und $1.31, 3\text{H}, \text{s}$). Aus den weiteren Protonen-Signalen lassen sich aufgrund der starken Überlagerung kaum Spinsysteme erkennen, die für die Strukturaufklärung verwendbar wären (Tab. 3, S. 75). Aus den ^{13}C - und DEPT-Spektren geht hervor, daß die Komponente **43** drei Methylgruppen ($\delta_{\text{C}} = 17.90, 19.53$ und 24.89 ppm), sieben Methylengruppen ($\delta_{\text{C}} = 21.26, 27.59, 30.31, 40.14, 44.00, 48.66$ und 99.17 ppm), eine Methingruppe ($\delta_{\text{C}} = 37.03$), sowie vier quartäre Kohlenstoffatome ($\delta_{\text{C}} = 45.60, 48.95, 62.32$ und 162.37 ppm) enthält (Tab. 4, S.75). Die Auswertungen der NMR-Daten aus ^1H - ^1H -COSY- und HMQC-Spektren liefern in Zusammenhang mit ^1H - und ^{13}C -Daten folgende Teilstrukturenⁱ **A-F** (Abb. 36).

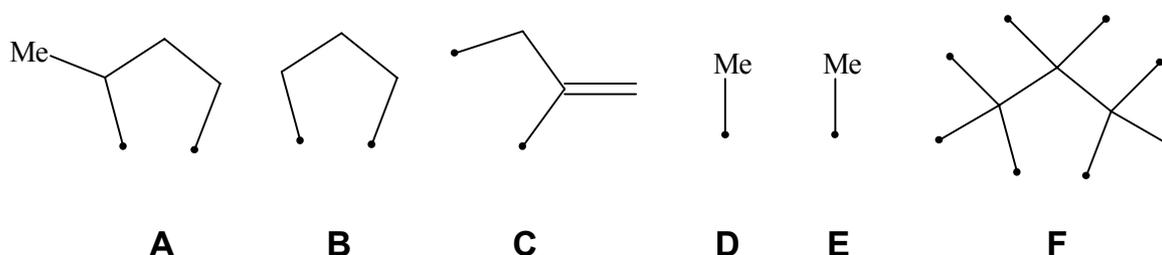


Abb. 36: Die Teilstrukturen der Komponente **43** – **Pethybren** – aus *Petasites hybridus*

Durch die Auswertung des ^1H - ^{13}C -long-range NMR-Spektrums lassen sich die Teilstrukturen zusammenfügen. In der Abbildung 37 wurden einige wichtige HMBC-Konnektivitäten von **43** dargestellt (siehe Tab. 4, S. 72).

Anhand dieser Informationen wurde für die Komponente **43** die Struktur 2,5,8-Trimethyl-7-methylen-tricyclo[6.3.0.0^{1,5}]undecan angenommen (Abb. 37).

ⁱ Die Teilstruktur **F** läßt sich nicht in dieser Form aus den NMR-Spektren ^1H -, ^1H - ^1H -COSY-, ^{13}C -, DEPT-, HMQC- und HMBC-Spektren ablesen, kann aber nach dem Ausschlußprinzip aus den vorhandenen Teilstrukturen **A-E** angenommen werden.

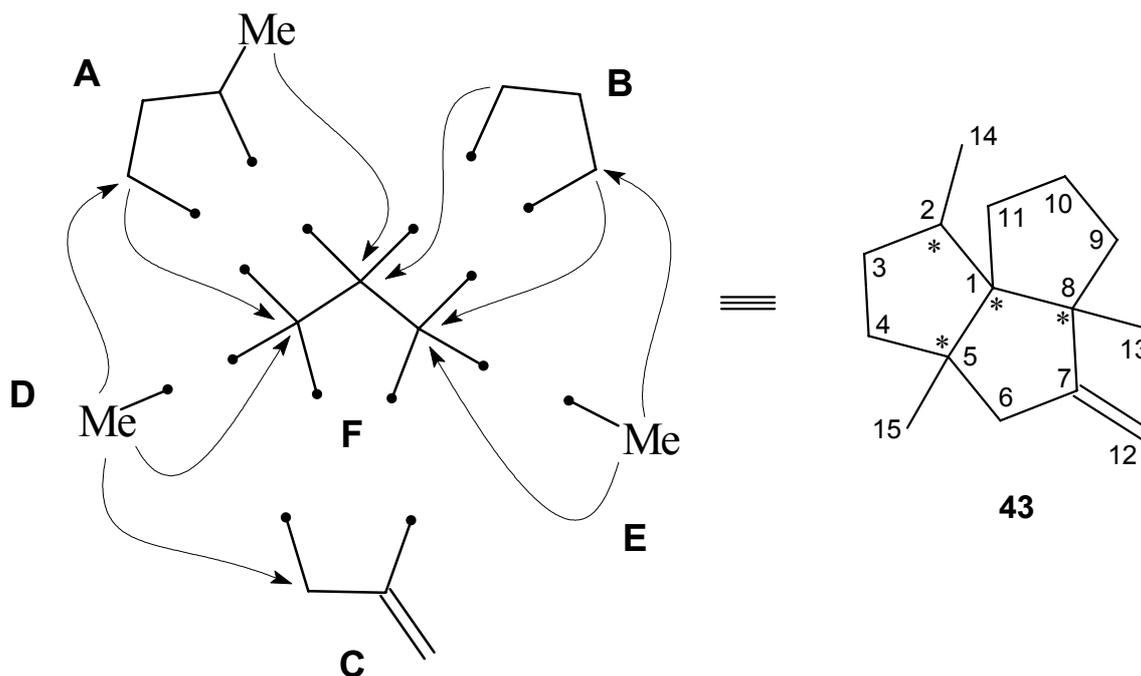


Abb. 37: Ausgewählte HMBC-Konnektivitäten, die die Komponente **43** als 2,5,8-Trimethyl-7-methylen-tricyclo[6.3.0.0^{1,5}]undecan – Pethyben – charakterisieren.

Um die Struktur der Verbindung 2,5,8-Trimethyl-7-methylen-tricyclo-[6.3.0.0^{1,5}]-undecan zu verifizieren, wurde die Komponente **43** als Mischfraktion (Fraktion A, 240 mg, 29.7%, vgl. Abb. 35, S. 71) einer INADEQUATE-NMR-Messung unterzogen. Aufgrund der geringen Signalbreite der ¹³C-Kerne kann ein INADEQUATE-Experiment mit einer angereicherten Probe durchaus sinnvoll sein. Aus dem INADEQUATE-Spektrum können die relevanten ¹³C-¹³C-Konnektivitäten durch die ¹³C-Verschiebungen der reinen Probe bestimmt und die Konstitution der angenommenen Struktur bewiesen werden. Da nach einer 60-stündigen Messung der Probe mit dem INADEQUATE-Pulsprogramm keine ¹³C-¹³C-Konnektivitäten zu sehen waren, wurde die Probe für weitere 60 Stunden mit dem Pulsprogramm INEPT-INADEQUATE gemessen. Im Gegensatz zum INADEQUATE-NMR-Spektrum ist für die Analyse des INEPT-INADEQUATE-NMR-Spektrums die genaue Zuordnung der Protonensignale von elementarer Bedeutung. Da die Zuordnung der Protonensignale bei der gemessenen Probe kaum möglich war, konnte durch die Auswertung des INEPT-INADEQUATE-NMR-Spektrums kein eindeutiger Strukturbeweis geführt werden. Jedoch bestätigt die Analyse des INEPT-INADEQUATE-NMR-Spektrums nach dem Ausschlußprinzip die angenommene Struktur 2,5,8-Trimethyl-7-methylen-tricyclo[6.3.0.0^{1,5}]undecan.

Tabelle 3: ^1H -NMR-Spektrum der Komponente **43 - Pethybren** - (C_6D_6 , 500 MHz)

Proton	δ [ppm]	J [Hz]
2-H	1.89	q, $^3J = 7.1$
3-H	1.33	m
3-H'	2.07	m
4-H	1.50	m
4-H'	1.68	m
6-H u. 6-H'	1.63	br. s u. br. s
9-H	1.60	m
9-H'	1.74	m
10-H u. 10 H'	1.78	m
11-H	2.14	m
11-H'	1.41	m
12-H	4.80	br. s
12-H'	5.04	br. s
2-Me	1.09	d, $^3J = 7.1$
5-Me	1.31	s
8-Me	1.26	s

Tabelle 4: ^{13}C -NMR-Daten der Komponente **43 - Pethybren** - (C_6D_6 , 126 MHz) und einige HMBC-Korrelationen

Position	δ [ppm]	HMBC
C-1	62.32, s	
C-2	37.03, d	
C-3	27.59, t	
C-4	40.14, t	H-C(4) \rightarrow C(2), C(5), C(3)
C-5	24.89, q	
C-6	48.66, q	H-C(6) \rightarrow C(5), C(7), C(8)
C-7	99.17, t	
C-8	48.95, s	
C-9	44.00, t	H-C(9) \rightarrow C(8), C(10)
C-10	21.26, t	
C-11	30.31, t	H-C(11) \rightarrow C(1)
C-12	162.37, t	
Me-C(2)	17.90, q	H-C(14) \rightarrow C(1), C(2), C(3)
Me-C(8)	19.53, q	H-C(13) \rightarrow C(8), C(9), C(7)
Me-C(5)	24.89, q	H-C(15) \rightarrow C(4), C(5), C(6)

Einen weiteren Hinweis auf die angenommene Triquinanstruktur des (-)-2,5,8,-Trimethyl-7-methylen-tricyclo-[6.3.0.0^{1.5}]-undecans (**43**) sowie die Möglichkeit zur Aufklärung der absoluten Konfiguration liefert die selektive Umlagerung zu dem erstmalig aus *Isocoma wrightii*^[111] und *Berkheya radula*^[117] isolierten (-)- α -Isocomen (**45**). Zunächst folgt jedoch die Bestimmung der relativen Konfiguration an den Stereozentren C(1), C(2), C(5) und C(8). Mit Hilfe eines NOESY-Spektrums (Abb. 38) lassen sich folgende NOESY-Wechselwirkungen feststellen (Abb. 39).

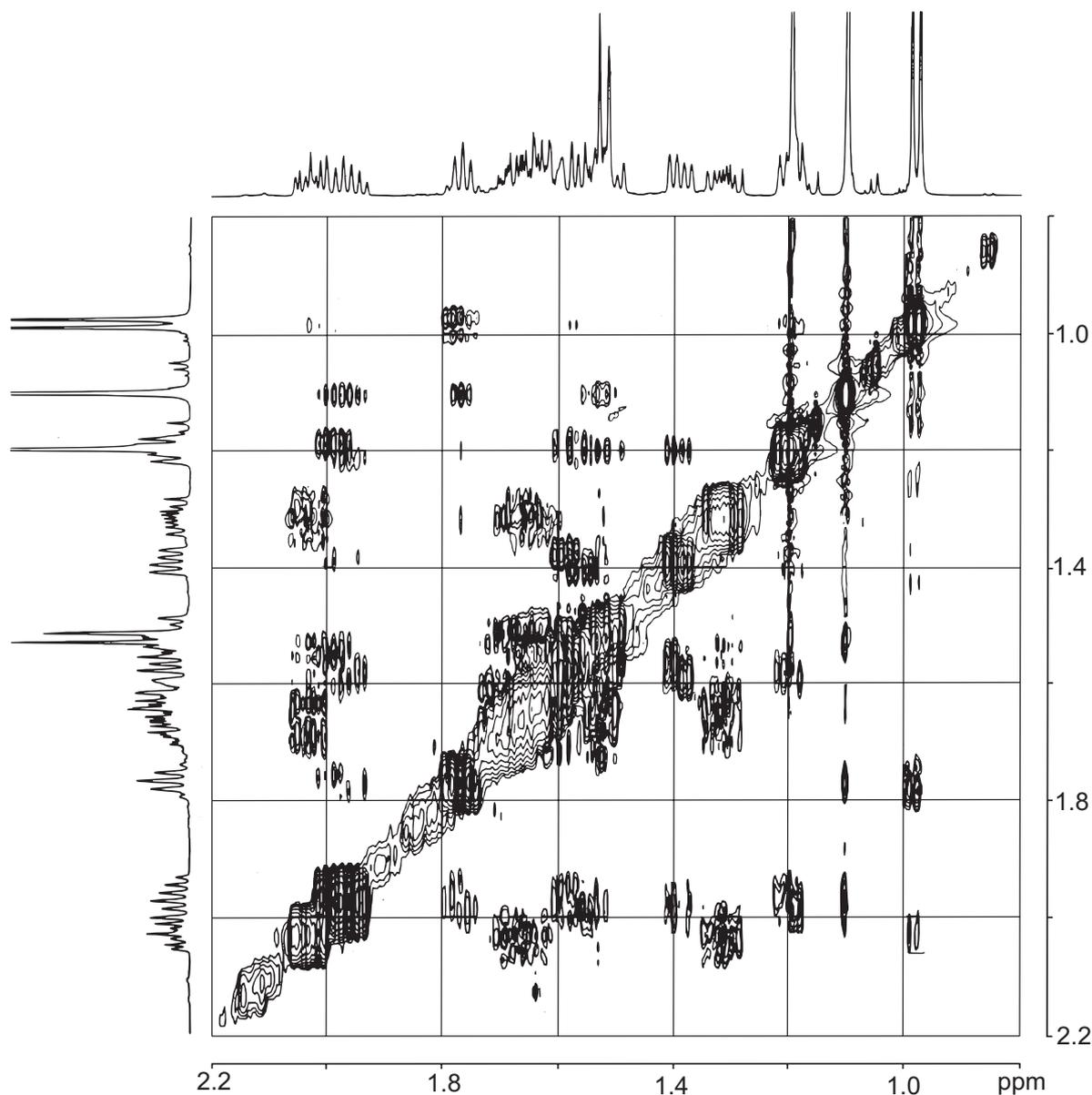


Abb. 38: Ausschnitt aus dem NOESY-Spektrum

Die NOESY-Kontakte zwischen den Methylprotonen C(15) und den Methylenprotonen C(10) beweisen die *cis*-Anordnung dieser Strukturelemente. Die NOESY-Wechselwirkungen des Methinprotons C(2) mit den Methylprotonen C(13) weist auf eine

anti-Konfiguration der Methylgruppe C(14) zu der Methylgruppe C(13) hin. Anhand dieser Daten konnte die relative Konfiguration der vier Stereozentren als (1S*, 2R*, 5S*, 8S*) aufgeklärt werden.

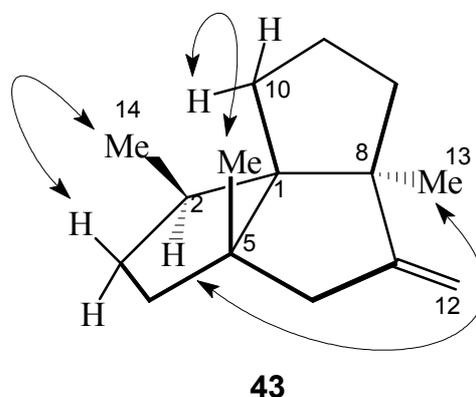


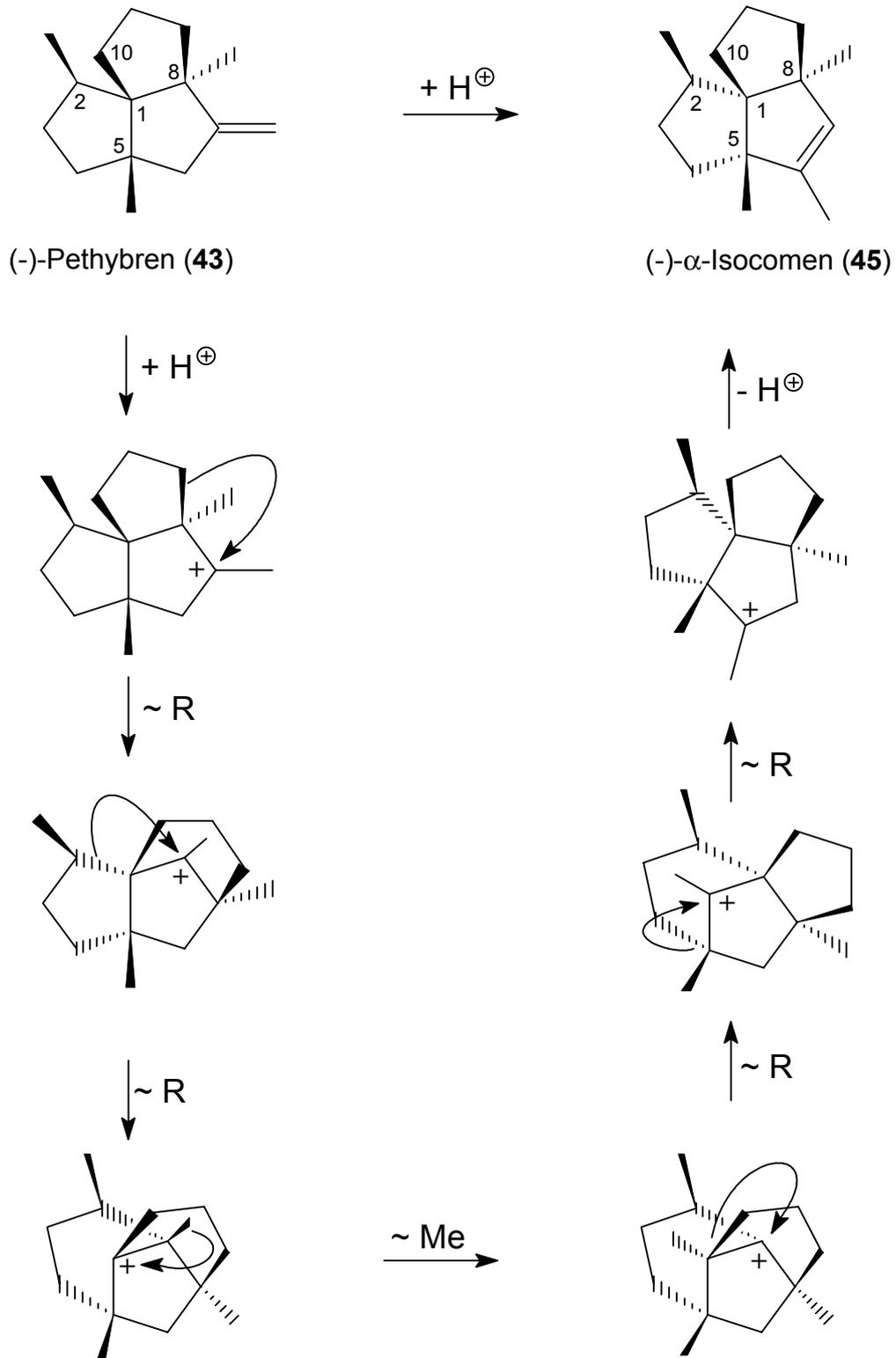
Abb. 39: Durch die NOESY-Kontakte wurde die relative Konfiguration der Verbindung 2,5,8-Trimethyl-7-methylen-tricyclo[6.3.0.0.^{1,5}]undecan als (1S*, 2R*, 5S*, 8S*) – **Pethybren (43)** – bestimmt.

Dieser Triquinan-Sesquiterpenkohlenwasserstoff, welcher den Namen **Pethybren (43)** erhält, ist das erste bekannte Sesquiterpen mit der relativen Konfiguration (1S*, 2R*, 5S*, 8S*) und dem Grundgerüst des 2,5,7,8-Teramethyl-tricyclo[6.3.0.0.^{1,5}]undecan und stellt ein Strukturisomer des 2,5,6,8-Tetramethyl-tricyclo[6.3.0.0.^{1,5}]undecan-Grundgerüsts der Isocomene dar.

4.2.6.1 Bestimmung der absoluten Konfiguration von (-)-Pethybren (43)

Die absolute Konfiguration von **43** konnte ebenfalls bestimmt werden. Wie schon oben erwähnt, läßt sich Pethybren selektiv zum α -Isocomen **45** umlagern. Die Co-injektion dieses Umlagerungsprodukts und (-)- α -Isocomen (**45**) aus *Silphium perfoliatum* zeigt bei der enantioselektiven GC (6-TBDMS-2,3-Me- β -CD-Phase) die Identität dieser Verbindungen. (-)- α -Isocomen (**45**) wurde aus *Silphium perfoliatum* isoliert und die absolute Konfiguration 1993 durch eine stereoselektiven Umlagerungsreaktion zum (-)-Modhephen (**44**) bestimmt.^[118] Außerdem gelang die Bestimmung der absoluten Konfiguration von (-)- α -Isocomen (**45**) durch asymmetrische Synthese.^[119]

Der in Schema 7 formulierte hypothetische Umlagerungsweg von Pethybren zum (-)- α -Isocomen (**45**) läßt die Korrelation beider Verbindungen zu und ergibt für **43** die absolute Konfiguration (1S, 2R, 5S, 8S).



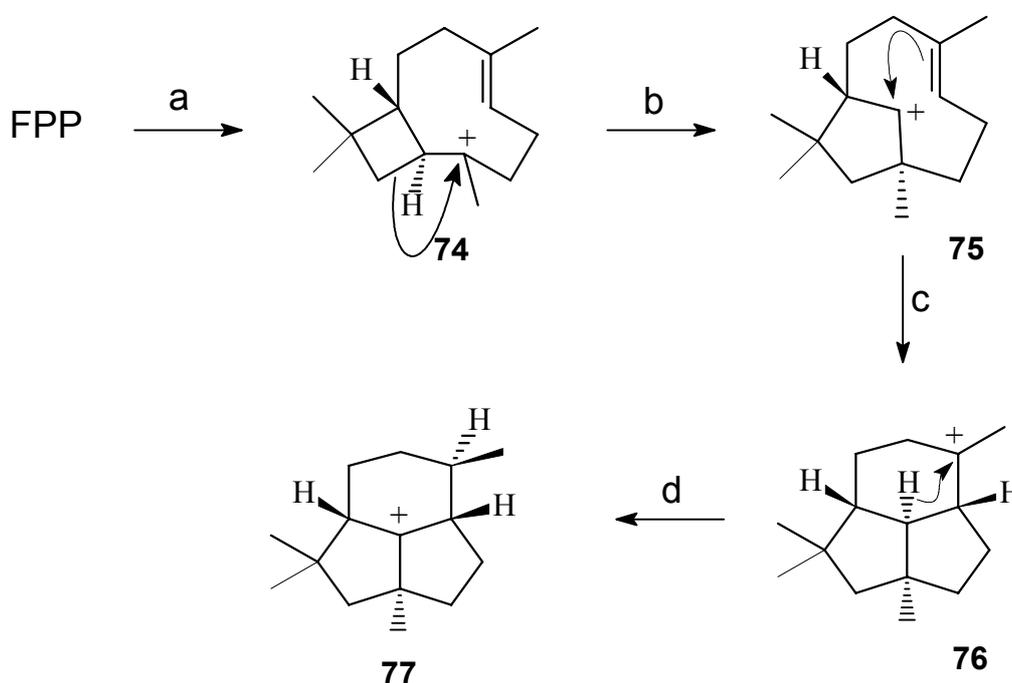
Schema 7

4.2.6.2 Hypothetische Biogenese des (-)-Pethybren (43)

Obwohl mittlerweile Cyclisierungsmechanismen einiger Sesquiterpen-Synthasen^[120] mit Hilfe isotopenmarkierter Substrate aufgeklärt werden konnten, bilden diese bei weitem nur eine kleine Gruppe der bekannten Sesquiterpenkohlenwasserstoffe. Für die meisten Sesquiterpen-Gerüste – zu denen auch die Silphinane, Isocomane, Modhephane und Presilphiperfolane zählen – findet man in der Literatur Cyclisierungsmechanismen, die lediglich hypothetischer Natur sind.

In Anlehnung an die hypothetischen Cyclisierungsmechanismen von Silphinen, Isocomen und Presilphiperfolen, lassen sich für die Biogenese von (-)-Pethybren (43) die folgenden Schemata 8a-d diskutieren.

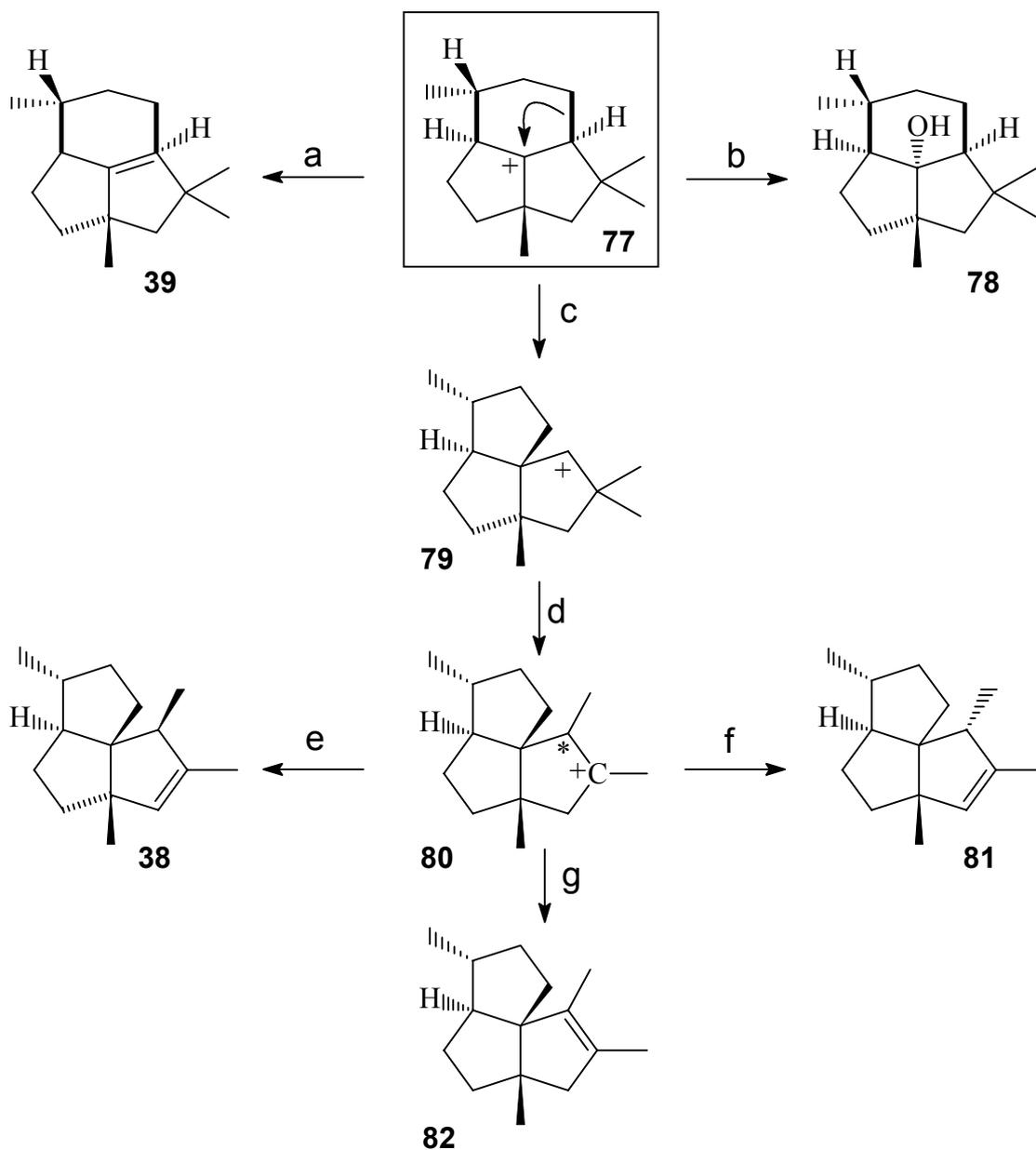
Die Protonierung von Caryophyllen, welches aus FPP gebildet wird, liefert das Carbeniumion 74. 74 stabilisiert sich durch eine 1,2-Alkyl-Umlagerung unter Ringerweiterung zum Carbeniumion 75. Anschließend „Markownikoff-Cyclisierung“ führt zum Presilphiperfolen-Kation 76, das nach einer 1,3-Hydrid-Verschiebung das bei der Biogenese von Triquinan-Sesquiterpenkohlenwasserstoffen wichtige Intermediat 77 ergibt (Schema 8a).



(a): Cyclisierung des FPP zu β -Caryophyllen und Protonierung, (b): 1,2-Alkyl-Umlagerung, (c): „Markownikoff-Cyclisierung“, (d): 1,3-Hydrid-Verschiebung

Schema 8a

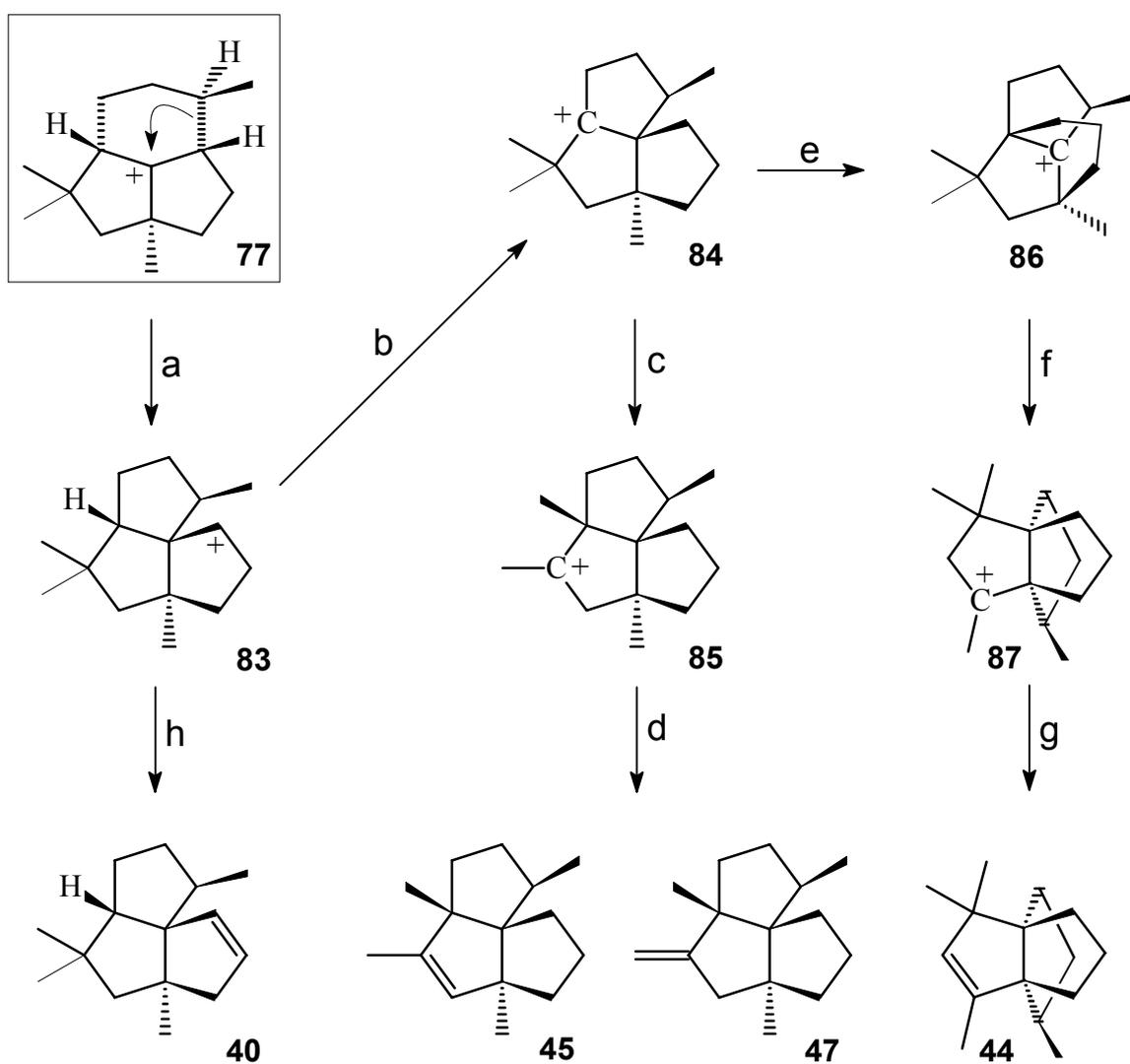
Die Deprotonierung des Carbeniumions (**77**) führt zum Presilphiperfol-8-en **39**, welches durch sein Massenspektrum und Co-Injektion mit einer authentischen Probe – isoliert aus *Matricaria perforata* – auch im ätherischen Öl von *Petasites hybridus* nachgewiesen wurde. **77** liefert durch eine 1,2-Alkyl-Verschiebung unter Ringverengung das Carbeniumion **79**, das unter einer 1,2-Methyl-Verschiebung in das Silphiperfolan-Carbeniumion **80** übergeht. Von den Deprotonierungsprodukten dieses Carbeniumions **80** konnte lediglich das 7- α -H-Silphiperfola-5-en (**38**) als Bestandteil des ätherischen Öls von *Petasites hybridus* identifiziert werden.



(a): Deprotonierung, (b): Hydroxylierung, (c): 1,2-Alkyl-Umlagerung, (d): 1,2-Methyl-Verschiebung, (e): Deprotonierung, (f): Deprotonierung, (g): Deprotonierung

Schema 8b

Die 1,2-Alkyl-Verschiebung des Presilphiperfolan-Kations **77** unter Ringverengung zum Silphinan-Carbeniumion (**83**) bildet die Vorstufe für das Silphinan-Gerüst, welches durch Deprotonierung das (-)-Silphinen (**40**) liefert. Das Carbeniumion **83** kann durch eine 1,3-Protonen-Umlagerung in das Carbeniumion **84** übergehen, aus dem durch eine 1,2-Methyl-Umlagerung das Isocoman-Carbeniumion **85** entsteht. Die durch Deprotonierung entstandenen Verbindungen (-)- α -Isocomen (**45**) (endocyclisch) oder (-)- β -Isocomen (**47**) (exocyclisch) wurden im ätherischen Öl von *Petasites hybridus* vorgefunden.

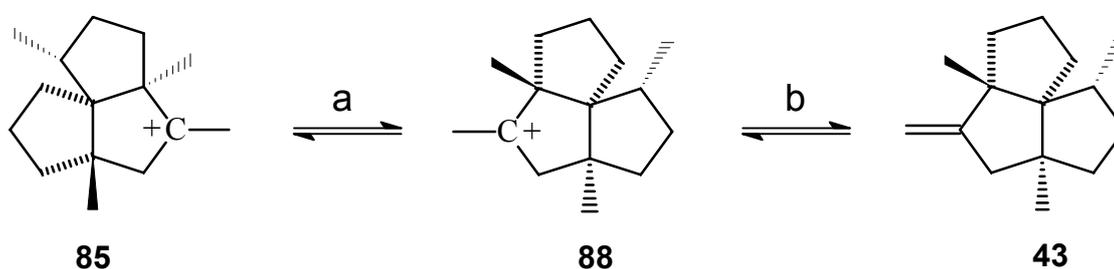


(a): 1,2-Alkyl-Verschiebung, (b): 1,3-Protonen-Verschiebung, (c): 1,2-Methyl-Verschiebung,
 (d): Deprotonierung, (e): 1,2-Alkyl-Verschiebung, (f): 1,2-Alkyl-Verschiebung,
 (g): Deprotonierung, (h): Deprotonierung

Schema 8c

Wie aus Schema 8c zu entnehmen ist, kann das Carbeniumion **84** auch durch eine 1,2-Alkyl-Verschiebung in das Carbeniumion **86** übergehen. Eine weitere 1,2-Alkyl-Verschiebung liefert das Modhephan-Carbeniumion **87**, aus dem durch Deprotonierung das (-)-Modhephen (**44**) entsteht. **44** konnte ebenfalls in dem ätherischen Öl von *Petasites hybridus* identifiziert werden.

Nun kann für die Biogenese von (-)-Pethybrin (**43**) folgende Überlegung angestellt werden: Das in Schema 8c gezeigte Isocoman-Carbeniumion **85** ließe sich durch die auf Seite 77 dargestellte Umlagerung zum Pethybran-Carbeniumion **88** umsetzen, welches durch Deprotonierung das gewünschte (-)-Pethybrin (**43**) bildet (Schema 8d).



(a): Umlagerung vom Isocoman-Carbeniumion (**85**) zum Pethybran-Carbeniumion (**88**) (vgl. S. 75).

(b): Deprotonierung

Schema 8d

Wie bereits oben erwähnt, handelt es sich bei den Schemata 8a-d um hypothetische Biogenesewege, die sich jedoch in einigen Teilen durch protonenkatalysierte Umlagerungen bestätigen lassen. So findet die Umlagerung von (-)-Silphinen (**40**) zu (-)-Isocomen (**14**) statt, wobei die intermediären Carbeniumionen **83**, **84** und **85** postuliert werden können.^[118]

Ein anderes Beispiel liefert die Dehydratisierung von 8- α -Hydroxy-Presilphiperfolan (**78**) mit Essigsäureanhydrid. Es entsteht neben dem Dehydratisierungsprodukt Presilphiperfol-8-en (**39**) vermutlich über die Carbeniumionen **77**, **79** und **80** umgelagertes (-)-Silphiperfol-6-en (**82**).^[113b]

4.2.7 Isolierung der Komponente 52 – 4,5-di-*epi*-Aristolochen – aus *Cistus incanus*

Die Komponente **52** mit dem Massenspektrum (Abb. 40) stellte eine weitere „unbekannte“ Verbindung dar, die in dem ätherischen Öl von *Petasites hybridus* vorkommt. Da die Isolierung der Komponente **52** aus dem ätherischen Öl von *P. hybridus* aufgrund des geringen Gehalts kaum möglich war, wurden zur Isolierung ergiebiger Quellen gesucht. Die Komponente **52** kommt als Bestandteil in verschiedenen ätherischen Ölen sowohl von höheren Pflanzen (*Cistus incanus*) als auch in Lebermoosen (*Marchantia polymorpha*) vor. Für die Strukturaufklärung wurde **52** aus dem ätherischen Öl von *Cistus incanus* subsp. *creticus* (Cistaceae)ⁱ isoliert. *Cistus incanus* ist eine im Mittelmeerraum heimische Pflanze aus der Familie der Cistaceae.^[121] Die Harze dieser Gattung enthalten neben Terpenen, auch Flavonoide und Glycoside, die in der Volksmedizin gegen verschiedene Beschwerden eingesetzt wurden.^[121] Außerdem liefert das ätherische Öl, das durch Wasserdampfdestillation aus den Harzen gewonnen wird, einen wertvollen Rohstoff für die Parfümindustrie.^[122] Die Isolierung der Komponente wurde mittels präp. GC in insgesamt zwei Trennschritten durchgeführt. Im ersten Schritt konnte die Komponente **52** an der 2,6-Me-3-Pe- β -Cyclodextrin-Phase angereichert werden. Der nächsten Trennschritt an der 6-T-2,3-Me- β -Cyclodextrin-Phase lieferte **52** in 89 %-iger Reinheit.

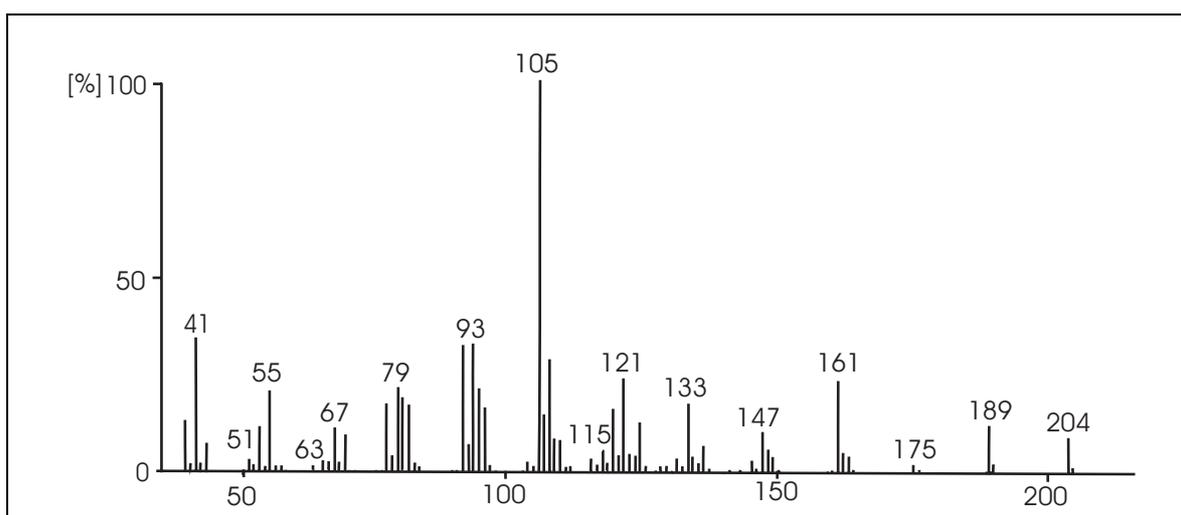


Abb. 40: Massenspektrum der Komponente **52** – 4,5-di-*epi*-Aristolochen – aus *Cistus incanus* (GC-MS, EI 70 eV).

ⁱ *Cistus incanus* wurde für die Untersuchungen vom Botanischen Garten Klein Flottbek Hamburg bezogen.

4.2.8 Strukturaufklärung von (-)-4,5-di-*epi*-Aristolochen (**52**)

Aus der massenspektrometrisch bestimmten Summenformel $C_{15}H_{24}$ ($[M^+] = m/z$ 204 (Abb. 40) und den 1H - und ^{13}C -NMR-spektroskopischen Untersuchungen geht hervor, daß die Komponente **52** vier Doppelbindungsäquivalente besitzt und somit ein bicyclisches Ringsystem ist.

Wie aus dem 1H -NMR-Spektrum zu entnehmen ist, besitzt die Komponente **52** zwei Methylgruppen ($\delta_{Me} = 0.82$ und 0.92), eine Isopropenylgruppe ($\delta_H = 4.70$ und $\delta_{Me} = 1.73$) und ein olefinisches Proton ($\delta_H = 5.34$). Die Interpretation des ^{13}C -NMR-Spektrums in Zusammenhang mit dem DEPT-Spektrum zeigt, daß **52** insgesamt drei quartäre C-Atome enthält, wobei zwei davon olefinische C-Atome sind ($\delta_C = 150.30$, 146.40 , und 39.50). Desweiteren lassen sich sechs sekundäre ($\delta_C = 29.3$, 31.5 , 31.6 , 32.3 , 39.7 und 108.3), zwei tertiäre ($\delta_C = 37.7$ und 38.7) und drei primäre ($\delta_C = 15.8$, 20.8 und 21.1) C-Atome identifizieren.

Durch Auswertung der Protonenkorrelationen aus den zweidimensionalen NMR-Korrelationsexperimenten 1H - 1H -COSY- und 1H - ^{13}C -Spektren lassen sich für **52** die in Abbildung 41 dargestellten Teilstrukturen A-E aufstellen. Außerdem zeigt die Abbildung 41 einige ausgewählte 1H - ^{13}C -NMR long-range-Korrelationen (COLOC), durch die sich für **52** eine Struktur mit Eremophilangerüst (-)-1,2,3,4,6,7,8,8a-octahydro-1,8a-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-naphthalin (**52**) aufstellen läßt.

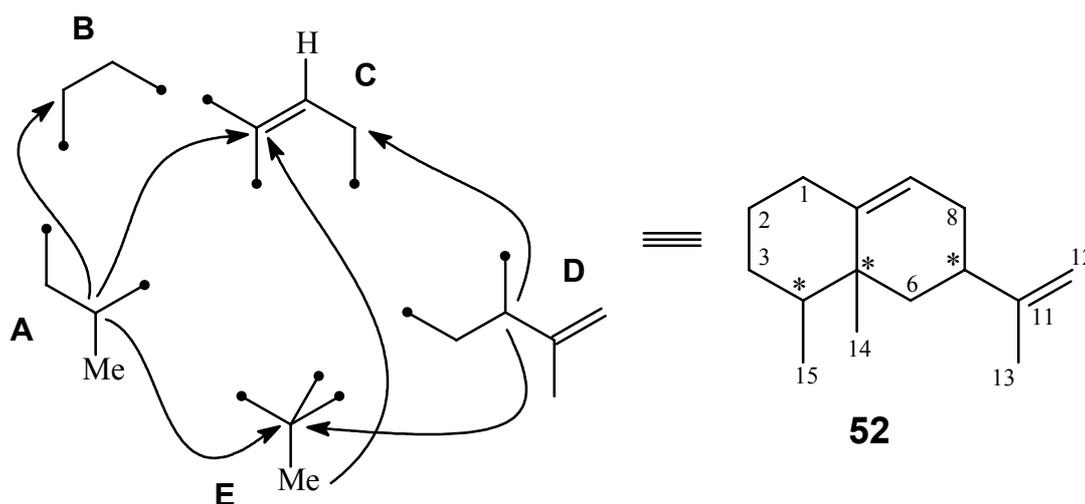


Abb. 41: Aus den NMR-spektroskopischen Daten läßt sich für die Komponente **52** aus *Cistus incanus* die Struktur (-)-1,2,3,4,6,7,8,8a-octahydro-1,8a-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-naphthalin angeben.

Im nächsten Schritt wurde die relative Konfiguration der Stereozentren C(4), C(5) und C(7) bestimmt. Die in Abbildung 42 dargestellten NOESY-Kontakte der Verbindung **52** führen eindeutig zu der relativen Konfiguration (-)-(4S*, 5R*, 7R*).

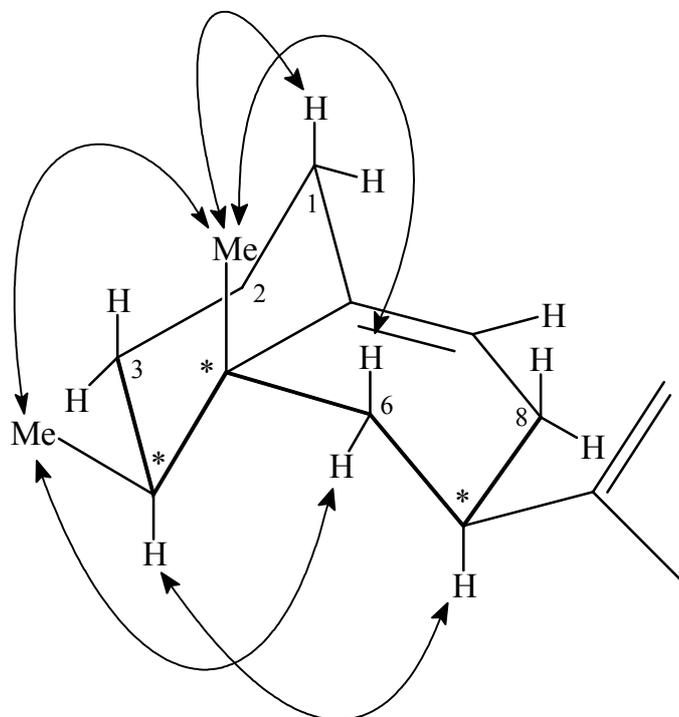


Abb. 42: Ausgewählte NOESY-Wechselwirkungen zeigen, daß die Verbindung **52** eine relative Konfiguration (4S*, 5R*, 7R*) besitzt.

