

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Ludwig-Maximilians-Universität München

**Isolierung, Strukturaufklärung und Untersuchungen zur
Biosynthese von Sekundärmetaboliten
aus *Physarum polycephalum* (Myxomycetes) und
Pentapora fascialis (Bryozoa)**

Sophie Eisenbarth
aus
Passau

2002

Erklärung

Diese Dissertation wurde im Sinne von § 13 Abs. 3 bzw. 4 der Promotionsordnung vom 29. Januar 1998 von Herrn Prof. Dr. Wolfgang Steglich betreut.

Ehrenwörtliche Versicherung

Diese Dissertation wurde selbständig, ohne unerlaubte Hilfe erarbeitet.

München, am 18. Juni 2002

Dissertation eingereicht am 18. Juni 2002

1. Gutachter: Prof. Dr. Wolfgang Steglich
2. Gutachter: Prof. Dr. Thomas Lindel

Mündliche Prüfung am 15. Januar 2003

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Februar 1999 bis Dezember 2001 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Wolfgang Steglich (Dr. Bert Steffan) am Department Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität München angefertigt.

Dank

Herrn *Dr. Bert Steffan* danke ich sehr herzlich für die Aufnahme in seinen Arbeitskreis, für die interessante und reizvolle Themenstellung, für die zahlreichen anregenden Diskussionen, sein stetes Interesse am Fortgang dieser Arbeit, die großzügige Förderung und das angenehme, vertrauensvolle Arbeitsklima.

Ein besonderer Dank gilt Herrn *Prof. Dr. Wolfgang Steglich* für die freundliche Aufnahme am Lehrstuhl und für die stets sehr wohlwollende Unterstützung und das Interesse, mit dem er diese Arbeit begleitet hat.

Herrn *Prof. Dr. Thomas Lindel* danke ich für die Übernahme des Koreferates.

Bedanken möchte ich mich ganz herzlich bei allen momentanen und ehemaligen Mitarbeitern des Arbeitskreises, *Florian Blumenthal, Michael Estermeier, Thomas Hohlfeld, Dr. Helmut Lehnert* und *Dajana Rolj* sowie *Gaby Glück, Melina Haupt, Markus Müller, Georgette Thumshirn* und *Dr. Li-Hong Tseng* für die immerwährend sehr freundschaftliche und hilfsbereite Atmosphäre, ohne die ein erfolgreiches Arbeiten nicht möglich gewesen wäre.

Herrn *Florian Blumenthal* danke ich besonders für die unermüdliche und geduldige Hilfe vor allem in den letzten Monaten.

Frau *Dr. Li-Hong Tseng* danke ich für die Aufnahme von NMR-Spektren und für HPLC-NMR-Messungen.

Ebenso gilt mein Dank allen Mitgliedern des Arbeitskreises Steglich, die immer ein offenes Ohr für Fragen hatten und sehr freundschaftlich Hilfe leisteten.

Herrn *Dr. Wolfgang Marwan* (Universität Freiburg) danke ich für die Überlassung von Suspensionskulturen bzw. Spherulen eines gelben Wildtyp-Stammes von *Physarum polycephalum*.

Herrn *Dr. Bert Steffan* und Herrn *Toni Murray* (Unisub, L' Estartit, Spanien) danke ich für die Tauchgänge zur Beschaffung des Probenmaterials von *Pentapora fascialis*.

Herrn *Prof. Dr. Gerhard Wanner* vom Botanischen Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München danke ich für die Durchführung der EDX-Analysen.

Ein besonderer Dank gilt der analytischen Abteilung des Department Chemie für die Aufnahme zahlreicher Spektren: Frau *Claudia Dubler* für NMR-Spektren, Herrn *Dr. Werner Spahl* und Herrn *Reinhard Seidel* für Massenspektren und Herrn *Helmut Huber* und Herrn *Ivo Brück* für UV/VIS- und IR-Spektren.

Frau *Dr. Lydia Kahner* und Herrn *Dr. Robert Feling* danke ich für die Einführung in die CD-Spektroskopie.

Für die genaue Durchsicht der Arbeit danke ich Herrn *Florian Blumenthal* und Herrn *Michael Estermeier*.

Meinem Mann Kai
gewidmet

„Der erste Schluck aus dem Becher der Natur
führt zum Atheismus,
aber auf dem Grund wartet Gott.“

Werner Heisenberg

INHALTSVERZEICHNIS

ZUSAMMENFASSUNG	1
I. EINLEITUNG	4
II. ALLGEMEINER TEIL.....	5
1. Myxomyceten.....	5
1.1. Taxonomie	5
1.2. Lebenszyklus	7
1.3. Naturstoffe aus Myxomyceten.....	9
2. Polyen-Naturstoffe	12
3. Bryozoen.....	15
3.1. Taxonomie	15
3.2. Beschreibung	16
3.3. Naturstoffe aus Bryozoen.....	18
4. Natürliche Disulfide und Sulfate.....	24
III. SPEZIELLER TEIL	31
5. <i>Physarum polycephalum</i>	31
5.1. Taxonomie und Beschreibung	31
5.2. Bisherige Untersuchungen zu <i>Physarum polycephalum</i>	33
5.2.1. Blaulichtreaktionen und Blaulichtrezeptor.....	33
5.2.2. Bisher isolierte Naturstoffe.....	34
5.2.3. Biosynthese der bekannten Plasmodienfarbstoffe	36
5.3. Ziel der vorliegenden Untersuchungen	39
6. Chrysophysarin A (64) aus <i>Physarum polycephalum</i>	40
6.1. Isolierung von Plasmodienfarbstoffen	40
6.1.1. Kultivierung von Mikroplasmodien.....	40
6.1.2. Isolierung und Analytik.....	40

6.1.2.1. Extraktion und Chromatographie.....	40
6.1.2.2. DC- und HPLC-Analytik.....	41
6.2. Struktur von Chrysophysarin A (64).....	42
6.2.1. Strukturaufklärung	42
6.2.2. Absolute Konfiguration.....	47
6.2.2.1. Synthese von <i>N</i> -(3,3-Dimethylacryloyl)-L-leucinmethylester (69) und <i>N</i> -(3,3-Dimethylacryloyl)-D-leucinmethylester (72)	47
6.2.2.2. Ableitung der absoluten Konfiguration durch CD-Vergleich	48
6.3. Biosynthese von Plasmodienfarbstoffen.....	50
6.3.1. Chrysophysarin A (64)	50
6.3.2. Physarochrom A (60)	53
7. <i>Pentapora fascialis</i>	56
7.1. Taxonomie und Beschreibung	56
7.2. Bisherige Untersuchungen zu <i>Pentapora fascialis</i>	58
7.3. Testung des Extraktes von <i>Pentapora fascialis</i> auf biologische Aktivität	58
7.4. Ziel dieser Untersuchungen.....	59
8. Pentaporin A (87), B (88) und C (89) aus <i>Pentapora fascialis</i>	60
8.1. Isolierung der Pentaporine.....	60
8.1.1. Probenmaterial	60
8.1.2. Extraktion und Chromatographie.....	60
8.1.3. DC- und HPLC-Analytik.....	60
8.2. Struktur von Pentaporin A (87), B (88) und C (89).....	61
8.2.1. Strukturaufklärung	61
8.2.1.1. Pentaporin A (87).....	61
8.2.1.2. Pentaporin B (88).....	71
8.2.1.3. Pentaporin C (89).....	77
8.2.2. Testung der Reinsubstanzen	81
8.2.3. Derivatisierungen	82
8.2.3.1. Acetylierung	82
8.2.3.2. Methylierung	83
8.2.3.3. Solvolyse	84
8.2.3.4. Methylierung des Solvolyseproduktes	85

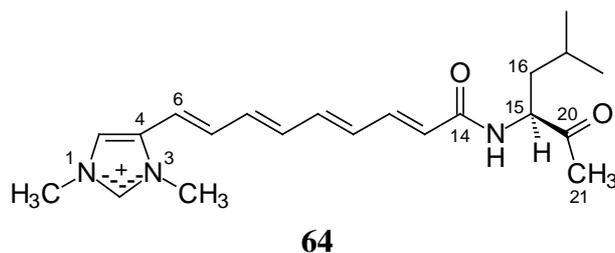
8.2.3.5. Entschwefelung.....	85
8.2.4. Testung von Derivaten	86
8.2.5. Konfiguration.....	86
8.2.5.1. NMR-Spektroskopie	86
8.2.5.2. VCD-Spektroskopie	87
8.2.5.3. Mosher-Methode.....	88
8.2.5.4. Exiton-Chiralitäts-Methode.....	88
8.2.5.5. Ausblick	90
IV. EXPERIMENTELLER TEIL.....	91
9. Geräte, Materialien und allgemeine Arbeitsmethoden.....	91
10. Kulturbedingungen für <i>Physarum polycephalum</i>	94
10.1. Stammhaltung	94
10.2. Großproduktion und Ernte.....	95
10.3. Verfütterung markierter Vorläufer-Moleküle.....	95
11. Chrysophysarin A (64)	96
11.1. Isolierung.....	96
11.2. Chrysophysarin A (64).....	97
11.3. Synthese von <i>N</i> -(3,3-Dimethylacryloyl)-L-leucinmethylester (69) und <i>N</i> -(3,3-Dimethylacryloyl)-D-leucinmethylester (72).....	98
12. Pentaporin A (87), B (88) und C (89).....	102
12.1. Probenmaterial.....	102
12.2. Isolierung.....	102
12.3. Pentaporin A (87).....	103
12.4. Pentaporin B (88).....	104
12.5. Pentaporin C (89).....	105
12.6. Derivat von Pentaporin A (87)	106
12.6.1. Acetylierungsprodukt 94	106
12.7. Derivate von Pentaporin B (88)	107
12.7.1. Acetylierungsprodukt 95	107
12.7.2. Methylierungsprodukt 96	109

12.7.3. Solvolyseprodukt 97	110
12.7.4. Methylierungsprodukt 98	111
12.7.4.1. Darstellung von Diazomethan	111
12.7.4.2. Methylierung	112
V. ANHANG	114
13. Abkürzungsverzeichnis	114
14. Literaturverzeichnis	116

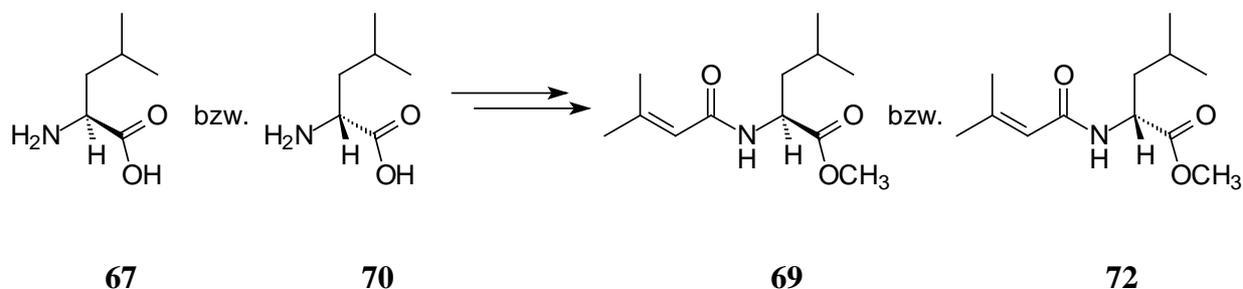
ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit beschreibt die Isolierung und Strukturaufklärung von Chrysophysarin A (**64**) aus dem Myxomyceten *Physarum polycephalum* und von Pentaporin A (**87**), B (**88**) und C (**89**) aus der Bryozoe *Pentapora fascialis* sowie die Biosynthese von Chrysophysarin A (**64**) und Physarochrom A (**60**) aus *P. polycephalum*.