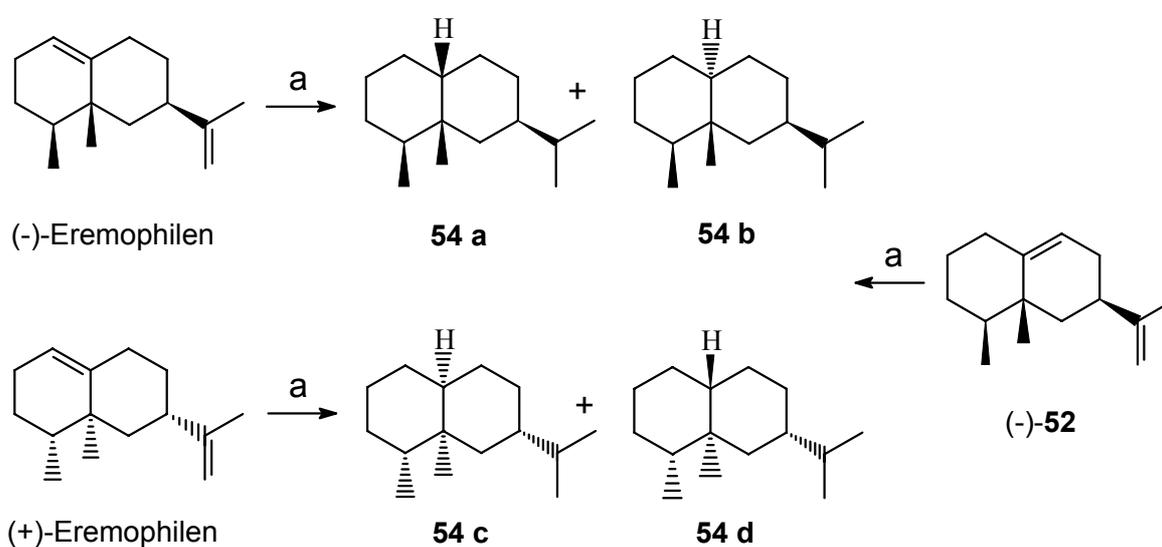
Die Bestätigung dieser Zuordnung der Konstitution und relativen Konfiguration der Verbindung (-)-(4S*,5R*,7R*)-1,2,3,4,6,7,8,8a-octahydro-1,8a-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-naphthalin (**52**) gelingt auch durch eine chemische Korrelation mit Eremophilen (**54**). Ein Vergleich der Hydrierungsprodukte **54a-d** (Schema 9) von Eremophilenⁱ (**54**) und der Verbindung **52** durch GC und GC-MS bestätigt die aus den NMR-Daten abgeleitete Struktur für **52**.

Nach der Aufklärung der Struktur von 4,5-di-*epi*-Aristolochen (**52**) konnte durch eine Literaturrecherche festgestellt werden, daß diese Verbindung unter dem Namen $\Delta^{9(10),11(12)}$ -Eremophilen als Dehydratisierungsprodukt von $\Delta^{9(10)}$ -Eremophilen-11-ol, isoliert aus *Alpinia japonica* (THUNB.) MIQ. (*Zingiberaceae*)^[123], beschrieben ist.

ⁱ Da die Co-Injektion für die Bestätigung der relativen Konfiguration und der Konstitution an einer achiralen GC-Phase durchgeführt wurde, ist nicht entscheidend, welches Enantiomer von Eremophilen für die Hydrierung vorgelegen hat.

4.2.8.1 Bestimmung der absoluten Konfiguration von (-)-4,5-di-*epi*-Aristolochen

Die Bestimmung der absoluten Konfiguration von (-)-4,5-di-*epi*-Aristolochen (**52**) läßt sich ebenfalls durch die chemische Korrelation mit Eremophilen (**54**) durchführen. Wie in Schema 9 dargestellt, liefert die totale Hydrierung von (+/-)-Eremophilenⁱ (**54**) mit bekannter absoluter Konfiguration^[124] insgesamt vier Produkte, wobei zwei davon zueinander enantiomer und zwei zueinander diastereomer sind. Aus den Untersuchungen der Hydrierungsprodukte **54a-d** im Vergleich mit den Hydrierungsprodukten von (-)-4,5-di-*epi*-Aristolochen (**52**) mittels enantioselektiver Gaschromatographie kann die absolute Konfiguration von (-)-4,5-di-*epi*-Aristolochen (**52**) abgeleitet werden.



(a): Hydrierung Pd/C, H₂ in p.a. Hexan

Schema 9

Die anschließenden Untersuchungen (Abb. 43) zeigen sowohl an der 2,6-Me-3-Pe-β-CD-Phase als auch an der 6T-2,3-Me-β-CD-Phase, daß die Hydrierungsprodukte von (-)-4,5-di-*epi*-Aristolochen (**52**) mit den Hydrierungsprodukten von (-)-Eremophilen koeluiieren. Somit entspricht die oben angegebene relative Konfiguration auch der absoluten Konfiguration von (-)-(4S, 5R, 7R)-4,5-di-*epi*-Aristolochen (**52**). Nachdem die Strukturaufklärung von (-)-4,5-di-*epi*-Aristolochen (**52**) abgeschlossen war, konnte durch Co-Injektion an zwei verschiedenen nicht enantioselektiven GC-Phasen die Verbindung **52** in dem ätherischen Öl von *P. hybridus* sicher identifiziert werden.

ⁱ Eremophilen (**54**) mit negativem Drehsinn wurde aus *Petasites albus* und mit positivem Drehsinn aus dem Lebermoos *Frullania macrocephalum* isoliert.^[19]

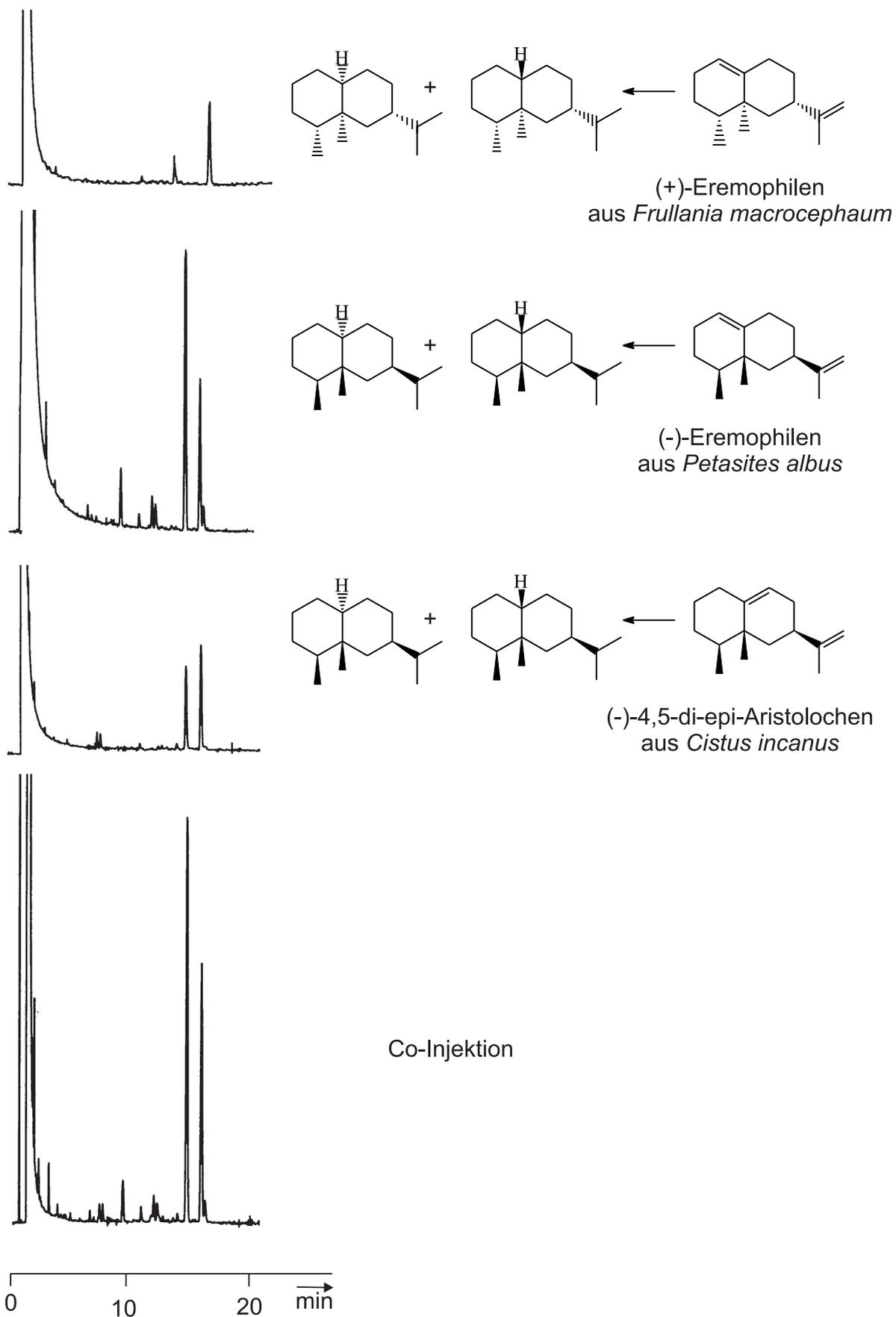


Abb. 43: Bestimmung der absoluten Konfiguration von (-)-(4S, 5R, 7R)-4,5-di-*epi*-Aristolochen (**52**) an 50 % 2,6-Me-3-Pe- β -CD in OV-1701 (25 m fused-silica-Kapillare, 115 °C isoth.).

Desweiteren gelang die Isolierung von (+)-4,5-di-*epi*-Aristolochen aus dem ätherischen Öl von *Marchantia polymorpha* in dem es auch zum erstenmal als Bestandteil des ätherischen Öles identifiziert wurde. Die enantioselektive gaschromatographische Untersuchung an der 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase zeigt, daß das (+)-4,5-di-*epi*-Aristolochen aus *Marchantia polymorpha* das Enantiomer zum (-)-4,5-di-*epi*-Aristolochen aus *Cistus incanus* darstellt (Abb. 44).

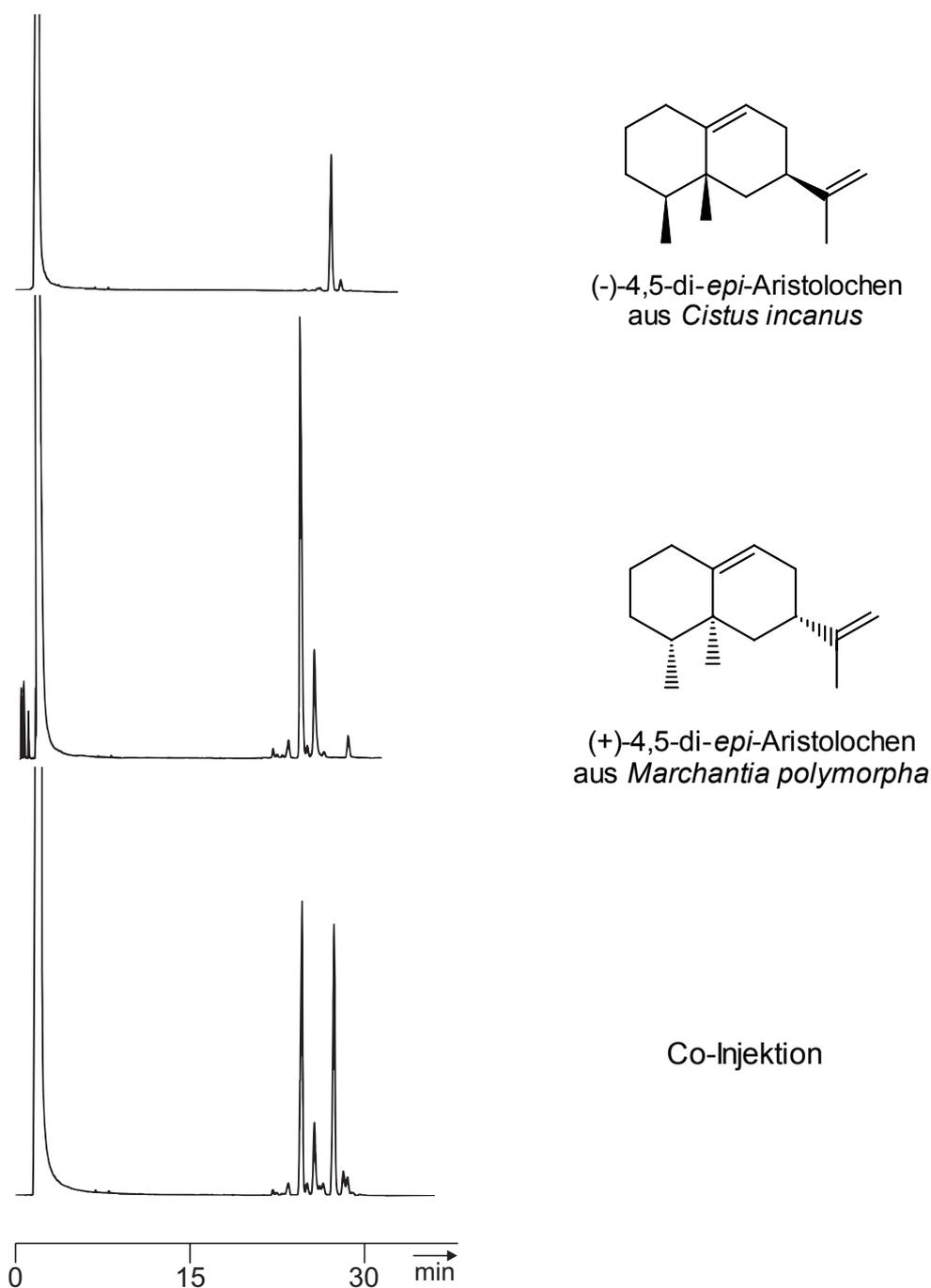
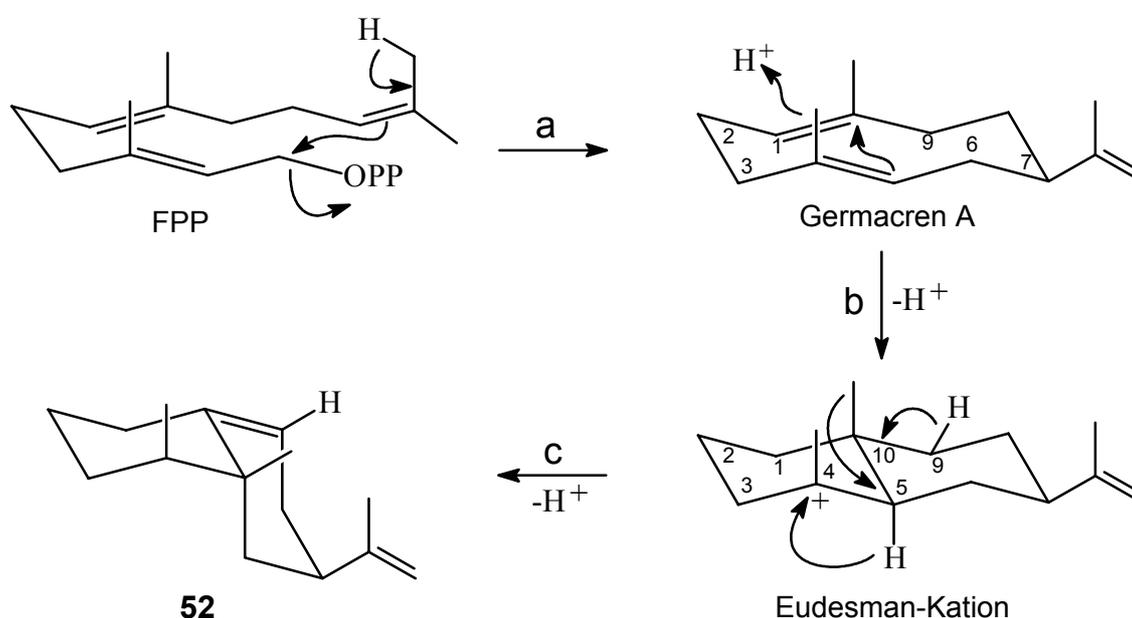


Abb. 44: Enantiomerentrennung von 4,5-di-*epi*-Aristolochen (**52**) (25 m fused-silica-Kapillare mit 20 % 2,6-Me-3-Pe- β -CD in OV 1701; 120 °C isoth.).

4.2.8.2 Biogenese von 4,5-di-*epi*-Aristolochen (52)

Das Sesquiterpen 4,5-di-*epi*-Aristolochen (52) zählt zur Gruppe der Eremophilane, die sich durch ein Kohlenwasserstoffgerüst auszeichnen, und nicht der von *L. Ruzicka* aufgestellten Isoprenregel „gehörchen“. Nach der Entdeckung des Eremophilangerüsts postulierte *R. Robinson* einen hypothetischen Biogeneseweg, bei dem die Bildung des Eremophilangerüsts durch Methylgruppen-Verschiebung aus dem Eudesmangerüst, welches nach der Isoprenregel durch die Cyclisierung von *trans,trans*-Farnesyldiphosphat entsteht, angenommen wird (Schema 5)^[125]. Diese Hypothese von *R. Robinson* konnte von *C. J. Brooks et. al* im Jahr 1972 anhand von Fütterungsversuchen mit [2-¹⁴C]-Mevalolacton durch *Petasites hybridus* bestätigt werden.^[126a, b]

In Schema 10 ist der Cyclisierungsmechanismus des Eremophilangerüsts dargestellt. Im ersten Schritt entsteht aus *trans,trans*-Farnesyldiphosphat das Sesquiterpen Germacren A, welches unter Abspaltung eines Protons durch einen weiteren Cyclisierungsschritt das Eudesman-Kation liefert. Das durch „anti-Markownikoff-Cyclisierung“ gebildete Eudesman-Kation geht unter Protonenabstraktion von C(9), einer 1,2-Wagner-Meerwein-Umlagerung der Methylgruppe von C(10) zu C(5) und einer 1,2-Hydrid-Verschiebung in das 4,5-di-*epi*-Aristolochen (52) über.



(a): Cyclisierung zum Germacren A, (b): „Anti-Markownikoff-Cyclisierung“ zum Eudesman-Kation
 (c): Deprotonierung, 1,2 Wagner-Meerwein Methyl-Umlagerung und 1,2-Hydrid-Verschiebung

Schema 10

4.3 Moospflanzen und Inhaltsstoffe aus Moosen

Die Moose (*Bryophyta*) sind durch etwa 25.000 überwiegend landbewohnende Arten vertreten. Das entspricht einem Anteil von 5.5% an den etwa 400.000 geschätzten Pflanzenarten der Welt.^[9] Die Moose lassen sich in drei Hauptgruppen einteilen: Hornmoose (*Anthocerotae*) mit etwa 300, Lebermoose (*Hepaticae*) mit etwa 6.000 und Laubmoose (*Musci*) mit rund 14.000 Arten.^[8,9,127] Moose wachsen überwiegend an relativ schattigen und feuchten Standorten.^[127,128]

Wenn auch die ersten chemischen Untersuchungen an Moosen auf das Ende des 19. und Anfang dieses Jahrhunderts zurückgehen,^[129] wurden die ersten intensiven Untersuchungen erst in den 70er Jahren durchgeführt. Die jahrzehntelange Vernachlässigung der Chemie dieser interessanten Pflanzengruppe hatte verschiedene Ursachen. Zum einen lagen die Schwierigkeiten in der Beschaffung und mühevollen Aufarbeitung größerer Mengen Moosmaterials für die Isolierung von Reinsubstanzen. Zum anderen wurde – da die Moose weder als Arznei- noch als Giftstoffe aufgefallen waren – irrtümlich auf eine Armut an sekundären Inhaltsstoffen geschlossen.

Begünstigt durch die zunehmend verfeinerten Analyse- und Isolierungstechniken (siehe allgemeiner Teil), die es heute erlauben, auch mit wenigen Milligramm-Mengen die Struktur von Naturstoffen zu charakterisieren, verzeichneten die chemischen Untersuchungen von Moosinhaltsstoffen einen großen Aufschwung. Jedoch konnten bis heute höchstens ca. 5 % der bekannten Arten auf ihre Inhaltsstoffe hin untersucht werden.^[9] Die erzielten Ergebnisse machen deutlich, daß die Moose ein erstaunliches Potential an neuen und seltenen Naturstoffen, einschließlich unbekannter Strukturtypen vorweisen. So konnte in den letzten zwanzig Jahren eine Fülle interessanter sekundärer Inhaltsstoffe aus Moosen – insbesondere aus Lebermoosen – isoliert werden. Heute kennt man zahlreiche Moosinhaltsstoffe, die eine Reihe biologischer Wirkungen (u.a. allergene Wirkung, Fungitoxizität, cytotoxische und cytostatische Wirkungen, Fraßhemmung, antiinflammatorische Wirkung, Enzymhemmung) hervorrufen.^[27,8] Während in den Laubmoosen (*Musci*) vorwiegend phenolische Verbindungen, wie z.B. Flavonoide und Biflavonoide enthalten sind,^[8,9] findet man in den Hornmoosen (*Anthocerotae*) hauptsächlich Lignane.^[8,9] Die Inhaltsstoffe der Lebermoose (*Hepaticae*) – die in den nächsten Abschnitten dieser Arbeit behandelt werden – umfassen hauptsächlich Terpene, sowie Bibenzyle und Bisbibenzyle.^[8,9]

4.4 Inhaltsstoffe aus *Jungermannia lanceolata* (*Hepaticae*)

Jungermannia lanceolata Grolle – auch *Jungermannia leiantha* genannt – gehört zu den Lebermoosen (*Hepaticae*), der Unterklasse Jungermanniidae und der Ordnung Jungermanniales. *Jungermannia lanceolata* bildet flache, mehrfach verzweigte größere Decken mit 1-2 cm langem Thallus und 3 mm breiten Blättchen. Die Blätter sind unterschlächtig, abgerundet-rechteckig. Man findet *J. lanceolata* häufig auf morschem Holz, auf kalkfreier feuchter Erde, besonders an Bachrändern und auf feuchtem kalkfreiem Gestein. *J. lanceolata* kommt in Deutschland selten vor und ist vom Aussterben bedroht.^[128]

Für die vorliegende Arbeit wurde *J. lanceolata* im Welzheimer-Wald (Süddeutschland) gesammelt und identifiziertⁱ. Das Moos wurde nach Reinigung einer zweistündigen Wasserdampfdestillation unterzogen. Durch eine Literaturrecherche wurde festgestellt, daß das ätherische Öl von *J. lanceolata* noch nicht auf seine Bestandteile hin untersucht worden ist. Die ersten GC- und GC-MS-Untersuchungen zeigten, daß das ätherische Öl von *J. lanceolata* neben einigen bekannten, häufig vorkommenden Monoterpenen auch einige Sesquiterpenkohlenwasserstoffe und oxigenierte Sesquiterpene enthält (Abb. 45).

Die Monoterpene Tricyclen (**89**), (+)- α -Pinen (**90**), (+)-Camphen (**91**), (-)- β -Pinen (**92**), (-)-Limonen (**93**) und α -Terpinol (**94**) aus *J. lanceolata* konnten eindeutig durch ihre Massenspektren mit Hilfe der vorhandenen Massenspektren-Datenbank und durch Co-Injektionen mit Referenzverbindungen charakterisiert werden. Die Stereochemie dieser Verbindungen wurde mittels enantioselektiver GC durch Co-Injektionen mit authentischen Proben bestimmt. Im Bereich der Sesquiterpenkohlenwasserstoffe konnten neben den für Lebermoose charakteristisch angesehenen α -Barbaten (**96**), β -Barbaten (**100**) und Isobazzanen (**99**) auch Sesquiterpenkohlenwasserstoffe wie z.B. trans- α -Bergamoten (**98**), α -Funebren (**95**) und β -Funebren (**97**) über ihre Massenspektren mit Hilfe authentischer Proben identifiziert werden, die für die ätherischen Öle von höheren Pflanzen charakteristisch sind, aber auch gelegentlich in den ätherischen Ölen von Lebermoosen vorkommen. Außerdem konnten einige weitere sesquiterpenide Inhaltsstoffe des Acoran-Typs isoliert und charakterisiert werdenⁱⁱ. Im folgenden werden die Isolierung und Identifizierung dieser Acoran-Verbindungen ausführlich dargestellt.

ⁱ Für das Sammeln und Bestimmen von *Jungermannia lanceolata* danken wir Dr. H. Muhle von der Universität Ulm.

ⁱⁱ Diese Ergebnisse wurden beim „28th International Symposium on Essential Oils“ in Eskisehir in der Türkei (September 1997) als Poster präsentiert.

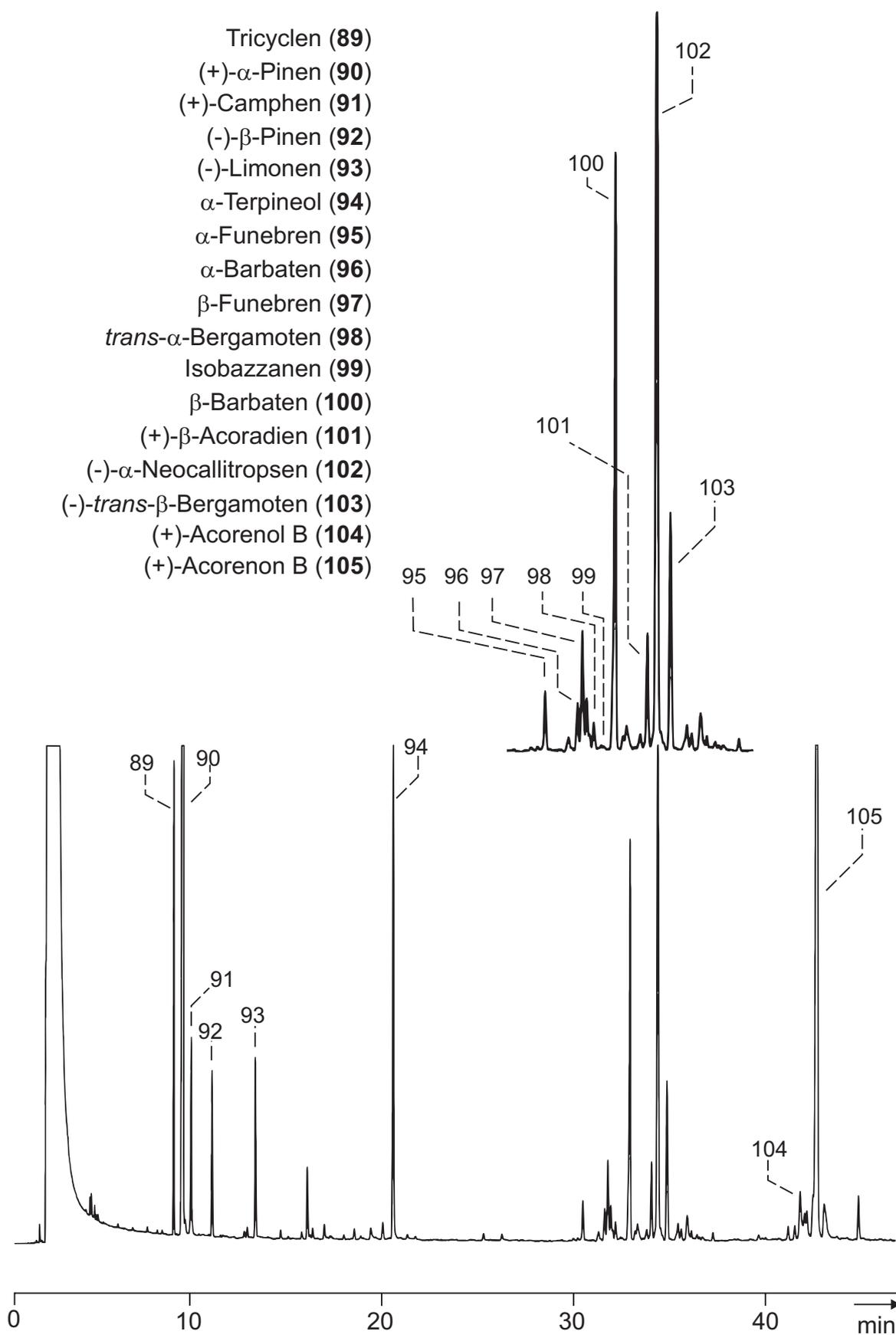
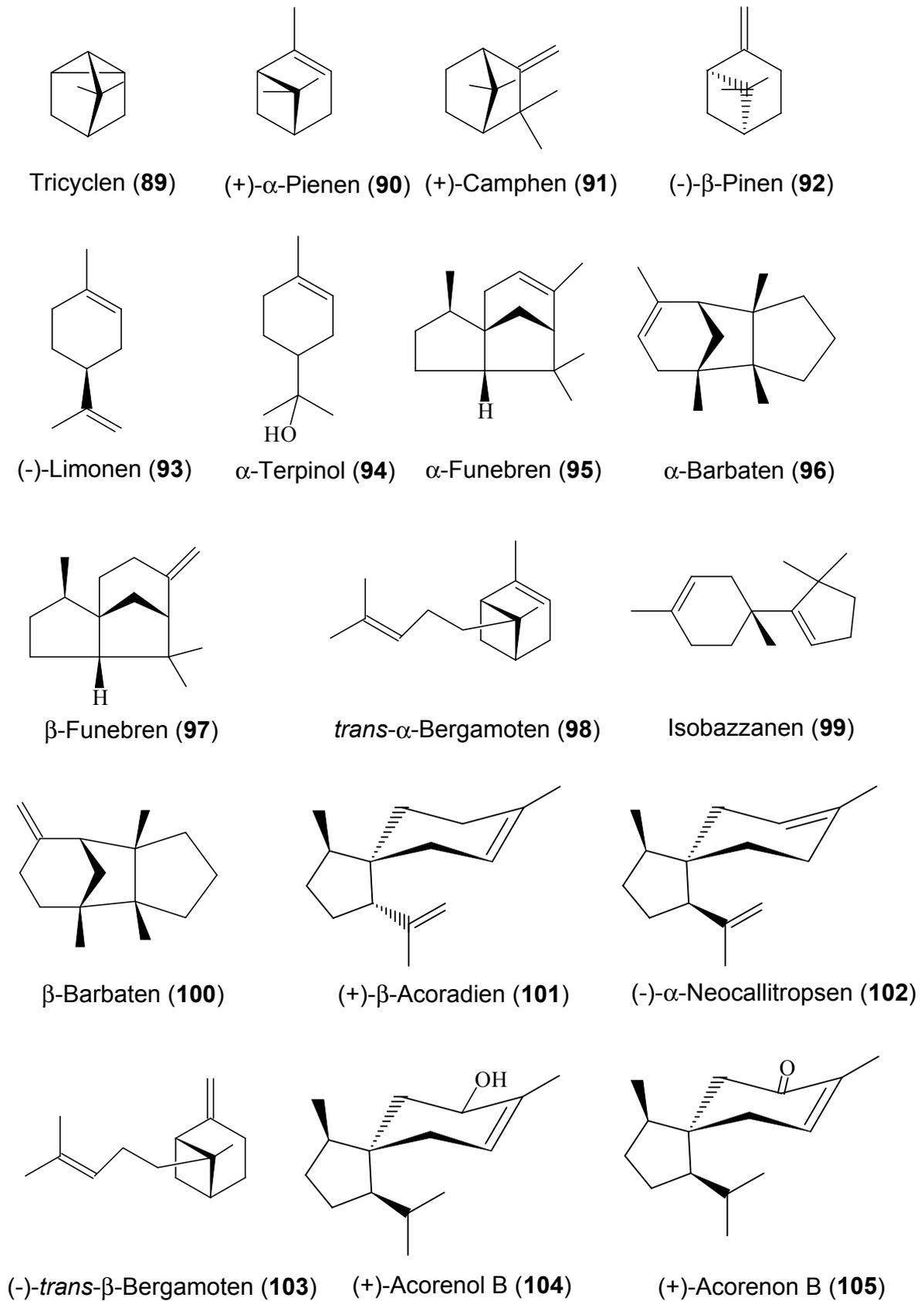


Abb. 45: Gas Chromatogramm des ätherischen Öles von *Jungermannia lanceolata* (25 m fused-silica-Kapillare; CpSil 5; 50 °C, 3 °C/min 200 °C).

Abb. 46: Sesquiterpenide Inhaltsstoffe von *Jungermannia lanceolata*.

4.4.1 Isolierung und Strukturaufklärung der Komponente **102** – α -Neocallitropsen –

Die Komponente **102** mit dem in Abb. 47 dargestellten Massenspektrum wurde mittels präparativer Gaschromatographie an der 2,6-Me-3-Pe- β -Cyclodextrin-Phase isoliert. Das Massenspektrum der Komponente **102** zeigt eine signifikante Ähnlichkeit mit den in der Literatur für α - und β -Acoradien beschriebenen Daten.^[130,131] Daher wurde für die Komponente **102** zunächst ein Acoran-Gerüst angenommen. Aus den Voruntersuchungen der ^1H -, ^{13}C - und DEPT-Spektren läßt sich ebenfalls ein Acoran-Gerüst für diese Komponente ableiten.

Das ^1H -NMR-Spektrum zeigt neben einer sekundären Methylgruppe ($\delta_{\text{Me}} = 0.93$) zwei weitere Methylgruppen, die jeweils an einem olefinischen C-Atom positioniert sind ($\delta_{\text{Me}} = 1.61$, und 1.76). Außerdem geht aus dem ^1H -NMR-Spektrum die Existenz eines olefinischen Protons ($\delta_{\text{H}} = 5.33$) sowie zweier exocyclischer Doppelbindungsprotonen ($\delta_{\text{H}} = 4.72$ und 4.83) hervor. Die Analysen der ^{13}C -NMR- und DEPT-Spektren liefern Hinweise auf das Vorliegen von drei Methylgruppen ($\delta_{\text{Me}} = 15.8$, 23.2 und 24.1), sechs sekundären C-Atomen ($\delta_{\text{C}} = 24.2$, 27.8 , 28.7 , 31.4 , 39.1 und 111.7), drei tertiären C-Atomen ($\delta_{\text{C}} = 44.0$, 58.0 und 120.9) sowie drei quartären C-Atomen ($\delta_{\text{C}} = 44.6$, 133.8 und 147.0), die das Acorangerüst bestätigen.

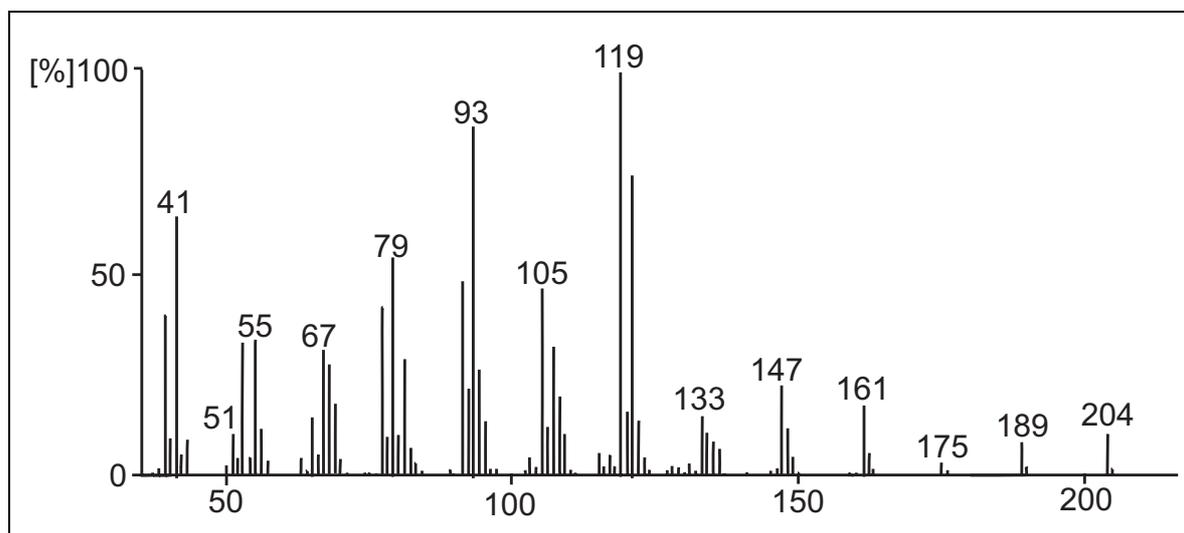
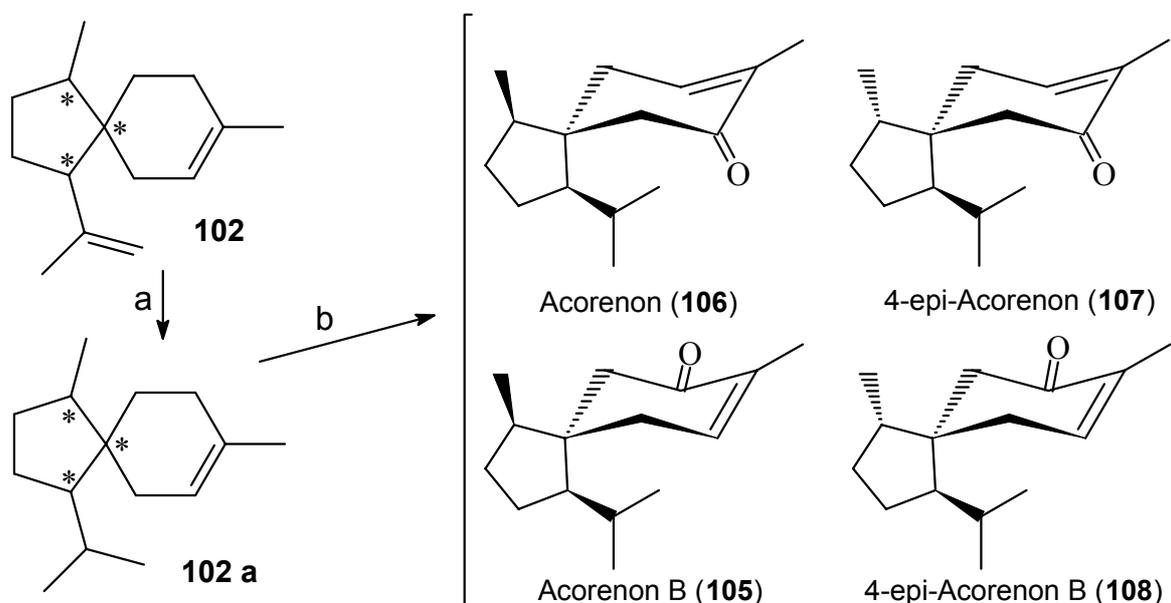
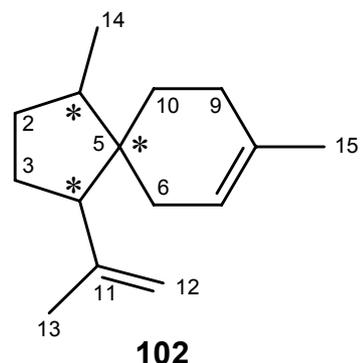


Abb. 47: Massenspektrum der Komponente **102** – α -Neocallitropsen – aus *Jungermannia lanceolata* (GC-MS, EI 70 eV).

Die Komponente **102** wurde nach dem bisher mehrmals beschriebenen Analyseprinzip (siehe u.a. S. 37 bzw 74) mit zweidimensionalen Korrelationsspektren (^1H - ^1H -COSY, HMQC, HMBC, NOESY) als 1,8-Dimethyl-4-(1-methylethenyl)-spiro-[4.5]-dec-7-en mit dem Trivialnamen α -Neocallitropsen bestimmt.

Die Aufklärung der relativen Konfiguration an den Asymmetriezentren C(1), C(4) und C(5) konnte leider nicht mit Hilfe eines NOESY-Spektrums erfolgen, da zum einen aufgrund der geringen Substanzmenge kein aussagekräftiges NOESY-Spektrum erhalten wurde, und zum anderen die NOESY-Wechselwirkungen wegen des Stereozentrums C(5) so überlagert werden, daß eine eindeutige Zuordnung der Signale nicht erfolgen konnte. Jedoch läßt sich die Bestimmung sowohl der relativen Konfiguration als auch der absoluten Konfiguration durch folgende chemische Korrelation durchführen (Schema 11): α -Neocallitropsen (**102**) kann zunächst an der exocyclischen Doppelbindung selectiv hydriert und anschließend durch eine allylische Oxidation in eine der in Schema 11 dargestellten Verbindungen überführt werden. Mit den darauf folgenden Untersuchungen mittels GC- und GC-MS kann die Struktur von α -Neocallitropsen (**102**) verifiziert werden.



(a): partielle Hydrierung $[(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{P}]_3\text{RhCl}$, H_2 in EtOH / C_6H_6 ,

(b): Allylische Oxidation SeO_2 in EtOH, 80°C

Schema 11

Für dieses Vorhaben wurden die notwendigen authentischen Proben (-)-Acorenon (**106**) aus *Acorus calamus* und (+)-Acorenon B (**105**) aus *Jungermannia lanceolata* isoliert. Die Verbindungen 4-*epi*-Acorenon (**107**) bzw. 4-*epi*-Acorenon B (**108**), die bisher als Naturstoff nicht bekannt sind, lassen sich lediglich durch ihre publizierten Massenspektren und NMR-Daten identifizieren.^[132] Durch diese Korrelationen können alle Asymmetriezentren C(1), C(4) und C(5) des α -Neocallitropsen (**102**) festgestellt werden. Die Koelution des Oxidationsproduktes aus α -Neocallitropsen (**102**) (Schema 11) mit Acorenon (**106**) aus *Acorus calamus* an verschiedenen achiralen Phasen (CpSil 5 und CpSil 19) deutet auf die relative Konfiguration der Verbindung (**102**) als (1S*, 4S*, 5S*) hin. Durch anschließende enantioselektive gaschromatographische Untersuchungen des Oxidationsprodukts aus **102** (Schema 11) mit der authentischen Probe (-)-Acorenon (**106**) – mit bekannter absoluter Konfiguration^[133] – konnte die absolute Konfiguration von (-)- α -Neocallitropsen (**102**) ebenfalls bestimmt werden. Aus den enantioselektiven zweidimensionalen gaschromatographischen Untersuchungen an der 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase geht hervor, daß das Oxidationsprodukt aus α -Neocallitropsen (**102**) dem (+)-Acorenon entspricht. Damit läßt sich nach dieser chemischen Korrelationen die absolute Konfiguration der Verbindung (**102**) eindeutig als (-)-(1R, 4R, 5R) zuordnen. Wie eine Literaturrecherche zeigte, wurde α -Neocallitropsen (**102**) als Synthesezwischenprodukt bei der Synthese von Acorenon B (**105**) beschrieben.^[134,135,136]

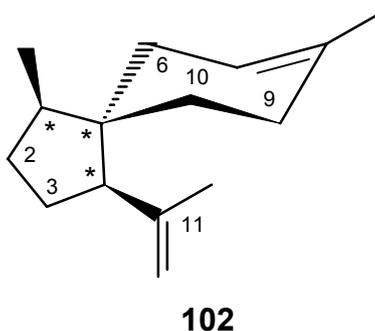


Abb. 48: Die Komponente **102** aus *Jungermannia lanceolata* wurde mit der absoluten Konfiguration als (-)-(1R, 4R, 5R)-1,8-Dimethyl-4-(1-methyl-ethenyl)-spiro [4.5]-dec-7-en identifiziert und mit dem Trivialnamen α -Neocallitropsen bezeichnet.

Nach dieser eindeutigen Zuordnung der Struktur konnte α -Neocallitropsen (**102**) in weiteren Pflanzen identifiziert werden. Neben *Neocallitropsis pancheri* (*Cupressaceae*) – aus der α -Neocallitropsen (**102**) zum erstenmal als Naturstoff isoliert wurde^[137] – findet man **102** auch in *Juniperus chinensis* (*Cupressaceae*). Wie der Abbildung 49 zu entnehmen ist, stellt **102** aus *Jungermannia lanceolata* (*Hepaticaceae*) das ungewöhnliche Enantiomer zu α -Neocallitropsen aus *Juniperus chinensis* (*Cupressaceae*) dar.

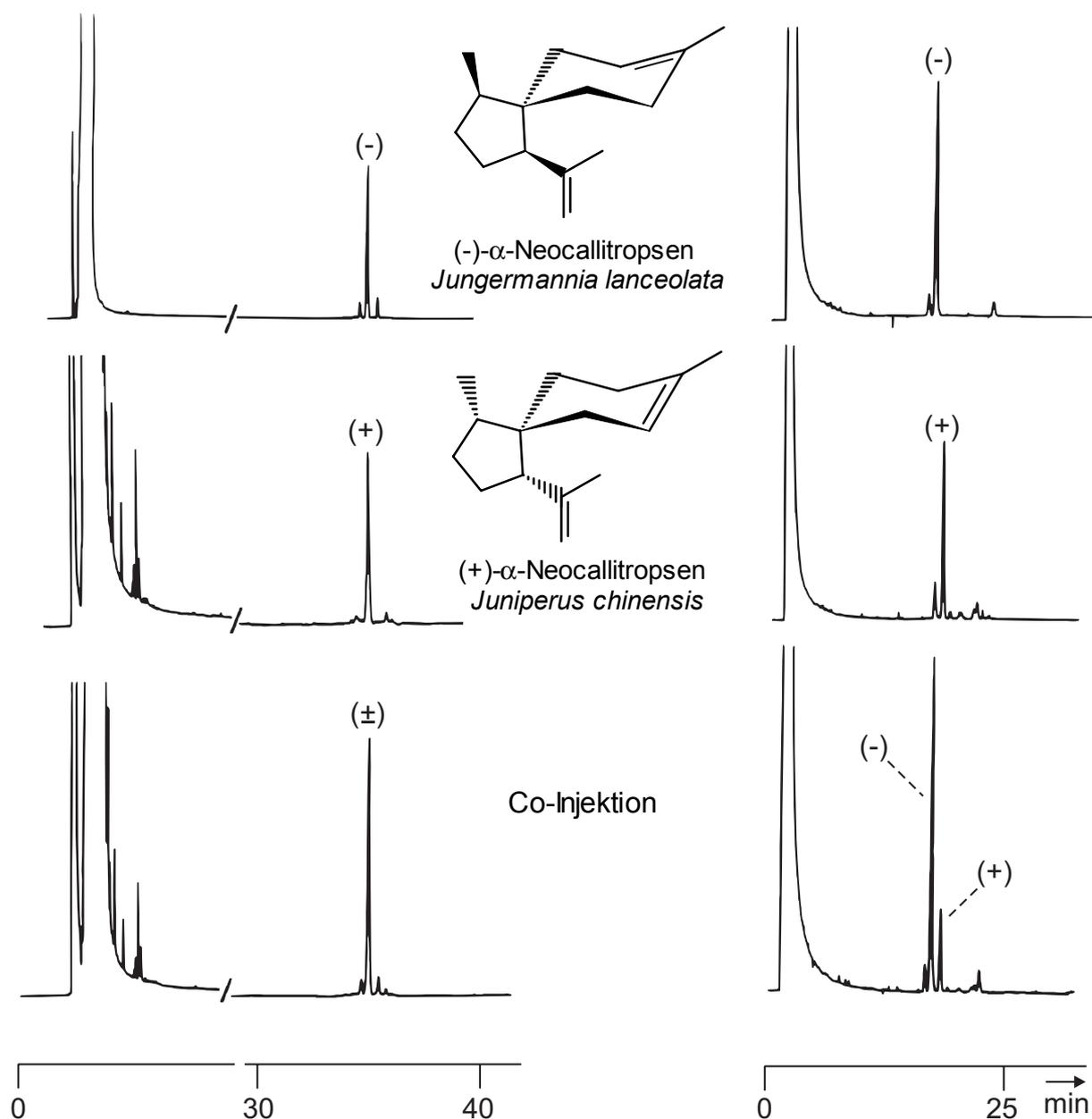


Abb. 49: Enantiomerentrennung von (-)- α -Neocallitropsen aus *Jungermannia lanceolata* und (+)- α -Neocallitropsen aus *Juniperus chinensis*. **links:** CpSil 5 (25 m fused-silica-Kapillare; 50 °C, 3 °C/min, 200 °C), **rechts:** 50% 2,6-Me-3-Pe- β -CD in OV 1701 (25 m fused-silica-Kapillare, 110 °C isoth.).

4.4.2 Isolierung und Strukturaufklärung der Komponente 101 – β -Acoradien –

Die Komponente **101** aus dem ätherischen Öl von *Jungermannia lanceolata* wurde einer Strukturuntersuchung unterzogen. Die Komponente **101** konnte nach mehreren Reinigungsschritten mittels präp. GC und Silbernitrat imprägnierten Dünnschichtplatten (siehe experimenteller Teil S. 141) in einer Reinheit > 95% isoliert werden. Aufgrund des nahezu identischen Massenspektrums von **101** (Abb. 50) mit dem von α -Neocallitropsen (**102**) (Abb. 47), wurde das Augenmerk ebenfalls auf Verbindungen mit einem Acoran-Gerüst gerichtet.

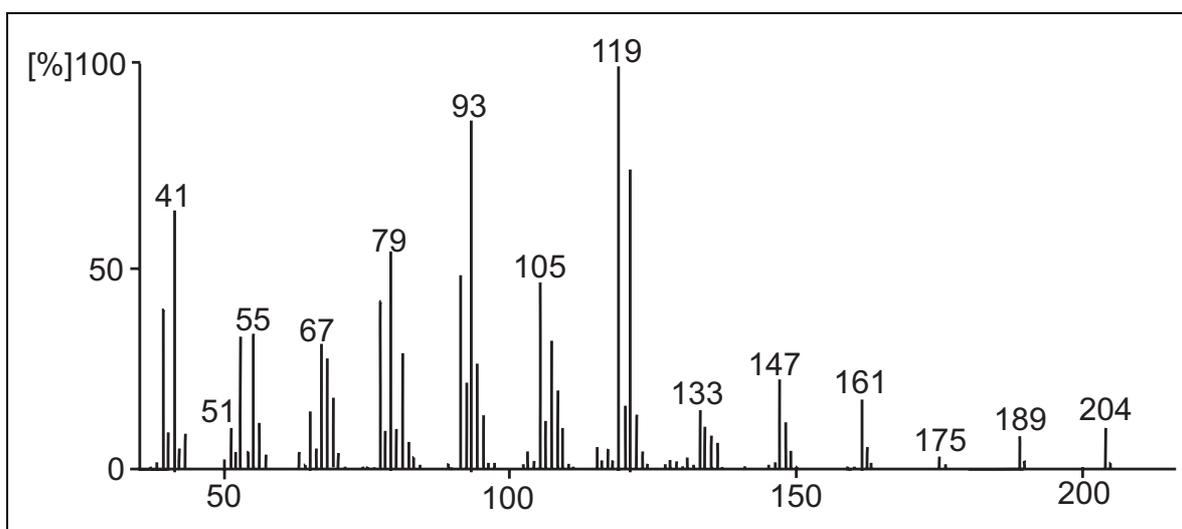
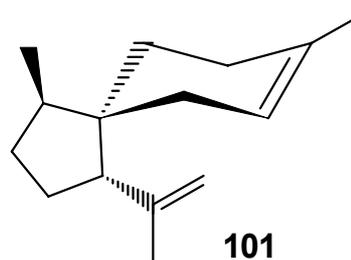


Abb. 50: Massenspektrum der Komponente **101** – β -Acoradien – aus *Jungermannia lanceolata*

Durch einen Vergleich der $^1\text{H-NMR}$ -Daten **101** mit den Literaturdaten^[131] von β -Acoradien (**101**) konnte gezeigt werden, daß es sich bei der Komponente **101** um β -Acoradien handelt. Da kein aussagekräftiges NOESY-Spektrum gemessen werden konnte, wurde zur eindeutigen Identifizierung des β -Acoradiens (**101**) die entsprechende Co-Injektion mit der authentische Probe von β -Acoradien durchgeführt. Der β -Acoradien Standard wurde durch Dehydratisierung aus β -Acorenol – isoliert aus *Cupressus nevadensis*^[138] – erhaltenⁱ.



ⁱ Authentische Proben von α - und β -Acoradien wurden von Prof. L. G. Cool, Richmond, zur Verfügung gestellt.

β -Acoradien (**101**) wurde im Jahr 1969 erstmals aus *Juniperus rigida* von B. Tomita isoliert und charakterisiert.^[139] In Rahmen dieser Untersuchungen konnte β -Acoradien in verschiedenen ätherischen Ölen identifiziert werden. In den höheren Pflanzen kommt β -Acoradien u. a. in *Cedrela odorata* vor. In den Lebermoosen wurde β -Acoradien sowohl in *Jungermanniales* als auch in der Unterklasse *Jungermanniiidea* Ordnung *Metzgeriaceae* beschrieben.^[8] Die Isolierung von β -Acoradien (**101**) gelang neben *J. lanceolata* auch aus dem Lebermoos *Diplophyllum albicans*. β -Acoradien wurde ebenfalls aus dem ätherischen Öl von *C. odorata* isoliert. Aus den enantioselektiven gaschromatographischen Untersuchungen an verschiedenen Cyclodextrin-Phasen geht hervor, daß in *J. lanceolata* und *D. albicans* das gewöhnliche Enantiomer (+)- β -Acoradien (**101**) wie in *Cedrela odorata* enthalten ist.

4.4.3 Isolierung und Strukturaufklärung der Komponente 103 – *trans*- β -Bergamoten –

Die Komponente **103** stellte eine weitere „unbekannte“ Verbindung in dem ätherischen Öl von *J. lanceolata* dar, die aufgrund fehlender Referenzdaten in der vorhandenen MS-Datenbank nicht identifiziert werden konnte. Somit wurde die Isolierung und Strukturaufklärung der Komponente **103** vorgenommen. **103** läßt sich aus dem ätherischen Öl von *J. lanceolata* mittels präparativer Gaschromatographie an der 2,6-Me-3-Pe- β -Cyclodextrin-Phase in 90%-iger Reinheit isolieren.

Das Massenspektrum mit dem Molekülionenpeak $[M^+] = m/z$ 204 zeigt ein wenig charakteristisches Fragmentierungsmuster. Aus dem ^1H -Spektrum (Abb. 51) geht die Existenz eines olefinischen Protons bei $\delta = 5.17$ ppm (1H, t) und zwei exocyclischer olefinischer Protonen bei $\delta = 4.57$ (1H, m) und 4.64 ppm (1H, m) hervor. Außerdem können mittels ^1H -NMR drei Methylgruppen identifiziert werden: zwei sind mit C,C-Doppelbindungen verknüpft ($\delta_{\text{Me}} = 1.70$; $\delta_{\text{Me}} = 1.63$) und eine ist tertiär $\delta_{\text{Me}} = 0.71$ ppm. Durch die Auswertung des ^{13}C - und DEPT- Spektrums konnte gezeigt werden, daß für die Komponente **103** ein *cis*- bzw. *trans*- β -Bergamotan Grundgerüst in Frage kommt. Anschließend ließ sich durch eine Literaturrecherche zeigen, daß die NMR-Daten der Komponente **103** aus *Jungermannia lanceolata* identisch mit den für *trans*- β -Bergamoten in der Literatur angegebenen Daten sind.^[140,141,142]

Dieser Befund deckt sich mit Ergebnissen bisheriger Untersuchungen zur Biogenese von Verbindungen in *J. lanceolata*. Aufgrund der Tatsache, daß bei der Biogenese von

Bergamotenen sowie bei den Acoran-Gerüsten ein Bisabolen-Kation als Vorstufe dient, ist dieser Befund nicht überraschend (Schema 13, Seite 103). Bisher wurden sowohl *trans*- β -Bergamoten als auch *trans*- α -Bergamoten selten in Lebermoosen gefunden.^[8]

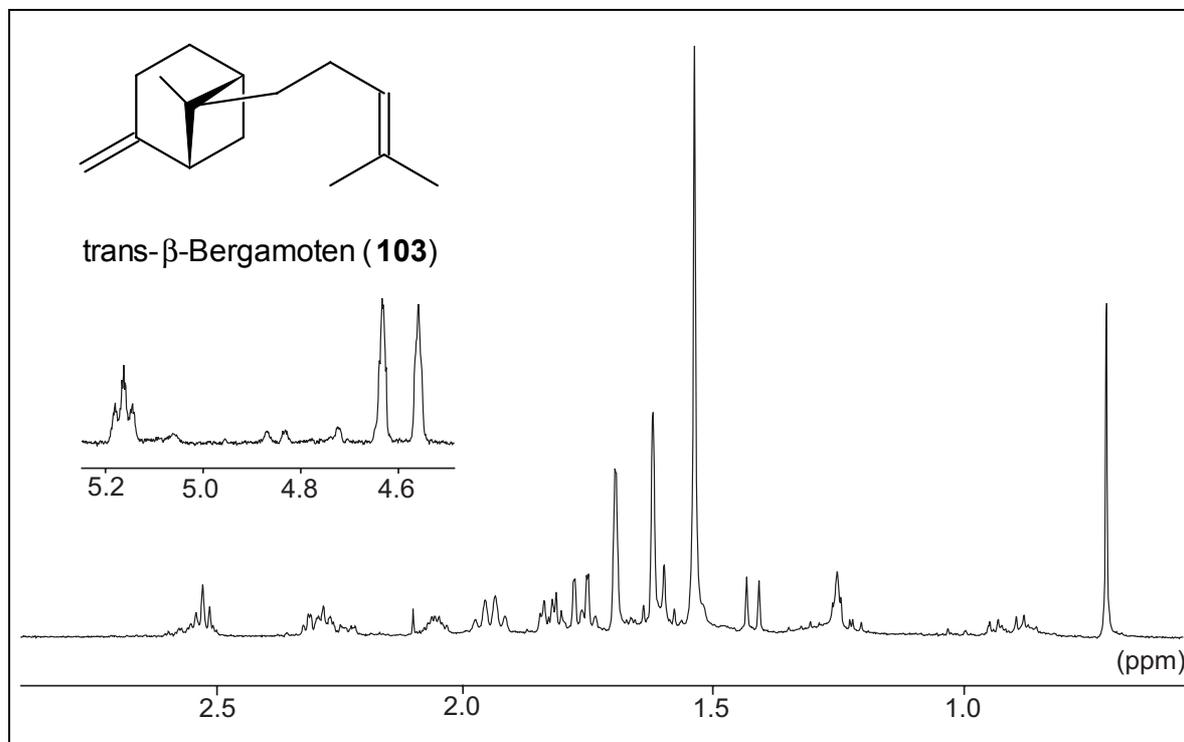


Abb. 51: Protonenspektrum von *trans*- β -Bergamoten (400 MHz, in CDCl_3)

4.4.4 Isolierung und Strukturaufklärung der Komponente 104 – Acorenol B –

Die Komponente **104** (vgl. Abb. 45, S. 91) stellt eine weitere unbekannt Verbindung dar, die mittels präparativer Gaschromatographie an der 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase in 84%-iger Reinheit isoliert wurde. Das Massenspektrum mit dem Molekülionenpeak $[\text{M}^+] = m/z$ 222 zeigt eine $[\text{M}^+ - 18]$ -Fragmentierung, die für einen Sesquiterpenalkohol charakteristisch ist.

Die Strukturaufklärung der Komponente **104** gelang anhand ihrer massenspektrometrischen sowie ein- und zweidimensionaler NMR Daten. Eine eingehende Interpretation des ^1H -NMR-Spektrums (Abb. 52) zeigt Protonensignale bei $\delta_{\text{H}} = 5.38$ (1H) und bei $\delta_{\text{H}} = 4.08$ (1H), die charakteristisch für olefinische bzw. elektronegativ substituierte (-OH) Methin-Protonen sind.

Außerdem läßt sich die Anwesenheit von drei Methyldoublets ($\delta_{\text{Me}} = 0.81, 0.83$ und 0.89) und eines Methylsingulets ($\delta_{\text{Me}} = 1.76$), die charakteristisch für an eine C,C-Doppelbindung gebundene Methylgruppe ist, feststellen.

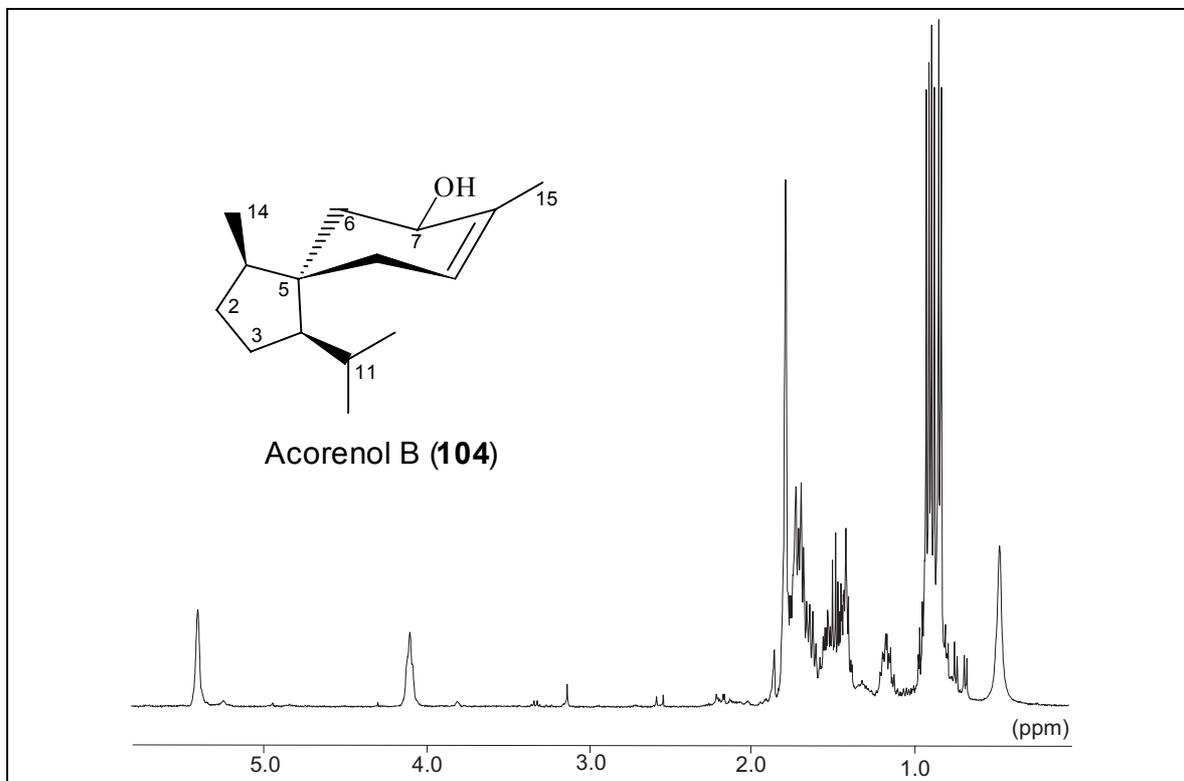


Abb. 52: Protonenspektrum von Acorenol B (400 MHz, in C₆D₆)

Aus den ¹³C- und DEPT-Experimenten geht hervor, daß die Komponente **104** aus zwei quartären, fünf tertiären, vier sekundären und vier primären Kohlenstoffen aufgebaut ist.

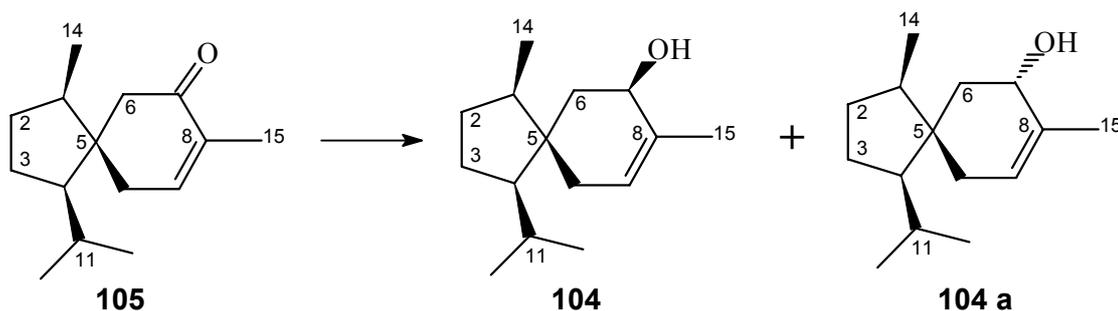
Nach eingehender Analyse der zweidimensionalen Korrelationsspektren (¹H,¹H-COSY, HMQC, HMBC,) läßt sich für die Komponente **104** die Struktur eines 7-Hydroxy-1,8-dimethyl-4-isopropyl-spiro-[4.5]-dec-8-en (**104**) – Acorenol B – bestimmen.

Diese Struktur steht ebenfalls im Konsens mit den Verbindungen, die bisher in *J. lanceolata* gefunden worden sind. Sie läßt sich durch die Reduktion von Acorenon B (**104**), welches ein Hauptbestandteil des ätherischen Öls von *J. lanceolata* darstellt, überprüfen (Schema 12)ⁱ. Durch diese chemische Korrelation kann sowohl die Konstitution, als auch die Konfiguration an den Stereozentren C(1), C(4) und C(5) verifiziert werden.

ⁱ Für diese Reduktion wurde Acorenol B aus *J. lanceolata* isoliert, NMR-spektroskopisch identifiziert und der Drehsinn mit (+) bestimmt.

Bei einer Übereinstimmung der Konstitution und der relativen Konfiguration an den Stereozentren C(1), C(4) und C(5) müßte aus der Reduktion von Acorenon B (**105**) die Komponente **104** und ein weiteres Diastereomer **104 a** zu dieser Verbindung entstehen, was sich an einer achiralen GC-Phase überprüfen ließe.

Durch die anschließenden GC- und GC-MS-Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß die Komponente **104** mit einem der Reaktionsprodukte koeluiert. Somit konnte sowohl die Konstitution der Komponente **104** als auch die relative Stereochemie bezüglich der Stereozentren C(1), C(4) und C(5) als (1R*, 4R*, 5S*) identifiziert werden.



Schema 12

Die relative Konfiguration an dem Stereozentrum C (7) wurde aus dem NOESY-Spektrum bestimmt. Die Abbildung 53 zeigt einige ausgewählte NOESY-Wechselwirkungen, die das Stereozentrum C(7) als (7R*) ausweisen. Anhand dieser Daten wurde die Komponente **104** mit der relativen Konfiguration als (+)-(1R*,4R*,5S*,7R*)-1,8-Dimethyl-4-isopropyl-spiro-[4.5]-dec-8-en-7-ol – Acorenol B – identifiziert.

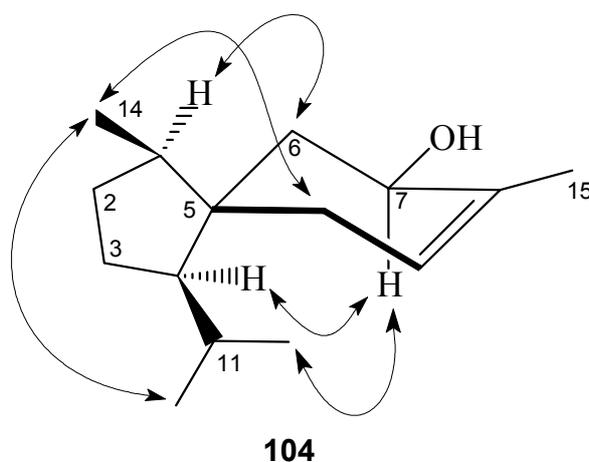


Abb. 53: Aus dem NOESY-Spektrum wird die relative Konfiguration des Stereozentrums C(7) als (7R*) bestimmt.

4.4.4.1 Bestimmung der absoluten Konfiguration von (+)-Acorenol B (104)

Die Tatsache, daß (+)-Acorenon B (105) eine der Hauptkomponenten des ätherischen Öls aus *Jungermannia lanceolata* darstellt (Abb. 45) und Acorenol B (104) durchaus auf dem gleichen biogenetischen Wege entstehen bzw. ein Reduktionsprodukt von Acorenon B (105) sein könnte, macht für das (+)-Acorenol B an den Stereozentren C(1), C(4) und C(5) die absolute Konfiguration von Acorenon B höchstwahrscheinlich. (-)-Acorenon B (105) wurde als Naturstoff von *Zalkow et al.* aus *Bothriochloa intermedia* isoliert und charakterisiert.^[143]

Die absolute Konfiguration von Acorenon B (105) wurde durch Röntgenstrukturanalyse seines 4-Iod-2-nitrophenyl-hydrizon-Derivates und stereoselektive Synthesen als (-)-(1R,4R,7R) aufgeklärt.^[143,144,145] Das (+) Enantiomer von Acorenon B (105) konnte als Naturstoff aus dem ätherischen Öl von *Bazzania tridens (Hepaticae)* isoliert und charakterisiert werden.^[146]

Da die absolute Konfiguration von Acorenon B (105) bekannt ist, läßt sich die absolute Konfiguration der Komponente 104 an den Stereozentren C(1), C(4) und C(5) durch die in Schema 12 durchgeführte Korrelation mittels enantioselektiver Gaschromatographie ebenfalls feststellen. Die Koelution der Komponente 104 mit einem Reduktionsprodukt von (+)-Acorenon B an der 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase ermöglicht die eindeutige Zuordnung der absoluten Konfiguration der Stereozentren C(1), C(4) und C(5). Das Stereozentrum C(7) konnte durch das NOESY-Experiment ermittelt werden (Abb.53). In Abbildung 54 ist Acorenol B (104) mit der absoluten Konfiguration (+)-(1R, 4R, 5S, 7R) dargestellt.

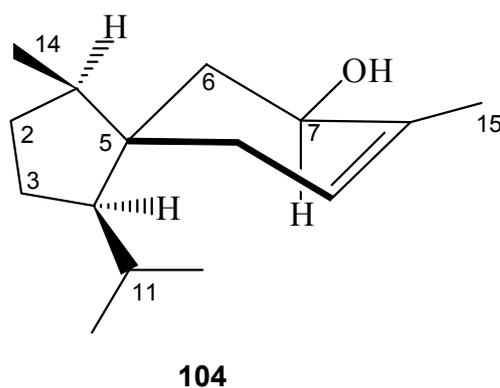
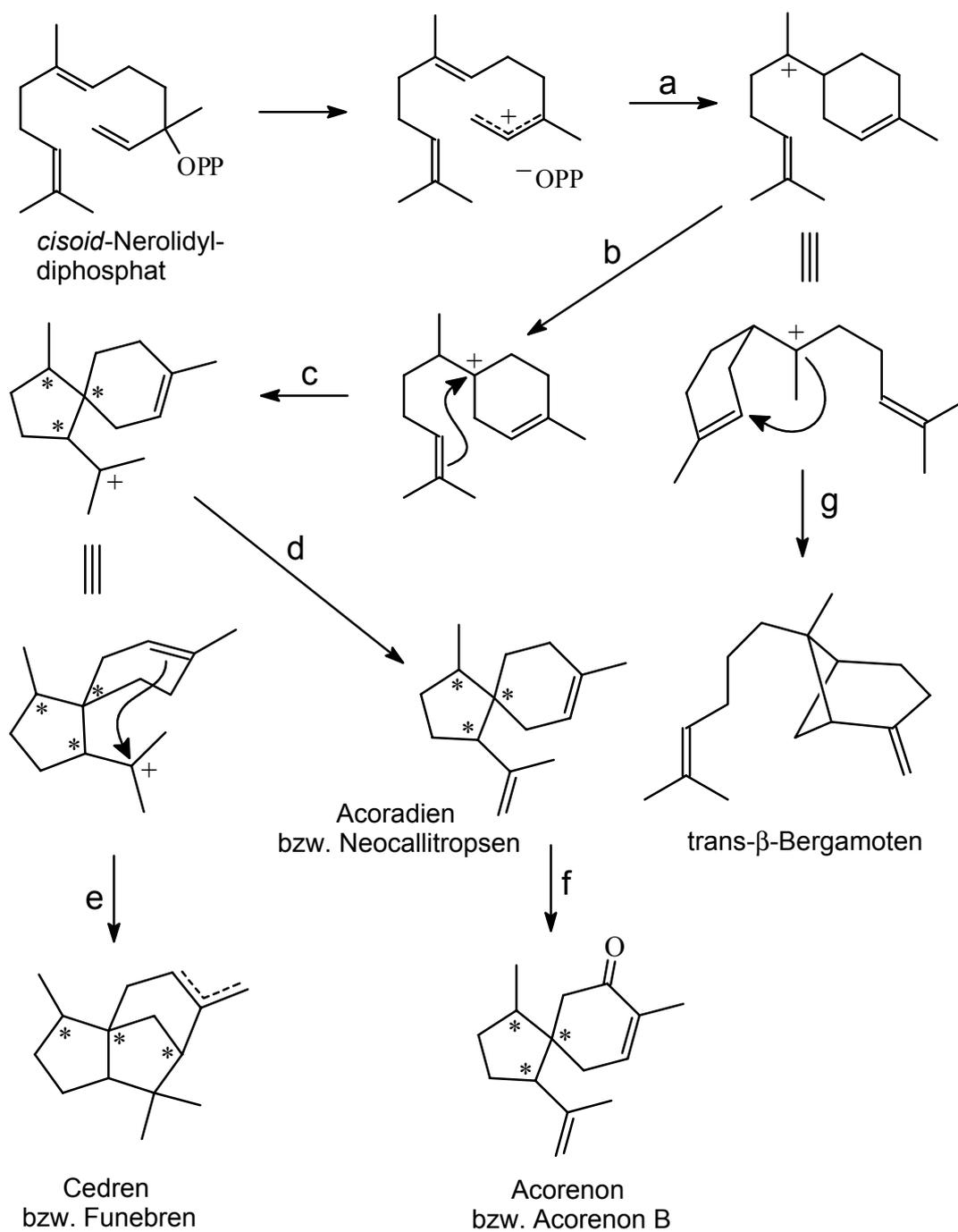


Abb. 54: Die absolute Konfiguration von (+)-Acorenol B (104) wurde mittels enantioselektiver gaschromatographischer Untersuchungen und durch das NOESY-Spektrum als (1R, 4R, 5S, 7R) bestimmt.



(a): Cyclisierung zum Bisabolen-Kation (b): 1,2-Hydrid-Verschiebung (c): „Markownikoff-Cyclisierung“ (d): Deprotonierung (e): „Markownikoff-Cyclisierung“ (f): Oxygenierung (g): „Markownikoff-Cyclisierung“

Schema 13

4.5 Inhaltsstoffe aus *Dumortiera hirsuta*

Das Lebermoos *Dumortiera hirsuta* gehört zu der Moosunterklasse *Marchantiidae*, der Ordnung *Marchantiales*.^[127,128] Da eine Bestimmung dieses Mooses schwierig ist, wurde die genaue Klassifizierung chemotaxonomisch vorgenommen. In Japan wurde von drei Chemotypen des *D. hirsuta* berichtet.^[147] Es ist anzunehmen, daß weltweit weitere Chemotypen existieren. Die phytochemischen Untersuchungen von *D. hirsuta* wurden von verschiedenen Arbeitsgruppen durchgeführt. *M. Toyota et al.* konnten aus dem Ether-Extrakt von *D. hirsuta* (Sw.) neben einigen aus der Moosunterklasse *Marchantiidae* bekannten Verbindungen, wie z.B. Marchantin C, Isomarchantin C, Riccardin C und Lunularin, verschiedene neue Terpenoid-Komponenten isolieren.^[148] Chemische Untersuchungen der Kohlenwasserstoff-Fraktion von *D. hirsuta* (Sw.) wurden von *Matsuo et al.* im Jahr 1976 unternommen.^[149] *Matsuo et al.* verwendeten für ihre gaschromatographischen Untersuchungen eine mit Polyethylenglycol (PEG) 20M (3%) auf Chromosorb AW (60-80 mesh) gepackte GC-Säule.^[149] Diese Untersuchungen werden nach heutigen Möglichkeiten als unzureichend angesehen. Unter diesem Gesichtspunkt war eine erneute Untersuchung der Kohlenwasserstoff-Fraktion von *D. hirsuta* (Sw.) mit modernen chromatographischen und spektroskopischen Methoden sinnvoll. Dabei wird das Augenmerk auch auf die Enantiomeren-Zusammensetzung der Bestandteile gerichtet. Diese Untersuchungen wurden hauptsächlich mittels enantioselektiver 2D-Gaschromatographie durchgeführt. Die Isolierung von Referenzsubstanzen aus dem ätherischen Öl und die Synthese von Standards für diese Untersuchungen stellten einen weiteren Teil dieser Untersuchungen dar. *D. hirsuta* (Sw.) wurde 1997 in Sao Francisco de Paula, Rio Grande do Sul (Brasilien) gesammelt und als solches identifiziert.ⁱ *D. hirsuta* (Sw.) wurde nach Reinigung einer zweistündigen Wasserdampfdestillation unterzogen. In dem ätherischen Öl von *D. hirsuta* konnten nach den ersten GC- und GC-MS-Untersuchungen viele bekannte Komponenten, wie z.B. α -Cubeben (**109**), *cis*- α -Bergamoten (**49**), *trans*- α -Bergamoten (**98**) α -Guiaen (**114**), Valencen (**121**), die für die ätherischen Öle höherer Pflanzen charakteristisch sind, identifiziert werden. Da die von *A. Matsuo et al.* beschriebenen Bestandteile des untersuchten *D. hirsuta* kaum identifiziert werden konnten, liegt die Vermutung nahe, daß es sich bei der untersuchten Moosprobe um einen anderen Chemotyp handelte.

ⁱ Das Lebermoos *D. hirsuta* wurde von Dr. *H. Muhle* von der Universität Ulm gesammelt und bestimmt.

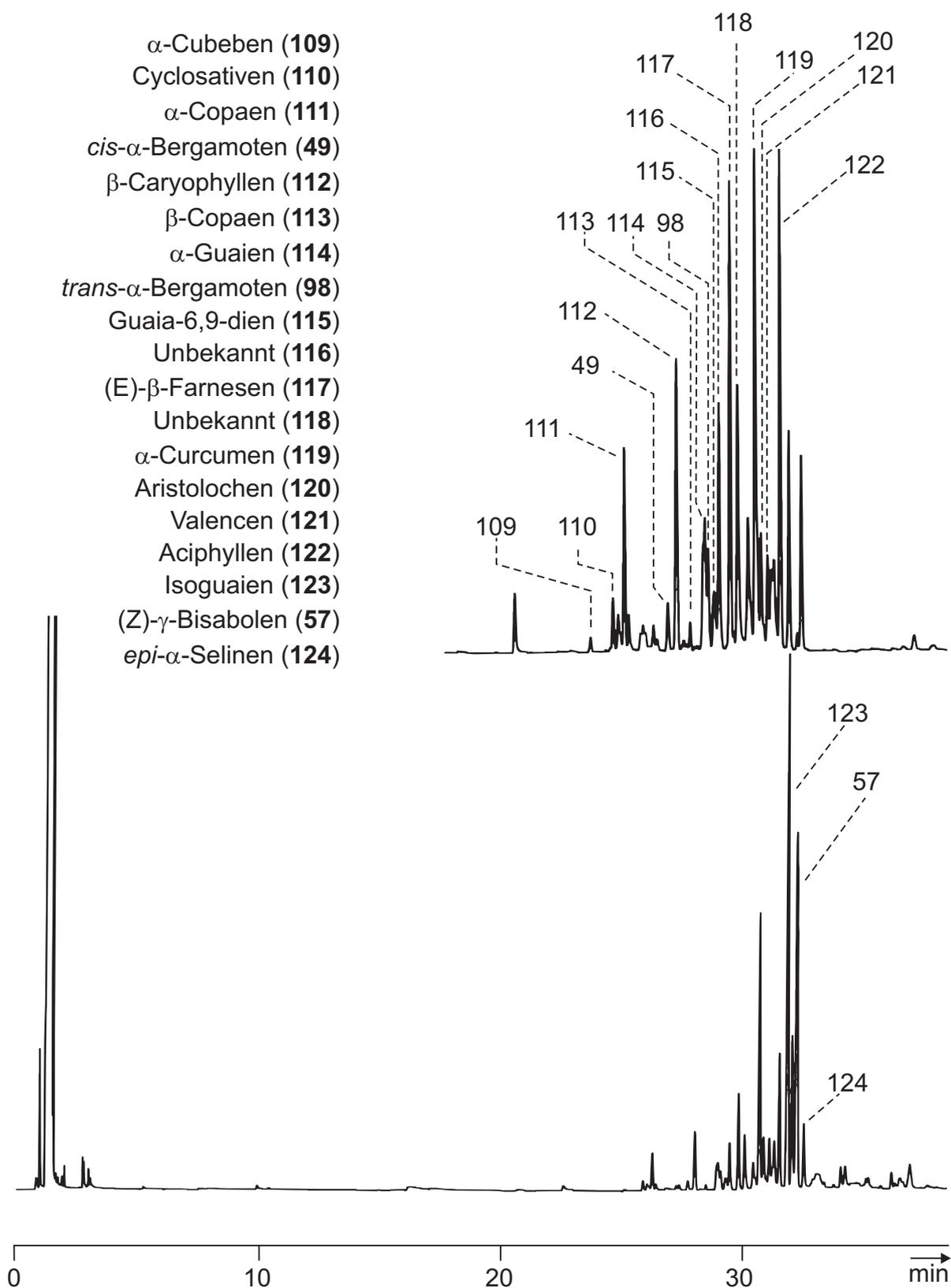


Abb. 55: Gaschromatogramm des ätherischen Öles von *Dumortiera hirsuta* (25 m fused-silica-Kapillare CpSil-5; 50 °C, 3 °C/min, 230 °C); **oben:** angereicherte Fraktion von *D. hirsuta* nach Abtrennung der Komponenten 123, 57 und 124.

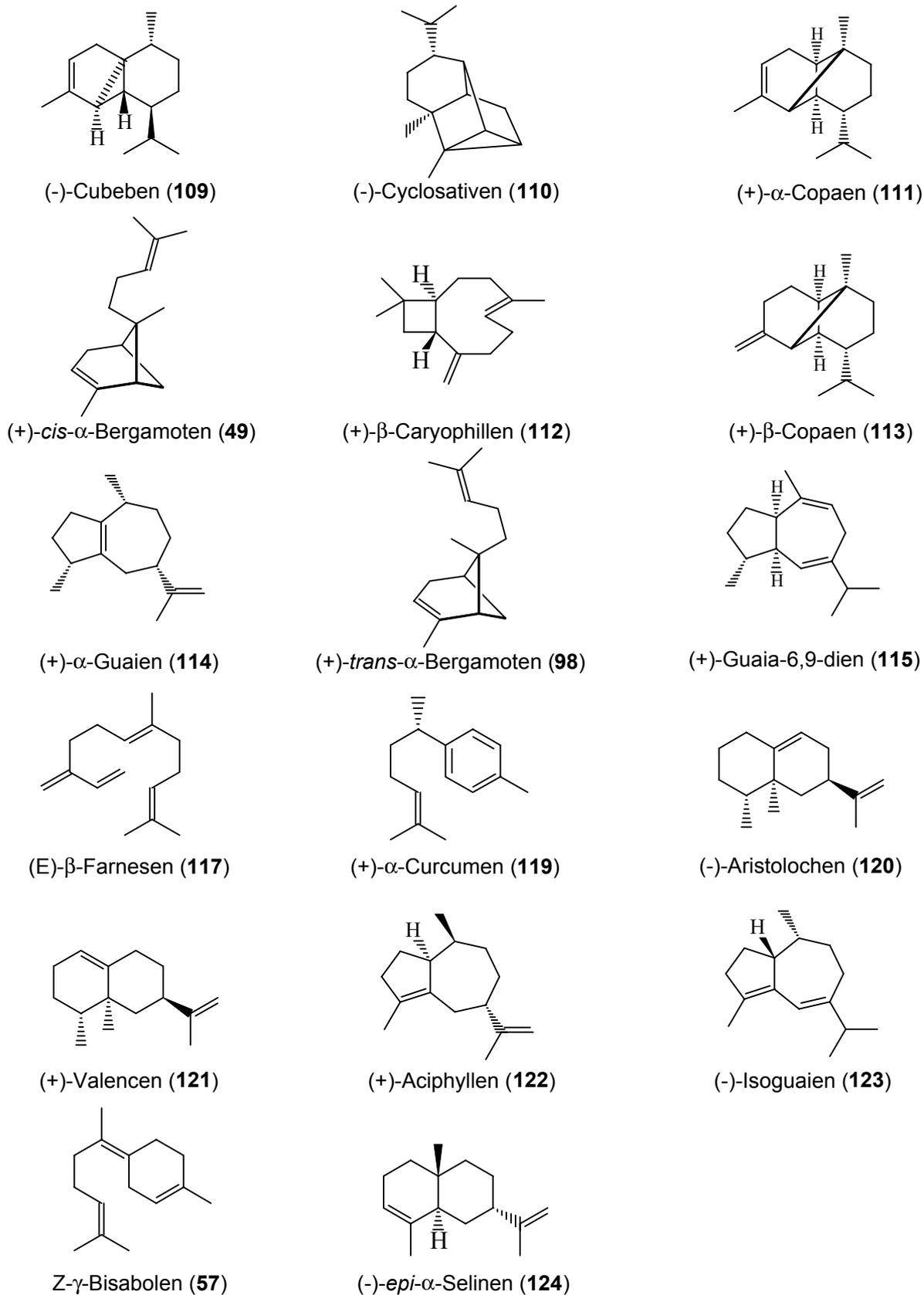


Abb. 56: Sesquiterpenkohlenwasserstoffe aus dem Lebermoos *Dumortiera hirsuta*.

4.5.1 Identifizierung von Aciphyllen (122) aus *Dumortiera hirsuta*

Nach den ersten GC-MS-Untersuchungen des ätherischen Öles von *Dumortiera hirsuta* konnten Komponenten, die häufig in ätherischen Ölen vorkommen, durch Vergleich mit Referenzspektren und Retentionszeiten identifiziert werden. Die Verbindungen, deren Identifizierung so nicht möglich war, wurden entweder aus dem ätherischen Öl von *D. hirsuta* direkt isoliertⁱ oder aus einer anderer Quelle zugänglich gemacht.

Die Komponente **122** (Abb. 55) stellte eine „unbekannte“ Verbindung in dem Wasserdampfdestillat von *D. hirsuta* dar, deren Identifizierung mit der vorhandenen Datenbank der Sesquiterpenkohlenwasserstoffe nicht möglich war. Da diese Komponente aus dem ätherischen Öl von *D. hirsuta* aufgrund der geringen Konzentration nicht isoliert werden konnte, wurde zur Isolierung von **122** nach anderen Quellen gesucht. Nach einer MS-Datenbankrecherche von ätherischen Ölenⁱⁱ konnte diese Verbindung als „nicht identifizierte“ Komponente in dem Patchouliöl (*Pogostemon cablin*) festgestellt werden. Die Isolierung der Komponente **122** aus Patchouliöl gelang mittels präp. GC und DC mit Silbernitrat imprägnierten Dünnschichtplatten. Für NMR-spektroskopische Untersuchungen (¹H-NMR, ¹³C, DEPT und ¹H-¹H-COSY) wurden ca. 2 mg der Komponente **122** isoliert.

Im ¹H-NMR-Spektrum (Abb.57) erkennt man neben einer sekundären Methylgruppe ($\delta_{\text{Me}} = 0.75$) zwei weitere Methylgruppen, die jeweils an einem olefinischen C-Atom positioniert sind ($\delta_{\text{Me}} = 1.57$ und 1.72). Aus den weiteren Protonen-Signalen läßt sich die Existenz zweier exocyclisch olefinischer Protonen ableiten ($\delta_{\text{H}} = 4.59$, 1H, s. und 4.66 , 1H, s.). Aus den ¹³C- und DEPT-Spektren geht hervor, daß die Komponente **122** drei Methylgruppen ($\delta_{\text{C}} = 12.94$, 14.14 und 20.23 ppm), sechs Methylengruppen ($\delta_{\text{C}} = 28.52$, 31.96 , 35.14 , 37.10 , 37.44 und 107.55 ppm), drei Methingruppen ($\delta_{\text{C}} = 36.96$, 45.72 und 53.28 ppm) sowie drei olefinische quartäre Kohlenstoffatome ($\delta_{\text{C}} = 132.54$, 135.17 und 152.83 ppm) besitzt. Diese NMR-Daten und die bisher in dem ätherischen Öl von *P. cablin* beschriebenen Komponenten^[150,151] legen eine Konstitution der Struktur mit Guaian-Gerüst nahe. Durch eine eingehende Interpretation des ¹H-¹H-COSY-Spektrums konnte für die Komponente **122** die Struktur 1,2,3,4,5,6,7,8-Octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-azulen (**223**) – Aciphyllen – vorgeschlagen werden.

ⁱ Da eine sehr kleine Probe von *D. hirsuta* zur Verfügung stand, konnten nur die Hauptkomponenten (siehe Abb. 55) aus dem Wasserdampfdestillat isoliert werden.

ⁱⁱ Diese MS-Datenbank von ätherischen Ölen wurde über mehrere Jahre von Prof. Dr. *W. A. König et al.* angelegt.

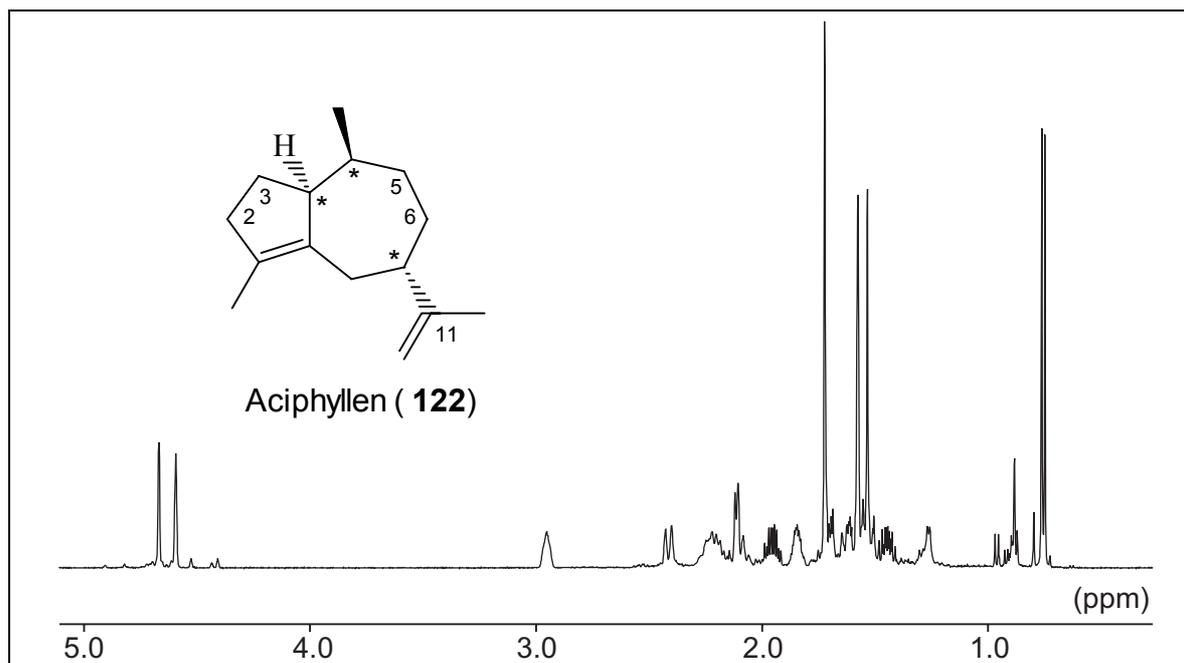


Abb. 57: Protonenspektrum von Aciphyllen (**122**) aus *Pogostemon cablin* (400 MHz, in CDCl_3).

Die anschließend durchgeführten CAS-Recherchen zeigen, daß (+)-Aciphyllen (**122**) zum erstenmal von *T. Kubota et al.* aus dem ätherischen Öl von *Lindera glauca* (Sieb. et Zucc.) isoliert und NMR-spektroskopisch charakterisiert wurde.^[152] Die relative Konfiguration von Aciphyllen (**122**) an den Stereozentren C(3a), C(4) und C(7) wurden von *T. Kubota et al.* als (+)-(3aS*,4S*,7R*) bestimmt. Die Aufklärung der relativen Konfiguration der aus *P. cablin* isolierten Verbindung (**122**) gelang durch Vergleich mit den Literaturdaten, die von *T. Kubota et al.* angegeben wurden.^[152] Der optische Drehsinn von **122** wurde mit (+) bestimmt.

Anschließend konnte Aciphyllen (**122**) als Bestandteil von *D. hirsuta* eindeutig durch Co-Injektionⁱ identifiziert werden. Die Untersuchung, ob es sich bei dem Aciphyllen aus *D. hirsuta* um das ungewöhnliche Enantiomer handelt, ließ sich nicht eindeutig beantworten. Da kein (-)-Enantiomer vorlag und eine Enantiomerentrennung nicht beobachtet wurde, kann nach den enantioselektiven zweidimensionalen gaschromatographischen Untersuchungen mit 2,6-Me-3-Pe- β -CDⁱⁱ lediglich angenommen werden, daß es sich um das gleiche Enantiomer handelt.