Auf der Suche nach möglichen Photorezeptorpigmenten von *P. polycephalum* wurde aus Mikroplasmodien eines im Labor als Suspensionskultur gezüchteten gelben Wildtyp-Stammes nach Extraktion und Säulenchromatographie der gelbe Plasmodienfarbstoff Chrysophysarin A (**64**) isoliert und in seiner Struktur aufgeklärt.



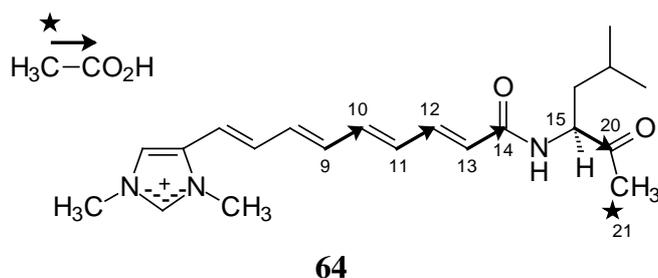
Zur Klärung der Stereochemie an Position C-15 wurden ausgehend von L- bzw. D-Leucin (**67** bzw. **70**) die *N*-(3,3-Dimethylacryloyl)-L- bzw. -D-leucinmethylester (**69** bzw. **72**) synthetisiert. Der Vergleich der CD-Spektren zeigt, daß **64** *S*-Konfiguration an C-15 besitzt.



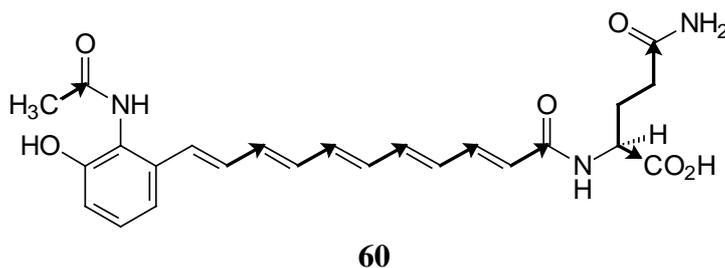
Schema 7. Synthese von *N*-(3,3-Dimethylacryloyl)-L- bzw. -D-leucinmethylester (**69** bzw. **72**)

Durch Verfütterungsexperimente mit $[2-^{13}\text{C}]$ - und $[^{13}\text{C}_2\text{-d}_3]$ -Natriumacetat wurde für Chrysophysarin A (**64**) und Physarochrom A (**60**) das Einbaumuster von Acetat ermittelt.

Für **64** können Acetat, L-Leucin und Histidin als Biosynthesebausteine vorgeschlagen werden, für **60** Acetat, L-Glutamin und vermutlich 3-Hydroxyanthranilsäure.

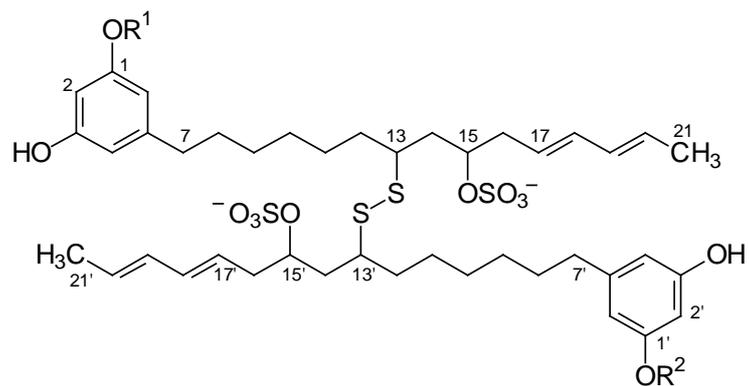


Schema 8. Acetateinbau in Chrysophysarin A (**64**)



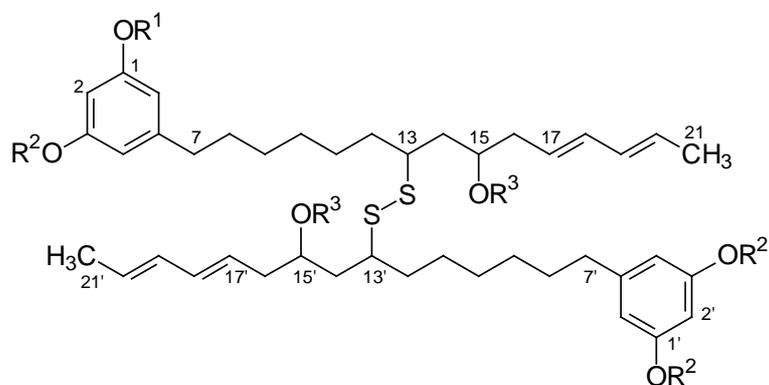
Schema 11. Acetateinbau in Physarochrom A (**60**)

Im Rahmen eines Screening-Programmes in Zusammenarbeit mit der Bayer AG Monheim für pharmakologisch wirksame marine Naturstoffe konnten aus der Mittelmeer-Bryozoe *Pentapora fascialis* die anthelmintisch wirksamen Disulfide Pentaporin A (**87**), B (**88**) und C (**89**) charakterisiert werden.



- 87** $R^1 = H, R^2 = H$
88 $R^1 = SO_3^-, R^2 = H$
89 $R^1 = SO_3^-, R^2 = SO_3^-$

Zur Bestätigung der Struktur und für die Testung auf anthelmintische Wirksamkeit wurden von **88** die Derivate **95–98** dargestellt.



- 95** $R^1 = SO_3^-, R^2 = Ac, R^3 = SO_3^-$
96 $R^1 = SO_3^-, R^2 = Me, R^3 = SO_3^-$
97 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = H$
98 $R^1 = Me, R^2 = Me, R^3 = H$

I. EINLEITUNG

Viele Jahrzehnte intensiver Forschung auf dem Gebiet der Naturstoffe aus Pflanzen, Pilzen und Tieren haben die schier grenzenlose Vielfalt dieser Sekundärmetabolite aufgezeigt. Während der Primärstoffwechsel in allen Organismen ähnlich verläuft, führt der Sekundärstoffwechsel zu Verbindungen, die meist für bestimmte Arten charakteristisch sind. Sekundärmetabolite besitzen mannigfaltige ökologische Funktionen, die aber oft noch nicht geklärt sind. Viele dienen der Abwehr von Fraßfeinden, Pathogenen, Parasiten und Konkurrenten, einige spielen als Pheromone eine Rolle in der innerartlichen Kommunikation.

Naturstoffe erlangen zunehmend größere Bedeutung aufgrund ihres pharmakologischen Potentials, das man für die Entwicklung neuer Medikamente und agrochemischer Produkte zu nutzen versucht. Die fast unerschöpfliche strukturelle Vielfalt der Naturstoffe stellt dabei eine große Herausforderung für analytisch und synthetisch arbeitende Chemiker dar.

II. ALLGEMEINER TEIL

1. Myxomyceten

Die Schleimpilze (Myxomyceten) sind eine eigenständige Gruppe heterotropher Eukaryota, die zwischen dem Pflanzen- und Tierreich einzuordnen ist. Diese faszinierenden Organismen, deren Fruchtkörper im Herbst in unseren Wäldern auf abgestorbenen Blättern, morschem Holz oder Baumrinde zu finden sind, leben vor der Fruchtkörperbildung eher im Verborgenen. Sie bilden ein Plasmodium, eine riesige Zelle mit vielen Zellkernen, das die Fähigkeit zur aktiven Fortbewegung besitzt.

Neben den strukturell interessanten Verbindungen, die für die unterschiedlichen Farben von Plasmodien und Fruchtkörpern der Myxomyceten verantwortlich sind, ist die Fähigkeit der Myxomyceten, auf Licht zu reagieren, von besonderem Interesse. Ein solches Verhalten setzt Photorezeptorpigmente voraus, Moleküle also, die durch Licht verändert werden können und die Signaltransduktion einleiten.

1.1. Taxonomie

Die Myxomyceten (Echte Schleimpilze) werden erstmals in den Zeichnungen und Kurzbeschreibungen von PANCKOW^[1] aus dem Jahr 1654 erwähnt.

Der Name „Myxomyceten“ wurde 1833 von LINK^[2] geprägt, der sie von den Pilzen im engeren Sinn, denen sie z.T. noch heute zugeordnet werden,^[3-5] abtrennte. Für die Myxomyceten findet man in der Literatur verschiedene synonym gebrauchte Namen. Während Botaniker neben Myxomyceten auch den Begriff Myxophyten verwenden (z.B. MARTIN,^[6,7] ALEXOPOULOS^[8]), findet sich in den Arbeiten vieler Zoologen die Bezeichnung Mycetozoa (z.B. DE BARY^[9]).

Bei der genauen taxonomischen Einordnung der Myxomyceten finden sich bis heute verschiedene Auffassungen. Während ALEXOPOULOS und MIMS^[5] die Myxomyceten dem Reich der Pilze (Myceteae) unterordnen, werden sie von OLIVE^[10] und von HAUSMANN und HÜLSMANN^[11,12] als Myxogastra in das Reich der einzelligen Eukaryota (Protista) eingeteilt. STRASBURGER *et al.*^[13] führen die Myxomyceten innerhalb der Schleimpilze als eigenständigen Organisationstyp der Eukaryota an (Schema 1).