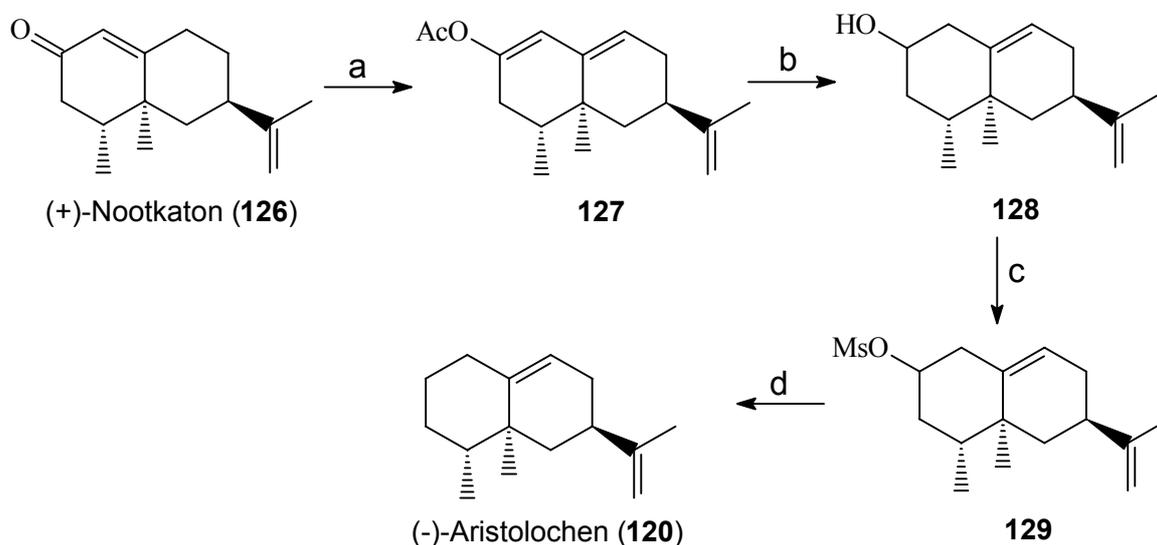
ⁱ Die Co-Injektion wurde an einem zwei Kanal-Gerät (Orion) unter Verwendung zweier Säulen mit den Phasen CpSil-5 und CpSil-19 durchgeführt.

ⁱⁱ Hauptsäule 25 m fused-silica-Kapillare mit 20 % 2,6-Me-3-Pe- β -CD in OV-1701

4.5.2 Identifizierung von (-)-Aristolochen (**120**) aus *Dumortiera hirsuta*

Da weder Aristolochen (**120**) als Standard noch das ätherische Öl von *Aristolochia indica* Wurzeln (Aristolochiaceae), aus dem das Aristolochen (**120**) zum erstenmal isoliert und als Naturstoff charakterisiert wurde,^[153] zur Verfügung stand, wurde Aristolochen als Standard durch eine in der Literatur bekannte Synthese (Schema 14) hergestellt.^[154] Anschließend gelang die Identifizierung von (-)-Aristolochen (**120**) aus dem ätherischen Öl von *D. hirsuta* durch den Vergleich des Massenspektrums und der Retentionszeit mit diesem Standard.

Die Synthese von (-)-Aristolochen (**120**) läßt sich – ausgehend von (+)-Nootkaton (**126**) – in vier Schritten durchführen. Im ersten Schritt wird das (+)-Nootkaton, welches kommerziell erhältlich ist, in den Enol-Ester **127** überführt.^[155] Die Reduktion des Enol-Esters mit Natriumborhydrid in wäßriger ethanolischer Lösung liefert den Sesquiterpenalkohol **128**.^[156] Anschließend wird die Hydroxygruppe mit Methansulfonylchlorid in Pyridin zum Sulfonsäurederivat verestert. Die Desoxygenierung des Sesquiterpenmesylates **129** mit Li-NH₃ bei -77 °C in ^tBuOH liefert das (-)-Aristolochen. Nach der Reinigung des Rohproduktes konnte (-)-Aristolochen (**120**) NMR-spektroskopisch durch Vergleich mit Literaturdaten charakterisiert werden.^[156]



(a): NaH, THF, Ac₂O (b): NaBH₄, EtOH/H₂O, 0 °C (c): CH₃SO₂Cl, Py (d): Li, NH₃, ^tBuOH

Schema 14

Durch anschließende GC- und GC-MS Untersuchungen ließ sich **120** im ätherischen Öl von *D. hirsuta* eindeutig identifizieren. Außerdem ermöglicht dieses enantioselektiv hergestellte (-)-Aristolochen mittels enantioselektiver zweidimensionaler Gaschromatographie die

stereochemische Untersuchung direkt aus dem ätherischen Öl von *D. hirsuta*. Die Untersuchungen zeigen, daß das Aristolochen aus *D. hirsuta* das gewöhnliche Enantiomer darstellt. Dieses Ergebnis konnte durch das von *C. Fricke* aus dem Lebermoos *Porella arboris-vitae* isolierte (+)-Aristolochen eindeutig bestätigt werden.^[157] Abbildung 58 zeigt die zweidimensionale gaschromatographische Enantiomertrennung von (+/-)-Aristolochen an der 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase.

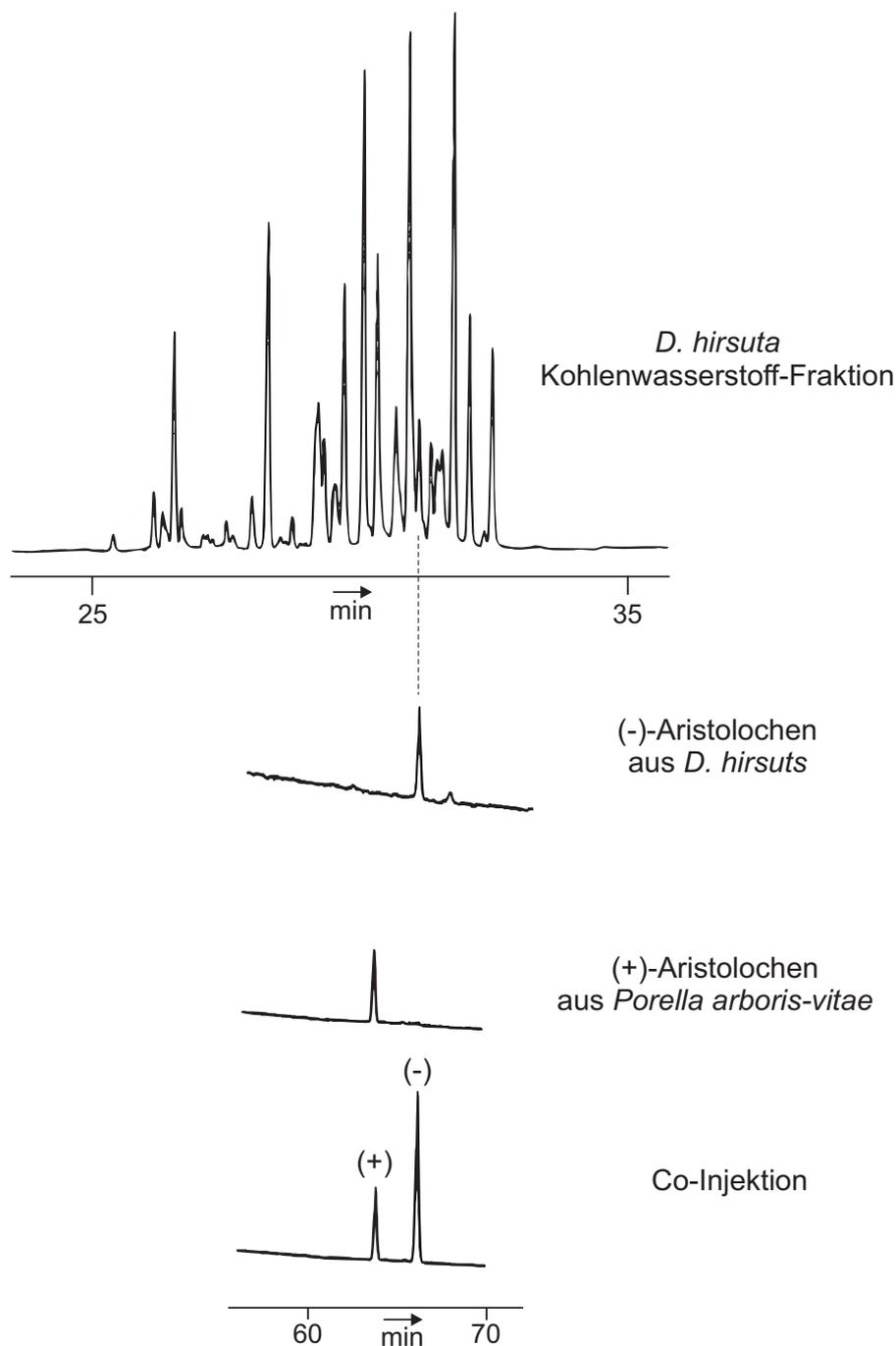


Abb. 58: Zweidimensionale gaschromatographische Untersuchung von Aristolochen (**120**) aus dem ätherischen Öl von *D. hirsuta*. Als enantioselektive Trennsäule wurde 2,6-Me-3-Pe- β -CD (20 % in OV 1701, 25 m fused-silica-Kapillare 110 °C isoth.) verwendet.

4.5.3 Isolierung von *Z*- γ -Bisabolen (**57**) aus *Dumortiera hirsuta*

Aufgrund der vorangegangenen GC- und GC-MS-Untersuchungen wurden die beiden Hauptkomponenten **57** und **123** (siehe Abb. 55) des ätherischen Öles von *D. hirsuta* zunächst als „unbekannt“ eingestuft. Die Komponente **57** C₁₅H₂₄ ([M⁺] = *m/z* 204) konnte mittels präp. GC und TLC isoliert und einer Strukturaufklärung unterzogen werden.

Die ¹H-NMR und ¹³C-NMR-spektroskopischen Untersuchungen führten zu einem Bisabolan-Gerüst. Durch die eingehende Analyse des ¹H-¹H-COSY-Spektrums konnte die Komponente **57** als γ -Bisabolen identifiziert werden.^[158] Um die Frage zu beantworten, welche der beiden Doppelbindungsisomere des γ -Bisabolens vorlag, wurde ein NOESY-Spektrum ausgewertet. Die NOESY-Wechselwirkungen der C(14) Methylgruppe mit den Methylenprotonen an C(1) und die Methylenprotonen an C(8) mit den allylischen Methylenprotonen an C(5) beweisen das Vorliegen des *Z*-Isomers des γ -Bisabolens.

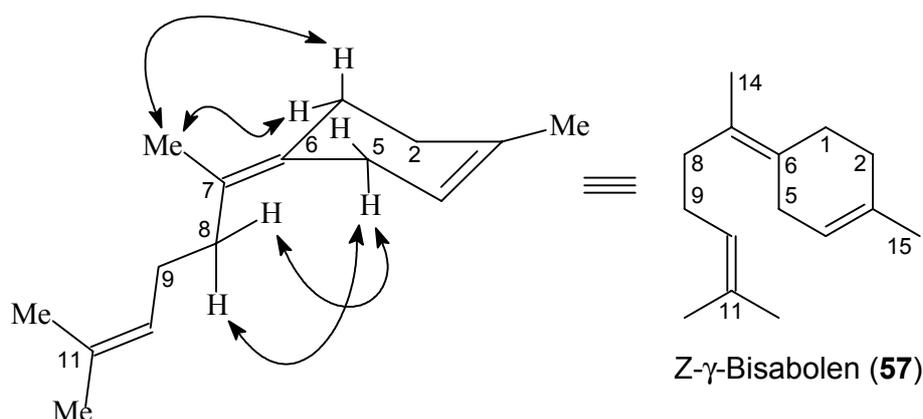
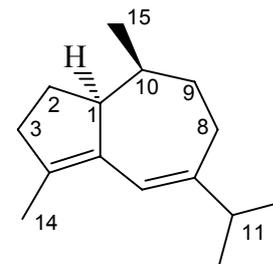


Abb. 59: Mittels ausgewählter NOESY-Kontakte läßt sich die Komponente **57** eindeutig als *Z*- γ -Bisabolen identifizieren.

Obwohl die sesquiterpenoiden Verbindungen mit Bisabolan-Gerüst in höheren Pflanzen weit verbreitet sind, findet man sie in den Lebermoosen relativ selten. Bisher wurden aus den Lebermoosen α -, β -Bisabolen, *ar*-Curcumen, β -Sesquiphellandren sowie oxygenierte Derivate dieser Komponenten beschrieben.^[8] Wie oben dargestellt, wurde *Z*- γ -Bisabolen (**57**) zum erstenmal als Lebermoosinhaltsstoff aus *D. hirsuta* isoliert und charakterisiert. Außerdem ließ sich als weiterer Vertreter mit Bisabolan-Gerüst das *ar*-Curcumen (**119**) mittels GC-MS identifizieren. Durch die enantioselektiven 2D-GC-Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß *ar*-Curcumen, im Gegensatz zu dem aus *Marsupella emarginata* (*Hepaticae*) isolierten *ar*-Curcumen, das (+)-Enantiomer darstellt.^[8]

4.5.4 Identifizierung von (-)-Isoguaien (**123**) aus *Dumortiera hirsuta*

Die Isolierung der Komponente **123** (Abb. 55) mit (m/z 204 [M^+]) gelingt aus dem ätherischen Öl von *D. hirsuta* mittels präp. GC an der 2,6-Me-3-Pe- β -CD Phase. Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum stellt man die Existenz von drei sekundären Methylgruppen ($\delta_{\text{Me}} = 0.77, 1.00$ und 1.02) und einer weiteren Methylgruppe ($\delta_{\text{Me}} = 1.72$), die an ein olefinisches Kohlenstoffatom gebunden ist, fest. Das olefinische Proton bei tiefem Feld ($\delta_{\text{H}} = 6.03$ ppm) und eine UV-Absorption der Komponente **123** weisen auf eine konjugiertes Dien hin. Die Analysen der $^{13}\text{C-NMR}$ und DEPT-Spektren lassen auf vier primäre C-Atome ($\delta_{\text{C}} = 13.20, 13.92, 21.22$ und 21.27 ppm), fünf sekundäre C-Atome ($\delta_{\text{C}} = 26.52, 26.59, 34.18, 34.89$ und 37.31 ppm), drei tertiäre C-Atome ($\delta_{\text{C}} = 38.02, 51.70$ und 117.56 ppm) und drei quartäre C-Atome ($\delta_{\text{C}} = 134.14, 135.63$ und 147.39 ppm) schließen.



Isoguaien (**123**)

Die Konstitutionsaufklärung der Komponente **123** wurde durch Auswertungen der $^1\text{H-}^1\text{H-COSY-}$, HMQC- und HMBC-Spektren ergänzt. Anhand dieser NMR-Untersuchungen wurde der Komponente **123** ein Guaian-Gerüst zugeordnet. Die anschließend durchgeführten Literaturrecherchen zeigten, daß die $^1\text{H-NMR}$ -Daten der Komponente **123** mit den $^1\text{H-NMR}$ -Daten von Isoguaien identisch sind.^[159] Isoguaien wurde von *F. Bohlmann et al.* aus der Pflanze *Ambrosia cumanensis* (*Compositae*) isoliert und charakterisiert.^[159] Die relative Konfiguration von Isoguaien (**123**) an den Stereozentren C(1) und C(10) wurde von *F. Bohlmann et al.* nach Doppelresonanz-Experimenten mit (1S*,10S*) angegeben.^[159] Da identische $^1\text{H-NMR}$ -Daten vorlagen, wurde die relative Konfiguration der isolierten Verbindung **123** ebenfalls als (1S*,10S*) bestimmt. Es konnten bisher einige sesquiterpenoide Verbindungen mit Guaian-Gerüst aus Lebermoosen isoliert werden.^[8] Isoguaien (**123**) wird in der Literatur „fälschlich“ mit dem Namen – Iso- α -Gurjunen B – als Bestandteil vom *Pellia epiphylla* beschrieben. *C. Fricke* konnte in ihrer Arbeit zeigen, daß es sich tatsächlich bei der Verbindung aus *P. epiphylla* um ein C-1-Epimer des Isoguaien handelt.^[157] Im ätherischen Öl von *D. hirsuta* konnten weitere Komponenten mit Guaian-Gerüst – (+)- α -Guaien (**114**), (+)-Guaie-6,9-dien (**115**) und (+)-Aciphyllen (**122**) – mittels GC-MS durch Vergleich mit authentischen Proben identifiziert werden. Die Stereochemie dieser Komponenten konnte durch enantioselektive 2D-Gaschromatographie festgestellt werden.

4.5.5 Stereochemische Untersuchungen von Bestandteilen aus *Dumortiera hirsuta*

Nach der Identifizierung der meisten Inhaltsstoffe des ätherischen Öles von *D. hirsuta* (Abb 55, S. 105), konnte mittels enantioselektiver 2D-Gaschromatographie eine systematische Untersuchung der Enantiomerenzusammensetzung vorgenommen werden.^[160] In Abbildung 60 wird als Beispiel die enantioselektive 2D-gaschromatographische Untersuchung von *cis*- α -Bergamoten (**49**) und β -Caryophyllen (**112**) dargestellt.

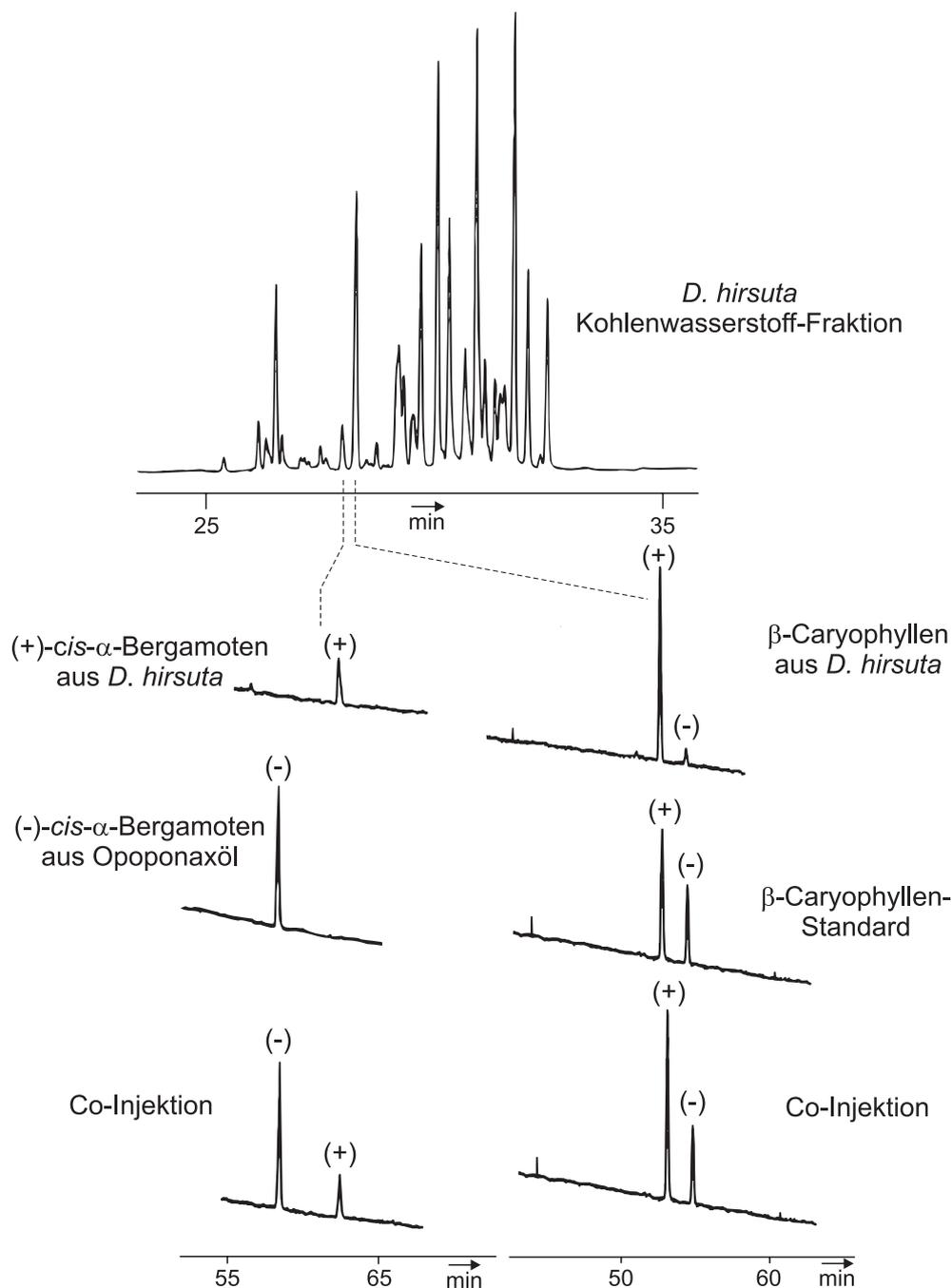


Abb. 60: Zweidimensionale gaschromatographische Untersuchungen von *cis*- α -Bergamoten und β -Caryophyllen aus dem ätherischen Öl von *D. hirsuta*. Als enantioselektive Trennsäule wurde 2,6-Me-3-Pe- β -CD (20 % in OV 1701, 25 m fused-silica-Kapillare 110 °C isoth.) verwendet.

Für diese Untersuchungen wurden zunächst Standards aus verschiedenen Quellen zugänglich gemacht. (-)-*cis*- α -Bergamoten, und (-)-*trans*- α -Bergamoten wurden aus Opoponaxöl mittels präp. GC isoliert. (+/-)- α -Copaen und (+/-)- β -Copaen mit bekannter Zusammensetzung wurde durch Umlagerung aus Germacren D erhalten.^[56] (-)- α -Guaien und (-)-Aciphyllen konnten aus Patchouliöl isoliert werden.

Die Ergebnisse der enantioselektiven 2D-gaschromatographischen Untersuchungen sind in Tabelle 5 zusammengefaßt. Die Komponenten α -Guaian (**114**), β -Copaen (**113**) und *ar*-Curcumen (112) kommen als Enantiomere vor, wobei die „ungewöhnlichen“ Enantiomere in großem Überschuß enthalten sind. Tabelle 5 zeigt, daß im ätherischen Öl von *D. hirsuta* eine große Anzahl der Komponenten ausschließlich in einer ungewöhnlichen Enantiomerenform vorkommt. Die ungewöhnlichen Enantiomeren der Komponenten (+)-*cis*- α -Bergamoten (**49**) und (+)-*trans*- α -Bergamoten (**98**) wurden zum erstenmal als Naturstoffe identifiziert.

Tabelle 5: Enantiomerenzusammensetzung der Komponenten aus *D. hirsuta*
(25 m fused-silica-Kapillare mit 20 % 2,6-Me-3-Pe- β -CD).

Sesquiterpen- kohlenwasserstoffe	% (+)-Enantiomer	% (-)-Enantiomer
1. α -Cubeben	25	75
2. Cyclosativen	—	100
3. α -Copaen	100	—
4. <i>cis</i> - α -Bergamoten	100	—
5. β -Caryophyllen	95	5
6. β -Copaen	73	27
7. α -Guaien	84	16
8. <i>trans</i> - α -Bergamoten	100	—
9. Guaia-6,9-dien	100	—
10. Unbekannt	—	—
11. (E)- β -Farnesen	—	—
12. Unbekannt	—	—
13. <i>ar</i> -Curcumen	87	13
14. Aristolochen	—	100
15. Valencen	100	—
16. Aciphyllen	100	—
17. Isoguaien	—	100
18. (Z)- γ -Bisabolen	—	—
19. <i>epi</i> - α -Selinen	—	100

Die Komponenten α -Cubeben (**109**), Aristolochen (**120**) und Valencen (**121**) sind mit ihren „gewöhnlichen“ Enantiomeren im ätherischen Öl von *D. hirsuta* vertreten. Die Komponente *epi*- α -Selinen (**124**), welche im ätherischen Öl des Lebermooses *Pellia epiphylla*,^[157] aber auch in ätherischen Ölen von höheren Pflanzen u.a. *Bixa orellana*, *Nardostachys jatamansii* vorkommt, wurde als (-)-Enantiomer identifiziert. Das (+)-Enantiomer von *epi*- α -Selinen (**124**) wurde als Bestandteil des ätherischen Öles von *Dipterocarpus alatus* Rob.(Gurjunbalsamöl) beschrieben.^[161]

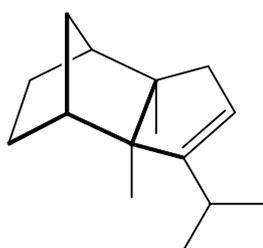
5 Zusammenfassung

Die Isolierung und Strukturaufklärung stellt ein hoch interessantes Gebiet der organischen Naturstoffchemie dar. Die methodischen Entwicklungen auf den Gebieten der Chromatographie und Spektroskopie – besonders die inversen Korrelationsmethoden der NMR-Spektroskopie – haben der Strukturaufklärung von Naturstoffen neue Impulse verliehen. Heute lassen sich Komponenten aus verschiedenen Quellen isolieren und charakterisieren, die bis vor einigen Jahren kaum für die Strukturaufklärung zugänglich gewesen wären.

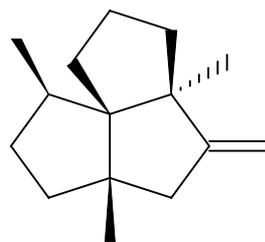
In der vorliegenden Dissertation wurde die Isolierung und Strukturaufklärung von sesquiterpenoiden Verbindungen aus ätherischen Ölen durchgeführt. Es wurden verschiedene ätherische Öle aus den höheren Pflanzen *Petasites hybridus* und *Amyris balsamifera*, sowie ätherische Öle aus den Lebermoosen *Jungermannia lanceolata* und *Dumortiera hirsuta* untersucht. Stereochemische Korrelationen von bekannten sesquiterpenoiden Verbindungen stellten einen weiteren Schwerpunkt dieser Arbeit dar.

Aus dem ätherischen Öl von *Petasites hybridus* konnten, neben den aus dieser Pflanze schon bekannten Komponenten (-)-Eremophilen (**54**), γ -Humulen (**53**) α -Santalen (**48**), (-)-Alben (**37**) und β -Bisabolen (**56**), einige weitere Verbindungen wie Modhephen (**44**), Silphinen (**40**), α -Isocomen (**45**) β -Isocomen (**47**), Presilphiperfol-7-en (**39**) und 7- α -H-Silphiperfol-5-en (**38**), welche für die Pflanzenfamilie der *Asteraceae* charakteristisch, aber noch nicht in *Petasites*-Arten beschrieben worden sind, identifiziert werden.

Außerdem gelang die Isolierung von zwei neuen Sesquiterpenkohlenwasserstoffen mit den Trivialnamen (-)-Petasiten (**46**) und (-)-Pethybren (**43**) aus dem ätherischen Öl von *P. hybridus*.



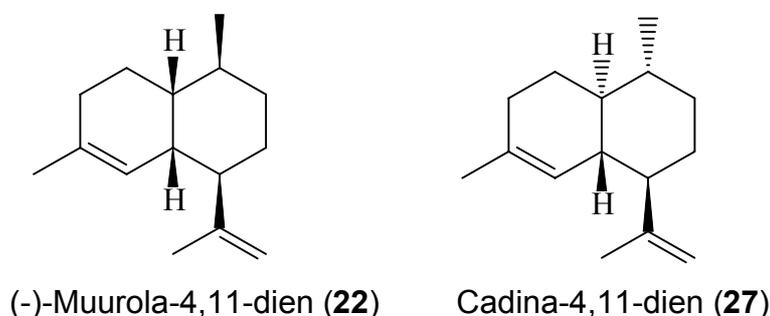
(-)-Petasiten (**46**)



(-)-Pethybren (**43**)

Die Aufklärung der Konstitution und der relativen Konfiguration dieser Verbindungen wurde an Hand der 1D-NMR- und 2D-NMR-Korrelationsspektren vorgenommen. Durch die Synthese von (-)-Petasiten aus (-)-Alben (**37**) konnte neben der Bestätigung der aus den NMR-Spektren abgeleiteten Konstitution und der relativen Konfiguration, auch die absolute Konfiguration dieser Verbindung mittels enantioselektiver Gaschromatographie mit modifizierten Cyclodextrin-Phasen ermittelt werden. Die Bestimmung der absoluten Konfiguration von (-)-Pethybren (**43**) ließ sich durch eine stereochemisch selektive Umlagerung zum (-)- α -Isocomen (**45**) durchführen, dessen absolute Konfiguration in der Literatur beschrieben ist. Ferner wurde die hypothetische Biogenese von (-)-Petasiten (**46**) und (-)-Pethybren (**43**) diskutiert.

Aus dem ätherischen Öl von *Amyris balsamifera* wurden zwei neue Sesquiterpenkohlenwasserstoffe (-)-Muurolo-4,11-dien (**22**) und Cadina-4,11-dien (**27**) mit Hilfe präparativer GC und Silbernitrat imprägnierter TLC-Platten isoliert. Nach der Konstitutionsaufklärung dieser Verbindungen mittels NMR-Spektroskopie wurden zur Aufklärung sowohl der relativen als auch der absoluten Konfiguration neben dem NOESY-Spektrum auch chemische Korrelationen herangezogen.



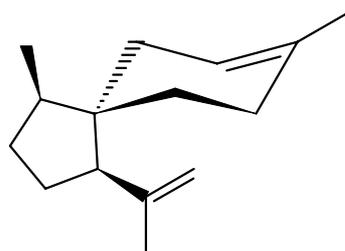
Die selektive Hydrierung der exocyclischen Doppelbindung von (-)-Muurolo-4,11-dien (**22**) und von (+/-)- γ -Muurolen (**23**) und die Untersuchungen dieser Hydrierungsprodukte an modifizierten Cyclodextrin-Phasen lieferten die absolute Konfiguration. Das (+)-Enantiomer von Muurolo-4,11-dien (**22**) konnte ebenfalls als Naturstoff aus dem ätherischen Öl des Laubmooses *Mnium hornum* (L.) isoliert werden. Die Enantiomerentrennung von (+/-)-Muurolo-4,11-dien gelang an der 2,6-Me-3-Pe- β -Cyclodextrin Phase.

Die absolute Konfiguration von Cadina-4,11-dien (**27**) wurde analog zu der Bestimmung der absoluten Konfiguration von (-)-Muurolo-4,11-dien (**22**) durchgeführt. Da der Drehsinn von Cadina-4,11-dien (**27**) aufgrund zu geringer Substanzmenge nicht bestimmt werden konnte, ließ sich der absoluten Konfiguration kein Drehwert zuordnen.

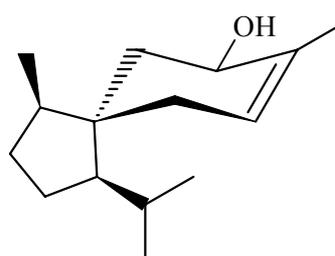
Die ätherischen Öle von Lebermoosen (*Hepaticae*) sind reichhaltige Quellen für unbekannte sesquiterpenide Verbindungen. Oftmals stellen die Inhaltsstoffe aus Lebermoosen die „ungewöhnlichen“ Enantiomere zu denen aus höheren Pflanzen dar. Die Isolierung und Strukturaufklärung von Bestandteilen aus Lebermoosen hat in den letzten Jahren Bedeutung erlangt, weil ihnen eine Vielzahl an biologischen Aktivitäten zugeschrieben werden konnten.

In Abschnitt 4.5 und 4.6 wurden die Untersuchungen von *Jungermannia lanceolata* und *Dumortiera hirsuta* (*Hepaticae*) beschrieben.

Aus dem ätherischen Öl von *J. lanceolata* konnten neben vielen bekannten mono- und sesquiterpenoiden Komponenten die neuen Verbindungen (-)- α -Neocallitropsen (**102**) und (+)-Acorenol B (**104**) mit Acoran-Gerüst isoliert und charakterisiert werden. Die Aufklärung der Konstitution dieser Verbindungen wurden mit spektroskopischen Methoden vorgenommen. Die relative und absolute Konfiguration konnte durch Auswertung des NOESY-Spektrums und durch chemische Korrelation mit literaturbekannten Verbindungen durchgeführt werden.



(-)- α -Neocallitropsen (**102**)



(+)-Acorenol B (**104**)

Da im ätherischen Öl von *Dumortiera hirsuta* viele Verbindungen als Neben- bzw. Spurenkomponenten vorkommen, wurden zu deren Identifizierung Referenzsubstanzen aus bekannten Quellen isoliert bzw. synthetisiert. Anschließend gelang die Charakterisierung der Komponenten durch Co-Injektion an verschiedenen GC-Säulen und durch Vergleich der Massenspektren.

Das ätherische Öl von *D. hirsuta* enthält viele bekannte Komponenten, die bisher selten in Lebermoosen gefunden wurden. Durch enantioselektive 2D-gaschromatographische Untersuchungen ließ sich zeigen, daß die Komponenten Cyclosativen (**110**), α -Copaen (**111**), Guaia-6,9- dien (**115**), *cis*- α -Bergamoten (**49**) und *trans*- α -Bergamoten (**98**) in dem ätherischen Öl ausschließlich in der „ungewöhnlichen“ Enantiomerenform vorkommen.

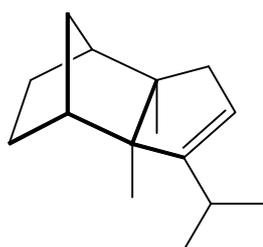
Dabei wurden (+)-*cis*- α -Bergamoten (**49**) und (+)-*trans*- α -Bergamoten (**98**) zum erstenmal aus einer natürlichen Quelle identifiziert.

6 Abstract

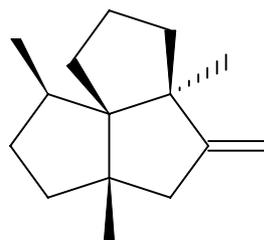
The isolation and structure elucidation of natural products remains a very important field of organic chemistry. The amazing progress being made in chromatography and spectroscopy – mainly the introduction of 2D- and 3D-NMR techniques – have enabled the isolation and structure elucidation of products from various origin. It is now possible to elucidate such complicated structures which few years ago seemed unthinkable to chemists.

The present thesis describes the isolation and structure elucidation of sesquiterpenoids from essential oils. Essential oils from higher plants – *Petasites hybridus* and *Amyris balsamifera* – and also from liverworts – *Jungemania lanceolata* and *Dumortiera hirsuta* – were investigated. Stereochemical correlation of some known sesquiterpenoids are also reported.

The investigation of the oil of *Petasites hybridus* led to the identification of many known sesquiterpenoids, (-)-eremophylene (**54**), γ -humulene (**53**), α -santalene (**48**), (-)-albene (**37**), and β -bisabolene (**56**). Furthermore modhephene (**44**), silphinene (**40**), α -isocomene (**45**), β -isocomene (**47**), silphiperfol-7-ene (**39**), and 7- α -H-silphiperfola-5-ene (**38**) were identified, which are characteristic of the family of the *Asteraceae*, but have not yet been described in the *Petasites* genus. Moreover, from the essential oil of *Petasites hybridus* two new sesquiterpene hydrocarbons were isolated and characterized which were called (-)-petasitene (**46**) and (-)-pethybren (**43**).



(-)-Petasiten (**46**)

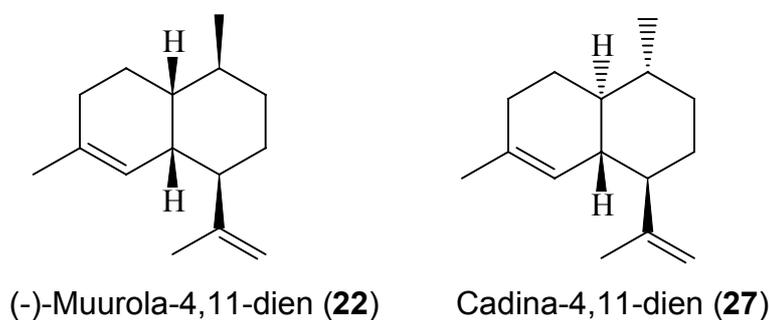


(-)-Pethybren (**43**)

The skeleton and the relative configuration of these products was derived from 1D- and 2D-NMR spectra. The confirmation of the structure and also the absolute configuration of (-)-petasitene was achieved by combination of its partial synthesis from (-)-albene and enantioselective gas chromatography. The absolute configuration of (-)-pethybren (**43**)

resulted from its stereoselective chemical transformation to (-)-isocomene (**45**) of known absolute configuration. A hypothetical biogenetic pathway for the two compounds is described.

From the essential oil of *Amyris balsamifera*, the two new sesquiterpene hydrocarbons (-)-muurola-4,11-diene (**22**), and cadina-4,11-diene (**27**) were isolated by a combination of preparative GC and TLC over silver nitrate precoated plates. The constitution of these compounds was obtained by NMR. Their absolute configuration was derived from the interpretation of the NOESY diagram and some chemical transformations.



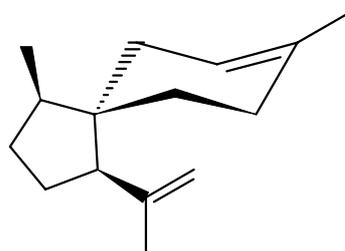
The selective hydrogenation of the isopropenyl double bond of (-)-muurola-4,11-diene (**22**) and a (+/-)-Muurolene (**23**) authentic sample enabled the determination of the relative configuration by capillary GC. Further analysis of the two samples by enantioselective capillary GC on modified cyclodextrin phases gave the absolute configuration of (**22**). In addition the (+)-enantiomer of muurola-4,11-diene was isolated from the essential oil of *Mnium hornum* (L) (*Musci*). The enantiomeric separation of (+/-)-muurola-4,11-diene was achieved on a capillary column with 2,6-Me-3-Pe- β -cyclodextrin.

The absolute configuration of cadina-4,11-diene (**27**) was determined by the same procedure which was used for (-)-muurola-4,11-diene (**22**). The optical rotation of cadina-4,11-diene (**27**) could not be determined because of the too small quantity of isolated product.

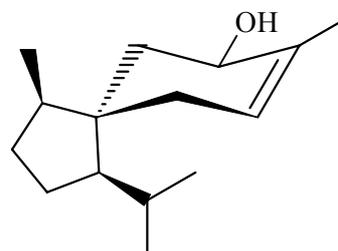
Essential oils of liverwort are rich sources of sesquiterpenoids. It has been found that liverworts usually produce unusual enantiomers of secondary metabolites as encountered in higher plants.

The paragraphs 4.5 and 4.6 describe the investigation of *Jungermannia lanceolata* and *Dumortiera hirsuta* (Hepaticae).

The study of the oil of *J. lanceolata* led to the identification of many mono- and sesquiterpenoids, but also to the isolation and characterization of two unknown acorane-type sesquiterpene hydrocarbons : (-)- α -neocallitropsene (**102**) and (+)-acorenol B (**104**). Their structure was determined by combination of spectroscopic methods – mass spectrometry and NMR spectroscopy – and chemical correlation with compounds of known absolute configuration.



(-)- α -Neocallitropsen (**102**)



(+)-Acorenol B (**104**)

The essential oil of *Dumortiera hirsuta* contains a great variety of minor constituents and it is therefore difficult to isolate them for characterization. For identification standard samples were isolated from other sources or synthesized and their identification was performed by co-injection in capillary gas chromatographs equipped with different columns, and by comparison of their mass spectra.

The essential oil of *D. hirsuta* contains many known compounds which up to now have not been described as liverwort constituents. Using two-dimensional enantioselective gas chromatography it could be proved that only the rare enantiomers of cyclosativene (**110**), α -copaene (**111**), guaia-6,9-diene (**115**), *cis*- α -bergamotene (**49**) und *trans*- α -bergamotene (**98**) are present in the oil of *D. hirsuta*. It should be mentioned that for the first time (+)-*cis*- α -bergamotene (**49**) and (+)-*trans*- α -bergamotene (**98**) were identified in a natural source.

7 Experimenteller Teil

7.1 Meßgeräte und Methoden

Kapillargaschromatographie:

Es wurden die Geräte Fractovap 2101AC, 2150, 4160 und Mega 5300 der Firma Carlo Erba, sowie Dani 3900 und ein Micromat 412 der Firma Orion verwendet. Stereochemische Untersuchungen wurden mit den modifizierten Cyclodextrin-Phasen 2,6-Me-3-Pe- β -CD oder 6-TBDMS-2,3-Me- β -CD durchgeführt. Für achirale gaschromatographische Analysen wurden 25 m fused-silica-Kapillaren, belegt mit CpSil-5 und CpSil-19 verwendet.

Zweidimensionale Gaschromatographie wurde mit einem *Siemens Sicromat 2* mit einer 25 m fused-silica-Kapillare CP-Sil 5 als Vorsäule und einer 25 m fused-silica-Kapillare mit 20 % 2,6-Me-3-Pe- β -CD in OV-1701 als Hauptsäule durchgeführt. Alle Geräte waren mit Flammenionisationsdetektoren und Splitinjektoren ausgestattet, als Trägergas diente Wasserstoff. Die Aufzeichnung und Integration erfolgte mit den Integratoren D-2000 und D-2500 der Firma *Merck-Hitachi*, sowie mit einem HP 3390 A der Firma *Hewlett-Packard*.

Durchführung von stereochemischen Untersuchungen mittels enantioselektiver zweidimensionaler Gaschromatographie:

Die Durchführung von stereochemischen Untersuchungen chiraler Komponenten mittels enantioselektiver zweidimensionaler Gaschromatographie wird im allgemeinen in vier Schritten vorgenommen. Im ersten Schritt wird die Retentionszeit der zu untersuchenden Komponente an der Vorsäule bestimmt. Im zweiten Schritt wird die Komponente mittels einer „live-Schaltung“ auf die chirale Hauptsäule transferiert und die Retentionszeit auf der Hauptsäule bestimmt. Als drittes kann die Co-Injektion der zu untersuchenden Komponente mit racemischen Referenzsubstanzen und deren Transfer auf die Hauptsäule folgen. Im vierten und letzten Schritt werden die racemischen Referenzsubstanzen eingespritzt und deren Retentionszeiten auf der Hauptsäule bestimmt. Durch den Vergleich der erhaltenen Retentionszeiten auf der chiralen Hauptsäule wird eine Zuordnung bezüglich der Konfiguration der Komponenten getroffen.

Präparative Gaschromatographie:

Es wurden für die präparative Gaschromatographie modifizierte Gaschromatographen des Typs Varian 1400 bzw. 2800 mit einem Flammenionisationsdetektor verwendet. Die Trennungen wurden an folgenden gepackten Säulen durchgeführtⁱ:

Säule	Misch Phase	Anteil CD (w/w)	Beladung (w/w)	Träger	i. D [mm]	Länge [m]	Säulenmaterial
[SE30]	-	-	6.4%	W-HP	4.3	1.85	Edelstahl
[SE30]	-	-	10%	W-HP	4.3	1.85	Edelstahl
[2,6-Me-3-Pe-β-CD/W]	OV-1701	50%	5%	W-HP	4.3	1.85	Edelstahl
[2,6-Me-3-Pe-β-CD]	SE-52	50%	-	W-HP	5.3	2.00	Silcosteel
[6-T-2,3-Me-β-CD]	SE-52	50%	6.4%	W-HP	5.3	1.95	Silcosteel
[6-T-2,3-Me-β-CD]	SE-52	50%	-	W-HP	5.3	2.00	Silcosteel
[6-Me-2,3-Pe-β-CD]	SE-52	50%	2.5%	G-HP	5.3	2.00	Silcosteel

Als Trägergas diente Helium, eluierte Substanzen wurden in einem Teflon-Schlauch, der in ein Kühlbad mit flüssigem Stickstoff getaucht war, aufgefangen.

NMR-Spektroskopie:

Die Messungen der ¹H-, ¹³C- und DEPT-Spektren sowie aller zweidimensionaler Korrelationsspektren (¹H-¹H-COSY, ¹H-¹³C-COSY, HMQC, HMBC, NOESY) erfolgten mit den Geräten WM 400 (¹H: 400 MHz, ¹³C: 100.62 MHz) und DRX 500 (¹H: 500 MHz, ¹³C: 125.77 MHz) der Firma *Bruker*. Als interner Standard diente Tetramethylsilan (δ = 0 ppm). In den meisten Fällen dienten als Lösungsmittel deuteriertes Chloroform (mind. 99.6 % D) oder Deuterobenzol der Firma *Merck*.

Für die Absicherung der Struktur von den zu Vergleichszwecken isolierten bekannten Verbindungen wurden meist ¹H-NMR- und ¹H-¹H-COSY-Spektren angefertigt. Zur Strukturaufklärung von unbekanntem Verbindungen wurden, sofern es möglich war, zusätzlich ¹³C-, DEPT-, ¹H-¹³C-, COLOC-, HMQC-, HMBC- und NOESY-Spektren ausgewertet.

ⁱ Für die präparative Gaschromatographie wurden die gepackten Säulen selbst hergestellt bzw. die von Dr. I. H. Hardt hergestellten Säulen verwendet.

Massenspektrometrie:

Die gaschromatographisch-massenspektrometrischen Analysen wurden an dem Sektorfeld-Gerät VG70-250 S der Firma *VG Analytical*, das mit einem *Hewlett-Packard* Gaschromatographen HP 5890 gekoppelt war, durchgeführt. Die Messungen erfolgten mittels Elektronenstoßionisation (EI) bei 70 eV. Für die GC-MS-Untersuchungen wurde auch ein Iontrap-Massenspektrometer ITD 800 der Firma *Finnigan*, gekoppelt mit einem *Dani* 6500 Gaschromatographen, eingesetzt. Als Trägergas diente jeweils Helium.

Angegeben werden Massenzahlen (m/z) und relative Intensitäten (in %) bezogen auf den Basispeak.

Polarimetrie:

Die qualitative und quantitative Bestimmung des Drehwertes wurde mit einem *Perkin-Elmer* 243 Polarimeter mit einer 1 dm Küvette bei 589 nm durchgeführt. Als Lösungsmittel wurden Chloroform p.a. und *n*-Hexan p.a. verwendet.

Dünnschicht-Chromatographie (TLC):

Für dünnschichtchromatographische Bestimmungen wurde Aluminiumfolie der Firma *Merck* verwendet, die mit Kieselgel 60 F₂₅₄ beschichtet war (Schichtdicke 0.2 mm). Die präparativen dünnschichtchromatographischen Isolierungen wurden mit Glasplatten (20×20 cm), beschichtet mit Kieselgel (SIL G-25 HR/UV₂₅₄, Schichtdicke 0.25 mm), der Firma *Macherey-Nagel* oder *Merck* durchgeführt. Die Detektion erfolgte meist durch Aufsprühen einer 10% igen ethanolschen Schwefelsäurelösung mit anschließender Verkohlung der Substanzen mittels eines Heißluftföns.

Herstellung von Silbernitrat imprägnierten präparativen TLC-Platten:

In einer lichtgeschützten Wanne (20×15×10 cm) wurden 100 ml Ethanol/Wasser (1:4) vorgelegt und je nach Trennproblem Silbernitrat zugesetzt (die Menge an zugesetztem Silbernitrat wurde nach mehreren Test DC-Läufen bestimmt). Anschließend wurden präparative TLC-Platten (10×20 cm) in die Wanne gelegt und auf einem Schüttler 1 Stunde inkubiert. Anschließend wurden die Platten ca. eine Stunde lang bei 110°C im Trockenschrank getrocknet.

Flüssig-Chromatographie:

Säulenchromatographische Trennungen wurden an Kieselgel 60 (0.040-0.063 mm) der Firma *Merck* durchgeführt. Die Säulen wurden, wenn nicht anders beschrieben, trocken gepackt und bei einem Überdruck von 0.2-0.4 bar („*Flash-Bedingungen*“) betrieben.