PROKARYOTA

- A. Organisationstyp: BAKTERIEN
- B. Organisationstyp: PROKARYOTISCHE ALGEN

EUKARYOTA

HETEROTROPHE EUKARYOTA

A. Organisationstyp: **SCHLEIMPILZE**

1. Abteilung: ACRASIOMYCOTA

Klasse: ACRASIOMYCETES

- 1. Ordnung: DICTYOSTELIALES
- 2. Ordnung: ACRASIALES

2. Abteilung: **MYXOMYCOTA**

1. Klasse: **MYXOMYCETES**

- 1. Ordnung: CERATIOMYXALES
- 2. Ordnung: LICERALES
- 3. Ordnung: ECHINOSTELIALES
- 4. Ordnung: TRICHIALES
- 5. Ordnung: **PHYSARALES**
- 6. Ordnung: STEMONITALES

2. Klasse: PROTOSTELIOMYCETES

B. Organisationstyp: PILZE

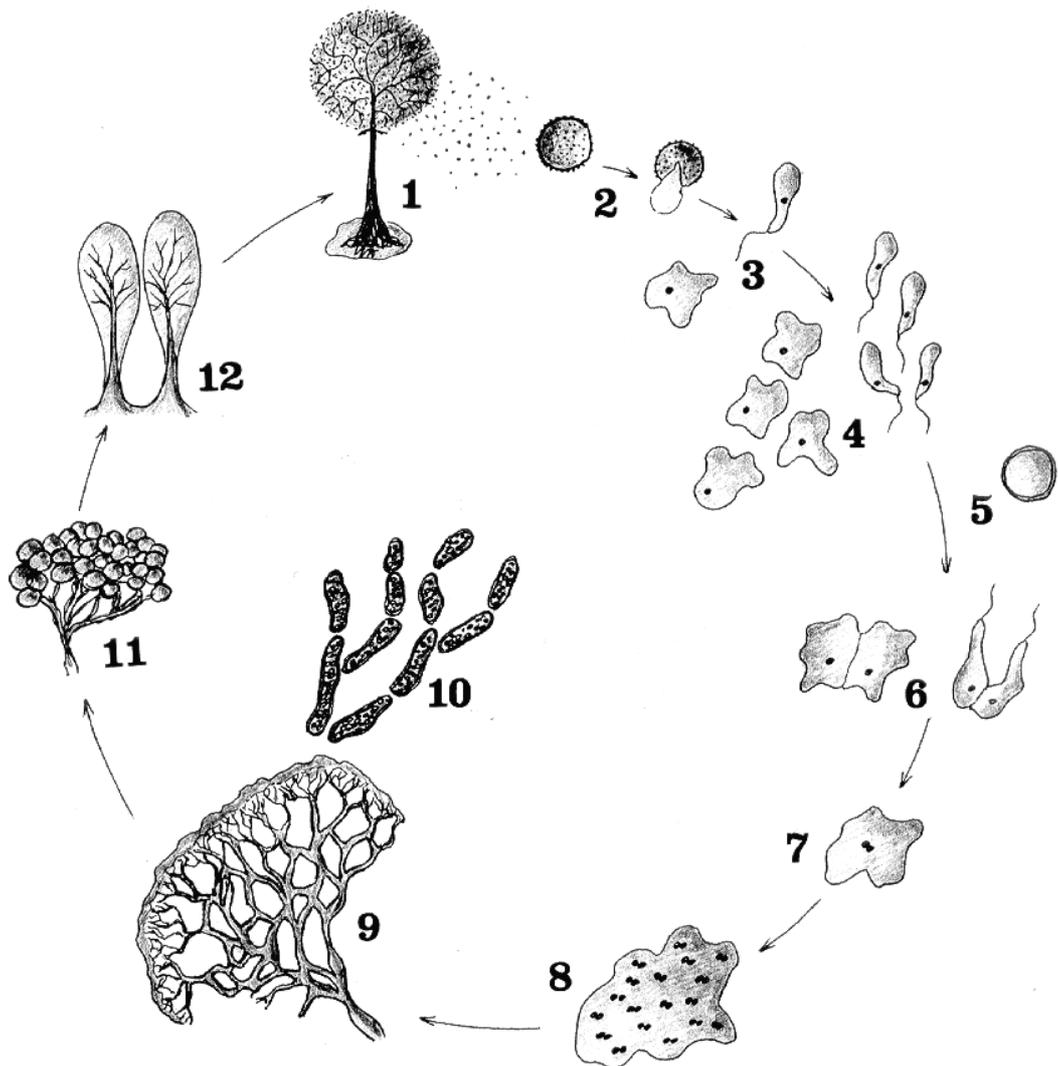
AUTOTROPHE EUKARYOTA

- C. Organisationstyp: FLECHTEN
- D. Organisationstyp: EUKARYOTISCHE ALGEN
- E. Organisationstyp: MOOSE UND GEFÄßPFLANZEN

Schema 1. Taxonomische Stellung der Myxomyceten nach STRASBURGER *et al.*^[13]

1.2. Lebenszyklus

Der Lebenszyklus der Myxomyceten ist in Abbildung 1 dargestellt.^[14]



- 1 Fruchtkörper mit reifen Sporen
- 2 Spore, Spore mit austretendem Inhalt
- 3 Myxamöbe / Myxoflagellat
- 4 Koloniebildung durch Teilung
- 5 Mikrozyste: Ruhestadium bei ungünstigen Umweltbedingungen
- 6 Verschmelzung

- 7 Zygote
- 8 Plasmodium im Anfangsstadium
- 9 Aktives Plasmodium
- 10 Sklerotien mit Makrozysten: Ruhestadium bei ungünstigen Umweltbedingungen
- 11 Beginn der Fruchtkörperbildung
- 12 Fruchtkörperbildung

Abbildung 1. Lebenszyklus der Myxomyceten. Aus NEUBERT *et al.*^[14]

Aus den Fruchtkörpern (1) werden haploide Sporen (2) freigesetzt, die durch Wind, Wasser oder Tiere verbreitet werden. Die Sporen keimen auf feuchten Oberflächen zu unbegeißelten, amöboid beweglichen Myxamöben, im Wasser zu begeißelten Myxoflagellaten aus, beide mit einer Größe zwischen 14 bis 18 μm (3). Der Keimung kann bei einigen Arten auch eine Ruhephase vorausgehen. Bei ausreichendem Nahrungsangebot und Feuchtigkeit vermehren sich Myxamöben und Myxoflagellaten durch Teilung (4), bei ungünstigen Umweltbedingungen bilden die Zellen Ruhestadien (Mikrozysten) (5), die bei Besserung der äußeren Bedingungen wieder auskeimen können.

Myxamöben oder Myxoflagellaten verschmelzen paarweise zur diploiden Zygote (6,7). Durch zahlreiche mitotische Teilungen des Zellkerns wird das vielkernige Plasmodium gebildet (8,9), das sich bei ungünstigen Bedingungen in ein hartes Sklerotium umwandeln kann (10). Das Plasmodium entwickelt sich bevorzugt im feuchten Waldboden und in vermoderndem Holz. Aufgrund eines Netzwerkes aus Plasmodium-Actin und -Myosin ist es zur aktiven Fortbewegung fähig.^[13-15]

Bei den Myxomycota unterscheidet man drei Typen von Plasmodien: Die Gattungen *Clastoderma*, *Echinostelium* und *Licea* besitzen ein mikroskopisch kleines, wenig differenziertes Protoplasmodium. Vertreter der Ordnung Stemonitales bilden ein feines, farbloses bis weißes Netz, das Aphanoplasmodium. Bei der Ordnung Physarales dagegen ist das Plasmodium dick und oft auffallend differenziert und farbig. Dieses Phaneroplasmodium kann eine Größe von mehreren Quadratmetern erreichen und über eine Milliarde Zellkerne enthalten.

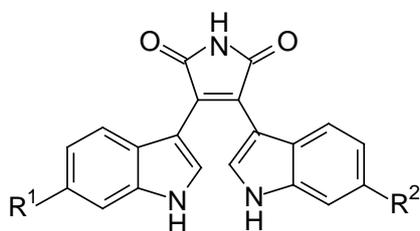
Die Fruchtkörperbildung (11, 12) setzt unter bestimmten exogenen Bedingungen (Substraterschöpfung, Licht, Temperatur, pH) ein. Möglicherweise wirken auch endogene Faktoren auslösend. Zuvor ändert das Plasmodium sein reizphysiologisches Verhalten und kriecht aus dem feuchten Milieu dem Licht entgegen. Bei der Reifung der Sporen in den zahlreichen Fruchtkörpern findet die Meiose statt, so daß wieder haploide Sporen entstehen.

Neben Farbe und Gestalt des Plasmodiums dienen die Merkmale der Fruchtkörper (z.B. Stiel, Hülle, Fasern im Inneren) und die Sporen als Bestimmungshilfen für die taxonomische Einordnung der verschiedenen Arten.^[14]

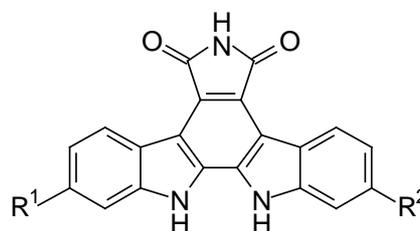
1.3. Naturstoffe aus Myxomyceten

Bei Untersuchungen zur Chemie der Schleimpilze konnte bereits eine Vielzahl an strukturell bemerkenswerten Inhaltsstoffen aus den zum Teil auffallend farbigen Plasmodien oder Fruchtkörpern isoliert werden.

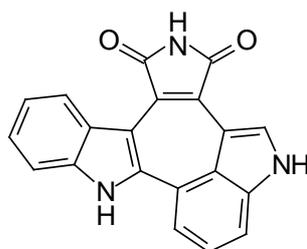
Aus den winzigen roten Fruchtkörpern von *Arcyria denudata* und *A. nutans* konnten STEGLICH *et al.* eine sehr interessante Gruppe von Bisindolylmaleinimiden isolieren. Die Grundfarbstoffe sind die roten Arcyriarubine A (**1a**), B (**1b**) und C (**1c**).^[16-18] Oxidative Cyclisierung in 2,2'-Stellung führt zu den blaßgelben Arcyriaflavinen A (**2a**), B (**2b**) und C (**2c**),^[16-18] durch Cyclisierung von Arcyriarubin A (**1a**) in 2,4'-Stellung entsteht das blaue Arcyriacyanin A (**3**).^[18] In den roten Arcyroxocinen A (**4a**) und B (**4b**)^[18] sind die beiden Indoleinheiten durch ein Sauerstoff-Atom verknüpft. *N*-Hydroxyarcyroxocin A (**5**), ein roter Naturstoff, der sich mit Laugen violett verfärbt, ist das erste natürliche *N*-Hydroxyindol-Derivat, das in der Literatur beschrieben wurde.^[19]



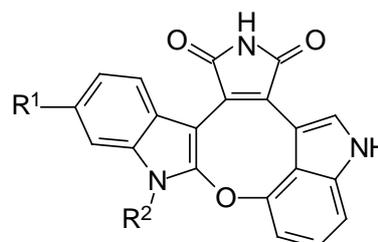
1a $R^1 = R^2 = H$
1b $R^1 = OH, R^2 = H$
1c $R^1 = R^2 = OH$



2a $R^1 = R^2 = H$
2b $R^1 = OH, R^2 = H$
2c $R^1 = R^2 = OH$

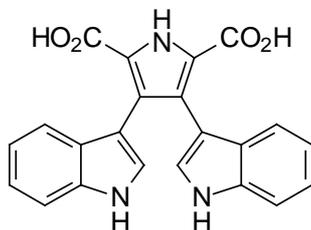


3



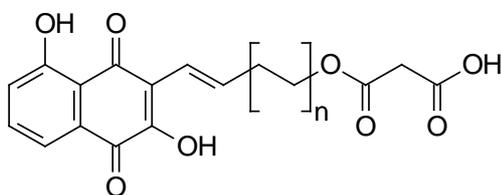
4a $R^1 = R^2 = H$
4b $R^1 = OH, R^2 = H$
5 $R^1 = H, R^2 = OH$

Im Schleimpilz *Lycogala epidendrum* findet sich neben Spuren von **1a** und **2a** die Bisindolylpyrroldicarbonsäure Lycogalsäure (**6**).^[20]

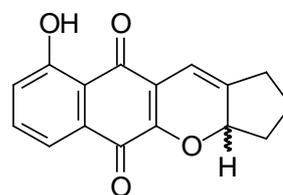


6

Hauptfarbstoffe in den Fruchtkörpern von *Trichia floriformis* und *Metatrichia vesparium* sind die roten Naphthochinon-Derivate Trichion (**7a**) und Homotrichion (**7b**).^[21] Das aus *Metatrichia vesparium* isolierte Vesparion (**8**) besitzt antibiotische Eigenschaften und ist biosynthetisch ein Octaketid.^[22]

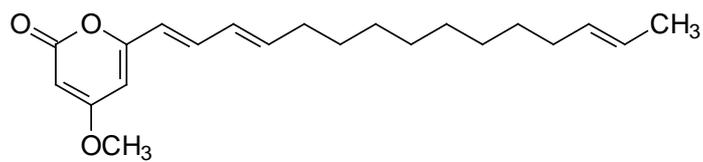


7a n = 1
7b n = 2

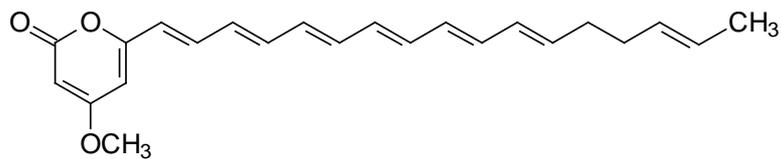


8

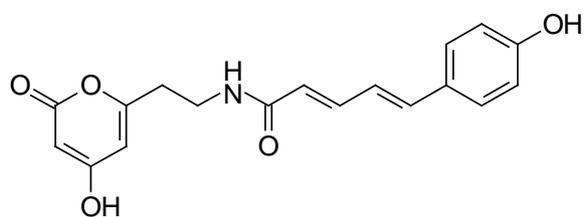
Aus den gelben Plasmodien von *Ceratiomyxa fructiculosa* und *Fuligo septica* („Gelbe Lohblüte“ oder „Hexenbutter“) isolierten STEGLICH *et al.* die Pyronderivate Ceratiopyron A (**9**) und B-D, Ceratioflavin A (**10**)^[23] und Fuligopyron (**11**)^[18]. Aus *Fuligo septica* stammt zudem die Polyenoyl-Tetramsäure Fuligorubin A (**12**), die für die gelbe Farbe dieses Myxomyceten mitverantwortlich ist und mit Magnesium- und Calcium-Ionen Chelate bildet.^[24]



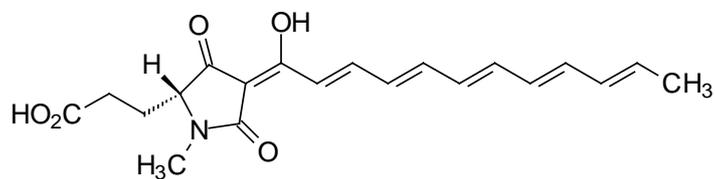
9



10



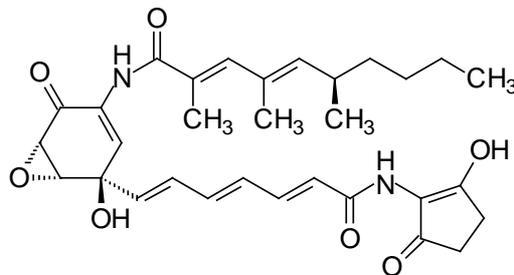
11



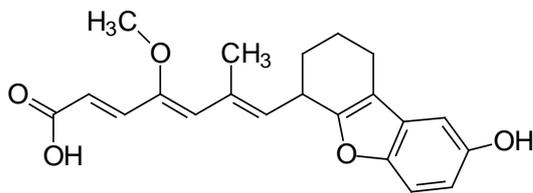
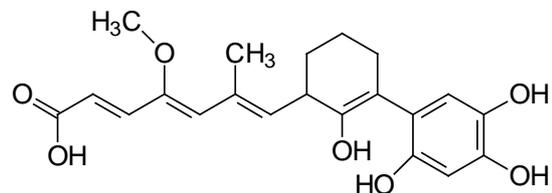
12

Ein klinisch sehr wichtiges Makrolid-Antibiotikum ist Amphotericin B aus *Streptomyces nodosus*, das sich von Nystatin in der Stellung zweier OH-Gruppen im Polyol-Segment und einer zusätzlichen Doppelbindung im Polyensystem unterscheidet. Es wird als hochwirksames Breitbandantimykotikum vor allem bei immungeschwächten Patienten eingesetzt, verursacht aber schwere nephrotoxische Nebenwirkungen.^[25,28,29]

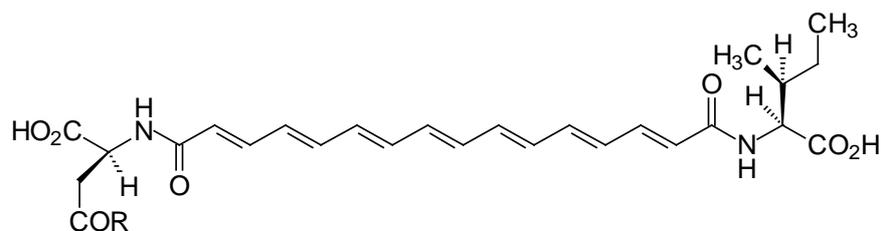
Die Manumycine sind eine Gruppe von Antibiotika aus *Streptomyces*-Stämmen, die bakterizid gegen Gram-positive Bakterien sowie antifungisch, insektizid und cytotoxisch wirken. Außerdem inhibieren sie bestimmte Enzyme, die bei der Metastasierung von Tumorzellen eine Rolle spielen. Vertreter sind Manumycin A (**14**) oder Nisamycin.^[25,30]

**14**

Streptomyces sp. HKI 0180 beinhaltet die Polyencarbonsäuren Cuevaen A (**15a**) und B (**15b**). Sie wirken moderat gegen Gram-positive Bakterien.^[31]

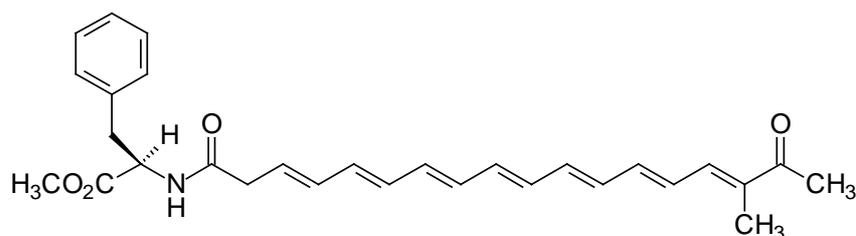
**15a****15b**

Für die orange-gelbe Farbe der japanischen Pilze *Boletus laetissimus* und *B. rufo-aureus* sind die Boletocrocine verantwortlich. Die beiden Verbindungen Boletocrocin A (**16a**) und B (**16b**) sind Diamide aus der Hexadecaheptaendicarbonsäure und Isoleucin sowie Asparaginsäure bzw. Asparagin.^[32]



16a R = OH
16b R = NH₂

In der Trüffel *Melanogaster broomeianus*, einem hypogäisch lebenden Pilz, wurde das orange Melanocrocin (**17**) entdeckt, bei dem L-Phenylalaninmethylester mit einer modifizierten Polyencarbonsäure *N*-acyliert ist.^[33]



17

3. Bryozoen

Die Moostierchen (Bryozoen) sind marine, sessile Filtrierer und bilden verschieden gestaltete Kolonien. Sessile marine Lebewesen besiedeln häufig Ökosysteme, in denen Organismen unterschiedlichster Klassen und Ordnungen auf engstem Raum zusammenleben. Um dem starken inner- und zwischenartlichen Konkurrenzdruck, Fraßfeinden und bakteriellem oder pilzlichem Überwuchs widerstehen zu können, haben diese Organismen ein Arsenal an mehr oder weniger giftigen Naturstoffen entwickelt. Diese hochwirksamen Metabolite in Schwämmen, Korallen, Tunikaten oder Bryozoen machen diese Tiergruppen für die Gewinnung neuer biologisch aktiver Verbindungen höchst attraktiv.

3.1. Taxonomie

Bereits im 17. und 18. Jahrhundert haben die Naturforscher, die sich mit den niederen Tieren des Süßwassers und des Meeres beschäftigten, Tierformen beschrieben, bei denen es sich nach heutigem Wissen um Bryozoen (Moostierchen) handelt. In der damaligen Zeit wurden im allgemeinen äußerlich sehr ähnlich aussehende Tiere in Unkenntnis ihrer inneren Organisation systematisch zusammengestellt. So wurden auch die Bryozoen und die Hydroidpolypen, die eigentlich zu den Coelenteraten (Nesseltieren) gehören, zusammengekommen.