Reagenzien und Lösungsmittel:

Für die gaschromatographischen Untersuchungen wurden ausschließlich p.a. Lösungsmittel der Firma *Merck* und *Fluka* verwendet. Für die Flüssigchromatographie benutzte Lösungsmittel wurden vor dem Gebrauch einmal destilliert. Die ätherischen Öle von höheren Pflanzen – soweit sie kommerziell erhältlich sind – wurden freundlicherweise von *K.-D. Protzen, Paul Kaders GmbH*, Hamburg, und von der Firma *Vögele*, Lauffen, zur Verfügung gestellt. Von *Dr. D. Joulain*, Grasse, stammt die Sesquiterpenkohlenwasserstoffprobe aus *Neocallitropsis pancheri*. Von *Prof. Dr. K. H. Kubeczka*, Universität Hamburg, stammten zahlreiche Proben von ätherischen Ölen, die nicht kommerziell erhältlich sind. Kommerziell erhältliche Sesquiterpenkohlenwasserstoff-Standards wurden größtenteils von *Fluka*, *Merck*, *Roth* und *Sigma* bezogen. Weitere Reagenzien für die durchgeführten Synthesen wurden von den Firmen *Merck*, *Fluka* oder *Aldrich* bezogen.

Gewinnung der ätherischen Öle:

Das Pflanzenmaterial von höheren Pflanzen wurde, sofern erforderlich mit einer Gartenschere zerkleinert, um anschließend mit einem handelsüblichen Küchenmixer oder einem mechanischen Fleischwolf püriert zu werden. Das so vorbehandelte Pflanzenmaterial wurde einer Wasserdampfdestillation nach *Sprecher*^[109] (ca. zwei Stunden) unterzogen. Das Pflanzenmaterial von Lebermoosen wurde nach sorgfältigem Entfernen von Verunreinigungen frisch mit einem Küchenmixer zerkleinert und einer Wasserdampfdestillation nach *Sprecher* (ca. zwei Stunden) unterzogen. Das kondensierte ätherische Öl wurde in 1 ml *n*-Hexan p.a. aufgenommen.

Herkunft und Identifizierung der Lebermoose:

Die in dieser Arbeit untersuchten Lebermoose *Jungermannia lanceolata* aus dem Welzheimer Wald (Süddeutschland) und *Dumortira hirsuta* aus Brasilien wurden von *Dr. H. Muhle* (Universität Ulm) gesammelt und identifiziert.

Herkunft und Identifizierung der höheren Pflanzen:

Die höheren Pflanzen *Petasites hybridus*ⁱ, *Petasites albus*, *Silphium perfoliatum*, *Cistus incanus* und *Juniperus chinensis* wurden aus dem Botanischen Garten, Universität Hamburg, bezogen.

7.2 Isolierung und Darstellung terpenoider Verbindungen

In den folgenden Kapiteln werden die Isolierungen und für die Strukturaufklärung durchgeführten Synthesen beschrieben. Verbindungen, die als Referenzsubstanzen isoliert wurden, werden lediglich benannt und ¹H-NMR-Daten angegeben. Da sehr viele Hydrierungs- und Umlagerungsreaktionen zu Vergleichszwecken im Micromaßstab durchgeführt worden sind, konnte die Identifizierung dieser Produkte lediglich mittels GC-MS durchgeführt werden. Daher werden zur Charakterisierung dieser Komponenten nur Massenspektren angegeben.

7.2.1 Isolierung von (-)-Muuro-la-4,11-dien (22) aus Amyrisöl

Für die Abtrennung der Kohlenwasserstoffe von den sauerstoffhaltigen Komponenten des Amyrisöls wurde 1 g Öl einer Trockensäulenchromatographie (100 g Kieselgel 60 0.040-0.063 mm gefüllt in eine unten mit einem Hahn versehenen Glassäule; Länge: 30 cm, i.D.: 3 cm) unterzogen. Die Kohlenwasserstoffe wurden mit *n*-Hexan p.a. (ca. 300 ml) eluiert. Da die Trennung der Kohlenwasserstoffe von den sauerstoffhaltigen Komponenten mühelos durchgeführt werden konnte, wurden die Kohlenwasserstoffe in einer Fraktion aufgefangen.

Später wurden die sauerstoffhaltigen Komponenten mit Diethylether (ca. 450 ml) von der Säule eluiert. Nach dem Einengen der Kohlenwasserstoff-Fraktion mittels Rotationsverdampfer auf ca. 2 ml wurde eine präparative gaschromatographische Trennung vorgenommen. Aus mehreren Einspritzungen dieser Fraktion ließen sich an der 2,6-Me-3-Pe-β-CD-Phase (85°C, 2°C/min bis 160°C und 3.3 bar Helium (ca. 240ml/min)) verschiedene Fraktionen erhalten, wobei das Muuro-la-4,11-dien (**22**) auf 47 % angereichert wurde.

ⁱ *Petasites hybridus* ist eine weit verbreitete Pflanze, so daß man sie auch in Hamburg an mehreren Orten finden kann. Für detaillierte Untersuchungen wurde *P. hybridus* an der Außenalster (Hamburg) gesammelt und chemotaxonomisch bestimmt.

Diese Fraktion wurde auf einer mit Silbernitrat imprägnierten präparativen TLC-Platte (10×20 cm, Schichtdicke 2 mm, Kieselgel 60 F₂₅₄) aufgetrennt. Dazu ist die TLC-Platte fünfmal mit dem Laufmittel *n*-Hexan / Ethylacetat (5:1) entwickelt worden.

Anschließend wurde die Fraktion Muurola-4,11-dien (**22**) von der Platte gekratzt und mit *n*-Hexan p.a. aufgenommen. Nach dem Abfiltrieren und Einengen wurden ca. 1-2 mg Muurola-4,11-dien (**22**) erhalten.

7.2.2 Isolierung von (+)-Muurola-4,11-dien (**22**) *Mnium hornum*:

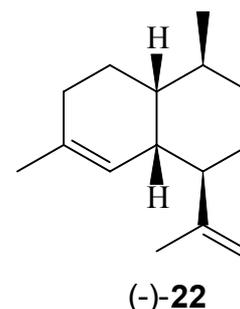
Die Isolierung von ca. 1 mg (+)-Muurola-4,11-dien (**22**) aus dem ätherischen Öl, welches durch Wasserdampfdestillation aus ca. 100 g (Frischgewicht) *Mnium hornum* erhalten wurde, wurde mittels präparativer Dünnschichtchromatographie (Laufmittel: Hexan) durchgeführt.

Muurola-4,11-dien (**22**):

¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆): δ (in ppm) = 1.00 (d, 3H), 1.23-1.31 (m, 2H), 1.34-1.42 (m, 1H), 1.49-1.61 (m, 4H), 1.63 (br. s, 3H), 1.68 (br. s, 3H), 1.75-1.79 (m, 3H), 2.06 (ddd, 1H), 2.28-2.34 (m, 1H), 4.88 (br. s, 2H), 5.48 (m, 1H).

¹³C-NMR (100.6 MHz, C₆D₆): δ (in ppm) = 19.69 (q), 20.41 (q), 23.84 (q), 26.08 (q), 26.53 (t), 28.08 (t), 30.84 (t), 33.30 (d), 34.98 (d), 39.44 (d), 48.62 (d), 110.92 (t), 126.21 (d), 133.28 (s), 148.51 (s).

MS (EI, 70 eV) *m/z* (%): 204 (31), 189 (39), 175 (7), 162 (22), 147 (19), 133 (20), 121 (100), 119 (91), 107 (21), 105 (37), 94 (50), 93 (78), 91 (41), 81 (50), 79 (63), 67 (31), 55 (43), 41 (68)



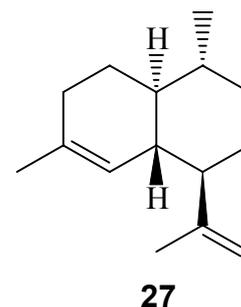
7.2.3 Die Isolierung von Cadina-4,11-dien (**27**) aus Amyrisöl

Die Isolierung von Cadina-4,11-dien (**27**) gelang ebenfalls nach den Trennschritten, die bereits für Muurola-4,11-dien (**22**) beschrieben worden sind (siehe oben). Jedoch zeigt Cadina-4,11-dien (**27**) im Gegensatz zu Muurola-4,11-dien (**22**) eine stärkere Komplexierung mit Silberionen (niedrigere R_F-Werte), bei mit Silbernitrat imprägnierten TLC, wodurch erst eine Trennung möglich wird. So konnten für die NMR-Untersuchungen ca. 0.5 mg Cadina-4,11-dien (**27**) bereitgestellt werden.

Cadina-4,11-dien (27):

¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆): δ (in ppm) = 0.73-0.81 (m, 1H), 0.89 (d, CH₃), 0.98-1.08 (m, 2H), 1.09-1.16 (m, 1H), 1.39 (ddd, 1H), 1.63 (s, CH₃), 1.65 (s, CH₃), 1.57-1.81 (m, 3H), 1.83-1.99 (m, 4H), 4.87 (m, 1H), 4.90 (m, 1H), 5.55 (br. s, 1H).

MS (EI, 70 eV) *m/z* (%): 204 (35), 189 (26), 175 (9), 162 (17), 161 (17), 147 (21), 133 (28), 121 (100), 119 (94), 107 (31), 105 (41), 93 (83), 91 (48), 81 (50), 79 (57), 69 (63), 55 (46), 41 (100)

**7.2.4 Selektive partielle Hydrierung von (-)-Muurola-4,11-dien (22)**

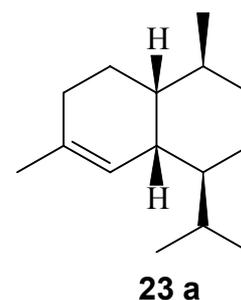
Zu einer Lösung von ca. 0.01 mg Muurola-4,11-dien (**22**) in 1 ml Ethanol/Benzol (1:1) wurde in katalytischen Mengen *Wilkinson-Katalysator* ((C₆H₅)₃P)₃RhCl zugesetzt. Anschließend wurde für 2 min. Wasserstoff eingeleitet. Nach 4 Stunden Rühren bei Raumtemperatur wurde die Lösung eingengt, der Rückstand in 1 ml *n*-Hexan p.a. aufgenommen und filtriert und das Lösungsmittel eingengt. Die anschließenden GC-Untersuchungen zeigten quantitative Umsetzung zu Muurola-4-en (**23a**).

Muurola-4-en (23a):

MS (EI, 70 eV) *m/z* (%): 206 (7), 164 (15), 163 (100), 162 (11), 150 (11), 135 (8), 121 (22), 107 (37), 95 (22), 93 (28), 81 (33), 79 (22), 69 (12), 55 (19), 41 (22).

Nach diesem Syntheseprinzip wurden für Vergleichszwecke die Verbindungen γ -Muurolen (**23**), γ -Cadinen (**24**) und γ -Amorphen (**25**) sowie Cadian-4,11-dien (**27**) selektiv partiell hydriert und

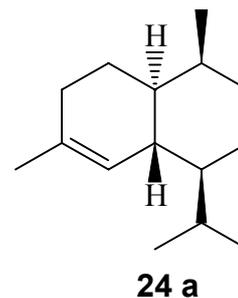
mittels GC-MS charakterisiert. Da Massenspektren der Isomere der jeweiligen Verbindungen nahezu gleich sind, wird nur eines der beiden Massenspektren angegeben.

**Muurola-4-en (23a-b):**

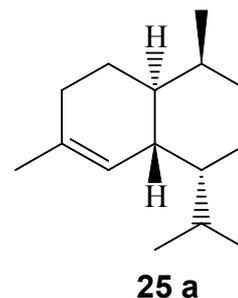
MS (EI, 70 eV) *m/z* (%): 206 (7), 164 (15), 163 (100), 162 (11), 150 (11), 135 (8), 121 (22), 107 (37), 95 (22), 93 (28), 81 (33), 79 (22), 69 (12), 55 (19), 41 (22).

Cadina-4-en (24a-b):

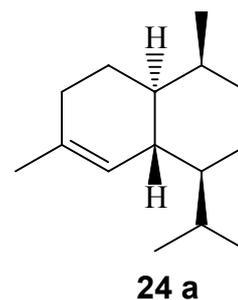
MS (EI, 70 eV) *m/z* (%): 206 (14), 189 (10), 164 (15), 163 (100), 162 (30), 150 (9), 133 (7), 131 (7), 121 (31), 107 (50), 95 (31), 93 (41), 81 (70), 77 (22), 69 (18), 55 (39), 41 (57).

**Amorpha-4-en (25a-b):**

MS (EI, 70 eV) *m/z* (%): 206 (7), 164 (15), 163 (100), 162 (11), 150 (9), 135 (7), 121 (22), 107 (37), 95 (22), 93 (27), 81 (33), 79 (22), 69 (11), 55 (16), 41 (22).

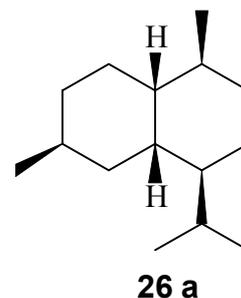
**Cadina-4-en (24a):**

MS (EI, 70 eV) *m/z* (%): 206 (14), 189 (10), 164 (15), 163 (100), 162 (30), 150 (9), 133 (7), 131 (7), 121 (31), 107 (50), 95 (31), 93 (41), 81 (70), 77 (22), 69 (18), 55 (39), 41 (57).

**7.2.5 Totale Hydrierung von (-)-Muurolo-4,11-dien (22)**

Eine Lösung von 0.01 mg (-)-Muurolo-4,11-dien (**22**) in 1 ml *n*-Hexan p.a. wurde mit einer katalytischen Menge von Palladium auf Aktivkohle (15%-Pd) versetzt und unter Rühren 2 min. Wasserstoff eingeleitet. Nach vier Stunden wurde der Katalysator abfiltriert. Durch GC-MS-Untersuchungen konnten die Produkte – zwei Isomere – identifiziert werden. Da die Massenspektren der beiden Isomere nahezu identisch sind, wurden nur die MS-Daten einer Verbindung angegeben.

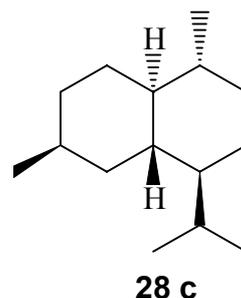
MS (EI, 70 eV) m/z (%): 208 (6) [M^+], 166 (14), 165 (60), 164 (28), 149 (9), 135 (3), 123 (20), 109 (100), 95 (72), 83 (31), 81 (37), 69 (24), 67 (28), 55 (37), 41 (31).



Analog zur oben beschriebenen Durchführung der Totalhydrierung wurden Cadina-4,11-dien (**27**) und Cadina-1,4-dien (**28**) umgesetzt und durch GC und GC-MS charakterisiert. Die Isomere aus Cadina-4,11-dien (**27**) sowie aus Cadina-1,4-dien (**28**) zeigen jeweils nahezu identische Massenspektren jedoch bei unterschiedlichen Retentionszeiten. Deswegen sind nur die Massenspektren der „entsprechenden“ Isomere angegeben.

Totale Hydrierung von Cadina-4,11-dien (28c-d):

MS (EI, 70 eV) m/z (%): 208 (11) [M^+], 166 (20), 165 (72), 164 (9), 149 (5), 135 (2), 123 (16), 109 (100), 95 (66), 83 (33), 81 (38), 69 (26), 67 (30), 55 (41), 41 (35).



Totale Hydrierung von Cadina-1,4-dien (28a-d)

MS (EI, 70 eV) m/z (%): 208 (11) [M^+], 166 (20), 165 (72), 164 (9), 149 (5), 135 (2), 123 (16), 109 (100), 95 (66), 83 (33), 81 (38), 69 (26), 67 (30), 55 (41), 41 (35).

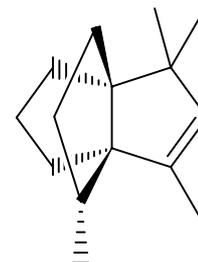
7.2.6 Isolierung der Komponenten 38, 40, 44, 45, 47 aus *Silphium perfoliatum*

Die Isolierung der auf Seite 54 beschriebenen Verbindungen aus dem Wasserdampfdestillat der Pflanze *Silphium perfoliatum* wurde in zwei Trennschritten erzielt. Im ersten Schritt wurde das Wasserdampfdestillat mittels präparativer Gaschromatographie an der 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase (80°C, 2°C/min., 160°C, 3.3 bar Helium (ca. 240 ml/min)) einer Fraktionierung unterzogen. Anschließend konnten aus den entsprechenden Fraktionen der präp. GC α -Isocomen (**47**), β -Isocomen (**45**), Silphinen (**40**), Modhephen (**44**) und 7- α -H-Silphiperfolen (**38**) mit Hilfe Silbernitrat imprägnierter präparativer TLC-Platten (s.o.) in einer Reinheit von jeweils über 93% isoliert werden.

Modhephen (44):

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (in ppm) = 0.97 (br. s, 3H), 0.98 (br. s, 3H), 1.00 (d, 3H), 1.01-1.47 (m, 6H), 1.60 (d, 3H), 1.63-1.82 (m, 4H), 1.99-2.07 (m, 1H), 4.82 (q, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (67.5 MHz, CDCl_3) δ (in ppm) = 13.7 (q), 15.7 (q), 27.3 (q), 27.3 (t), 29.3 (q), 30.0 (t), 34.4 (t), 36.0 (t), 38.7 (t), 44.0 (d), 46.0 (s), 66.4 (s), 73.2 (s), 135.4 (d), 141.1 (s).

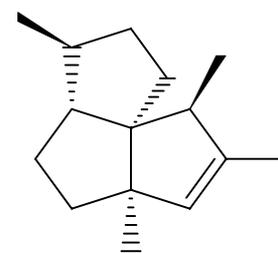
**(-)-44**

MS (EI, 70 eV) m/z (%): 204 (13) [M^+], 189 (100), 175 (4), 161 (22), 147 (26), 133 (19), 119 (28), 105 (19), 91 (20), 77 (13), 65 (6), 55 (13), 41 (20).

7- α -H-Silphiperfolen (38):

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (in ppm) = 0.93 (d, 3H), 0.95 (d, 3H), 0.97 (d, 3H), 1.00-1.47 (m, 9H), 1.66 (br. s, 3H), 4.93 (br. s, 3H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (67.5 MHz, CDCl_3) δ (in ppm) = 15.4 (q), 17.2 (q), 17.3 (q), 20.2 (q), 23.3 (t), 29.4 (t), 30.0 (t), 36.0 (t), 37.9 (d), 43.1 (d), 55.2 (d), 57.7 (s), 64.4 (s), 133.3 (d), 142.5 (s).

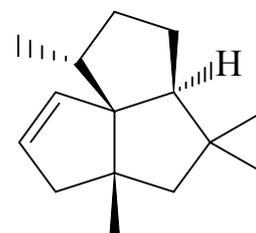
**(-)-38**

MS (EI, 70 eV) m/z (%): 204 (23) [M^+], 189 (13), 175 (100), 162 (6), 161 (6), 147 (17), 133 (28), 121 (30), 119 (30), 105 (27), 91 (31), 77 (20), 67 (11), 55 (26), 41 (41).

Silphinen (40):

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 0.82 (d, 3H), 0.91 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 1.25 (m, 4H), 1.63 (d, 1H), 1.68 (d, 1H), 1.86 (dd, 1H), 1.99 (ddq, 1H), 2.16 (ddd, 1H), 2.45 (ddd, 1H), 5.44 (ddd, 1H), 5.58 (ddd, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (67.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 16.4 (q), 26.7 (q), 27.4 (q), 27.7 (t), 31.1 (q), 37.6 (t), 38.7 (d), 39.4 (s), 49.4 (s), 51.4 (t), 58.7 (t), 64.0 (d), 76.2 (s), 125.4 (d), 138.5 (d).

**(-)-40**

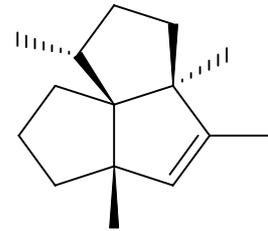
MS (EI, 70 eV) m/z (%): 204 (37) [M^+], 189 (61), 175 (20), 163 (24), 161 (28), 148 (46), 147 (62), 133 (61), 121 (33), 119 (43), 107 (50), 105 (70), 93 (43), 91 (100), 77 (46), 69 (20), 65 (20), 55 (44), 41 (100).

α -Isocomen (45):

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 0.85 (d, 3H), 1.03 (s, 3H), 1.04 (s, 3H), 1.11-1.28 (m, 4H), 1.28-1.47 (m, 2H), 1.47-1.59 (m, 2H), 1.56 (d, 3H), 1.69-1.76 (, 1H), 2.00 (m, 1H), 4.85 (q, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (67.5 MHz, CDCl_3) δ (in ppm) = 13.0 (q), 17.3 (q), 23.2 (q), 24.1 (q), 32.0 (t), 33.7 (t), 37.0 (t), 40.0 (d), 42.7 (t), 56.7 (s), 60.0 (s), 63.9 (s), 132.8 (d), 142.8 (s).

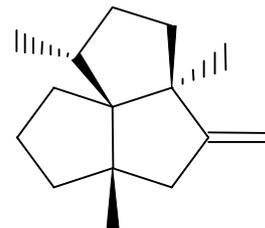
MS (EI, 70 eV) m/z (%): 204 (9) [M^+], 189 (20), 175 (6), 162 (100), 147 (43), 133 (20), 119 (35), 105 (24), 91 (22), 77 (15), 67 (7), 55 (14), 41 (26).

**(-)-45** **β -Isocomen (47):**

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 0.91 (d, 3H), 0.98 (s, 3H), 1.09 (s, 3H), 1.20-1.76 (m, 10H), 1.99 (m, 1H), 2.09 (d, 1H), 2.33 (ddd, 1H), 4.61 (br. s, 1H), 4.63 (br. s, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (67.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 18.0 (q), 23.6 (q), 24.0 (t), 24.2 (q), 30.2 (t), 34.7 (t), 40.5 (d), 41.7 (t), 42.8 (t), 48.1 (t), 49.6 (s), 55.1 (s), 66.9 (s), 100.9 (t), 162.8 (s).

MS (EI, 70 eV) m/z (%): 204 (18) [M^+], 189 (57), 175 (9), 161 (31), 147 (44), 134 (26), 133 (46), 121 (54), 119 (48), 109 (86), 108 (100), 93 (70), 91 (76), 79 (67), 77 (50), 67 (41), 55 (57), 41 (100).

**(-)-47****7.2.7 Isolierung von Presilphiperfol-7-en (39) aus *Matricaria perforata***

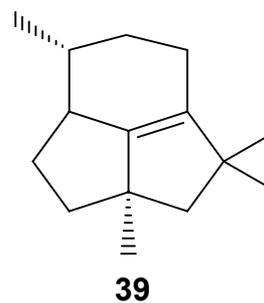
Aus dem Wasserdampfdestillat der Pflanze *Matricaria perforata* gelang die Isolierung von Persilphiperfol-7-en (**39**) in drei Trennschritten. Als erstes wurde das Wasserdampfdestillat einer Trockensäulenchromatographie (siehe Abschnitt 7.12.1) unterzogen. Anschließend konnte Presilphiperfol-7-en (**39**) aus der Kohlenwasserstoff-Fraktion mittels präp. GC zunächst an der 6-Me-2,3-Pe- β -CD-Phase (80°C, 2°C/min. 160°C, 3.3 bar Helium (ca. 240 ml/min)) dann an der 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase (80°C, 2°C/min. 160°C, 3.3 bar Helium (ca. 240 ml/min)) getrennt und rein erhalten werden.

Presilhiperfol-7-en (39)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C_6D_6) δ (ppm) = 0.99 (d, 3H), 1.17 (s, 3H), 1.21 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.59 (m, 1H), 1.83 (d, 4H), 1.87 (d, 1H), 1.94 (m, 1H), 2.01 (m, 1H), 2.22 (ddd, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, C_6D_6): δ (ppm) = 20.4 (q) 21.5 (t), 26.3 (q), 28.5 (q), 31.6 (q), 33.4 (t), 35.5 (t), 36.1 (d), 40.4 (t), 43.9 (d), 49.1 (s), 52.7 (s), 55.5 (t), 131.4 (s), 156.2 (s)

MS (EI, 70 eV) m/z (%): 204 (52) [M^+], 189 (98), 175 (20), 161 (74), 148 (37), 147 (70), 133 (44), 119 (100), 105 (51), 91 (50), 77 (26), 65 (13), 55 (28), 41 (41).

**7.2.8 Isolierung von Petasiten (46) aus *Petasites hybridus*:**

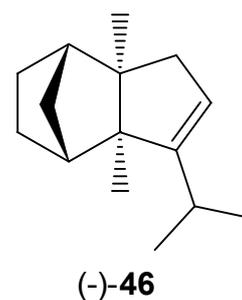
Das ätherische Öl (ca. 1 ml) von *P. hybridus* wurde auf eine Trockensäule (25 cm, 5 cm i.D.) aufgetragen und mit p.a. *n*-Hexan fraktioniert. Die Kohlenwasserstoff-Fraktion wurde zuerst an der 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase (80 °C, 2 °C/min 160 °C, 3.3 bar Helium (ca. 240 ml/min)) aufgetrennt. Anschließend wurde die entsprechende Fraktion erneut mit präp. GC an der 6-T-2,3-Me- β -CD-Phase (80 °C, 2 °C/min 160 °C, 3.3 bar Helium (ca. 240 ml/min)) getrennt.

(-)-Petasiten (46):

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C_6D_6) δ (ppm) = 0.96 (s, 6H, 2-, CH_3 -6), 1.00 (dt, 1H, H-10-anti, $^2J = 9.7$ Hz), 1.11 (d, 3H, 12- CH_3 , $^3J_{12, 11} = 7.1$ Hz), 1.12 (d, 3H, 13- CH_3 , $^3J_{13, 11} = 6.6$ Hz), 1.28 (m, 1H, H-8-exo), 1.34 (m, 1H, H-9-exo), 1.56 (m, 2H, H-8-endo-, 9-endo), 1.74 (m, 1H, H-10-syn, $^2J = 9.7$ Hz), 1.79 (br. d, 1H, H-7), 1.95 (br. d, 1H, H-1), 2.06 (sep. 1H, H-11, $^3J_{11, 12} = 7.1$ Hz, $^3J_{11, 13} = 6.6$ Hz), 2.22 (dd, 2H, H-5, $^2J = 8.6$ Hz, $^3J_{5, 4} = 2.6$ Hz), 5.38 (t, 1H, H-4, $^3J_{4, 5} = 2.6$ Hz)

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, C_6D_6) δ (ppm) = 17.17 (q, 2- CH_3), 21.14 (q, 6- CH_3), 24.17 (t, 8-C), 24.40 (t, 9-C), 25.41 (q, 12-C), 25.61 (q, 13-C), 27.42 (d, 11-C), 34.89 (t, 10-C), 45.75 (d, 1-C), 47.84 (s, 6-C), 50.63 (t, 5-C), 51.39 (d, 7-C), 59.08 (s, 2-C), 121.47 (d, 4-C), 156.91 (s, 3-C)

MS (EI, 70 eV) m/z (%): 204 (4) [M^+], 189 (8), 161 (4), 147 (2), 137 (100), 121 (27), 105 (9), 95 (26), 79 (9), 77 (9), 75 (9), 67 (9), 57 (9), 41 (19).



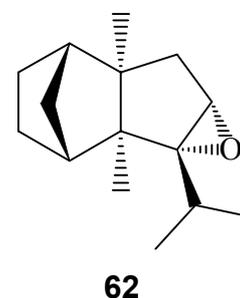
7.2.9 Herstellung von Petasiten-Epoxid (62)

5 mg (25 μmol) Petasiten (46) in 5 ml Chloroform wurden mit 17.3 mg (100 μmol) *m*-Chlorperbenzoesäure versetzt und ca. 9 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von 5 ml gesättigte Na_2SO_3 -Lösung abgebrochen und aufgearbeitet. Das Rohprodukt wurde mittels präp. TLC angereichert (Petrolether/Diethyleter 10:1) und durch präp. GC an der 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase (80 °C, 2 °C/min 160 °C, 3.3 bar Helium (ca. 240 ml/min)) isoliert.

Ausbeute: 3 mg (14 μmol , 55% d. Th.).

(-)-Petasiten-Epoxid (62):

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C_6D_6) δ (ppm) = 0.83 (s, 3H, 7- CH_3), 0.92 (d, 6H, 13, 14- CH_3 , $^3J = 7.1$ Hz), 0.99 (s, 3H, 2- CH_3), 1.09 (dt, 1H, 11-anti-H), 1.24 (m, 1H, 9-exo-H), 1.32 (m, 1H, 10-exo-H), 1.43 (m, 1H, 9-endo-H), 1.55 (m, 1H, 10-endo-H), 1.62 (m, 1H, 11-syn-H), 1.71 (dd, 1H, 6-H, $^2J = 14.6$ Hz, $^3J_{6,5} = 2.0$ Hz), 1.77 (br. d, 1H, 1-H), 1.82 (d, 1H, 6-H, $^2J = 14.6$ Hz), 2.18 (br. d, 1H, 1-H), 2.25 (sep, 1H, 12-H, $^3J_{12,13;12,14} = 7.1$ Hz), 3.34 (d, 1H, 5-H, $^3J_{4,5} = 2.0$ Hz)



$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, C_6D_6) δ (ppm) = 13.89 (q, 2- CH_3), 18.31 (q, 13-C), 19.69 (q, 14-C), 20.98 (q, 7- CH_3), 21.45 (t, 9-C), 22.31 (t, 10-C), 24.76 (d, 12-C), 33.26 (t, 11-C), 42.62 (d, 1-C), 44.53 (t, 6-C), 48.91 (s, 7-C), 50.01 (d, 8-C), 52.93 (s, 2-C), 62.57 (d, 5-C), 77.61 (s, 3-C)

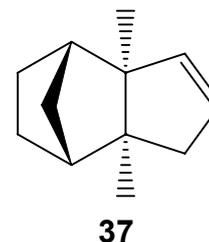
MS (EI, 70 eV) m/z (%): 220 (2) [M^+], 205 (4), 187 (2), 177 (4), 153 (100), 135 (10), 121 (5), 107 (16), 93 (11), 79 (10), 67 (10), 55 (10), 41 (17).

7.2.10 Isolierung von (-)-Alben (37) aus *Petasites hybridus*:

Das ätherische Öl (ca. 1 ml) von *P. hybridus* wurde auf einer Trockensäule (Länge: 25 cm, i.D.: 5 cm) aufgetragen und mit p.a. *n*-Hexan fraktioniert. Aus der Kohlenwasserstoff-Fraktion wurde (-)-Alben (37) mittels präp. GC an der 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase (80 °C, 2 °C/min 160 °C, 3.3 bar Helium (ca. 240 ml/min)) isoliert.

(-)-Alben (37):

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 0.94 (s, 6H, 2-, CH₃-6), 0.98 (dt, 1H, 13, H-10-anti, ²J = 9.5 Hz), 1.29 (m, 2H, H-8,9-exo), 1.56 (m, 2H, H-8,9-endo), 1.63 (m, 1H, H-10-syn, ²J = 9.5 Hz), 1.79 (m, 2H, 1-, H-7), 2.23 (dd, 2H, H-5, ²J = 19.0 Hz, ³J_{5,4} = 5.6 Hz, ⁴J_{5,3} = 2.4 Hz), 5.26 (dt, 1H, H-4, ³J_{4,3} = 6.1 Hz, ³J_{4,5} = 5.6 Hz), 5.56 (dt, 1H, H-3, ³J_{3,4} = 6.1 Hz, ⁴J_{3,5} = 2.4 Hz)



¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 18.09 (q, 2-CH₃), 20.65 (q, 6-CH₃), 23.77 (t, 8-C), 23.79 (t, 8-C), 34.16 (t, 10-C), 46.55 (s, 6-C), 47.02 (d, 7-C), 50.27 (d, 1-C), 51.75 (t, 5-C), 56.33 (s, 2-C), 128.30 (d, 4-C), 139.59 (d, 3-C)

MS (EI, 70 eV) *m/z* (%): 162 (2) [M⁺], 147 (4), 133 (2), 119 (7), 105 (9), 95 (100), 94 (41), 79 (24), 67 (13), 53 (7), 41 (17).

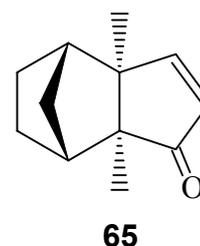
7.2.11 Darstellung von Albenon (65):

In einem 5 ml „Druck-Schraubdeckel-Glas“ wurden 150 mg (0.92 mmol) (-)-Alben – isoliert aus *Petasites hybridus* – mit 2 ml Pyridin, 5.2 g (13.9 mmol) Pyridiniumdichromat (PDC) und einer Spatelspitze Molsieb 4Å versetzt und bei 100 °C 15 Stunden gerührt. Nach dem Abkühlen wurde der Reaktionsansatz in 2 ml Wasser gegeben und viermal mit 10 ml Diethylether extrahiert. Anschließend wurden die vereinigten organischen Phasen mit je 10 ml 1 M HCl, gesättigte NaHCO₃ und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und eingengt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Hexan/Diethylether 10:1) gereinigt und massenspektroskopisch charakterisiert.

Ausbeute: 83 mg (0.47 mmol, 51% d. Th.).

(-)-Albenon (65):

MS (EI, 70 eV) *m/z* (%): 176 (100) [M⁺], 161 (63), 148 (31), 133 (41), 119 (28), 110 (68), 108 (68), 105 (41), 91 (41), 80 (41), 79 (35), 67 (31), 53 (16), 41 (31).



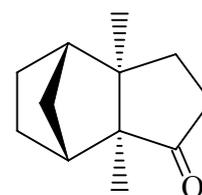
7.2.12 Darstellung von Albanon (64):

In einem 4 ml Schraubdeckelglas mit Septum wurden 100 mg (0.56 mmol) (-)-Albanon (65) mit 1 ml Diethylether und einer Spatelspitze Palladium auf Aktivkohle (15 % Pd) versetzt und unter Rühren Wasserstoff eingeleitet. Nach vier Stunden wurde der Katalysator abfiltriert und (-)-Albanon (64) quantitativ erhalten und massenspektroskopisch charakterisiert.

Ausbeute: 100 mg (567 μ mol, 99 % d. Th.).

(-)-Albanon (64):

MS (EI, 70 eV) m/z (%): 178 (20) [M^+], 163 (6), 156 (6), 135 (4), 122 (44), 111 (22), 94 (100), 79 (50), 77 (28), 67 (37), 53 (28), 41 (61).



64

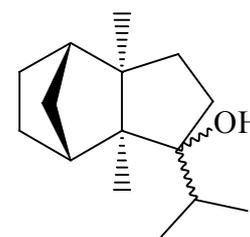
7.2.13 Darstellung von Petasitanol (63):

Eine Lösung aus 25 mg (140 μ mol) (-)-Albanon (64) in 10 ml *n*-Hexan wurde unter einer Argonatmosphäre unter Rückfluß erhitzt und innerhalb von 2 Stunden mit 30 ml (45 mmol) Isopropyllithium (ca. 1.5 M) in Hexan versetzt. Nach 15 Stunden wurde das überschüssige Reagenz mit gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung zersetzt, anschließend wurde viermal mit je 10 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und über eine Kieselgelsäule filtriert.

Ausbeute: Aufgrund des geringen Umsatzes konnte **63** lediglich durch GC-MS identifiziert werden.

Petasitanol (63):

MS (EI, 70 eV) m/z (%): 222 (1) [M^+], 189 (1), 179 (16), 161 (7), 151 (1), 137 (11), 123 (100), 111 (16), 95 (24), 94 (33), 81 (34), 67 (34), 55 (24), 41 (85).



63

Darstellung von Isopropyllithium:

Das als Lösungsmittel verwendete *n*-Hexan wurde über Natriumhydrid getrocknet und frisch destilliert. Das 2-Chlorpropan wurde über Natriumsulfat getrocknet und in Argonatmosphäre destilliert.

Zu 1.04 g (150 mmol) Lithiumpulver in 15 ml siedendem *n*-Hexan wurden unter einer Argonatmosphäre 6.4 ml (74 mmol) 2-Chlorpropan in 25 ml *n*-Hexan innerhalb von 2 Stunden zugetropft. Die Lösung wurde weitere 2 Stunden unter Rückfluß erhitzt und das Produkt vom Rückstand unter Argonatmosphäre abfiltriert.

7.2.14 Darstellung von Petasiten (46):

Eine Lösung aus ca. 20 µg Petasitanol (**63**) in 250 µl Diethylether wurde mit einer Spatelspitze Amberlyst® 15 versetzt und 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde vom Kationenaustauscher abfiltriert und Petasiten (**46**) als reines Produkt erhalten.

(-)-Petasiten (46):

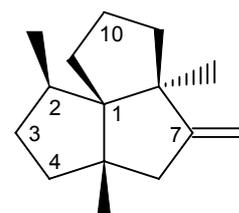
Das Massenspektrum ist identisch mit dem der aus *Petasites hybridus* isolierten Verbindung (siehe Anhang Seite 157).

7.2.15 Isolierung von Pethybren (43) aus *Petasites hybridus*:

Das ätherische Öl (ca. 1 ml) von *P. hybridus* wurde auf einer Trockensäule (25 cm, 5 cm i.D.) aufgetragen und mit *n*-Hexan p.a. fraktioniert. Die Kohlenwasserstoff-Fraktion wurde zuerst an der 2,6-Me-3-Pe-β-CD-Säule (80 °C, 2 °C/min 160 °C, 3.3 bar Helium (ca. 240 ml/min)) aufgetrennt. Anschließend wurde die entsprechende Fraktion mittels Silbernitrat imprägnierten TLC-Platten erneut fraktioniert (Laufmittel: Hexan). Eine weitere Trennung der entsprechenden Fraktion mit präp. GC an der 6-T-2,3-Me-β-CD-Phase (80 °C, 2 °C/min 160 °C, 3.3 bar Helium (ca. 240 ml/min)) lieferte das Pethybren (**43**) in 95 % iger Reinheit.

(-)-Pethybren (43):

¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆) δ (ppm) = 1.09 (d, 3H, 2-CH₃, ³J = 7.1 Hz), 1.26 (s, 3H, 2-CH₃), 1.31 (s, 3H, 5-CH₃) 1.33 (m, 1H, 3-H), 1.41 (m, 1H, 11-H), 1.50 (m, 1H, 4-H), 1.60 (m, 1H, 9-H), 1.63 (2s, 2H, 6-H), 1.68 (m, 1H, 4-H), 1.74 (m, 1H, 9-H), 1.78 (m, 2H, 10-H), 1.89 (q, 1H, 2-H, ³J = 7.1 Hz), 2.07 (m, 1H, 3-H), 2.14 (m, 1H, 11'-H), 4.80, 5.04 (2s, 2H, 7-CH₂)



(-)-**43**

¹³C-NMR (100 MHz, C₆D₆) δ (ppm) = 17.90 (q, 2-CH₃), 19.53 (q, 8-CH₃), 21.26 (t, 10-C), 24.89 (q, 5-CH₃), 27.59 (t, 3-C), 30.31 (t, 11-C), 37.03 (d, 2-C), 40.14 (t, 4-C), 44.00 (t, 9-C), 45.60 (s, 5-C), 48.66 (t, 6-C), 48.95 (s, 8-C), 62.32 (s, 1-C), 99.17 (t, 7-CH₂), 162.37 (s, 7-C)

MS (EI, 70 eV) *m/z* (%): 204 (8) [M⁺], 189 (22), 175 (7), 161 (15), 149 (100), 133 (15), 119 (15), 107 (19), 105 (19), 93 (19), 91 (19), 79 (15), 67 (9), 55 (16), 41 (28).

7.2.16 Umlagerung von (-)-Pethybren (43) zum (-)- α -Isocomen (34)

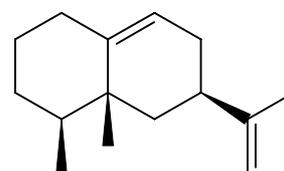
0.2 mg (0.9 μ mol) (-)-Pethybren (43) wurden in 500 μ l *n*-Hexan p.a. mit einer Spatelspitze Amberlyst[®] 15 versetzt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 2 Stunden wurde die Lösung vom Kationenaustauscher abpipettiert. Das erhaltene Produkt wurde mittels GC- und GC-MS-Analyse als (-)- α -Isocomen (34) identifiziert.

7.2.17 Isolierung von (-)-4,5-di-*epi*-Aristolochen (52) aus *Cistus incanus*:

Die Isolierung von 7 mg (-)-4,5-di-*epi*-Aristolochen (52) aus dem ätherischen Öl, welches durch Wasserdampfdestillation aus ca. 500 g *Cistus incanus* erhalten wurde, wurde mittels präparativer GC in zwei Schritten durchgeführt. Im ersten Schritt wurde das Öl an der 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase (80 °C, 2 °C/min 160 °C, 3.3 bar Helium (ca. 240 ml/min)) fraktioniert und im zweiten Schritt konnte 52 aus der entsprechenden Fraktion mit der 6-TBDMS-CD-Phase (80 °C, 2 °C/min 160 °C 3.3 bar Helium (ca. 240 ml/min)) in 89 %-iger Reinheit isoliert werden.

(-)-4,5-di-*epi*-Aristolochen (52):

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 0.82 (d, CH₃), 0.92 (s, CH₃), 1.09-1.30 (m, 2H), 1.34-1.51 (m, 2H), 1.60-1.70 (m, 1H), 1.73 (s, CH₃), 1.70-2.04 (m, 5H), 2.08-2.25 (m, 2H), 4.68-4.72 (m, 2H), 5.34 (m, 1H).



(-)- 52

¹³C-NMR (67.5 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 15.8 (q), 20.8 (q), 21.1 (q), 29.3 (t), 31.5 (t), 31.6 (t), 32.3 (t), 37.7 (d), 38.7 (d), 39.5 (s), 39.7 (t), 108.3 (t), 117.9 (d), 146.4 (s), 150.3 (s).

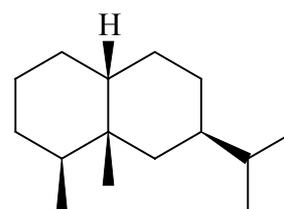
MS (EI, 70 eV) *m/z* (%): 204 (11) [M⁺], 189 (13), 175 (2), 161 (24), 147 (11), 113 (17), 121 (24), 105 (100), 93 (33), 91 (33), 79 (22), 67 (11), 55 (22), 41 (33).

Totale Hydrierung von (-)-4,5-di-*epi*-Aristolochen (52):

Eine Lösung von 2.5 μ l (-)-4,5-di-*epi*-Aristolochen (52) in 500 μ l *n*-Hexan p.a. wurde mit einer katalytischen Menge von Palladium auf Aktivkohle (15%-Pd) versetzt und unter Rühren 2 min. Wasserstoff eingeleitet. Nach vier Stunden wurde vom Katalysator abfiltriert. Durch GC- und GC-MS-Untersuchung konnten die Produkte – zwei Isomere – identifiziert werden. Da die Massenspektren der beiden Isomere nahezu identisch aussehen, wurden die MS-Daten nur für eine Verbindung angegeben.

Eremophilan (54a-b):

MS (EI, 70 eV) m/z (%): 208 (72) [M^+], 193 (15), 165 (96), 151 (7), 138 (20), 137 (22), 123 (22), 109 (76), 95 (100), 82 (76), 81 (81), 69 (56), 55 (61), 41 (67).

**54 a**

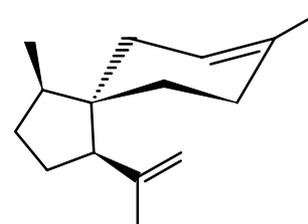
Mit der oben beschriebenen Vorschrift wurden (+)-Eremophilen und (-)-Eremophilen einer vollständigen Hydrierung unterzogen und die Produkte mit GC und GC-MS charakterisiert. Die Massenspektren der Eremophilan-Isomere (**54a-d**) sind nahezu identisch mit dem für **54a** angegebenen Massenspektrum.

7.2.18 Isolierung von (-)- α -Neocallitropsen (102) aus *Jungermannia lanceolata*:

Die Isolierung von ca. 1-2 mg (-)- α -Neocallitropsen (**102**) aus dem ätherischen Öl, welches durch Wasserdampfdestillation aus ca. 20 g (Frischgewicht) *Jungermannia lanceolata* erhalten wurde, wurde mittels präparativer GC an der 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase (80 °C, 2 °C/min 160 °C, 3.3 bar Helium (ca. 240 ml/min)) durchgeführt.

(-)- α -Neocallitropsen (102):

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 0.93 (d, CH_3), 1.40-1.50 (m, 2H), 1.61 (br. s, CH_3), 1.64-1.72 (m, 2H), 1.76 (s, CH_3), 1.72-1.84 (m, 3H), 1.87-2.06 (m, 4H), 2.19 (dd, 1H), 4.72 (br. s, 1H), 4.83 (m, 1H), 5.33 (m, 1H).

**(-)-102**

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 15.80 (q), 23.28 (q), 24.17 (q), 24.20 (t), 27.8 (t), 31.6 (t), 32.3 (t), 37.7 (d), 38.7 (d), 39.5 (s), 39.7 (t), 108.3 (t), 117.9 (d), 146.4 (s), 150.3 (s).

MS (EI, 70 eV) m/z (%): 204 (11) [M^+], 189 (9), 175 (4), 161 (19), 147 (23), 133 (15), 121 (78), 119 (100), 105 (46), 93 (87), 91 (39), 79 (46), 68 (28), 55 (33), 41 (54).

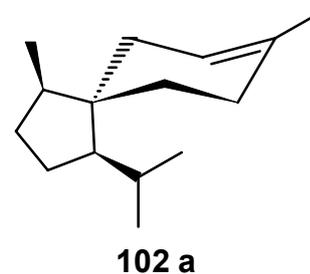
7.2.19 Darstellung von (+)-Acorenon aus (-)- α -Neocallitropsen (**102**):

Selektive partielle Hydrierung von (-)- α -Neocallitropsen (**102**):

Zu einer Lösung von 30 mg (-)- α -Neocallitropsen (**102**) in 1 ml Ethanol/Benzol (1:1) wurde in katalytischen Mengen *Wilkinson-Katalysator* $((C_6H_5)_3P)_3RhCl$ zugesetzt und anschließend in die Lösung 2 min. Wasserstoff eingeleitet. Nach 4 Stunden Rühren bei Raumtemperatur wurde die Lösung eingengt, der Rückstand in 1 ml *n*-Hexan p.a. aufgenommen, filtriert und eingengt. Die anschließenden GC-Untersuchungen zeigten eine quantitative Umsetzung zu der Verbindung Dihydro- α -Neocallitropsen (**102 a**).

Dihydro- α -Neocallitropsen (**102 a**):

MS (EI, 70 eV) *m/z* (%): 206 (16) $[M^+]$, 191 (7), 164 (41), 163 (100), 150 (2), 136 (17), 121 (38), 107 (41), 95 (62), 93 (53), 81 (60), 79 (49), 69 (31), 67 (31), 55 (31), 42 (100).

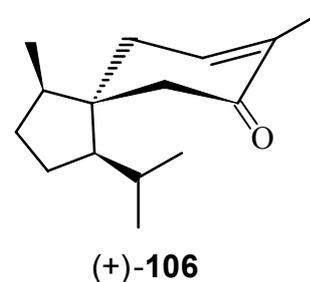


Allylische Oxydation von Dihydro- α -Neocallitropsen:

Im einem Schraubdeckel-Glas wurden 30 mg Dihydro- α -Neocallitropsen in 1 ml EtOH (95 %) mit ca. 0.5 mg Selendioxid umgesetzt und 9 Stunden bei 80 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wurde vom Rückstand abfiltriert und das Eluat eingengt. Aus dem Rohprodukt wurde Acorenon (**106**) mittels TLC (*n*-Hexan/AcOEt 10:1) isoliert.

(+)-Acorenon (**106**):

MS (EI, 70 eV) *m/z* (%): 220 (22) $[M^+]$, 205 (5), 191 (4), 177 (24), 164 (9), 150 (24), 135 (63), 123 (44), 109 (89), 93 (43), 82 (100), 77 (24), 69 (24), 55 (41), 41 (81).



7.2.20 Isolierung von (-)-Acorenon (**106**) aus *Acorus calamus*:

Die Isolierung von ca. 5 mg (-)-Acorenon (**106**) aus dem ätherischen Öl, welches durch Wasserdampfdestillation aus ca. 250 g (Frischgewicht) *Acorus calamus* erhalten wurde, wurde mittels präparativer Dünnschichtchromatographie (Hexan/Diethylether 10:1) durchgeführt und NMR-spektroskopisch identifiziert.

(-)-Acorenon (**106**):

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 15.80 (s), 16.4 (q), 21.8 (q), 24.20 (q), 25.7 (t), 29.3 (d), 30.1 (t), 38.0 (t), 39.0 (t), 47.5 (d), 48.3 (s), 57.2 (d), 135.2 (t), 144.9 (d), 201.0 (s)

Die $^{13}\text{C-NMR}$ - und massenspektroskopischen-Daten sind identisch mit den in der Literatur genannten (MS-Daten siehe oben).

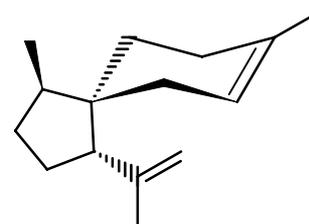
7.2.21 Isolierung von (+)- β -Acoradien (**101**) aus *Jungermannia lanceolata*:

Die Isolierung von ca. 0.5 mg (+)- β -Acoradien (**101**) aus dem ätherischen Öl, welches durch Wasserdampfdestillation aus ca. 20 g (Frischgewicht) *Jungermannia lanceolata* erhalten wurde, wurde mittels präparativer GC an der 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase (80 °C, 2 °C/min 160 °C, 3.3 bar Helium (ca. 240 ml/min)) und einer anschließenden Trennung mit Silbernitrat imprägnierten TLC-Platten (Laufmittel: Hexan) durchgeführt.

(+)- β -Acoradien (**101**):

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 0.86 (d, CH_3), 1.60 (br. s, CH_3), 1.74 (br. s, CH_3), 1.0-2.4 (m, 11H), 2.28 (dd, 1H), 4.65 (m, 1H), 4.81 (m, 1H), 5.33 (m, 1H).

MS (EI, 70 eV) m/z (%): 204 (15) [M^+], 189 (7), 175 (2), 161 (18), 147 (18), 133 (13), 121 (78), 119 (100), 105 (44), 93 (81), 79 (50), 77 (35), 67 (31), 55 (33), 41 (61).



(+)-**101**

7.2.22 Isolierung von (-)-trans- β -Bergamoten (**103**) aus *Jungermannia lanceolata*:

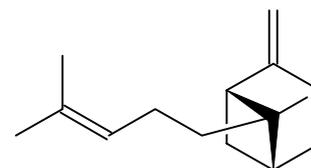
Die Isolierung von ca. 0.5 mg (-)-trans- β -Bergamoten (**103**) aus dem ätherischen Öl, welches durch Wasserdampfdestillation aus ca. 20 g (Frischgewicht) *Jungermannia lanceolata* erhalten wurde, wurde mittels präparativer GC an der 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase (80 °C, 2 °C/min 160 °C, 3.3 bar Helium (ca. 240 ml/min)) durchgeführt und NMR-spektroskopisch charakterisiert.

(-)-trans- β -Bergamoten (103):

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 0.71 (s, CH_3), 1.42 (d, 1H), 1.62 (br. s, CH_3), 1.70 (br. s, CH_3), 1.73-1.84 (m, 4H), 1.95 (m, 2H), 2.01 (m, 1H), 2.28 (m, 2H), 2.52 (br. dd, 2H), 4.56 (br. s, 1H), 4.63 (m, 1H), 5.16 (t, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 17.6, 18.6, 23.5, 25.7, 27.1, 31.6, 38.2, 38.7, 43.8, 50.2, 106.0, 125.1, 131.1, 152.

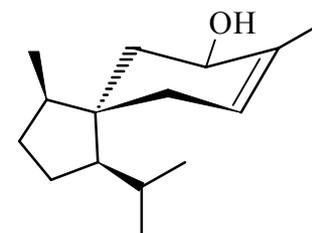
MS (EI, 70 eV) m/z (%): 204 (6) [M^+], 189 (2), 161 (15), 147 (2), 133 (21), 120 (16), 107 (13), 93 (56), 79 (29), 69 (100), 51 (26), 41 (96).

**(-)-103****7.2.23 Isolierung von (+)-Acorenol B (104) aus *Jungermannia lanceolata*:**

Die Isolierung von ca. 1 mg (+)-Acorenol B (**104**) aus dem ätherischen Öl, welches durch Wasserdampfdestillation aus ca. 20 g (Frischgewicht) *Jungermannia lanceolata* erhalten wurde, wurde mittels präparativer GC an der 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase (80 °C, 2 °C/min 160 °C, 3.3 bar Helium (ca. 240 ml/min)) durchgeführt.

(+)-Acorenol B (104):

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, C_6D_6) δ (ppm) = 0.81 (d, 3H, CH_3 -12, $^3J_{12,11} = 6.6$ Hz), 0.83 (d, 3H, CH_3 -14, $^3J_{14,1} = 6.6$ Hz) 1.14 (m, 1H, H-4) 1.40 (m, 1H, H-2), 1.51 (m, 1H, H-3), 1.46 (d, 2H, 6-H $^3J_{6,7} = 7.6$ Hz), 1.61 (m, 1H, H-1), 1.67 (m, 2H, H-10), 1.70 (m, 1H, H-4), 1.74 (m, 1H, H-11), 1.76 (s, 3H, CH_3 -15), 4.08, (br. s, 1H, H-7), 5.38, (br. s, 1H, H-9).

**(+)-104**

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, C_6D_6) δ (ppm) = 16.27 (q, 14- CH_3), 19.68 (q, 12- CH_3), 19.88 (q, 13- CH_3), 23.37 (t, 2-C), 26.22 (t, 3-C), 25.74 (q, 15- CH_3), 28.55 (d, 11-C), 31.46 (t, 6-C), 45.47 (d, 1-C), 46.03 (s, 5-C), 46.19 (t, 10-C), 56.75 (d, 4-C), 68.96 (d, 7-C), 124.65 (d, 9-C), 135.84 (s, 8-C).

MS (EI, 70 eV) m/z (%): 222 (42) [M^+], 204 (18), 189 (5), 179 (11), 161 (36), 151 (22), 138 (18), 119 (100), 109 (46), 105 (79), 95 (43), 91 (48), 84 (50), 77 (34), 69 (34), 55 (56), 41 (100).

7.2.24 Reduktion von Acorenon B (105):

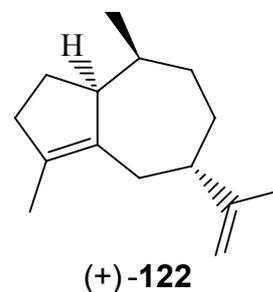
Eine Lösung von 0.5 mg (2.2 μmol) Acorenon B (**105**) in 500 μl abs. Diethylether wurde zu einer Suspension von 4 mg (0.1 mmol) Lithiumaluminiumhydrid in 2 ml abs. Diethylether gegeben und über Nacht gerührt. Nach Zugabe von 5 ml Wasser wurde mit je 2 ml Diethylether dreimal extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet und eingeeengt. Die Umsetzung erfolgte quantitativ. Es wurde die Reduktion sowohl mit (+)- als auch mit (-)-Acorenon B durchgeführt. Die Produkte wurden massenspektroskopisch identifiziert (siehe oben).

7.2.25 Isolierung von (+)-Aciphyllen (122) aus Patchouliöl:

Die Isolierung von ca. 2 mg (+)-Aciphyllen (**122**) aus Patchouliöl wurde mittels präparativer GC mit der 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase (80 $^{\circ}\text{C}$, 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 160 $^{\circ}\text{C}$, 3.3 bar Helium (ca. 240 ml/min)) und einer anschließenden Trennung mit Silbernitrat imprägnierten TLC-Platten (Laufmittel: Hexan) durchgeführt und NMR-spektroskopisch charakterisiert.

(+)-Aciphyllen (122):

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 0.75 (d, 3H, $^3J_{15,10} = 7.0$ Hz CH_3), 1.45 (dddd, $J_1 = 13$ Hz, $J_2 = 9.5$ Hz, $J_3 = 6.5$ Hz, $J_4 = 6.3$ Hz), 1.57 (s, CH_3), 1.50-1.73 (m, 3H), 1.72 (s, CH_3), 1.80-1.90 (m, 1H), 1.95 (ddt, 1H, $J_{d1} = 13.0$ Hz, $J_{d2} = 5.0$ Hz, $J_t = 8.8$ Hz), 2.00-2.13 (m, 3H), 2.13-2.30 (m, 2H), 2.40 (br. d, 1H, $J = 13.3$ Hz), 2.95 (m, 1H), 4.59 (s, 1H), 4.66 (s, 1H).



$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 12.94 (q), 14.14 (q), 20.23 (q), 28.52 (t), 31.96 (t), 35.14 (t), 36.96 (d), 37.10 (t), 37.44 (t), 45.72 (d), 53.28 (d), 107.55 (t), 132.54 (s), 135.17 (s), 152.83 (s).

MS (EI, 70 eV) m/z (%): 204 (42) [M^+], 189 (69), 175 (18), 161 (41), 147 (52), 133 (48), 119 (43), 105 (84), 95 (100), 93 (76), 91 (72), 81 (52), 79 (78), 77 (50), 67 (42), 55 (59), 41 (100).

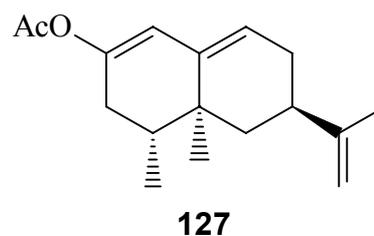
7.2.26 Synthese von (-)-Aristolochen (120) aus (+)-Nootkaton (126):**Darstellung des Enolacetats (127):**

100 mg (0.45 mmol) (+)-Nootkaton (**126**) in 50 ml abs. THF wurden zu einer Suspension aus 15.5 mg (0.65 mmol) NaH in 50 ml abs. THF zugetropft und 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden zu der Lösung 100 mg (0.97 mmol) Acetanhydrid in 50 ml abs. THF innerhalb von 30 min zugegeben und weitere 2 Stunden gerührt. Überschüssiges Reagenz wurde mit 20 ml Wasser zersetzt und das Reaktionsgemisch mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Produkt wurde mittels GC-MS identifiziert.

Ausbeute: 80 mg (0.30 mmol, 95 % d. Th.).

Enolacetat (127):

MS (EI, 70 eV) *m/z* (%): 260 (2) [M^+], 219 (9), 203 (6), 177 (100), 159 (2), 150 (20), 136 (13), 135 (47), 121 (2), 105 (6), 91 (18), 77 (6), 67 (4), 55 (4), 41 (86).

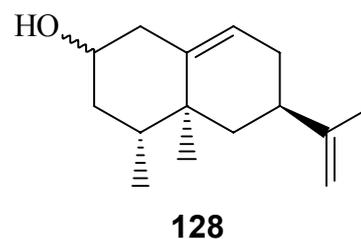
**Reduktion des Enolacetats zum Aristolochen-Alkohol (123):**

80 mg (0.30 mmol) Enolacetat in 20 ml Ethanol wurden bei 0 °C zu einer Lösung aus 56 mg (1.5 mmol) NaBH₄ in 50 ml Ethanol bei 0 °C zugetropft und 1 Stunde gerührt. Nach weiteren 3 Stunden Rühren bei 5 °C wurde der Reaktionsansatz mit 10 %-iger NaOH versetzt und aufgearbeitet (zur Aufarbeitung wurden ausschließlich eisgekühlte Lösungen verwendet). Das Rohprodukt wurde dünnschichtchromatographisch gereinigt und massenspektrometrisch charakterisiert.

Ausbeute: 40 mg (0.18 mmol, 42 % d. Th.).

Aristolochen-Alkohol (123):

MS (EI, 70 eV) *m/z* (%): 220 (6) [M^+], 205 (55), 187 (18), 177 (4), 159 (35), 145 (29), 131 (33), 119 (62), 107 (49), 105 (49), 91 (60), 79 (46), 67 (33), 53 (31), 41 (100).



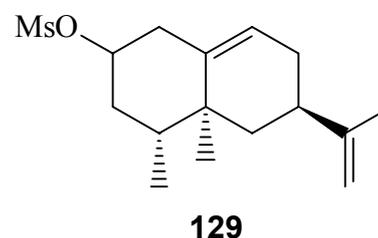
Darstellung des Mesylesters (129):

40 mg (0.18 mmol) Aristolochen-Alkohol (**128**) wurden in 10 ml Pyridin bei 0 °C mit 0.5 ml (6.4 mmol) Methansulfonylchlorid versetzt. Nach 1 Stunde Rühren bei 0 °C und 3 Stunden bei Raumtemperatur, wurde die Reaktion unter Kühlung durch Zugabe von Eis abgebrochen und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Rohprodukt wurde dünnschichtchromatographisch gereinigt und massenspektrometrisch charakterisiert.

Ausbeute: 10 mg (0.03 mmol, 34% d. Th.).

Mesylester (129):

MS (EI, 70 eV) *m/z* (%): (298-96) (6) [M^+], 202 (13), 187 (18), 161 (31), 145 (31), 131 (26), 119 (100), 105 (51), 91 (60), 77 (31), 65 (22), 53 (22).

**Darstellung von (-)-Aristolochen (129):**

10 mg (0.03 mmol) Mesylester (**129**) in 10 ml tert-Butylalkohol und 20 ml THF wurden zu einer Suspension aus 1.5 g (216 mmol) Lithium in 150 ml flüssiges NH_3 bei -78 °C zugegeben. Nach 2 Stunden bei -78 °C und weiteren 2 Stunden bei -33 °C Rühren wurde die Reaktion durch Zugabe von EtOH abgebrochen und das Alkoxid mit Ammoniumchlorid-Lösung neutralisiert.

Anschließend wurde der Ammoniak verdampft und der Rückstand in Diethylether aufgenommen und (wie gewöhnlich) aufgearbeitet. Das Rohprodukt wurde dünnschichtchromatographisch gereinigt und massenspektrometrisch sowie NMR-spektroskopisch charakterisiert.

Ausbeute: 3 mg (0.014 mmol, 20 % d. Th.).

(-)-Aristolochen (120):

Die NMR-spektroskopische- und MS-Daten sind identisch mit den in der Literatur angegebenen Daten (Vgl. Anhang S. 158).

7.2.27 Isolierung von *Z*- γ -Bisabolen (57):

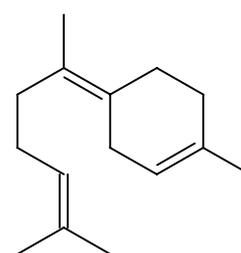
Die Isolierung von ca. 1 mg *Z*- γ -Bisabolen (57) aus dem ätherischen Öl, welches durch Wasserdampfdestillation aus ca. 10 g (Frischgewicht) *Dumortiera hirsuta* erhalten wurde, wurde mittels präparativer GC an der 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase (80 °C, 2 °C/min 160 °C, 3.3 bar Helium (ca. 240 ml/min)) und einer weiteren dünnschichtchromatographischen Trennung (Laufmittel: Hexan) durchgeführt. Die Identifizierung gelang durch den Vergleich der NMR-Spektren mit Literaturdaten.

Z- γ -Bisabolen (57):

¹H-NMR (400 MHz, C₆D₆) δ (ppm) = 1.54 (s, CH₃), 1.63 (s, CH₃), 1.66 (s, CH₃), 1.70 (s, CH₃), 1.94 (t, 2H, J = 6.3 Hz), 2.13 (m, 4H), 2.31 (t, 2H, J = 6.3 Hz), 2.82 (br. s, 2H), 5.22 (br. s, 1H), 5.40 (br. s, 1H).

¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 17.66, 18.00, 23.57, 25.85, 27.24 (t), 27.33 (t), 29.81, 31.83 (t), 34.83 (t), 121.37 (d), 125.30 (d), 125.67 (s), 131.21 (s), 133.97 (s).

MS (EI, 70 eV) m/z (%): 204 (30) [M⁺], 189 (2), 161 (9), 147 (9), 135 (28), 134 (27), 121 (27), 119 (54), 107 (70), 105 (29), 93 (100), 91 (41), 79 (37), 77 (30), 69 (30), 55 (37), 41 (80).

**154**

7.2.28 Isolierung von (-)-Isoguaïen (123):

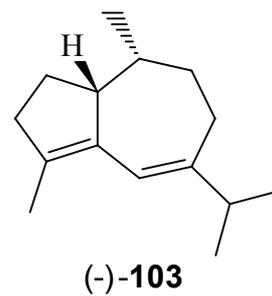
Die Isolierung von ca. 1 mg (-)-Isoguaïen (123) aus dem ätherischen Öl, welches durch Wasserdampfdestillation aus ca. 10 g (Frischgewicht) *Dumortiera hirsuta* erhalten wurde, wurde mittels präparativer GC an der 2,6-Me-3-Pe- β -CD-Phase (80 °C, 2 °C/min 160 °C, 3.3 bar Helium (ca. 240 ml/min)) und einer weiteren dünnschichtchromatographischen Trennung (Laufmittel: Hexan) durchgeführt. Die Identifizierung erfolgte durch den Vergleich der NMR-Spektren mit Literaturdaten.

(-)-Isoguaien (123):

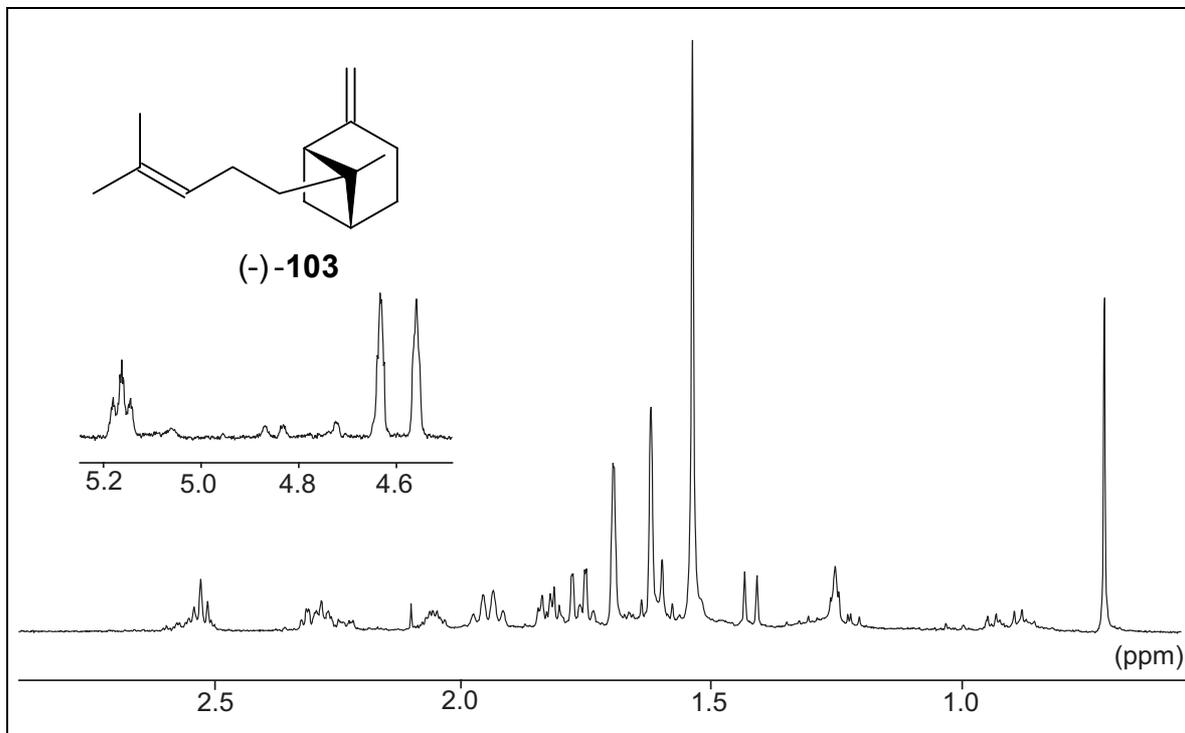
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 0.77 (d, CH₃) 1.00 (d, CH₃), 1.02 (d, CH₃), 1.49-1.63 (m, 2H), 1.72 (s, CH₃), 1.73-1.84 (m 1H), 1.84-1.97 (m, 2H), 2.06 (ddd, 1H), 2.27 (d, 1H), 2.28 (m, 3H), 3.04 (m, 1H), 6.03 (s, 1H)

¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 13.20, 13.92, 21.22, 21.27, 26.52, 26.59, 34.18, 34.38, 37.31, 38.02, 51.70, 117.56, 134.14, 135.63, 147.39

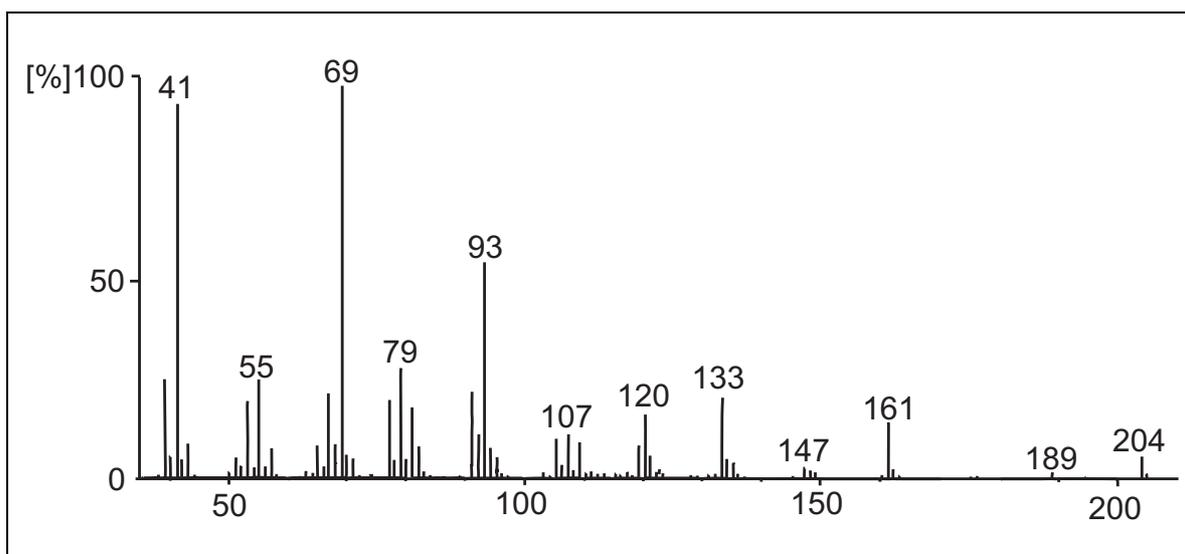
MS (EI, 70 eV) *m/z* (%): 204 (100) [M⁺], 189 (83), 161 (100), 147 (33), 133 (41), 119 (66), 105 (78), 93 (54), 91 (72), 79 (39), 77 (89), 69 (54), 55 (45), 41 (91).



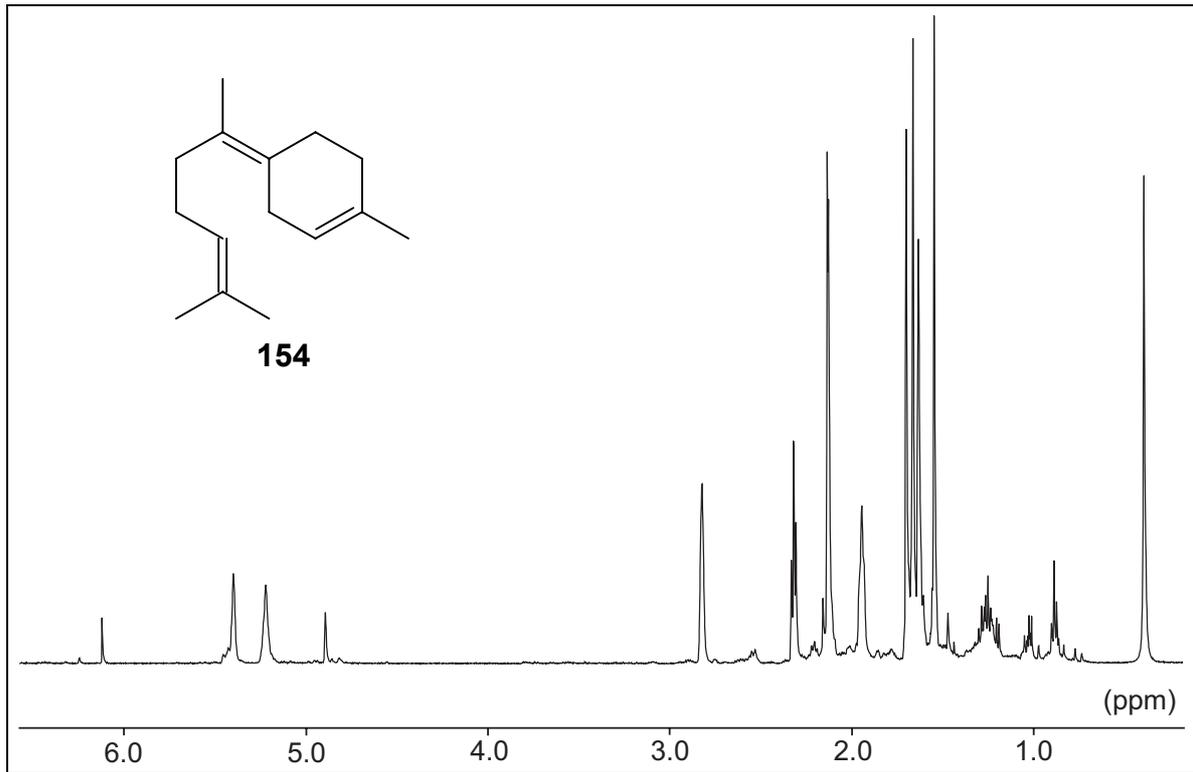
8 Spektrenanhang



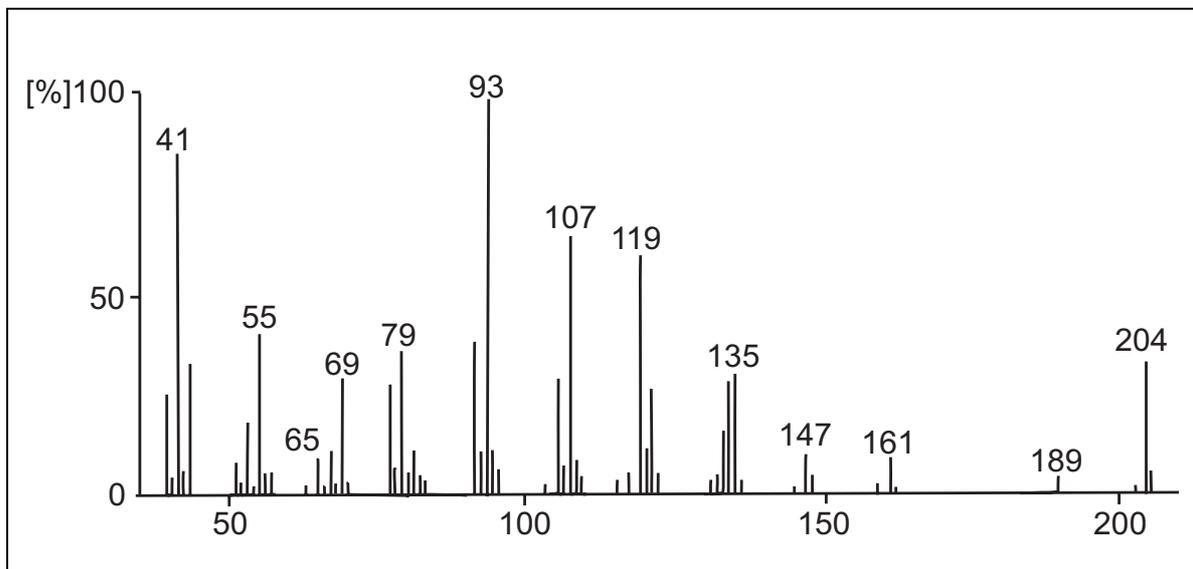
$^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (400 MHz, CDCl_3): *trans*- β -Bergamoten aus *Jungermannia lanceolata*



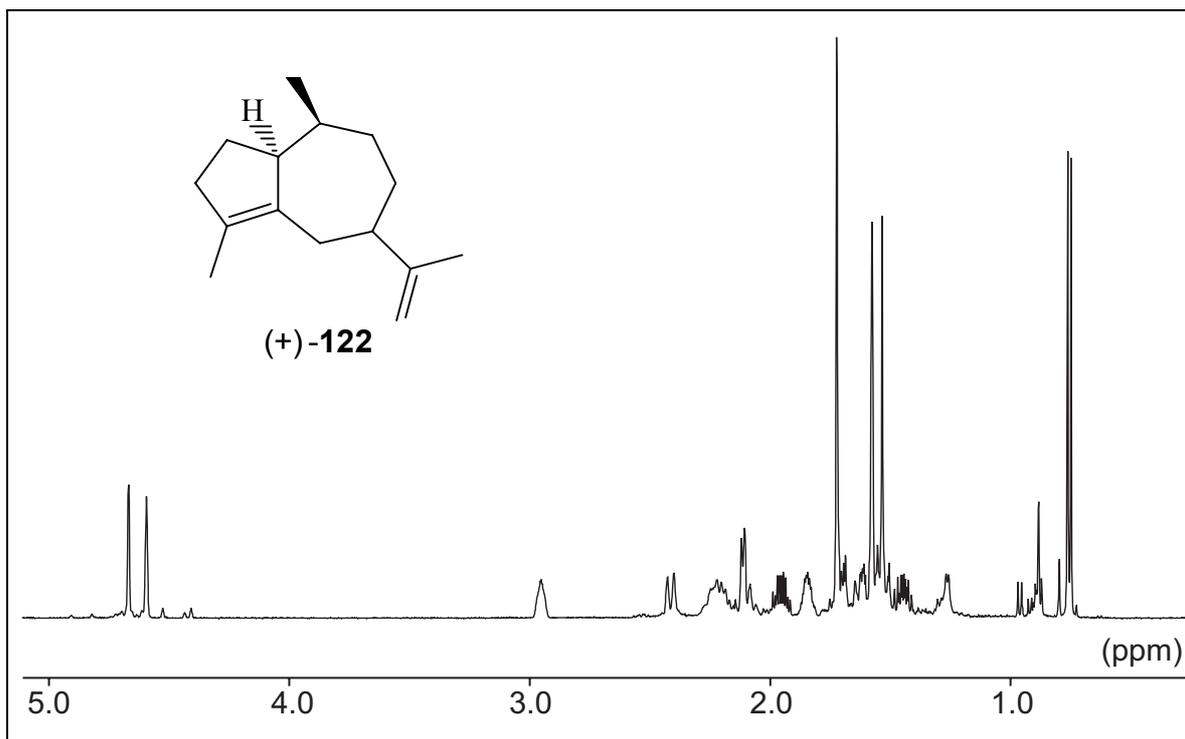
Massenspektrum (EI, 70 eV): *trans*- β -Bergamoten aus *Jungermannia lanceolata*



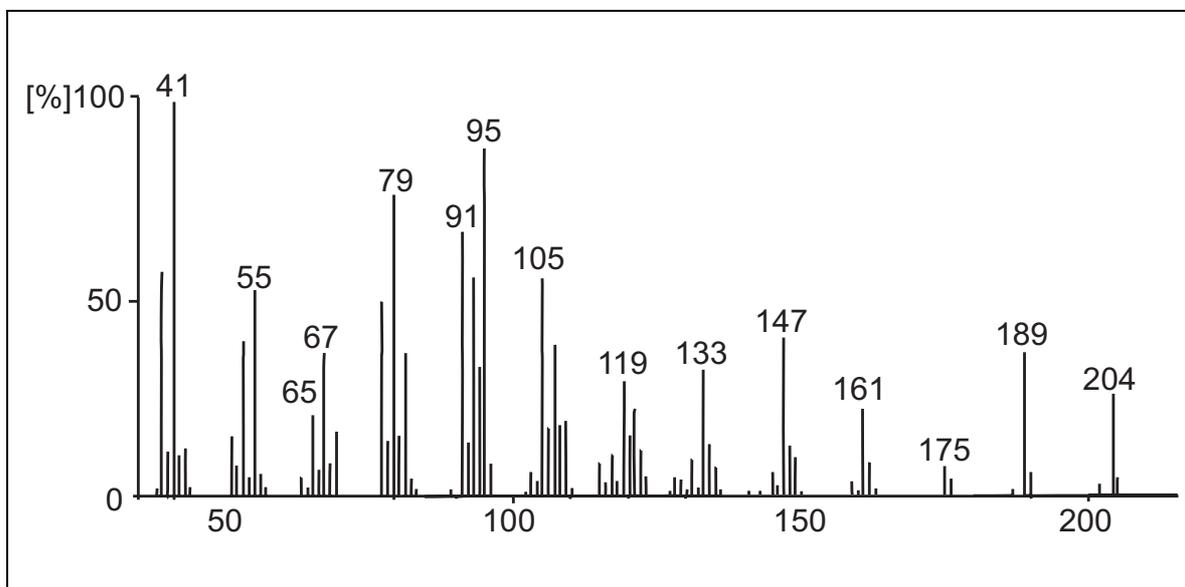
$^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (500 MHz, C_6D_6): Z- γ -Bisabolen aus *Dumortiera hirsuta*



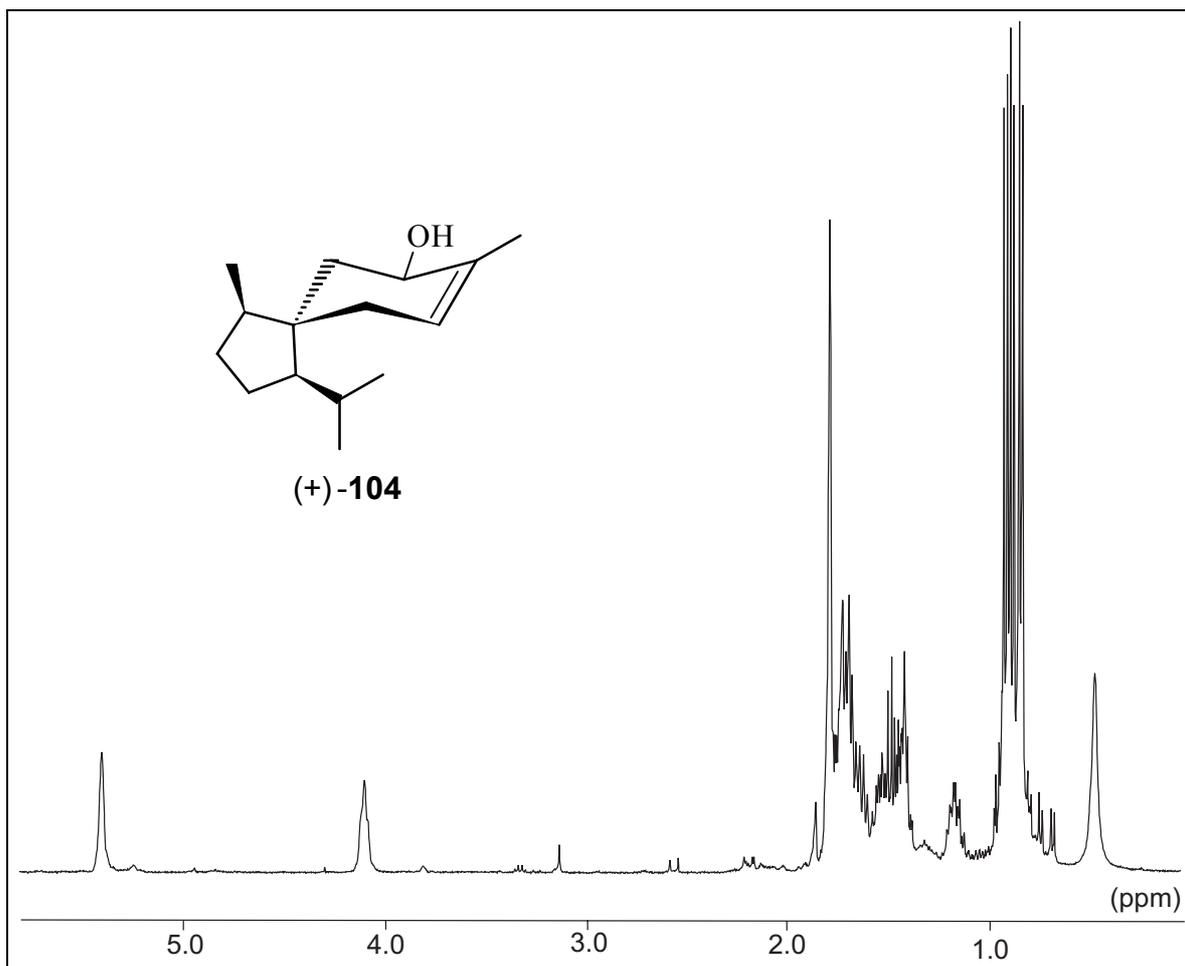
Massenspektrum (EI, 70 eV): Z- γ -Bisabolen aus *Dumortiera hirsuta*



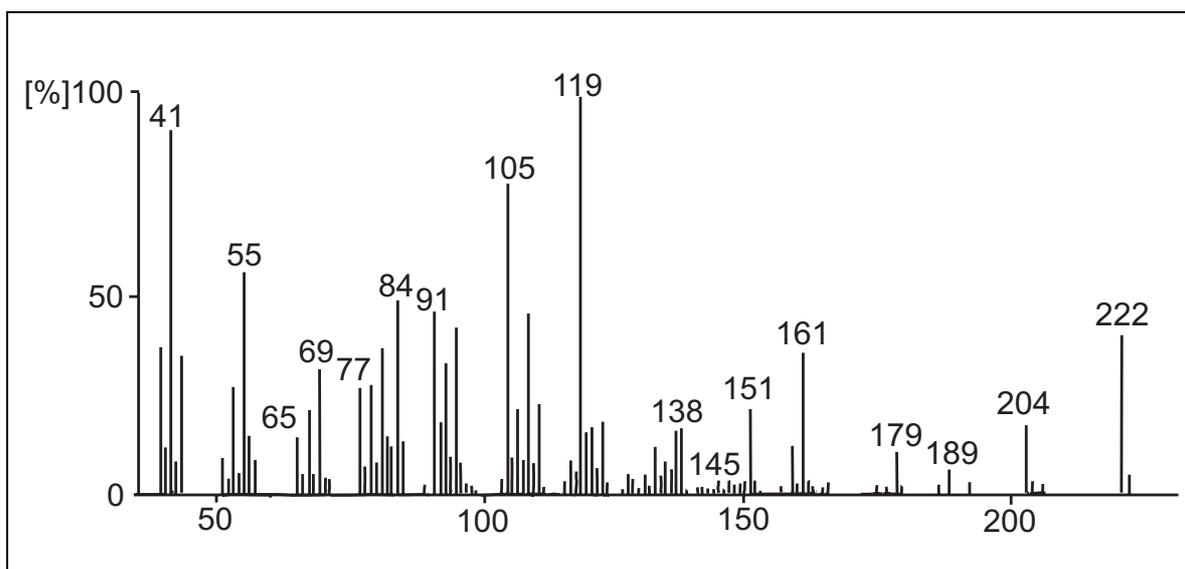
¹H-NMR-Spektrum (400 MHz, CDCl₃): Aciphyllen aus Patchouliöl



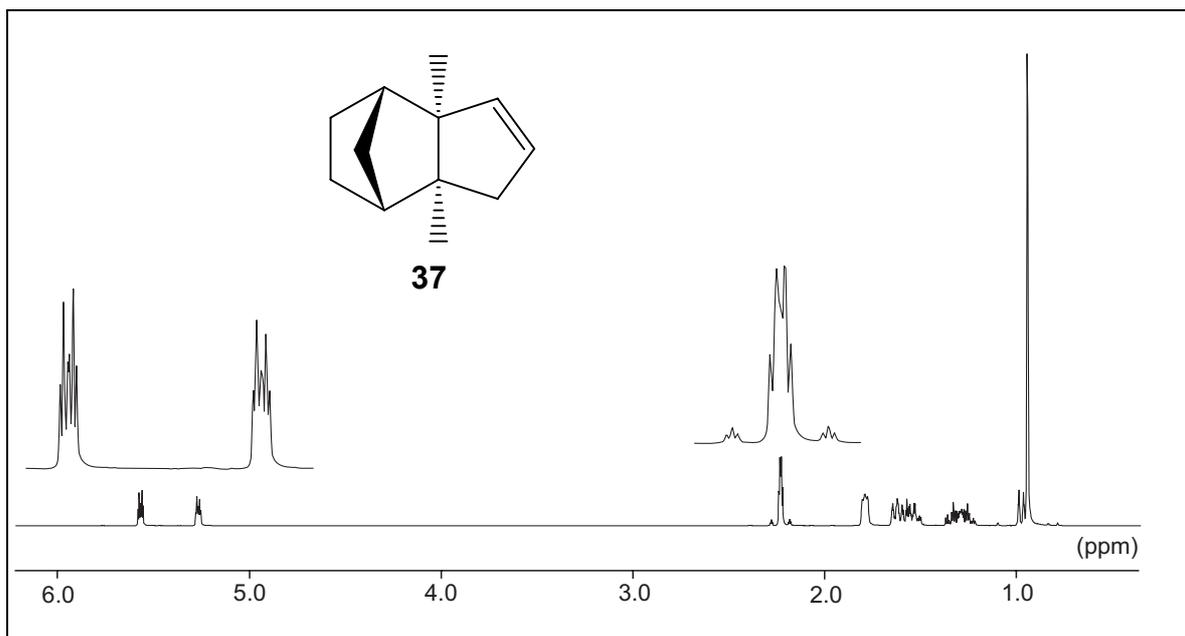
Massenspektrum (EI, 70 eV): Aciphyllen aus Patchouliöl



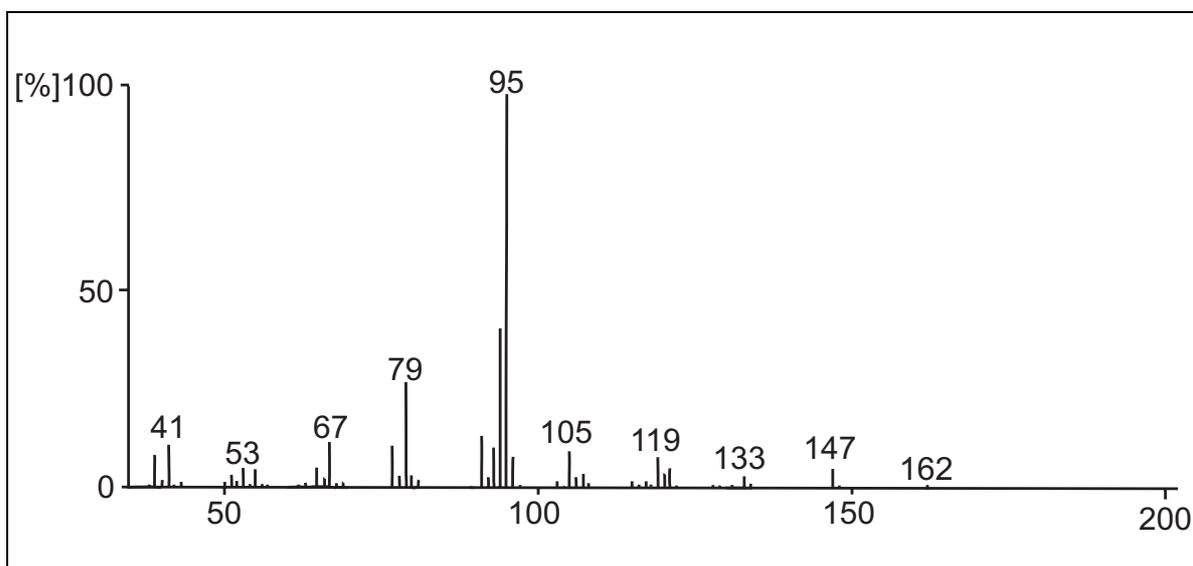
¹H-NMR-Spektrum (400 MHz, C₆D₆): Acorenol B aus *Jungermannia lanceolata*



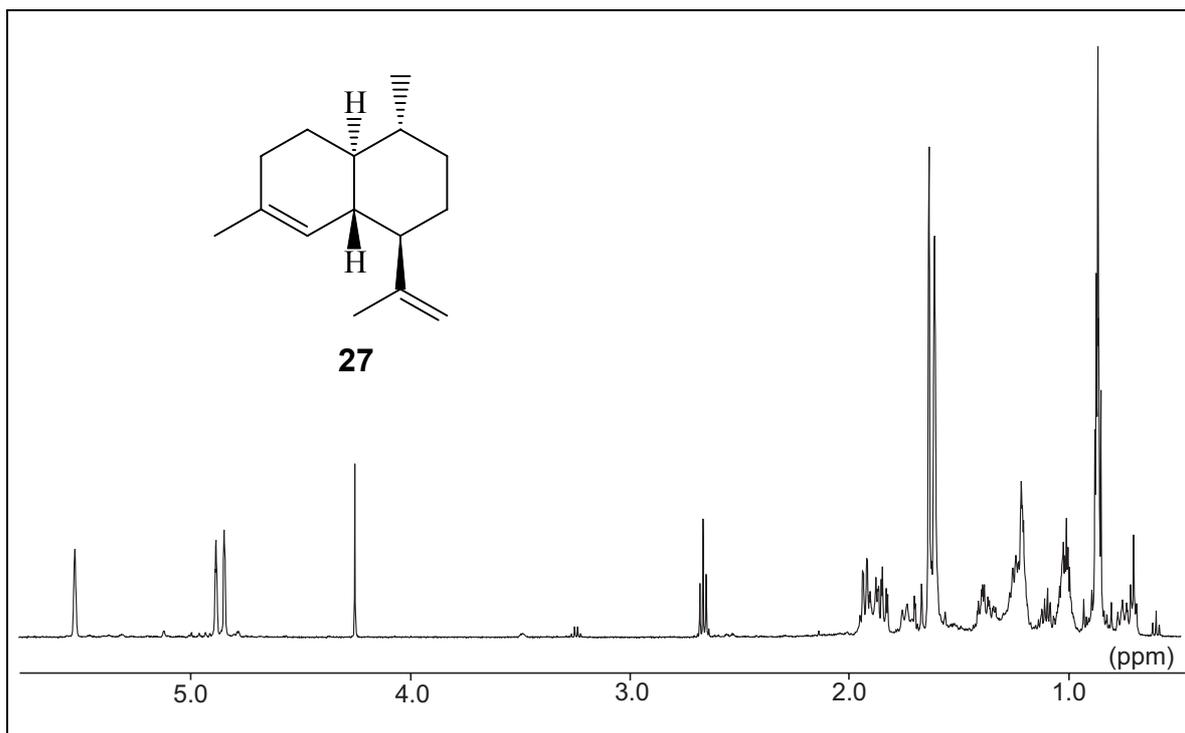
Massenspektrum (EI, 70 eV): Acorenol B aus *Jungermannia lanceolata*