Mit der Verbesserung des Mikroskops zu Beginn des 19. Jahrhunderts vertieften sich die Kenntnisse vom inneren Bau der niederen Tiere. So kam es zur Trennung der Nesseltiere von den Bryozoen, die damals Polyzoa („Vieltierchen“) genannt wurden, da es sich bei ihnen um einen Verband zahlreicher Einzelindividuen zu Tierstöcken handelt.^[34]

Bedeutende Werke über Bryozoen aus dieser Zeit wurden von BUSK^[35] 1857 über marine Bryozoen sowie von ALLMAN^[36] 1856 und NITSCHKE^[37] 1868 über Moostierchen des Süßwassers verfaßt. ALLMAN teilte die Bryozoen in Süßwasserbewohner (Phylactolaemata oder Lophopoda) und in Meeresbewohner (Gymnolaemata oder Stelmatopoda) ein. Diese Einteilung findet sich bis in die Mitte des 20. Jahrhunderts.^[34]

BORG^[38] unterscheidet 1930 drei Ordnungen, Phylactolaemata, Stenolaemata und Gymnolaemata, ein System, das auch heute (z.B. von STORCH und WELSCH^[39], WESTHEIDE und RIEGER^[40]) vertreten wird.

Nach STORCH und WELSCH^[39] werden die Klassen Bryozoa, Phoronidea und Brachiopoda dem Stamm Tentaculata innerhalb der Reihe Protostomia zugeordnet (Schema 2).

Reich: TIERE

Unterreich: METAZOA (Vielzeller)

Abteilung: EUMETAZOA

Unterabteilung: BILATERIA

Reihe: PROTOSTOMIA (Urmundtiere)

Stamm: **TENTACULATA** (Tentakelträger)

1. Klasse: PHORONIDEA (Hufeisenwürmer)

2. Klasse: **BRYOZOA** (Polyzoa, Ectoprocta, Moostierchen)

1. Unterklasse: PHYLACTOLAEMATA (Lophopoda)

2. Unterklasse: STENOLAEMATA

Ordnung: CYCLOSTOMATA

3. Unterklasse: GYMNOLAEMATA

1. Ordnung: CTENOSTOMATA (Kammünder)

2. Ordnung: CHEILOSTOMATA (Lippenmünder)

3. Klasse: BRACHIOPODA (Armfüßer)

Schema 2. Taxonomische Stellung der Bryozoen nach STORCH und WELSCH^[39]

3.2. Beschreibung

Die meisten Bryozoen sind sessile, filtrierende und Kolonien bildende Meeresbewohner. Sie existieren rezent in ca. 4000 und fossil mit ca. 16000 Arten. Während die Einzeltiere (Zooide) sehr einfach aufgebaut sind, zeigen die Kolonien (Zoarien) eine reiche Formenvielfalt und besiedeln als Krusten, Sträucher oder Rasen in großer Zahl Pflanzen und festes Substrat im Meer. Nur wenige Arten leben im Süßwasser.

Der Körper eines Zooids (Abbildung 2) gliedert sich in einen Vorderkörper (Polypid) und einen Hinterkörper (Cystid). Das dünnwandige Polypid besitzt einen den Mund umstehenden bewimperten Tentakelkranz und kann bei Störung in das Hinterende eingezogen werden. Die Cheilostomata können die Einstülpungsöffnung mit einem Deckel (Operculum) verschließen. Das Cystid, das u.a. Magen und Gonaden enthält, ist von einer kapselartigen Cuticula umschlossen. Diese ist im einfachsten Fall gallertig bis chitinig, kann aber durch Einlagerung von Calciumsalzen (Calcit- oder Aragonitkristalle) stark verdickt und zu einem Panzer verfestigt sein, so daß manche Bryozoenkolonien ein korallenähnliches Aussehen besitzen.

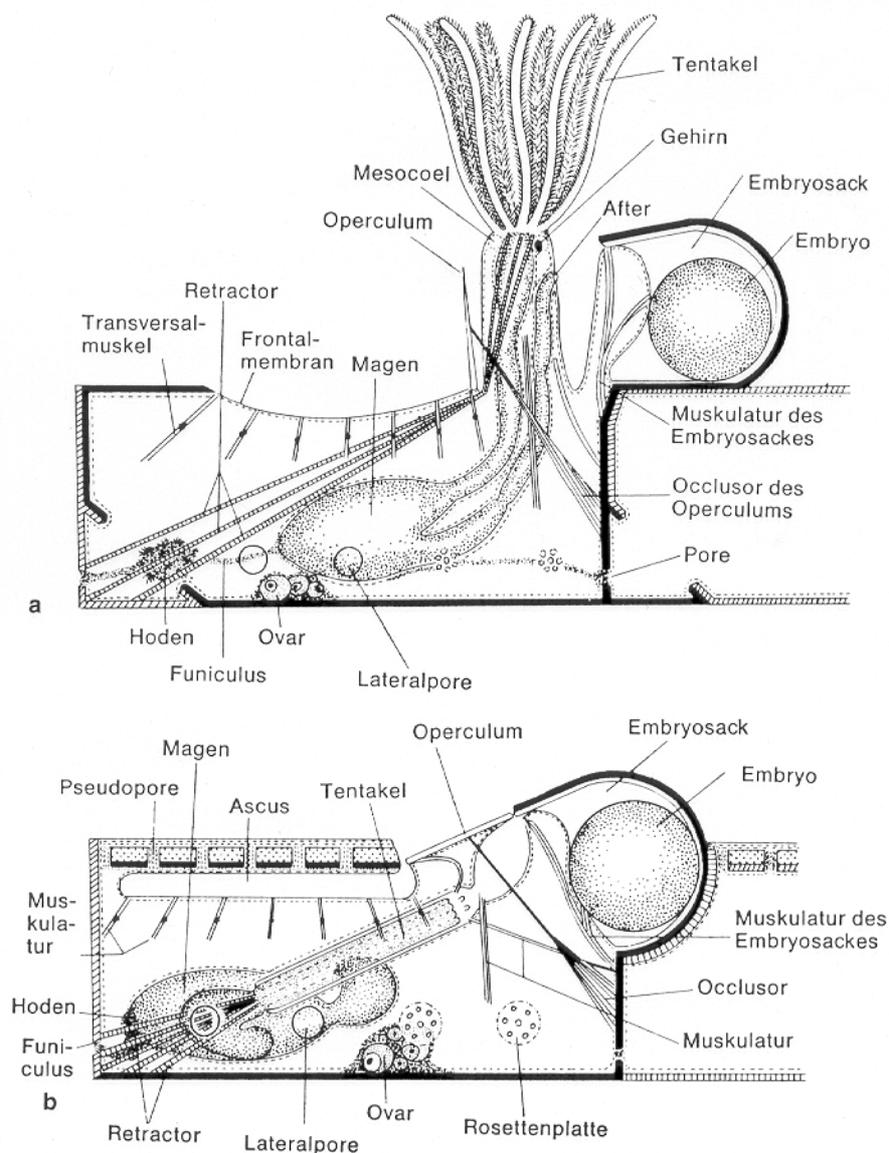


Abbildung 2. Bauplan eines Einzeltieres der Cheilostomata. **a.** Form ohne Ascus (Anasca), **b.** Form mit Ascus (Ascophora). **a.** mit ausgestülptem, **b.** mit zurückgezogenem Polypid.

Aus STORCH und WELSCH^[39]

Das Nervensystem ist sehr einfach und besteht hauptsächlich aus einem Cerebralganglion und verschiedenen motorischen und sensorischen Fasern. Nahrungspartikel werden mit dem Cilienschlag der Tentakel in den Mund gestrudelt und im Magen verdaut und resorbiert. Die Atmung erfolgt durch die Körperwand, bei Formen mit festem Gehäuse durch nichtverkalkte Pseudoporen (Cyclostomata, Cheilostomata) oder durch den Wassersack (Ascus mancher Cheilostomata). Die meisten Bryozoen sind Zwitter und betreiben Brutpflege, wobei der Embryo in einer speziellen Brutkammer heranwächst.

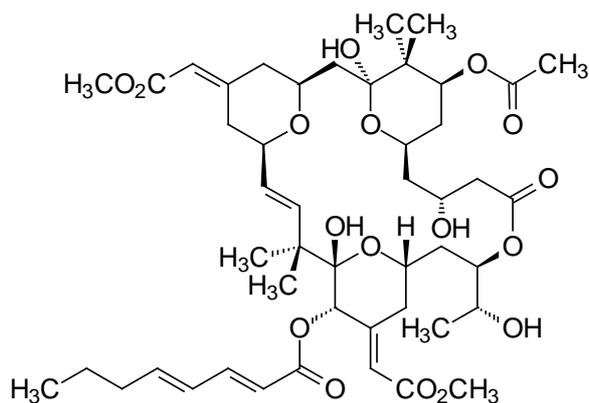
Neben dieser geschlechtlichen Fortpflanzung vermehren sich die Bryozoen auch ungeschlechtlich durch Knospung. Dadurch entstehen oft umfangreiche Kolonien, deren Einzeltiere durch Gewebestränge verbunden bleiben und zum Teil verschieden differenziert sein können. Der überwiegende Anteil der Bryozoen lebt im Meer in der lichtdurchfluteten Zone von 20–80 m. Einige Arten kommen auch in der Tiefsee vor.^[39]

3.3. Naturstoffe aus Bryozoen

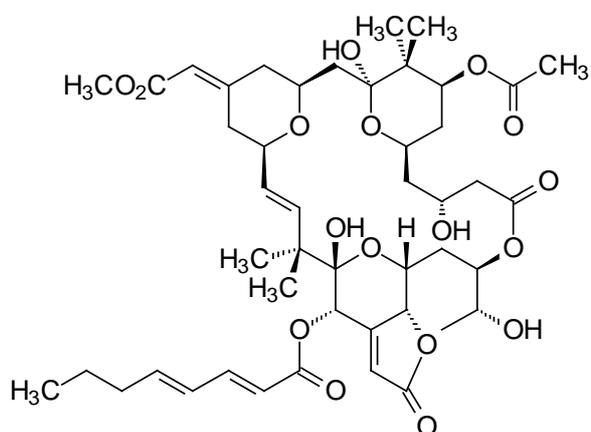
Bis heute sind nur relativ wenige Naturstoffe aus Bryozoen bekannt.^[41-52] Die sessile Lebensweise der Moostierchen läßt aber vermuten, daß die Bryozoen ähnlich den Schwämmen oder Tunikaten eine Quelle biologisch aktiver Naturstoffe sein müßten. Diese Vermutung konnte durch die Entdeckung der Bryostatine aus *Bugula neritina* bestätigt werden.

Aus *Bugula neritina* wurden von PETTIT *et al.* die Bryostatine isoliert, eine Klasse oxygenierter Makrolide mit bedeutenden biologischen Eigenschaften. Die erste Sammlung von *B. neritina* im Golf von Mexiko 1968 führte erst 1982 zur Isolierung von Bryostatin 1 (**18**), das hohe Aktivität gegen murine P388-lymphatische Leukämiezellen besitzt.^[53] Derzeit sind 19 natürliche Bryostatine bekannt,^[54-64] die in unterschiedlichen Konzentrationen in *B. neritina* vorliegen. So enthielt z.B. eine Sammlung von 1000 kg *B. neritina* aus Kalifornien 1.5 g Bryostatin 1, 5.6 mg Bryostatin 8 und 8.6 mg Bryostatin 15. Neben Bryostatin 1 (**18**) sind beispielhaft Bryostatin 3 (**19**) und 16 (**20**) abgebildet.

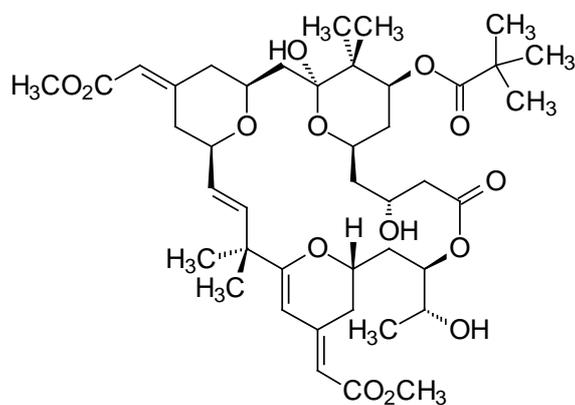
Alle Bryostatine zeigen antineoplastische Aktivität bei nur geringer Toxizität. Bereits in picomolaren Konzentrationen aktivieren sie die Proteinkinase C, wirken auf hämatopoetische Vorläuferzellen und aktivieren T-Zellen. Bryostatin 1 (**18**) befindet sich derzeit in mehr als 40 eigenständigen Prüfungen der klinischen Phase I und II für die Behandlung von Melanom, Myelom, Leukämie, Non-Hodgkin-Lymphom und Tumoren nahezu aller Organe.^[65]



18

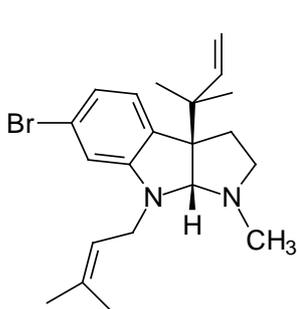


19

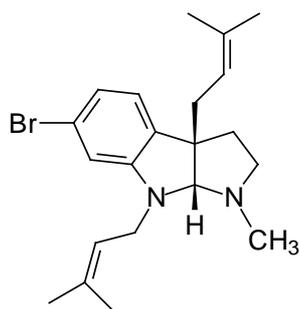


20

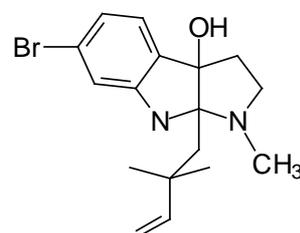
Aus der in Nord- und Ostsee weit verbreiteten Bryozoe *Flustra foliacea* wurden von CHRISTOPHERSEN *et al.* die ersten Naturstoffe dieser Tiergruppe isoliert. *F. foliacea* enthält Bromindolalkaloide mit dem Physostigmin-Skelett, die Flustramine, z.B. Flustramin A (**21**) und B (**22**),^[66,67] Flustraminol A (**23**) und B (**24**)^[68] und Flustramid A (**25**) und B (**26**).^[69,70] Im Verlauf der letzten 20 Jahre wurden beständig weitere Alkaloide isoliert, z.B. Flustrabromin, Flustrarin B und verschiedene Dihydro- und Desbromo-Derivate sowie *N*-Oxide der bekannten Flustra-Alkaloide.^[71-74]



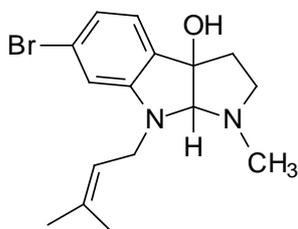
21



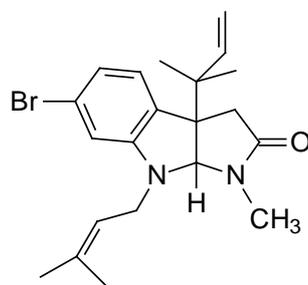
22



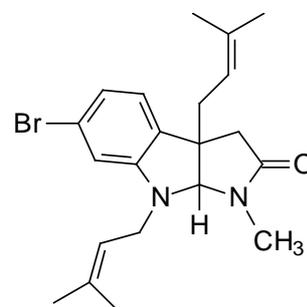
23



24

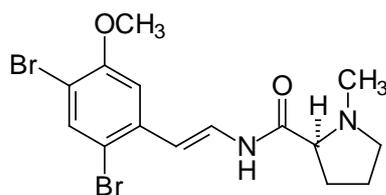


25

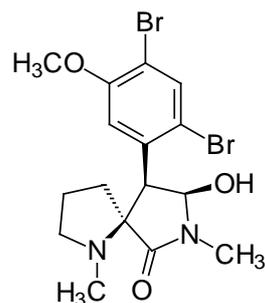


26

BLACKMAN *et al.* isolierten aus der an der Küste von Tasmanien gesammelten Bryozoe *Amathia wilsoni* bromierte, von Prolin abgeleitete Alkaloide, Amathamid A (**27**) und B-F.^[75,76] Vor kurzem wurden in einer Sammlung dieser Bryozoe vor Neuseeland die Amathaspiramide A (**28**) und B-F gefunden.^[77]

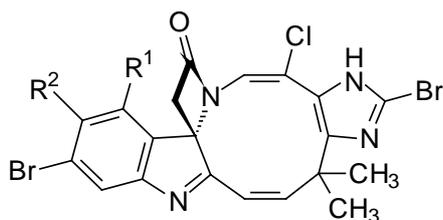


27

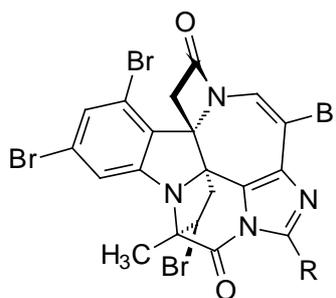


28

In *Chartella papyracea* entdeckten CHRISTOPHERSEN *et al.* ungewöhnliche polyhalogenierte Alkaloide mit einer β -Lactam-Einheit, die Chartelline A (**29a**), B (**29b**) und C (**29c**)^[78,79] sowie die Chartellamide A (**30a**) und B (**30b**).^[80]



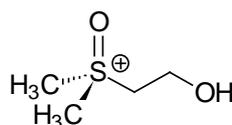
29a $R^1 = R^2 = \text{Br}$
29b $R^1 = \text{Br}, R^2 = \text{H}$
29c $R^1 = \text{H}, R^2 = \text{H}$



30a $R = \text{H}$
30b $R = \text{Br}$

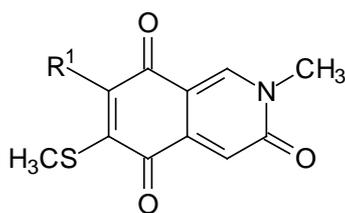
Neben Halogenen findet sich auch Schwefel in Naturstoffen aus Bryozoen.

Als einer der ersten Bryozoen-Naturstoffe wurde das (2-Hydroxyethyl)dimethyl-sulfoxonium Ion (**31**) aus *Alcyonidium gelatinosum* beschrieben.^[81] Es ist verantwortlich für die als „Dogger bank itch“ bezeichnete schmerzhafte Hautentzündung, die als allergische Reaktion vor allem bei Fischern auftritt, in deren Netzen sich die Bryozoen verfangen haben.^[82]



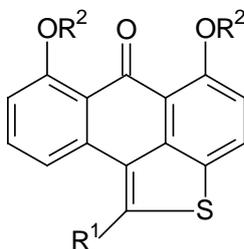
31

Die australischen Bryozoen *Biflustra perfragilis* und *Membranipora perfragilis* enthalten schwefelhaltige Isochinolin-Alkaloide. *M. perfragilis* produziert Perfragilin A (**32a**) und B (**32b**) und *Biflustra perfragilis* Perfragilin B (**32b**) sowie ein weiteres Isochinolin-Alkaloid **32c**. Perfragilin B (**32b**) ist aktiv in einem Salzwasser-Shrimps-Bioassay und wirkt Wachstums-inhibierend auf kultivierte marine Bakterien und toxisch gegen murine P388-Leukämiezellen.^[83,84]



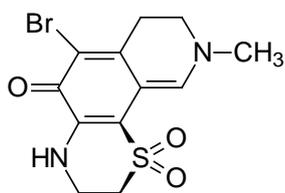
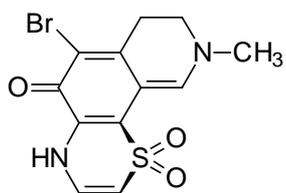
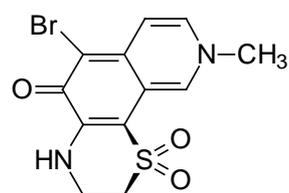
- 32a** R¹ = NH₂
32b R¹ = SCH₃
32c R¹ = H

Im Rahmen eines Screening-Programmes für marine Naturstoffe, welche die Lipidperoxid-Bildung in Rattenleber-Mikrosomen hemmen, wurden drei 6*H*-Anthra[1,9-*bc*]thiophen Derivate (**33a-c**) als aktive Metabolite in der japanischen Art *Dakaira subovoidea* gefunden.^[85]



- 33a** R¹ = CH₂OH, R² = H
33b R¹ = CH₂OAc, R² = Ac
33c R¹ = CO₂CH₃, R² = H

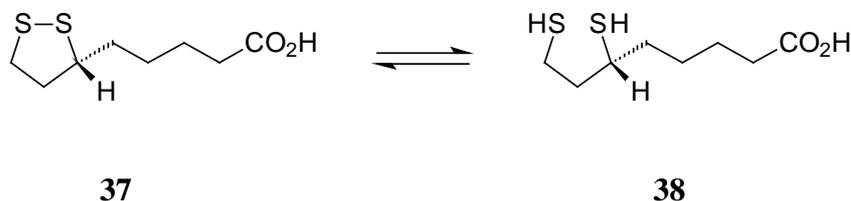
Aus der neuseeländischen Bryozoe *Euthyroides episcopalis* isolierten PRINSEP *et al.* drei Inhaltsstoffe mit einer besonderen heterocyclischen Struktur, Euthyroideon A (**34**), B (**35**) und C (**36**). Es handelt sich um bromierte Quinon-Methide, die eine Sulfongruppe im Ring enthalten.^[86]

**34****35****36**

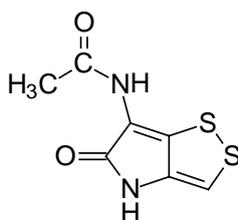
4. Natürliche Disulfide und Sulfate

Disulfide sind in der Natur weit verbreitet. Besonders häufig findet man die Disulfid-Brücken in Proteinen und Peptiden als Querbrücken innerhalb oder zwischen einzelnen Peptidketten. Sie entstehen durch Oxidation zweier Cysteinreste zum Cystin und sind für die Raumstruktur (Tertiärstruktur) der Proteine und Peptide und somit für die Wirksamkeit verantwortlich. Beispiele sind das Insulin, ein Polypeptid mit drei Disulfidbrücken,^[87] und die Conotoxine, über Disulfidbrücken stabilisierte Peptidtoxine aus marinen Kegelschnecken.^[82] Auch in nichtproteinogenen Verbindungen kommen Disulfid-Gruppierungen vor.