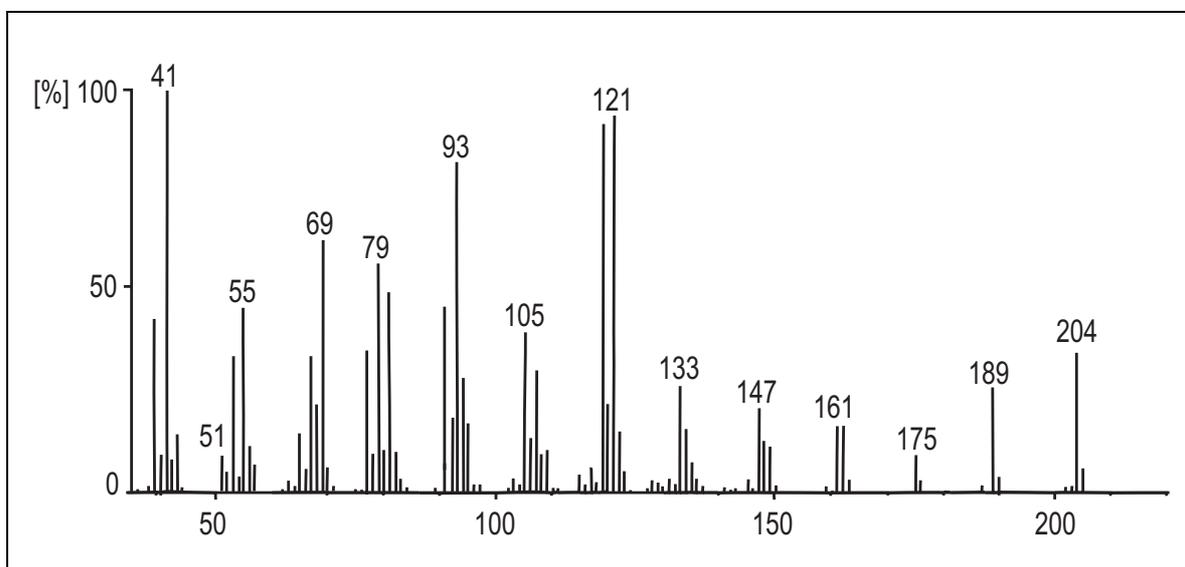
¹H-NMR-Spektrum (400 MHz, CDCl₃): Alben aus *Petasites hybridus*



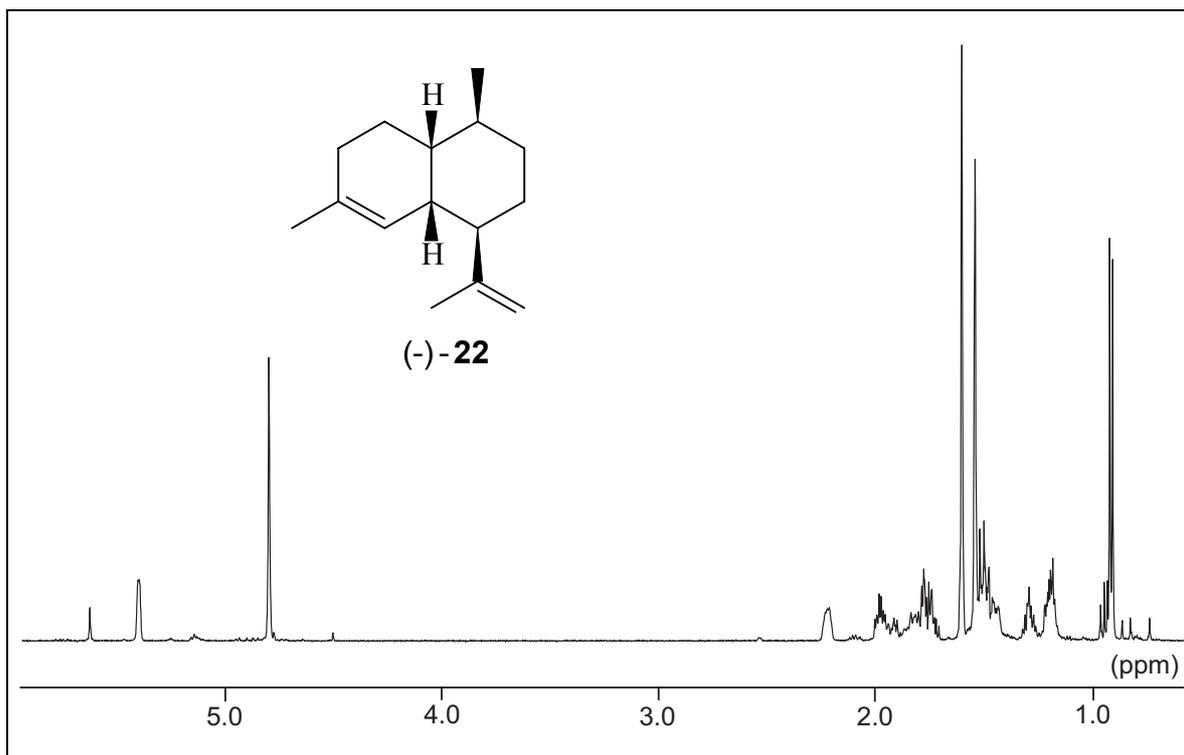
Massenspektrum (EI, 70 eV): Alben aus *Petasites hybridus*



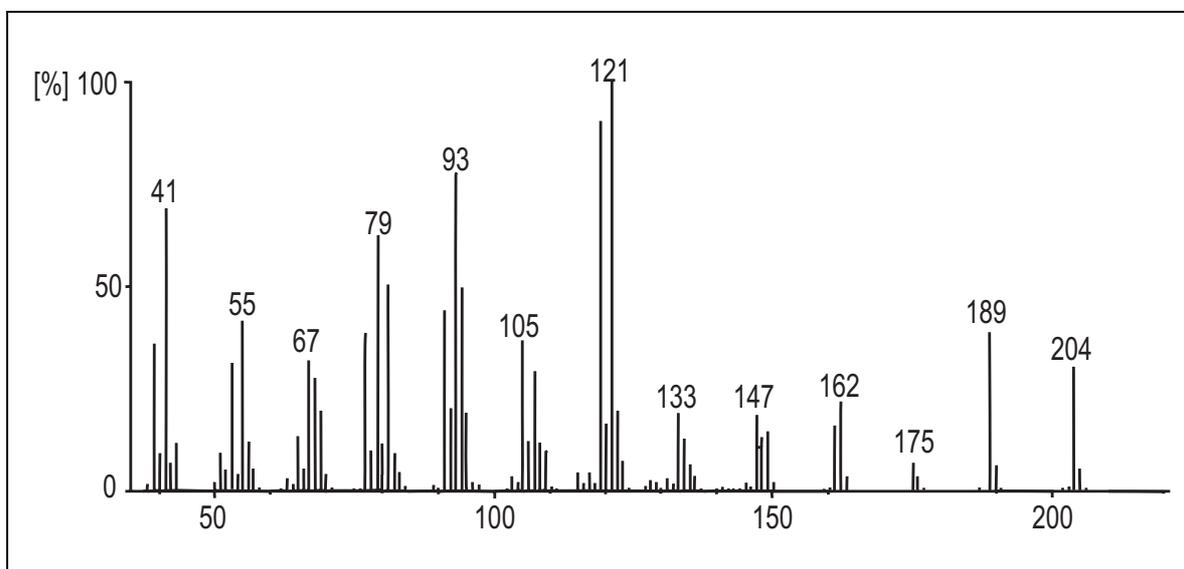
¹H-NMR-Spektrum (400 MHz, C₆D₆): Cadina-4,11-dien aus *Amyris balsamifera*



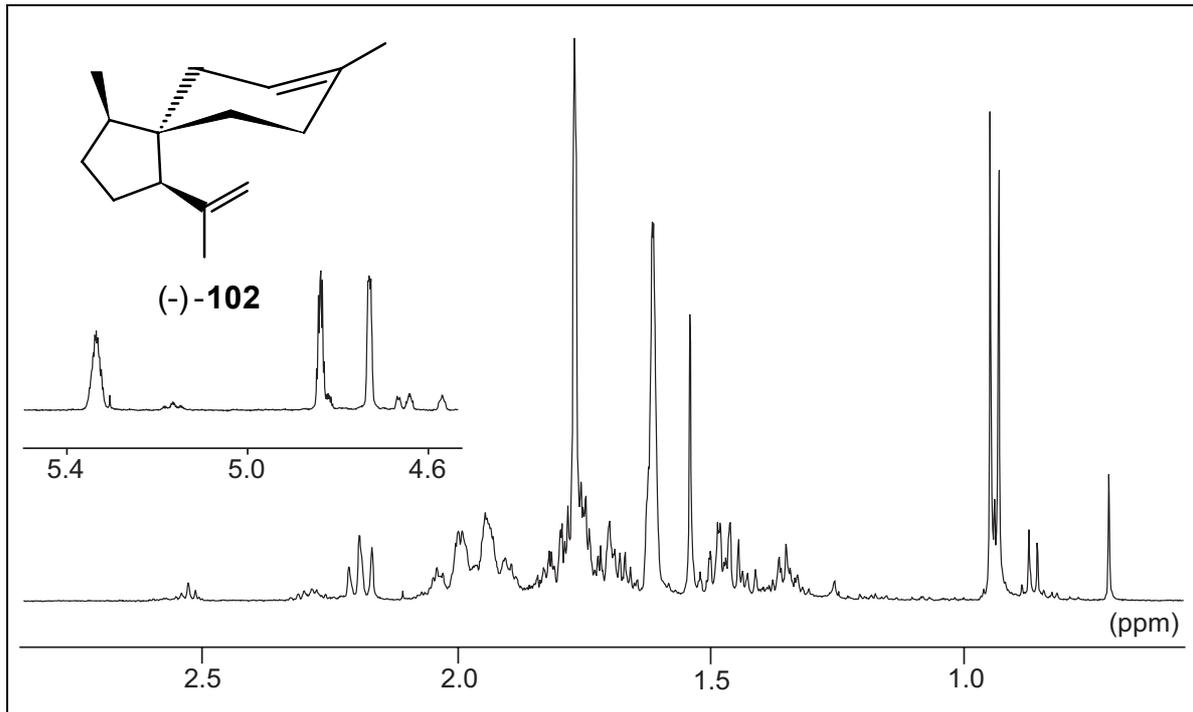
Massenspektrum (EI, 70 eV): Cadina-4,11-dien aus *Amyris balsamifera*



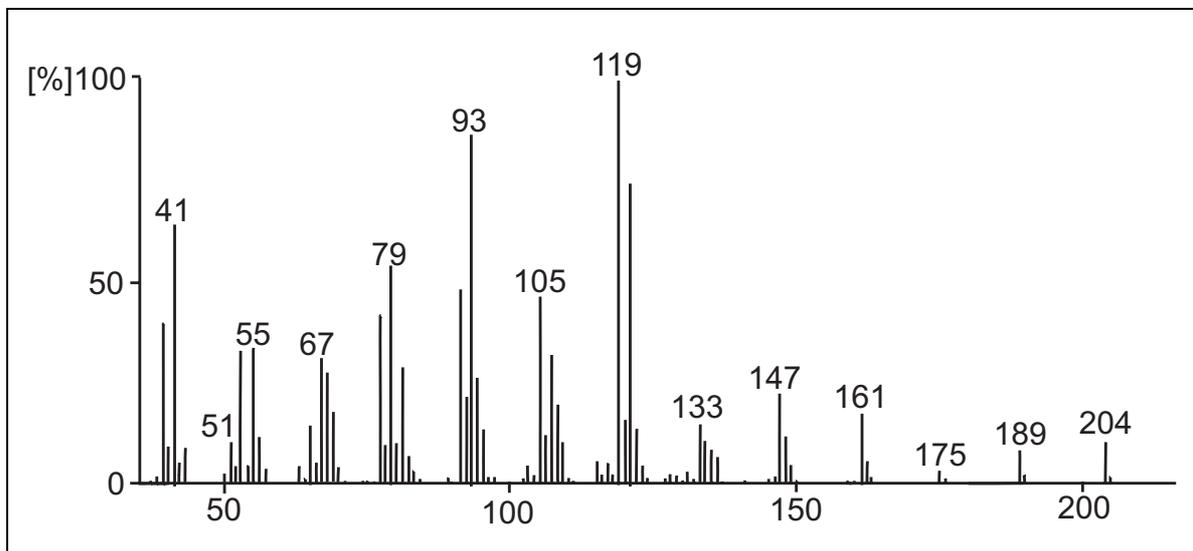
¹H-NMR-Spektrum (400 MHz, C₆D₆): Muurola-4,11-dien aus *Amyris balsamifera*



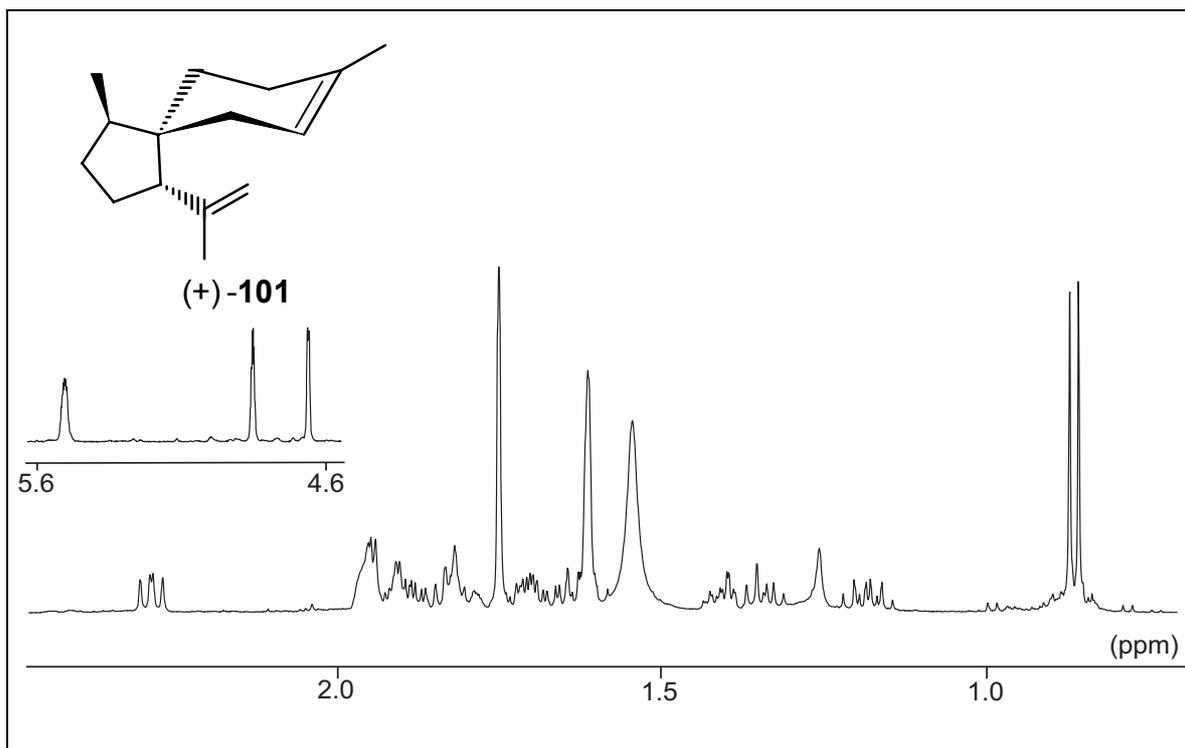
Massenspektrum (EI, 70 eV): Muurola-4,11-dien aus *Amyris balsamifera*



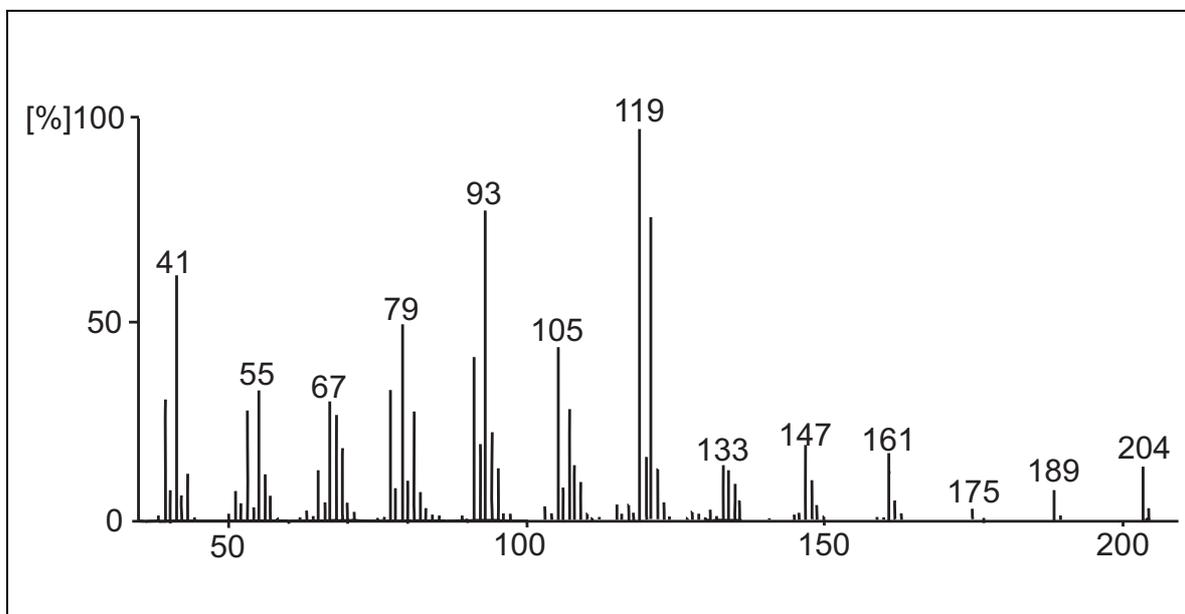
¹H-NMR-Spektrum (400 MHz, CDCl₃): α-Neocallitropsen aus *Jungermannia lanceolata*



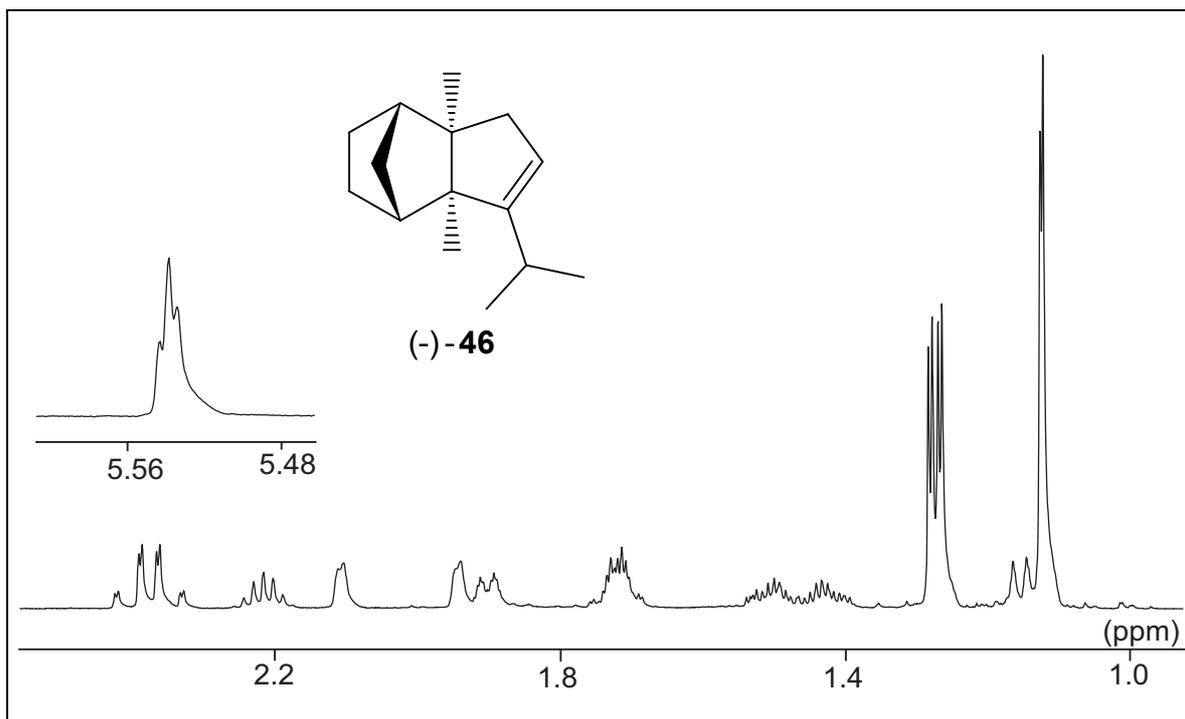
Massenspektrum (EI, 70 eV): α-Neocallitropsen aus *Jungermannia lanceolata*



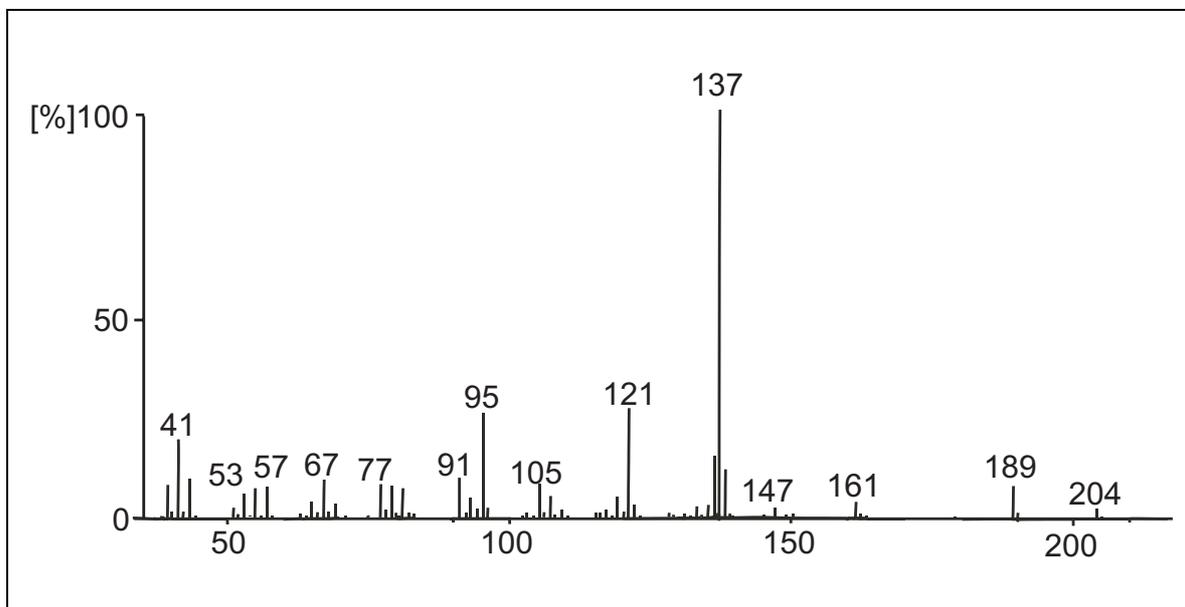
¹H-NMR-Spektrum (500 MHz, CDCl₃): β-Acoradien aus *Cedrela odorata*



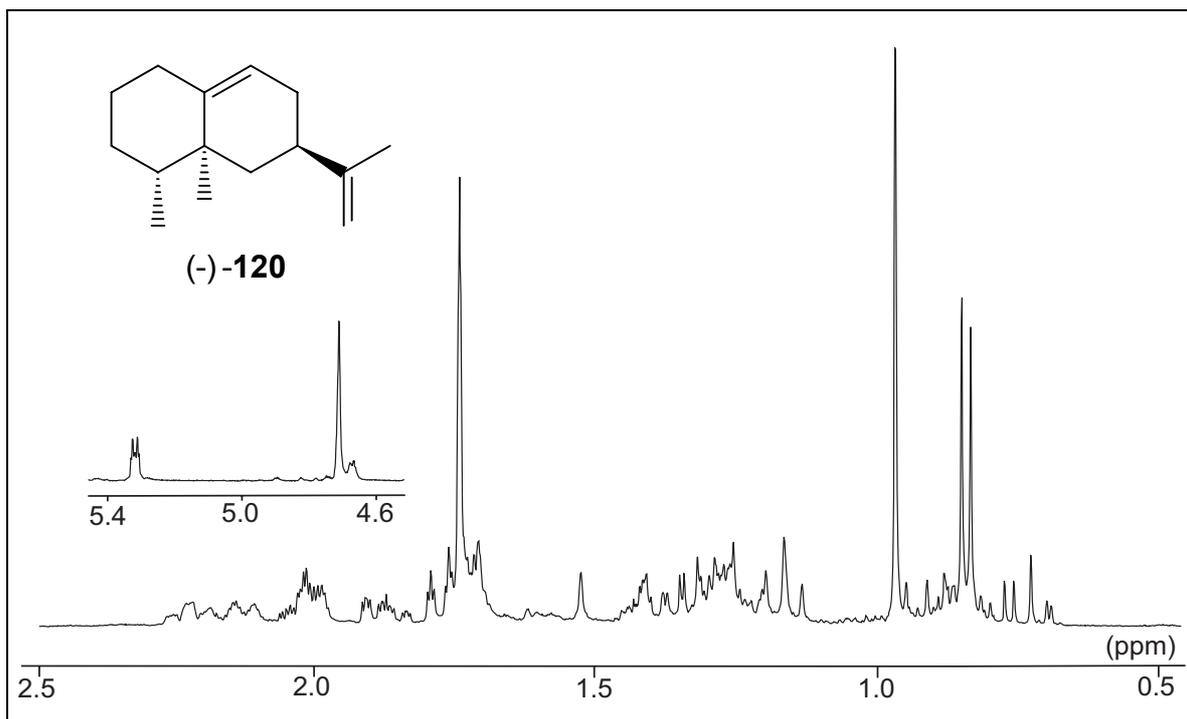
Massenspektrum (EI, 70 eV): β-Acoradien aus *Cedrela odorata*



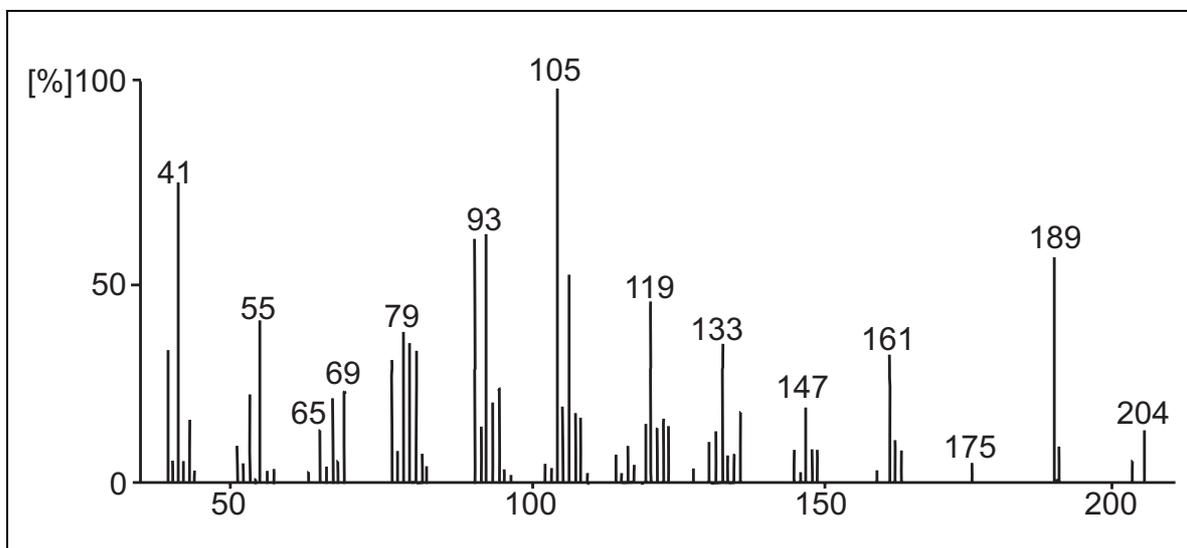
¹H-NMR-Spektrum (500 MHz, C₆D₆): Petasiten aus *Petasites hybridus*



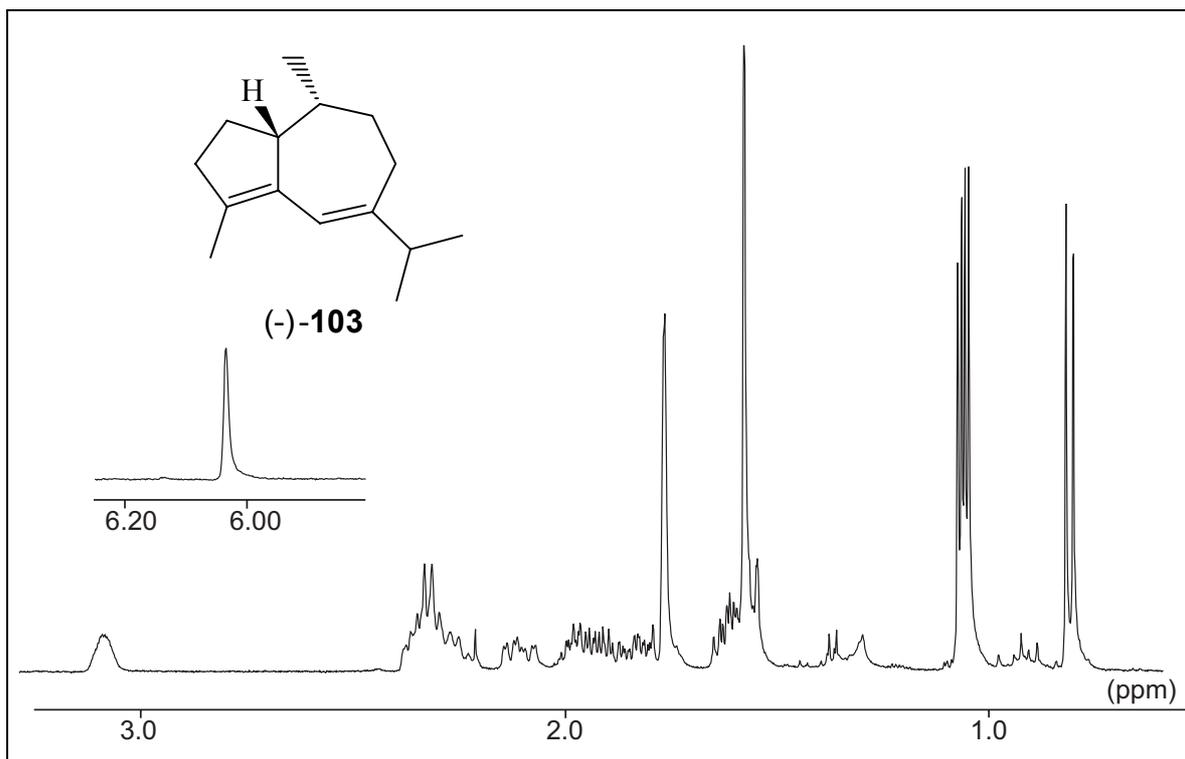
Massenspektrum (EI, 70 eV): Petasiten aus *Petasites hybridus*



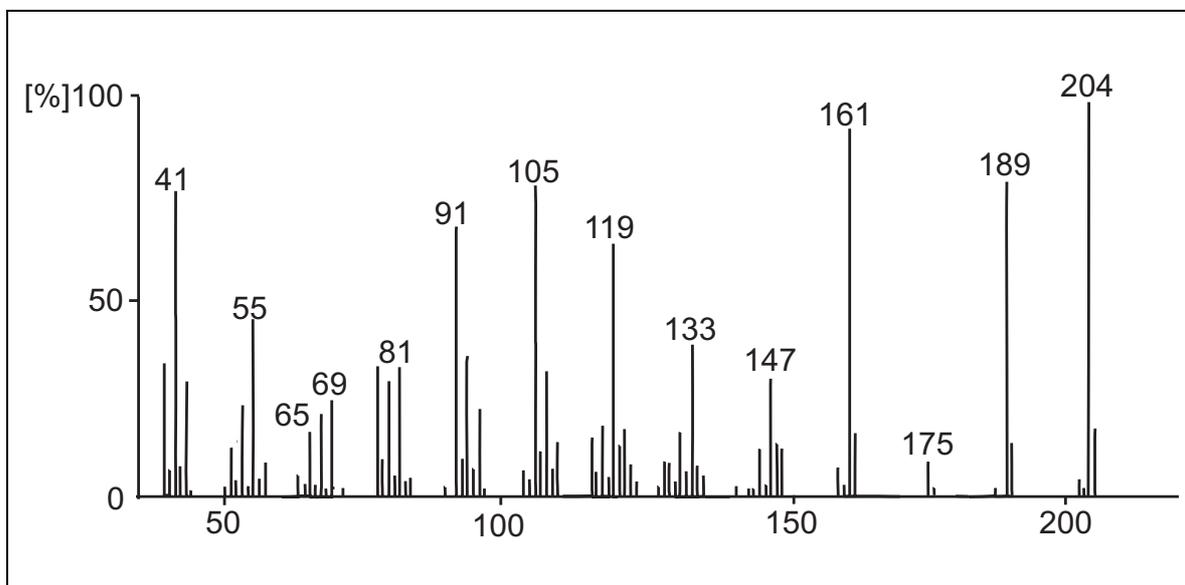
¹H-NMR-Spektrum (400 MHz, CDCl₃): Aristolochen



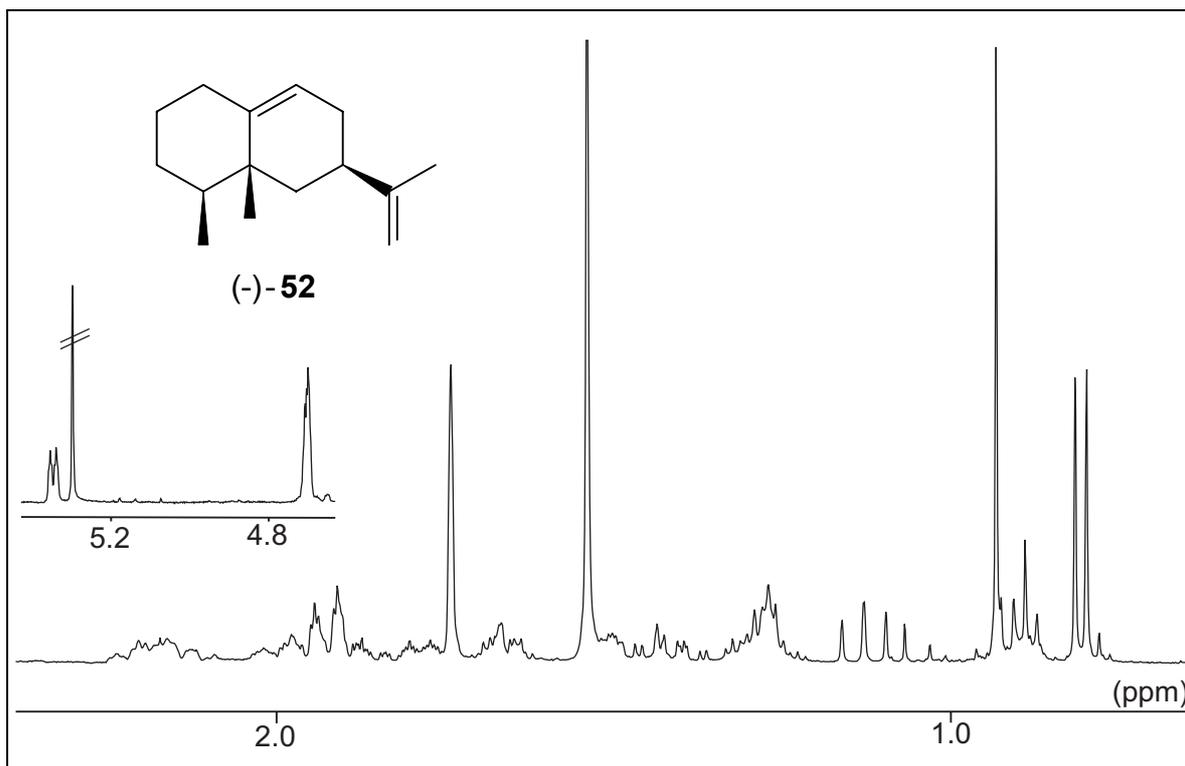
Massenspektrum (EI, 70 eV): Aristolochen



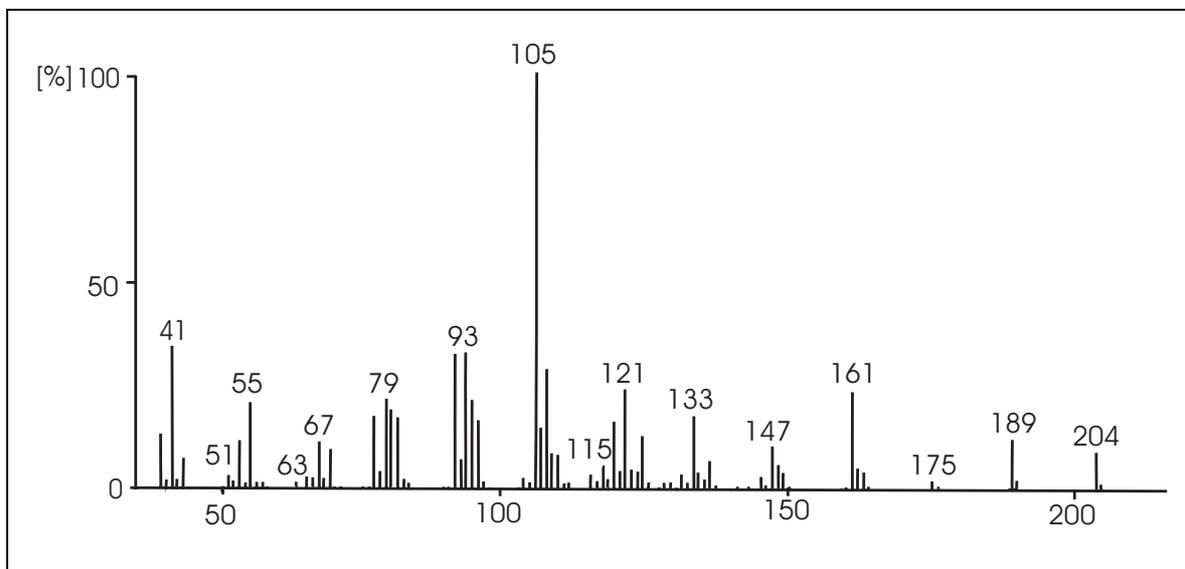
¹H-NMR-Spektrum (400 MHz, CDCl₃): Isoguaien aus *Dumortiera hirsuta*



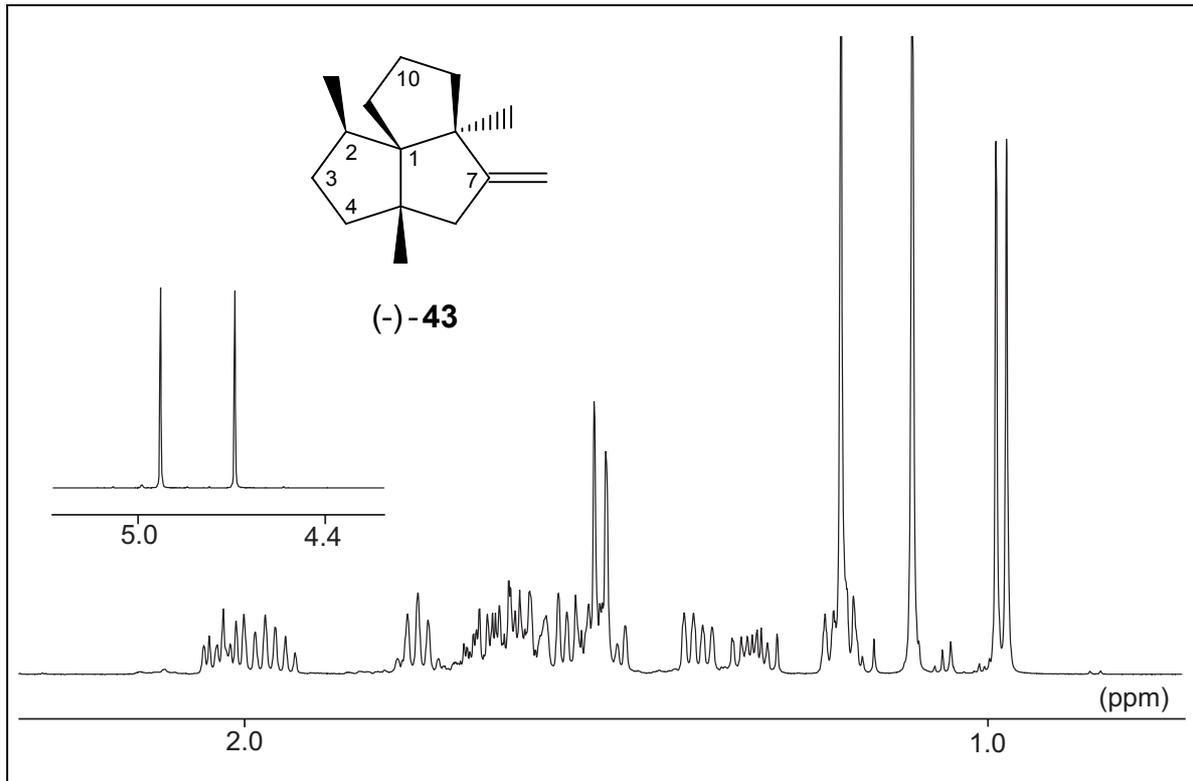
Massenspektrum (EI, 70 eV): Isoguaien aus *Dumortiera hirsuta*



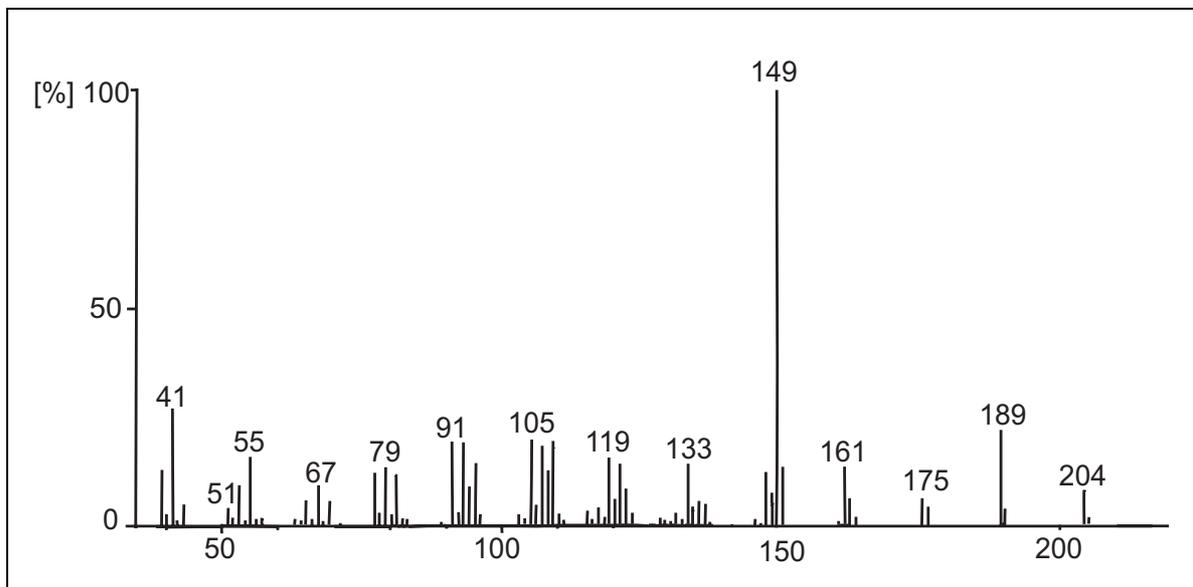
¹H-NMR-Spektrum (400 MHz, CDCl₃): 4,5-di-*epi*-Aristolochen aus *Cistus incanus*



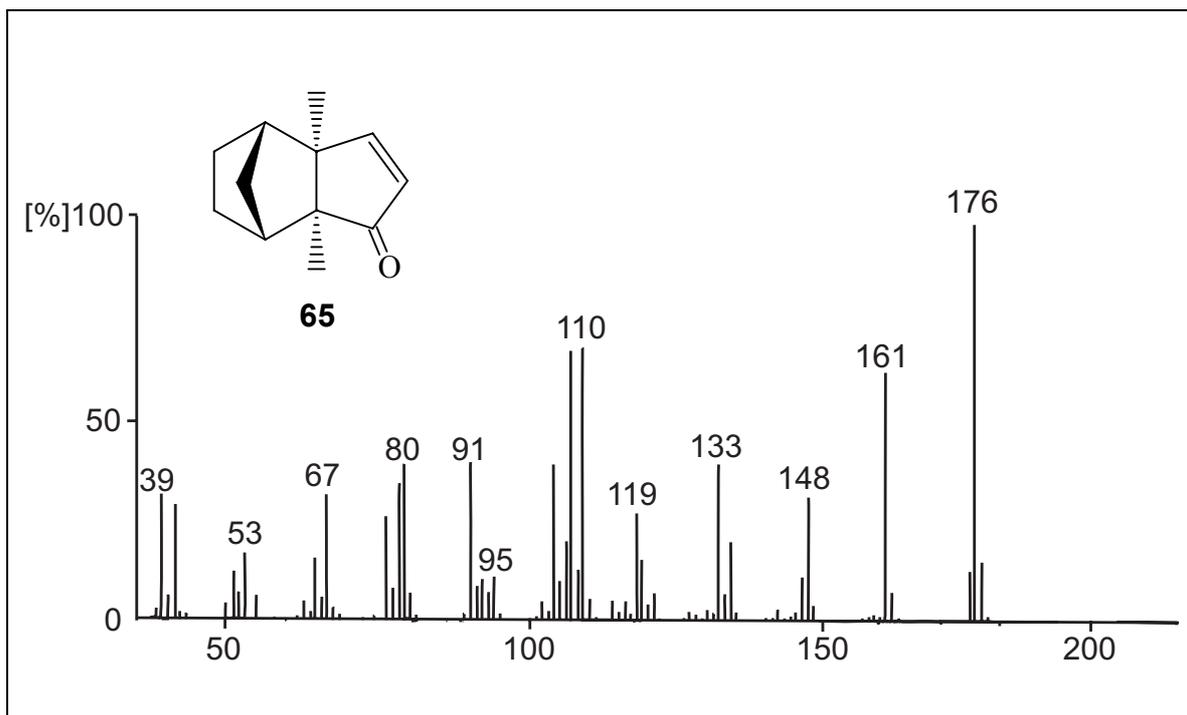
Massenspektrum (EI, 70 eV): 4,5-di-*epi*-Aristolochen aus *Cistus incanus*