Die in Organismen weit verbreitete (*R*)-Liponsäure (**37**) wirkt amidisch gebunden als Coenzym im Pyruvatdehydrogenase- und im 2-Oxoglutaratdehydrogenase-Komplex. Die bei den Enzymreaktionen entstehende (*R*)-Dihydroliponsäure (**38**) wird unter Beteiligung der Dihydroliponamid-Dehydrogenase zu **37** reoxidiert.^[87]

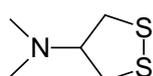
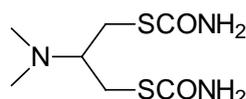


Das Holomycin (**39**), ein 1,2-Dithiolo[4,3-*b*]pyrrol-5(4*H*)-on, aus *Streptomyces griseus* wirkt antibiotisch gegen Gram-positive und -negative Bakterien, Pilze und Protozoen.^[88]

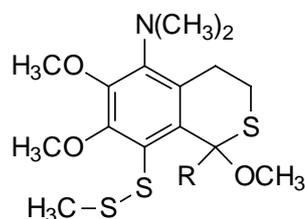


39

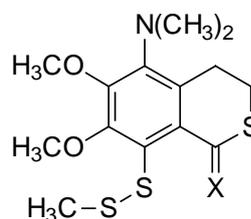
Im marinen Bereich ist das Nereistoxin (**40**) bekannt, ein 1,2-Dithiolan aus dem etwa 40 cm langen Ringelwurm *Lumbriconereis heteropoda*, der Anglern als Köder dient. Nachdem lange bekannt war, daß Insekten bei Kontakt mit dem Wurm getötet werden, konnte 1962 **40** als wirksame Substanz identifiziert werden.^[89] Wegen dieser insektiziden Wirkung diente es als Leitstruktur für die Entwicklung von Cartap® (**41**), das in Japan als Insektizid auf Reisfeldern eingesetzt wird.^[90]

**40****41**

Aus der philippinischen Tunikate *Polycarpa aurata* isolierten LINDQUIST und FENICAL die Schwefel-haltigen Polycarpamine A-E. Polycarpamin A (**42**), B (**43**), C (**44**) und D (**45**) enthalten eine Disulfid-Gruppierung. **43** ist fungizid gegen *Saccharomyces cerevisiae* und *Candida albicans*.^[91]



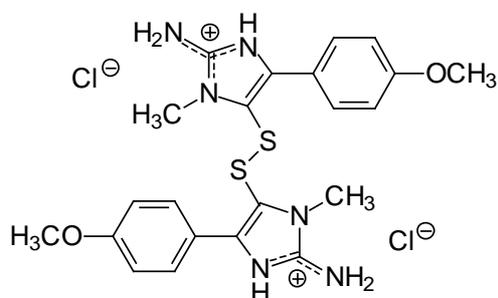
42 R = H
45 R = COCH₃



43 X = O
44 X = S

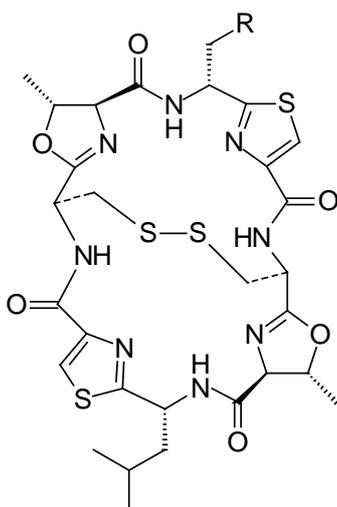
Die Struktur des symmetrischen dimeren Disulfid-Alkaloids Polycarpin-Dihydrochlorid (**46**) aus einer verwandten Art, *Polycarpa clavata* aus Australien, konnte in derselben Arbeitsgruppe aufgeklärt werden. Unter milden chromatographischen Bedingungen wird Polycarpin als Hydrochlorid, bei der Chromatographie an Kieselgel dagegen als freie Base erhalten. Polycarpin-Dihydrochlorid (**46**) ist zytotoxisch gegenüber der humanen Colon-Tumor-Zelllinie HCT-116.^[92]

Nur kurze Zeit später berichteten SCHMITZ *et al.* von der Isolierung derselben Verbindung aus *Polycarpa aurata* von Chuuk, Mikronesien. Sie konnten zeigen, daß Polycarpin das Enzym Inosinmonophosphat-Dehydrogenase inhibiert.^[93]



46

In der Tunikate *Lissoclinum patella* aus Palau bzw. Pohnpei wurden die Cyclopeptide Ulithiacyclamide A (**47a**) und B (**47b**) entdeckt, die als charakteristische Strukturelemente Thiazol- und Oxazolin-Aminosäuren sowie eine Disulfidbrücke enthalten. **47a** und **47b** besitzen cytotoxische Eigenschaften, **47a** hemmt zudem akute Leukämie-T-Zellen.^[94,95]

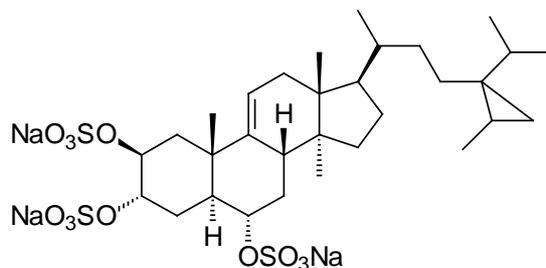


47a R = CH(CH₃)₂

47b R = Ph

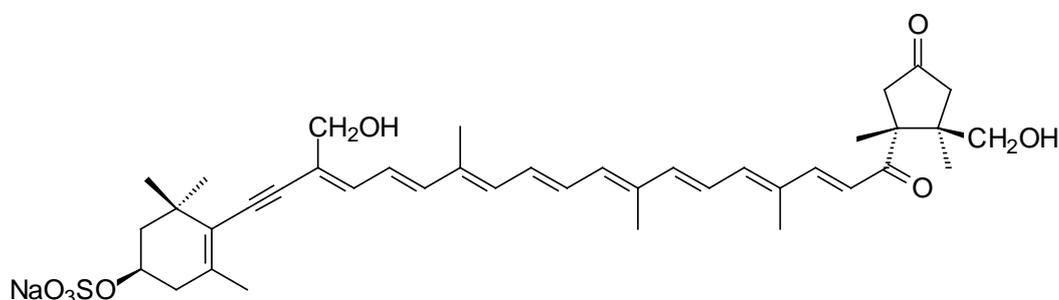
Sulfate als weitere schwefelhaltige Gruppen sind in der Natur ebenfalls häufig und in zahlreichen Verbindungsklassen anzutreffen. So gibt es viele Beispiele sulfathaltiger Steroide oder Carotinoide.

Aus dem Tiefsee-Schwamm *Topsentia* sp. von den Bahamas stammt das Ibisterol-Sulfat (**48**), das protektiv gegen HIV-1 wirkt.^[96]



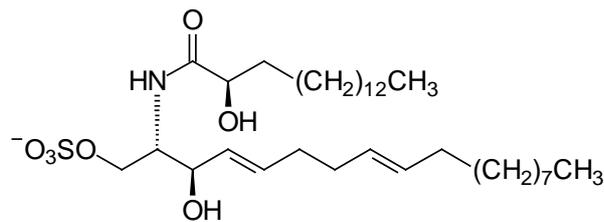
48

Aus dem tropischen Schwamm *Ianthella basta* isolierten LIAAEN-JENSEN *et al.* polare Carotinoid-Sulfate, die Bastaxanthine. Hauptbestandteil ist das Bastaxanthin c (**49**).^[97,98]

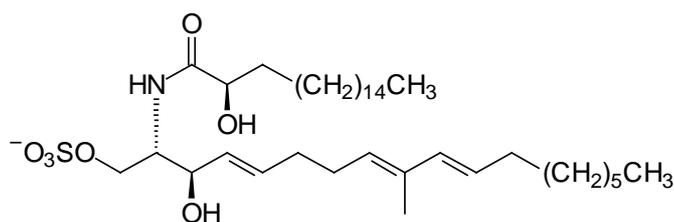


49

Aus Bryozoen sind bisher nur zwei sulfathaltige Naturstoffe bekannt, die Ceramid-1-sulfate **50** und **51** aus der japanischen Art *Watersipora cucullata*.^[99] **50** und **51** sind potente Inhibitoren der humanen DNA Topoisomerase I. Da dieses Enzym an genetischen Prozessen wie Replikation, Transkription und Rekombination beteiligt ist, ist es Ziel einiger neuer Medikamente der Krebsbekämpfung (Zytostatika), z.B. der Camptothecin-Derivate Topotecan und Irinotecan.^[25,99,100]



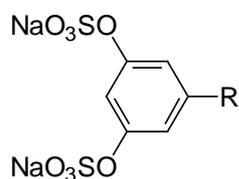
50



51

Im Folgenden sollen aus der Fülle von Sulfaten einige Beispiele herausgegriffen werden, die eine strukturelle Ähnlichkeit mit den neuen Bryozoen-Naturstoffen, Pentaporin A (**86**), B (**87**) und C (**88**) besitzen, die in dieser Arbeit beschrieben werden.