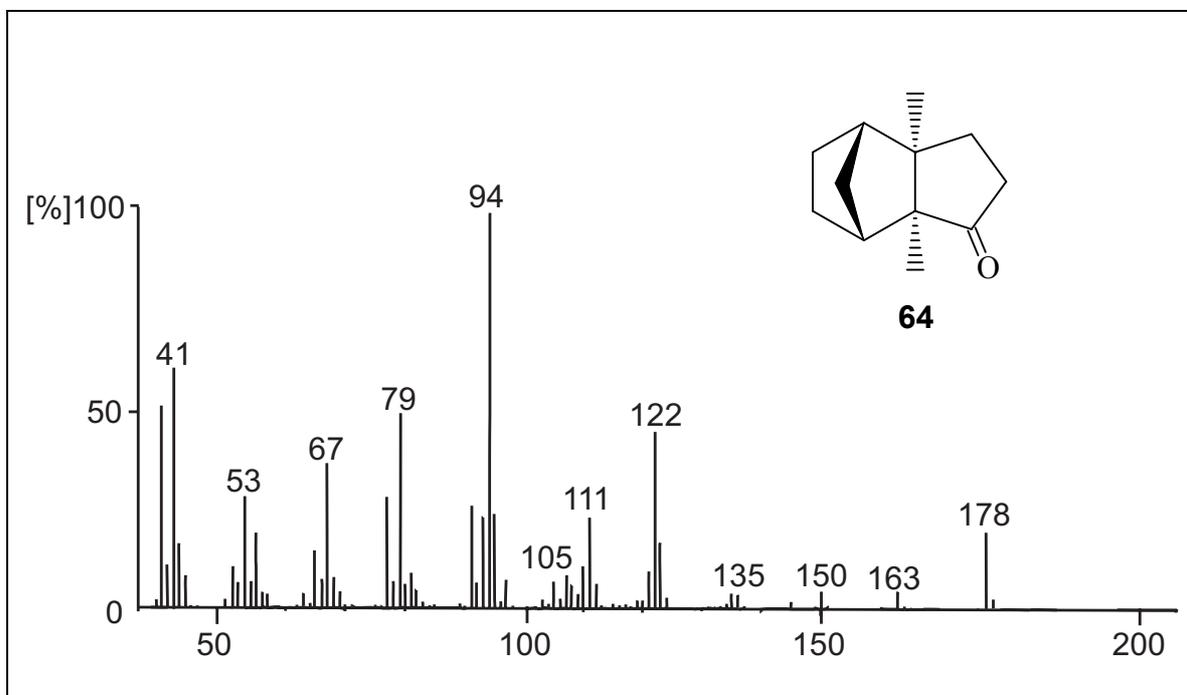
¹H-NMR-Spektrum (500 MHz, C₆D₆): Pethyren aus *Petasites hybridus*



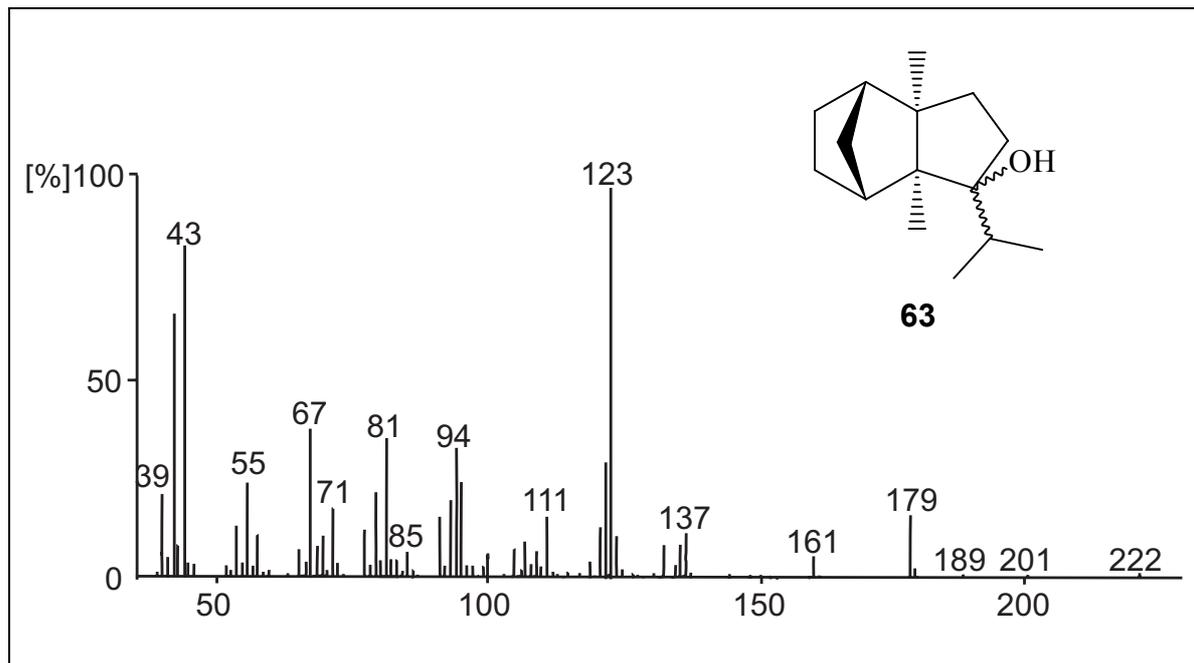
Massenspektrum (EI, 70 eV): Pethyren aus *Petasites hybridus*



Massenspektrum (EI, 70 eV): Albenon



Massenspektrum (EI, 70 eV): Albanon



Massenspektrum (EI, 70 eV): Petasitolol

9 Gefahrstoffanhang

Stoffbezeichnung	Gefahrensymbol	R-Sätze	S-Sätze
Aceton	F	11	9-16-23.2-33
Acetonitril	T, F	11-23/24/25	16-27-44
Aluminiumchlorid	C	34	7/8-28.1
Ammoniumchlorid	Xn	22-36	22
Benzol	F, T	45.2-11-E23/24/25-48	53-16-29-44
Benzol-d ₆	T, F	45.2-11-E23/24/25-48	53-16-29-44
Bortrifluorid-Methylethera	F, C	15-34	23.2-26-36/37/39-45
Chloroform-d ₁	Xn	20/28-40-48/20/22	(2)-36/37
m-Chlorperbenzoesäure	O, Xi	7-36/37/38	3/7-14.10-36/37/39
2-Chlorpropan	F, Xn	11-20/21/22	9-29
Dichlormethan	Xn	40	(2)-23-24/25-36/37
Diethylether	F ⁺	12-19	9-16-29-33
Essigsäure	C	10-35	2-23.2-26
n-Hexan	Xn, F	11-20/21-40	9-16-23.2
Kaliumhydroxid	C	35	2-26-37/39
Lithium	F, C	14/15-34	8-43.7-45
Lithumaluminiumhydrid	F	15	7/8-24/25-43.6
Methanol	T, F	11-23/25	2-7-16-24
Natrium	F, C	14/15-34	5.3-8-43.7-45
Palladiumoxid/Aktivkohle	O	8	7
n-Pentan	F	11	9-16-29-33
Petrolether	F	11	9-16-29-33
Platinoxid	-	8	-
Pyridin	Xn, F	11-20/21/22	26-28.1
Pyridiniumdichromat	O, T	45-8-10-43	53-36/37/39-45
Schwefelsäure	C	35	2-26-30
Selendioxid	T	23/25-33	20/21-28.-45
Silbernitrat	C	34	2-26
Tetrahydrofuran	Xi, F	11-19-36/37	1-29-33
Thionylchlorid	C	14-34-37	(1/2)-26-45
Wasserstoff	F ⁺	12	9-16-33

10 Literaturverzeichnis

- [1] C. Koch, T. Neumann, R. Thiericke, S. Grabley
Nachr. Chem. Tech. Lab. 45 (1997) 16-18
Der Naturstoff-Pool- neuer Ansatz für die Wirkstoffsuche.
- [2] L. Roth, G. Rupp (eds.)
Roth Collection of Natural Products Data
VCH, Weinheim 1995
- [3] M. Luckner in H.-P. Kleber und D. Schlee (eds.),
Biochemie Teil II, Spezielle und angewandte Biochemie
2 Aufl. Fische, Jena 1992
- [4] P. Potier
Spektrum der Wissenschaft Spezial 6, 1998, Pharmaforschung 6-10
Pharmaka: Helfer gegen Krankheit und Tot.
- [5] K. C. Nicolaou, W. -M. Dai, R. K. Guy
Angew. Chem. **106**, (1994), 38-69
Chemie und Biologie von Taxol.
- [6] T. Lindel, P.R. Jensen, W. Fenical, B. H. Long, A. M. Casazza,
J. Carboni, C. R. Fairchild
J. Am. Chem. Soc. **119**, (1997), 8744-8745
Eleutherobin, a new cytotoxin that mimics Paclitaxol (Taxol) by stabilizing Microtubules.
- [7] J. Rohr
Nachr. Chem. Tech. Lab. **41**, (1993), 559-564
5. Irseer Naturstofftagung der Dechema.
- [8] Y. Asakawa, in W. Herz, R. E. Moore, W. Steglich, Ch. Tamm, G. W. Kirby (Hrsg.)
Prog. Chem. Org. Nat. Prod. **65**, (1995)
Chemical Constituents of the Bryophytes.
- [9] H. D. Zinsmeister, H. Becker, T. Eicher
Angew. Chem. **103**. (1991), 134-151
Moose, eine Quelle biologisch aktiver Naturstoffe.
- [10] E.A. Bell, in
The Biochemistry of Plants, Vol. 7
The physiological role(s) of the secondary (Natural) Products.
- [11] M. B. Isman
Experientia **45**, (1989), 213-316
Insect chemical ecology.

- [12] M. J. C. Rhodes
Plant Molecular Biology **24**, (1994), 1-20
Physiological roles for secondary metabolites in Plants: some progress, many outstanding problems.
- [13] D. Schlee
Ökologische Biochemie
G. Fischer-Verlag 1992, 2. Auflage
- [14] R. Heitefuss and P.H. Williams in A. Pirson, M. H. Zimmermann
Encyclopedia of Plant Physiology
Vol. 4, Springer Verlag 1976
Physiological Plant Pathology
- [15] H. Grisebach und J. Ebel
Angew. Chem. **90**, (1978), 668-681
Abwehrstoffe höherer Pflanzen
- [16] D. Groß in L. Zechmeister, W. Herz, H. Grisebach und G. W. Kirby
Fortschr. Chem. Org. Naturstoffe **34**, (1977), 198-247
Pytoalexine und verwandte Pflanzenstoffe
- [17] I. H. Hardt
Dissertation, Universität Hamburg 1995
- [18] A. Rieck
Dissertation, Universität Hamburg 1996
- [19] Y. Saritas
Diplomarbeit, Universität Hamburg 1995
- [20] R. Carle (Hrsg.)
Ätherische Öle-Anspruch und Wirklichkeit,
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH. Stuttgart 1993
- [21] R. Hegnauer in K.-H. Kubeczka (Hrsg.)
Verbreitung ätherische Öle im Pflanzenreich, in Vorkommen und Analytik ätherischer Öle
Thieme Verlag Stuttgart (1979)
- [22] H. Rimpler
Pharmazeutische Biologie III: Biogene Arzneistoffe
Thieme Verlag, Stuttgart, New York 1990
- [23] D. Hess
Pflanzenphysiologie
Ulmer Verlag, Stuttgart 1988, 8. Auflage

- [24] R. Hagnauer
Drogoco Report **10**, (1978), 203-231
Die systematische Bedeutung der ätherischen Öle (Chemotaxonomie der ätherischen Öle).
- [25] G. Ohloff
Riechstoffe und Geruchssinn Die molekulare Welt der Düfte
Springer Verlag Berlin 1990
- [26] G. Ohloff
Irdische Düfte himmlische Lust. Eine Kulturgeschichte der Duftstoffe
Insel-Verlag 1996
- [27] H. D. Zinsmeister, R. Mues (eds.)
Bryophytes, their chemistry and chemical Taxonomy
Clarendon Press, Oxford (1990)
- [28] R. Hegnauer
Chemotaxonomie der Pflanzen
Birkhauser, Basel Bd. 8, 374-396
- [29] Y. Otha, N.H. Andersen, C. –B. Liu
Tetrahedron **33**, (1977), 617
Sesquiterpene constituents of two liverworts of genus *Diplophyllum*. Novel Eudesmanolides and Cytotoxicity studies for enantiomeric methylene lactones.
- [30] W. A. König, A. Rieck, Y. Saritas, I. H. Hardt, K. –H. Kubeczka
Phytochemistry **42**, (1996), 461- 464
Sesquiterpen Hydrocarbons in the essential Oil of *Meum athamanticum*.
- [31] Y. Asakawa, M. Toyota, R. Takeda, C. Suire, T. Takemoto
Phytochemistry **20**, (1981), 725-728
Sesquiterpenoids of *Riccardia* and *Pallavicinia* Species.
- [32] O. Wallach
Ann. **239**, (1887), 1
Zur Kenntniss der Terpene und der ätherischen Oele.
- [33] L. Ruzicka
Pure Appl. Chem. **6**, (1963), 493–523
Perspektiven der Biogenese und der Chemie der Terpene.
- [34] J. W. Porter, S. L. Spurgeon (Hrsg.)
Biosynthesis of Isoprenoid Compounds
Wiley, New York (1981), Vol. 1, 161-224
- [35] M. Rohmer, M. Knäui, P. Simonin, B. Sutter, H. Sahn
Biochem. J. **295**, (1993), 517-524
Isoprenoid biosynthesis in bacteria: a novel pathway for early steps leading to isopentenyl diphosphate.

- [36] M. Rohmer, M. Seemann, S. Horbach, S. Bringer-Meyer, H. Sahn
J. Am. Chem. Soc. **118**, (1996), 2564-2566
Glyceraldehyde 3-Phosphate and Pyruvate as precursors of isoprenic units in an alternative non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis.
- [37] J. G. Zeidler, H. K. Lichtenhalter, H. U. May, F. W. Lichtenhalter
Z. Naturforsch. C. **52c**, (1997), 15-23
Is isoprene emitted by plants synthesized via the novel isopentenyl pyrophosphate pathway?
- [38] D. Arigoni, S. Sagner, C. Latzel, W. Eisenreich, A. Bacher, M. Zenk
Proc. Natl. Acad. Sci. USA **94**, (1997), 10600-10650
Terpenoid biosynthesis from 1-deoxy-D-xylulose in higher plants by intramolecular skeletal rearrangement.
- [39] R. Thiel, K. -P. Adam, J. Zapp, H. Becker
Pharm. Pharmacol. Lett. **7**, (1997), 103-105
Isopentenyl diphosphate biosynthesis in liverworts.
- [40] J. Piel, W. Boland
Tetrahedron Lett. **38**, (1997), 6387-6390
Highly efficient and versatile synthesis of isotopically labelled 1-deoxy-D-xylulose.
- [41] J. Piel, J. Donath, K. Baudemer, W. Boland
Angew. Chem. **110**, (1998), 2622-2625
Induzierte und konstitutiv emittierte Pflanzendüfte: Mevalonat-unabhängige Biosynthese terpenoider Duftstoffe.
- [42] C. D. Poulter, H. C. Rilling
J. Am. Chem. Soc. **100**, (1978), 307-313
The prenyl transfer reaction. Enzymatic and mechanistic studies of 1'-4-coupling reaction in the terpene biosynthetic pathway.
- [43] D. E. Cane
Chem. Rev. **90**, (1990), 1089-1103
Enzymatic formation of sesquiterpenes.
- [44] C.O. Schmidt, H.J. Bouwmeester, J. W de Kraker und W. A. König
Angew. Chem. **110**, (1998), 1479-1481
Biosynthese von (+)- und (-)-Germacren D in *Solidago canadensis*: Isolierung und Charakterisierung zweier enantioselektiver Germacren D Synthesen
- [45] C. L. Steele, J. Crock, J. Bohlmann and R. Croteau
J. Biolo. Chem. **273**, (1998), 2078-2089
Sesquiterpene synthases from Grand Fir (*Abies grandis*).
- [46] C. O. Schmidt
Dissertation Universität Hamburg 1998

- [47] P. Schreier
Chromatographic Studies of Biogenesis of Plant Volatiles
Hüthig, Heidelberg, Basel, New York 1984
- [48] P. Sandra, C. Bicchi
Capillary Gas Chromatography in Essential Oil Analysis
Hüthig, Heidelberg 1987
- [49] H. Sugisawa in R. Teranishi, R. A. Flath, H. Sugisawa (eds.) New York 1981
*Sample preparation. Isolation and concentration In Flavor Research
Recent Advances,*
Food Science Ser. Vol. 7
- [50] W. Jennings
HRC&CC 2, (1979), 221
Vapor-phase Sampling
- [51] E. -J. Brunke, F. -J. Hammerschmidt, G. Schmaus
Dragoco Report 1, (1992),
Die Headspace-Analyse von Blütendüften.
- [52] J. G. Muller
Food Technol. 21, (1967), 49
Freeze concentration of food liquids: Theory, Practice and Economics.
- [53] R. E. Kepner, S. van Straten, C. Weurman
J. Agric. Food Chem. 17, (1969), 1123
Freeze concentration of volatile components in dilute aqueous solution.
- [54] K. -H. Kubeczka
Mitt. D. dtsh. Pharm. Ges. 304, (1971), 278
Gaschromatographi.
- [55] K. Hostettmann, A. Marston, M. Hostettmann
*Preparative Chromatography Techniques; Application in Natural
Products Isolation*
Springer Verlag 1997, 2. Auflage
- [56] N. Bülow
Dissertation, Universität Hamburg 1999
- [57] K. -H. Kubeczka in: A. J. Vlietinck, R. A. Dohmise (eds.)
Advances in Medicinal Plant Research
Wissenschaftl. Verlags GmbH, Stuttgart 1985, 197-224
- [58] A. S. Gupta, S. Dev
J. Chromatog. 12, (1963), 189-195
Chromatography of organic compounds I. Thin-layer chromatography of olefins.

- [59] K. Aitzetmüller, L. A. G. Goncalves
J. Chromatog. **519**, (1990), 349-358
Dynamic impregnation of silica stationary phases for the argentation chromatography of lipids.
- [60] B. Debrunner, M. Neuenschwander
Chimia **48**, (1994), 564
Isolierung und Quantifizierung der Sesquiterpenfraktion von *Petasites hybridus* (L.) G. M. et SCH.
- [61] M. Kikuchi, N. Suzuki
Chem. Pharm. Bull. **40**, (1992), 2753
Studies on the constituents of *Tussilago farfara* L. II.. Structures of new sesquiterpenoids isolated from the flower buds.
- [62] K. -H. Kubeczka, in: P. Schreier (eds)
Flavour 81
W. de Gruyter Berlin, New York 1981
- [63] H. D. Friedel, R. Matusch
J. Chromatog. **407**, (1987), 343-348
Separation of non-polar sesquiterpene olefins from tolu balsam by high-performance liquid chromatography: Silver perchlorate impregnation of a prepacked preparative silica gel column.
- [64] R. R. Heath, J. H. Tumlinson, RE. Doolittle, A. T. Proveaux
J. Chromatog. Sci. **13**, (1975), 380
Silver nitrate-high pressure liquid chromatography of geometrical isomers
- [65] B. Vonach, G. Schomburg
J. Chromatog. **149**, (1978), 417-430
High-performance liquid chromatography with Ag⁺ complexation in the mobile phase.
- [66] E. Leibnitz, H. G. Struppe
Handbuch der Gaschromatographie
Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig K. -G. Leipzig 1984
- [67] M. Schulte, K. -H. Derwenskus und R. Ditz
Nachr. Chem. Tec. Lab. **45**, (1997), 487
Kontinuierliche Chromatographie.
- [68] D. Michel
Grundlagen und Methoden der kernmagnetischen Resonanz
Akademie Verlag, Berlin 1981
- [69] D. Canet
NMR-Konzepte und Methoden
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1994

- [70] H. Friebolin, G. Schilling
Chemie in unserer Zeit **28**, (1994), 88-101
Zweidimensionale NMR-Spektroskopie.
- [71] H. Günther
NMR-Spektroskopie
George Thieme Verlag Stuttgart (1982)
- [72] H. Friebolin
Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie
VCH-Verlag, 2. Auflage, Weinheim (1992)
- [73] E. Breitmeier, G. Bauer
¹³C-NMR-Spektroskopie, Eine Arbeitsanleitung mit Übungen
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1977)
- [74] H. -O. Kalinowski, S. Berger, S. Braun
¹³C-NMR-Spektroskopie
George Thieme Verlag, Stuttgart, New York (1984)
- [75] W. R. Croasmun, M. K. Carlson (eds.)
Two-Dimensional NMR Spectroscopy
VCH-Verlag 2nd ed. Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo
- [76] H. Kessler, C. Griesinger, J. Zarbock, H. R. Looslie
J. Magn. Reson. **57**, (1984), 331
Assignment of carbonyl carbons and sequence analysis in peptides by heteronuclear shift correlation via small coupling constants with broadband decoupling in t_1 (COLOC)
- [77] H. Kessler, M. Gehrke, C. Griesinger
Angew. Chem. **100**, (1988), 507-554
Zweidimensionale NMR-Spektroskopie Grundlagen und Übersicht über die Experimente.
- [78] J. Buddrus, H. Bauer
Angew. Chem. **99**, (1987), 642
Bestimmung des Kohlenstoffgerüsts organischer Verbindungen durch Doppelquanten-Kohärenz-¹³C-¹³C-NMR-Spektroskopie, die INADEQUATE-Pulsfolge.
- [79] R. Benn, H. Günther
Angew. Chem. **95**, (1983), 381
Moderne Pulsfolgen in der hochauflösenden NMR-Spektroskopie.
- [80] O. W. Sorensen, R. Freeman, T. A. Frenkiel, T. H. Mareci, R. Schuck
J. Magn. Reson. **46**, (1982), 180
Observation of ¹³C-¹³C coupling with enhanced sensitivity.

- [81] S. W. Sparks, P. D. Ellis
J. Magn. Reson. **62**, (1985), 1
DEPT Polarization transfer for the INADEQUATE experiment.
- [82] P. J. Keller, K. E. Vogele
J. Magn. Reson. **68**, (1986), 389
Sensitivity enhancement of INADEQUATE by proton monitoring.
- [83] H.-J. Hübschmann
Handbuch der GC/MS Grundlagen und Anwendung
VCH Verlag 1996
- [84] W. D. Lehmann
Massenspektroskopie in der Biochemie
Spektrum Verlag Heidelberg 1996
- [85] R. D. Smith, J. H. Wahl, D. R. Goodlett, S. A. Hoffstadler
Anal. Chem. **65**, 1993, A 574
Capillary Electrophoresis/Mass Spectrometry
- [86] W.-D. Lehmann
Chemie in unserer Zeit **25**, (1991), 183-194
Physikalische Methoden in der Chemie: Massenspektrometrie
- [87] S. R. Heller, G. W. A. Milne
EPA/NIH Mass Spectral Data Base I-IV
U.S. Government printing office Washington 1978
- [88] A. R. Katritzky, O. Meth-Chon and C. W. Rees (eds.),
Comprehensive Organic Functional Group Transformation
Vol. 1-7, Pergamon Press 1995
- [89] D. Seebach
Angew. Chem. **102**, (1990), 1363-1409
Organische Synthese- wohin?
- [90] W. A. König, C. Fricke, Y. Saritas, B. Momeni und G. Hohenfeld
J. High. Resol. Chromatogr. **20**, (1997), 55-61
Adulteration or natur variability? Enantioselective gas chromatography in purity control of essential oils.
- [91] a) W. H. Pirkle, T. C. Pochapsky in J. C. Giddings, E. Grushka and P. R. Brown (eds.)
Advances in Chromatography 27,
Marcel Dekker, Inc, New York (1987)

- b) J. Dönneke
Dissertation Hamburg 1997
- [92] a) W. A. Köenig, S. Lutz und G. Wenz
Angew. Chem. **100**, (1998), 989-990
Modifizierte Cyclodextrine- neue, hochselektive Trennphasen für die Gaschromatographie.
- b) W. A. Köenig
Gaschromatographic Enantiomer separation with modified Cyclodextrins
Hüthig Verlag Heidelberg 1992
- [93] a) T. Anderson, M. Sundahl, G. Westman, and O. Weenerström
Tetrahedron Letters **35**, (1994), 7103-7106
Host-Guest Chemistry of Fullerenes; a Water-Soluble Complex between C₇₀ and γ -Cyclodextrin.
- b) R. J. Clarke, J. H. Coates, S. F. Lincoln
Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry **76**
Inclusion Complex of the Cyclomalto-Oligosaccharides (Cyclodextrin).
- [94] a) B. Gehrcke
Dissertation Hamburg 1995
- b) T. Runge
Dissertation Hamburg 1994
- [95] S. Immel and F. W. Lichtenhalter
Liebigs Ann. (1996) 27-37
On the Hydrophobic Characteristics of Cyclodextrins: Computer-Aided Visualization of Molecular Lipophilicity Patterns.
- [96] M. Rohmer, A.-C. Schwartz and R. Anton
Phytochemistry **16**, (1977), 773-774
Sesquiterpenes from the essential Oil of *Amyris balsamifera*.
- [97] T. A. van Beek, R. Kleis, M. A. Posthumus and A. van Veldhuizen
Phytochemistry **28**, (1989), 1909-1911
Essential Oil of *Amyris balsamifera*.
- [98] E.-J. Brunke und G. Schmaus
Dragoco Report **42**, (1995), 197-217
Neue geruchsaktive Inhaltsstoffe von Sandelholzöl Teil I: Isolierung und Strukturaufklärung von Cyclosantalal und *epi*-Cyclosantalal.
- [99] B. Testa
Grundlagen der organischen Stereochemie
VCH Verlag 1983

- [100] K. Bucher
Arch. exper. Path. & Pharmacol. **213**, (1951), 69
Über ein antispastisches Prinzip in *Petasites officinalis* Moench.
- [101] A. Aebi, J. Büchi, T. Waaler, E. Eichenberger und J. Schmutz
Pharm. Acta. Helv. **29**, (1955), 277
Inhaltsstoffe von *Petasite hybridus* (L.) Fl. Wett.
- [102] A. Stoll, R. Morf, A. Rheiner und J. Renz
Experientia **12**, (1956), 360
Über Inhaltsstoffe aus *Petasites officinalis* Moench.
I. Petasin und die Petasolester B und C.
- [103] D. Herbst und C. Djerassi
J. Am. Chem. Soc. **82**, (1960), 4337
Terpenoids XLIV. Synthetic Confirmation of the Structure and absolute Configuration of Petasin.
- [104] a) L. Novotny, V. Herout and F. Sorm
Tetrahedron Letters (1961), 697-701
Substances from *Petasites officinalis* Moench and *Petasites albus* (L.) Gaertn.
- b) L. Novotny, J. Jizba, V. Herout, F. Sorm, L.A. Zalkow, S. Hu and C. Djerassi
Tetrahedron **19**, (1963), 1101-11073
Constitution and absolute configuration of Eremophilenoide.
- [105] I. Takagi, Y. Tazuke and K. Naya
Bull. Chem. Soc. Jpn. **50**, (1977), 3320-3323
The components of *Petasites japonicus* Maxim. IV. The structure of Petasitin
- [106] a) M. Neuenschwander, A. Neuenschwander, E. Steinegger und P. Engel
Helv. Chim. Acta **62**, (1979), 609.626
Struktur der Sesquiterpene von *Petasites hybridus* (L.) G. M. et SCH.:
Petasol- und Isopetasol-Abkömmlinge.
- b) M. Neuenschwander, A. Neuenschwander und E. Steinegger
Helv. Chim. Acta **62**, (1979), 609.626
Struktur der Sesquiterpene von *Petasites hybridus* (L.) G. M. et SCH.:
Neopetasol-Abkömmlinge.
- c) B. Debrunner und M. Neuenschwander
Chimia **48**, (1994), 564-569
Isolierung und Quantifizierung der Sesquiterpenfraktion von
Petasites hybridus (L.) G. M. et SCH.
- [107] E. Scharfenberger,
Dissertation Frankfurt am Main 1984

- [108] E.-J. Brunke, F.-J. Hammerschmidt and G. Schmaus
Dragoco Report (1992), 105-124
Headspace Analysis of Selected European Medicinal Plants
- [109] E. Sprecher
DAZ. **103**, (1963), 213-214
Rücklaufapparatur zur erschöpfenden Wasserdampfdestillation ätherischen Öls aus voluminösem Destillatgut.
- [110] V. H. Heywood, J. B. Harborne and B. L. Turner (eds.)
The Biology and Chemistry of the Compositae
Academic Press, London 1977, Vol. II.
- [111] L. H. Zalkow, R. N. Harris III, D. van Derrveer and J. A. Bertrand
J. Chem. Soc. Chem. Comm. 1977, 456-457
Isocomene: A novel Sesquiterpene from *Isocoma wrightii*. X-Ray Crystal Structure of the corresponding Diol.
- [112] F. Bohlmann und J. Jakupovic
Phytochemistry **19**, (1980), 259-265
Neue Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffe mit anomalem Kohlenstoffgerüst aus Silphinen-Arten.
- [113] a) F. Bohlmann und C. Zdero
Phytochemistry **18**, (1979), 1747-1748
Senoxyden, ein neuer Sesquiterpen-Kohlenwasserstoff aus *Senecio oxyodontus*.
- b) F. Bohlmann, C. Zdero, J. Jakupovic, H. Robinson and R. M. King
Phytochemistry **20**, (1981), 2239-2244
Eriolanolides, Eudesmanolides and Rearranged Sesquiterpene from *Eriophyllum* species.
- [114] S. von Reuß
Schwerpunktarbeit Hamburg 1999
- [115] J. Hochmannova, L. Novotny and H. Herout
Coll. Czech. Chem. Comm. **27**, (1962), 2711-2713
Hydrocarbons from *Petasites albus* (L.) Gaerth. Rhizomes.
- [116] J. E. Baldwin, T. C. Barden and S. J. Ciauciosi
J. Org. Chem. **51**, (1986), 1133-1135
Reinterpretation of two Degradations of (-)-Alben.
- [117] F. Bohlmann, N. Le Van und J. Pickardt
Chem. Ber. **110**, (1977), 3777-3781
Über ein anomales Sesquiterpen aus *Berkheya radula* (Harr.).

- [118] L. Fitjer and H. Monzo-Oltra
J. Org. Chem. **58**, (1993), 6171-6173
Stereospecific Rearrangements in Tricyclopentanoid Sesquiterpenes: The absolute Configuration of (-)- α -Isocomene, (-)- β -Isocomene and (-)-Silphinene.
- [119] V. H. Rawal, A. Eschbach, C. Dufour and S. Iwasa
Pure & Appl. Chem **68**, (1996), 675-678
Photocyclization-fragmentation route to di- and triquinanes: Stereocontrolled asymmetric Synthesis of (-)- Isocomene
- [120] D. Barton, K. Nakanishi and O. Meth-Chon (eds.),
Comprehensive Natural Products Chemistry
Vol. 2 Elsevier 1999
- [121] R. Hegnauer
Chemotaxonomie der Pflanzen
Birkhäuser Verlag Basel Stuttgart 1964, Vol. III
- [122] E. Güther,
The Essential Oils
Van Nostrand and Co. Inc., New York Vol. IV
- [123] H. Itokawa, H. Morita, K. Watanabe, S. Mihashi and Y. Iitaka
Chem. Pharm. Bull. **33** (3), (1985), 1148-1153
Agarofuran-, Eudesmane and Eremophilane-Type Sesquiterpenoids from *Alpina japonica* (Thunb.) MIQ.
- [124] A.R. Pinder in;
Fortschritte der Chem. org. Naturstoffe **34** pp. 81-175
The chemistry of the Eremophilane and Related Sesquiterpenes.
- [125] G. A. Cordell
Chemical Reviews **76**, (1976), 425-460
Biosynthesis of Sesquiterpenes.
- [126] a) C. J. W. Brooks and R. A. B. Keate
Phytochemistry **2**, (1972), 3235-3245
Biosynthesis of Petasin in *Petasites hybridus*.
- b) J. A. Zabkiewicz, R.A.B. Keates and C. J. W. Brooks
Phytochemistry (1969), 2087-2089
Incorporation of mevalonolactone into *Petasites hybridus*: Effect of Synthetic Inhibitors on Sesquiterpenoid and Sterol production.
- [127] a) J. -P. Frahm und W. Frey
Moosflora
3. Auflage Verlag Eugen Ulmer Stuttgart 1992

- b) R. Düll
Exkursionstaschenbuch der Moose
IDH-Verlag für Biologie und Ökologie Bad Münstereifel 1993
- [128] H. M. Jahns
Farne-, Moose- und Flechten; Mittel-, Nord- und Westeuropas
BLV Bestimmungsbuch; BLV Verlagsgesellschaft München, Wien, Zürich, 1972
- [129] H. D. Zinsmeister und R. Mues
GIT Fachz. Lab. **6**, (1987), 449-512
Moose als Reservoir bemerkenswerter sekundärer Inhaltsstoffe.
- [130] D. Solas and J. Wolinsky
J. Org. Chem. **48**, (1983), 670-673
Total Synthesis of (-)- α -Acoradien and (-)- α -Cedren.
- [131] W. Oppolzer, K.K. Mahalanabis and K. Bättig
Helv. Chemi. Acta **60**, (1977), 2388-2401
A Flexible stereoselective synthesis of the spirosesquiterpenes (+/-)- β -Acorenol, (+/-)- β -Acoradien, (+/-)-acorenon B and (+/-)-acorenon via an intramolecular Ene-Reaction.
- [132] R. Kutschan, H-, M. Schiebel, N. Schröder und H. Wolf
Chem. Ber. **110**, (1977), 1615-1622
Stereoisomere Acorenone PFT- ^{13}C -NMR-Spektren und massenspektroskopische Untersuchungen.
- [133] G.- L.- Lange W. J. Orrom and D. J. Wallace
Tetrahedron Letters **51**, (1977), 4479-4480
A stereoselective synthesis of the spirosesquiterpene (-)-acorenon.
- [134] C. Iwata, T. Fusaka, N. Meazaki, S. Nakamura, Y. Shinoo, M. Yamada and T. Tanaka
Chem. Pharm. Bull **36** (5), (1988), 1638-1645
Synthetic studies on acorane-alaskane sesquiterpenes II. Total synthesis of (+/-)- acorenone.
- [135] C. Iwata, T. Fusaka, N. Meazaki, S. Nakamura, Y. Shinoo, M. Kishimoto, H. Uetsuji and T. Tanaka
J. Chem. Soc. Chem. Comm. (1984), 781
Novel Cyclopenta[c]benzofuran intermediates for the synthesis of acoran-alaskane sesquiterpenes: Total synthesis of (+/-)- β -acorenol and (+/-)-acorenon.
- [136] D. D. K. Mahn, J. Ecoto, M. Fetizon, H. Colin, J. Diez-Masa
J. Chem. Soc. Chem. Comm. (1981), 953
A new approach to spirosesquiterpenes of the acorane family.
- [137] D. Joulain
Persönliche Mitteilung an Prof. W. A. König

- [138] L.G. Cool, A.B. Power and E. Zavarin
Biochem. Systematics and Ecology **19**, (1991), 421-432
Variability of Foliage Terpenes of *Fitzroya cupressoides*.
- [139] B. Tomita, T. Isono and Y. Hirose
Tetrahedron Letters **16**, (1970), 1371-1372
Acorane type sesquiterpenoids from *Juniperus rigida* and hypothesis for the formation of new tricarbocyclic sesquiterpenoids.
- [140] S. Nozoe, H. Kobayashi and N. Morisaka
Tetrahedron Letters **50**, (1976), 4625-4626
Isolation of β -trans bergamotene from *Aspergillus fumigatus*.
- [141] E. J. Corey, D. Cane and L. Libit
J. Am. Chem. Soc. **93**, (1971), 7016-7021
The synthesis of racemic α -trans- and β -trans-bergamotene.
- [142] E. J. Corey and M.C. Desai
Tetrahedron Letters **26**, (1985), 3535-3538
Simple synthesis of (+)- β -bergamotene.
- [143] R. J. McClure, K. S. Schorno, J. A. Bertrand and L.A. Zalkow
Chem. Comm. (1968), 1135
The structure and stereochemistry of a new sesquiterpene of acorane-type.
- [144] J.D. White, J.F. Ruppert, M.A. Avery, S. Torii and J. Nokami
J. Am. Chem. Soc. **103**, (1981), 1831-1821
Spiroannulation via intramolecular ketocarbenoid addition. Stereocontrolled synthesis of (-)-Acorenone B and (+/-)-Chamigrene.
- [145] F. Kido, T. Abifo and M. Kato
J. Chem. Soc. Perkin Trans I (1992), 229
Spiroannulation by the [2,3] sigmatropic Rearrangement via the cyclic allylsulfonium ylide. A stereoselective synthesis of (+)-Acorenone B.
- [146] C.-Li Wu and J.-Rong Chen
J. Chinese Chem. Soc. **42**, (1995), 597-599
Sesquiterpenoids of acorane type from the liverwort *Bazzania tridens*.
- [147] M. Toyota, A. Bardon, N. Kamiya, S. Takaoka and Y. Asakawa
Chem. Pharm. Bull. **45**(12), (1998), 2119-2121
Dumortenols, novel skeletal sesquiterpenoids from the Argentinian liverwort *Dumortiera hirsuta*.
- [148] M. Toyota, T. Yoshida, J. Matsunami and Y. Asakawa
Phytochemistry **44**, (1997), 293-298
Sesquiterpenes and other Constituents of the liverwort *Dumortiera hirsut*.

- [149] Matsuo, S. Uto, M. Nakayama and S. Hayashi
Z. Naturforsch. **31c**, (1976), 401-402,
Sesquiterpene hydrocarbons of the liverwort *Dumortiera hirsuta*
- [150] K. Bruns
Parfümerie und Kosmetik 59. Jahrgang Nr. 4/78
Ein Beitrag zur Untersuchung und Qualitätsbewertung von Patchouliöl.
- [151] A. Pradeep, K. Sharma and R. S. Thakur
Phytochemistry **26**, (1987), 2705-2707
1,2-Hydrogen shifts during the biosynthesis of patchoulenes in *Pogostemon cablin*.
- [152] H. Nii, K. Furukawa, M. Iwakiri and T. Kubota
Nippon Nogeikagaku Kaishi (1983), 57, 733
Constituents of the Essential Oils from *Lindera glauca*.
- [153] T. R. Govindachari, P. A. Mohamed and P.C. Parthasarathy
Tetrahedron **26**, (1970), 615-619
Ishwarane and Aristolochene, two new Sesquiterpene hydrocarbons from *Aristolochia indica*
- [154] D. E. Cane, E. J. Salaski and P.C. Prabhakaran
Tetrahedron Letters 31, (1990), 1943
Preparation of (-)-aristolochene from (+)-valencene: Absolute configuration of (+)-aristolochene from *Aspergillus terreus*.
- [155] J. E. Mc Murry
J. Org. Chem. **40**, (1982), 1975
Total synthesis of Eremophilone.
- [156] J. A Marshall and A. E. Greene
J. Org. Chem. **37**, (1972), 982
The synthesis of (+/-)-Guaiol and (+/-)-7-*epi*-Guaiol.
- [157] C. Fricke
Dissertation Hamburg 1999
- [158] L. E. Wolinsky and D. J. Faulkner
J. Org. Chem. **41**, (1976), 697-699
The Geometrical Isomers of γ -Bisabolene
- [159] F. Bohlmann, C. Zdero und M. Lonitz
Phytochemistry **16**, (1977), 575-577
Neue Guajen-Derivate aus *Parthenium hysterophorus* und ein weiteres Pseudogujanolid aus *Ambrosia cumanensis*.

- [160] Y. Saritas, N. Bülow, C. Fricke, W.A. König and H. Muhle
Phytochemistry **48**, (1998), 1019-1023
Sesquiterpene hydrocarbons in the Liverwort *Dumortiera hirsuta*.
- [161] E. Klein und W. Rojahn
Tetrahedron Letters **4**, (1970), 279-282
(-)-7 β , 10 α -Selina-4,11-dien, (+)-5 β ,10 α -Selina-3,11-dien zwei neue Sesquiterpene der Eudesmanreihe.

Veröffentlichungsliste:

Y. Saritas, N. Bülow, C. Fricke, W. A. König and H. Muhle

Sesquiterpene hydrocarbons in the Liverwort *Dumortiera hirsuta*

Phytochemistry, Vol 48, No. 6, pp 1019-1023, **1998**

W. A. König, C. Fricke, Y. Saritas, B. Momeni and G. Hohenfeld

Critical Review

Adulteration or Natural Variability? Enantioselective gas chromatography
in purity control of Essential oils

J. High Resol. Chromatogr. Vol. 20, pp. 55-61, **1997**

W. A. König, A. Rieck, Y. Saritas, I. H. Hardt and K. -H. Kubeczka

Sesquiterpene hydrocarbons in the Essential Oil of *Meum Athamanticum*

Phytochemistry, Vol 42, No. 2, pp 461-464, **1996**

A. Rieck, N. Bülow, C. Fricke, Y. Saritas and W. A. König

(-)-1(10), 11-Eremophiladien-9 β -ol from the Liverwort *Marchantia polymorpha* ssp.
aquatica

Phytochemistry, Vol 45, No. 1, pp 195-197, **1997**

A. Rieck, N. Bülow, S. Jung, Y. Saritas and W. A. König

(+)-1(10)-Spirovetiven-7 β -ol from the Liverwort *Lepidozia reptans*

Phytochemistry, Vol 44, No. 3, pp 453-457, **1997**

W. A. König, A. Rieck, C. Fricke, S. Melching, Y. Saritas, and I. H. Hardt

Enantiomeric Composition of Sesquiterpenes in Essential Oils

K. H. C. Baser (Editor), *Flavours, Fragrances and Essential Oils*. Proceedings of the 13th
International Congress of Flavours, and Essential Oils, Istanbul, Turkey, 15-19 October
1995, Vol. 2.

W. A. König, N. Bülow and Y. Saritas

Identification of sesquiterpene hydrocarbons by gas phase analytical methods

Flavour Fragr. J., 14, 367-378, **1999**

Posterpräsentationen:

Y. Saritas, M. M. Sonwa and W. A. König

Acoran-Type Sesquiterpenoids from the Liverwort *Jungermannia lanceolata*

28th International Symposium on Essential Oils **1997**, Turkey/Eskisehir, Tibbi Bitkiler

Arastirma Merkezi

Y. Saritas, S. von Reuß and W. A. König

A Reinvestigation of the Essential Oil of *Petasites hybridus*

29th International Symposium on Essential Oils **1998**, Germany/Frankfurt

M. Pietsch, N. Bülow, C. Fricke, S. Jung, S. Melching, A. Rieck, Y. Saritas, K. Wihstutz
and W. A. König

Stereochemical Studies of Plant Volatiles by Enantioselective Capillary Gas

Chromatography

19th International Symposium on Capillary Chromatography and Electrophoresis,

Wintergreen, Virginia/USA, May, **1997**

Danksagungen

Herrn Prof. *Dr. K.-H. Kubeczka* danke ich für die Bereitstellung seiner Bibliothek und für seine ständige Diskussionsbereitschaft während dieser Arbeit.

Herrn *Dr. V. Sinnwell* danke ich für die Aufnahmen von NMR-Spektren mit besonderen, interessanten Puls-Programmen, seine Diskussionsbereitschaft und seine freundliche und hilfsbereite Art mich auch bei schwierigen NMR-spektroskopischen Problemen zu unterstützen.

Für ihren zuverlässigen und schnellen Service möchte ich mich bei dem gesamten NMR-Spektroskopie-Team, besonders bei *I. Schuldt, E. Juhas* und *S. Weidner* bedanken.

Frau. *A. Meiners* und *M. Preuße* danke ich für die Anfertigung von unzähliger Massenspektren.

Für seine sehr gute Schwerpunktarbeit möchte ich mich bei *S. von Reuß* bedanken.

Für das gründliche und schnelle Korrektur-Lesen dieser Arbeit danke ich ganz besonders Frau Dipl.-Chem. *C. Paul* und Herrn Dipl.-Chem. *O. Schulze*.

Für die große Hilfsbereitschaft bei Computerfragen möchte ich Herrn *Dr. D. Hochmuth* meinen Dank aussprechen.

Dem gesamten Arbeitskreis möchte ich für die gute Zusammenarbeit und die freundliche Atmosphäre danken. Besonderer Dank gilt in diesem Zusammenhang *Claudia Paul, Klaus Scharwächter, Mekkem Mesmin Sonwa, Christiane Fricke, Stefan Jung* und *Detlev Hochmuth*.

Ich möchte mich bei Familie *Costabel* und dem gesamten Hotel Senator Team dafür bedanken, daß sie mir das „Jobben“ während meiner Studiums so einfach wie möglich gemacht haben.

Bei Familie *Steinheuser* möchte ich mich für die angenehme Zeiten bedanken, die sie mit mir geteilt haben.

Mein besonderer Dank gilt meiner Familie für die verständnisvolle Unterstützung während des Studiums und der Promotion.

Lebenslauf

Yücel Saritas

geb. 18.04.1965

in Divrigi in d. Türkei

deutsche Staatsangehörigkeit

ledig, keine Kinder

Schulbildung

1972-1980	Grundschule und Gymnasium in Istanbul
1980-1895	Allgemeine Hochschulreife Gesamtschule Mümmelmannsberg in Hamburg

Hochschulausbildung

Oktober 1985 / Juni 1995	Studium der Chemie an der Universität Hamburg Diplom-Hauptprüfung: 02 Juni 1995 Diplomarbeit am Institut für Organische Chemie bei Herrn Prof. Dr. W.A. König über das Thema: " Sesquiterpenkohlenwasserstoffe im Lebermoos <i>Marchantia polymorpha</i> " Erhalt des Diploms: 02.06.91995
September 1995	Beginn der Dissertation bei Herrn Prof. Dr. W.A. König über das Thema: "Isolierung, Strukturaufklärung und stereochemische Untersuchungen von sesquiterpenoiden Inhaltsstoffen aus ätherischen Ölen von <i>Bryophyta</i> und höheren Pflanzen"
April 1999	Beendigung der Laborarbeiten zur Dissertation
19 Juni 2000	Tag der letzten Promotionsprüfung - Abschluß der Promotion.
Juli 2000 / April 2001	Postdoctorand Universität Hamburg bei Prof. Dr. W. A. König