Aus dem Kulturüberstand von *Streptomyces* sp. OH-5186 konnten mehrere 5-Alkylresorcin-1,3-bis-natriumsulfate und 5-Alkylresorcin-1-natriumsulfate isoliert werden, die Panosialine A-D (**52a-d**) und wA-wD (**53a-d**). Die Panosialine inhibieren einige Glykosidasen, die virale Sialidase, die saure Phosphatase und die Polygalakturonase. **52a** zeigt zudem inhibitorische Aktivität gegen die HIV Protease.^[101-103]

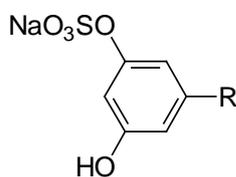


52a R = (CH₂)₁₂-CH(CH₃)₂

52b R = (CH₂)₁₄-CH₃

52c R = (CH₂)₁₃-CH(CH₃)₂

52d R = (CH₂)₁₂-CH(CH₃)CH₂CH₃



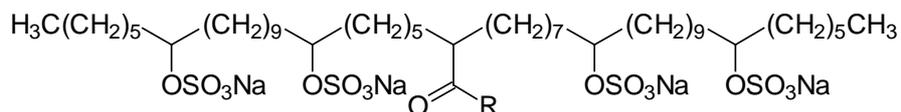
53a R = (CH₂)₁₂-CH(CH₃)₂

53b R = (CH₂)₁₄-CH₃

53c R = (CH₂)₁₃-CH(CH₃)₂

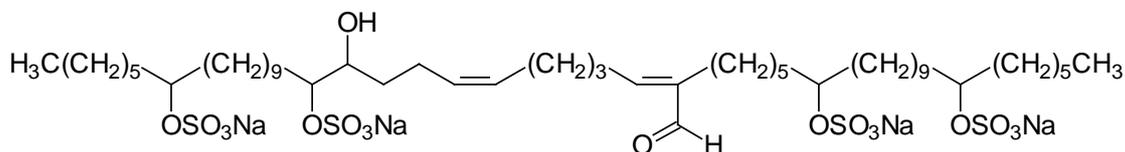
53d R = (CH₂)₁₂-CH(CH₃)CH₂CH₃

Als Inhaltsstoffe des marinen Schwammes *Toxadocia cylindrica* beschreiben FUSETANI *et al.* die aliphatischen Tetrasulfate Toxadocial A (**54**), B (**55**), C (**56**) und die Toxadociasäure A (**57**). Die Thrombin-inhibierende Wirkung der Verbindungen führen die Autoren auf die Sulfatgruppen zurück.^[104,105]

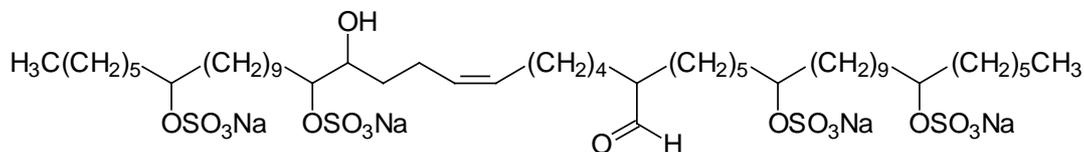


54 R = H

57 R = OH

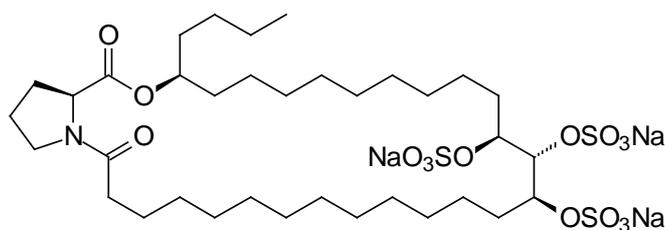


55



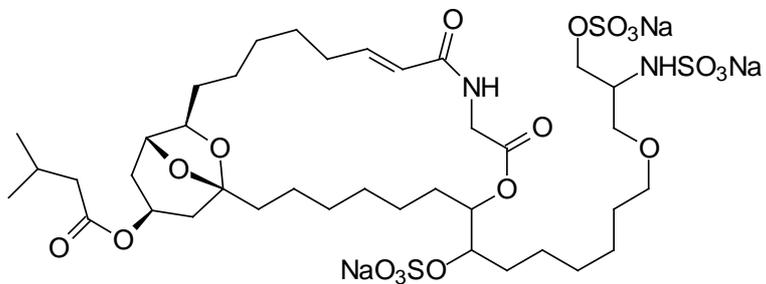
56

FUSETANI *et al.* isolierten aus dem Schwamm *Penares* sp. die Penarolid-Sulfate A₁ (**58**) und A₂. Diese 30- (Penarolid-Sulfat A₁) bzw. 31- (Penarolid-Sulfat A₂) gliedrigen Makrolide mit einem Prolin-Rest und drei Sulfat-Gruppen inhibieren das Enzym α -Glucosidase.^[106]



58

FAULKNER *et al.* fanden in der Tunikate *Didemnum guttatum* aus Palau ein sulfatiertes Serinolipid, das Cyclodidemniserinol-Trisulfat (**59**), das die HIV-1 Integrase inhibiert.^[107]



59

III. SPEZIELLER TEIL

5. *Physarum polycephalum*

5.1. Taxonomie und Beschreibung

Die Erstbeschreibung von *Physarum polycephalum* Schw. stammt von SCHWEINITZ aus dem Jahr 1822.^[108] Nach der heutigen taxonomischen Einteilung der Myxomyceten gehört *P. polycephalum* zu der Unterklasse Myxogasteromycetidae, der Ordnung Physarales und der Familie Physaraceae (Schema 3).^[109,110]

Klasse: MYXOMYCETES

1. Unterklasse: CERATIOMYXOMYCETIDAE
2. Unterklasse: **MYXOGASTEROMYCETIDAE**
 1. Ordnung: LICERALES
 2. Ordnung: ECHINOSTELIALES
 3. Ordnung: TRICHIALES
 4. Ordnung: **PHYSARALES**
 1. Familie: DIDYMIACEAE
 2. Familie: ELAEOMYCEAE
 3. Familie: **PHYSARACEAE**

Gattung: *Protophysarum*

Willkommlangea

Leocarpus

Physarella

Badhamia

Fuligo

Erionema

Craterium

Physarum (P. polycephalum)

3. Unterklasse: STEMONITOMYCETIDAE

Schema 3. Taxonomische Stellung von *Physarum polycephalum* nach MARTIN *et al.*^[110]

Physarum ist die artenreichste Gattung der Myxomyceten, derzeit sind 135 Vertreter bekannt, die eine große Variabilität in Farbe, Kalkvorkommen und Art der Fruchtkörperbildung zeigen. *P. polycephalum* bildet ein auffälliges gelbes Phaneroplasmodium (Abbildung 3), die Fruchtkörper sind gelblich, grau bis weißlich mit gelbem Stiel (Abbildung 4). In Europa kommt *P. polycephalum* in Rumänien, Frankreich, Spanien und Italien vor, zudem ist die Art in Nord-, Mittel und Südamerika, in Südostasien, Japan, China und Nepal verbreitet.^[109]

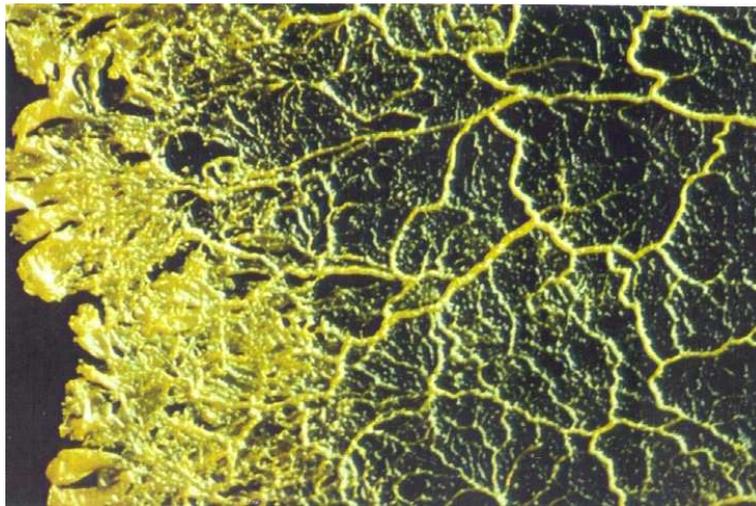


Abbildung 3. Makroplasmodium von *Physarum polycephalum*

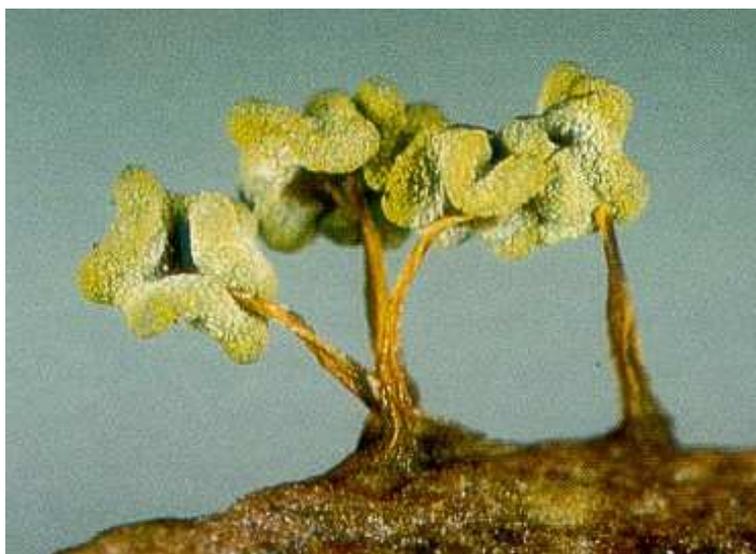


Abbildung 4. Fruchtkörper von *Physarum polycephalum* aus NEUBERT *et al.*^[109]

Da die Plasmodien von *P. polycephalum* unter Laborbedingungen ausgezeichnet kultivierbar sind, sind sie bevorzugtes Objekt cytologischer Untersuchungen. In flüssigem Nährmedium bilden sich unregelmäßig geformte Mikroplasmodien mit einem Durchmesser von 50 bis 500 µm. Auf feuchtem Untergrund mit Haferflocken können die Mikroplasmodien zu Makroplasmodien von bis zu mehreren Quadratmetern auswachsen.

5.2. Bisherige Untersuchungen zu *Physarum polycephalum*

Eine Vielzahl an zellbiologischen, zellphysiologischen und genetischen Untersuchungen zu *Physarum polycephalum* betreffen Vorgänge des Zellzyklus^[111-113] und der Differenzierung^[114,115] und beschäftigen sich mit Cytoskelett und Bewegung^[116,117] sowie mit Genom^[118-120] und Proteom^[121,122]. Ein besonderes Gewicht liegt auf der Erforschung der Wirkung von „Blaulich“ auf den Stoffwechsel und das Verhalten von *P. polycephalum*.

5.2.1. Blaulichreaktionen und Blaulichrezeptor

Für den Lebenszyklus von *P. polycephalum* hat Licht eine sehr große Bedeutung. Es steuert und beeinflusst positive bzw. negative Phototaxis und die Auslösung der Fruchtkörperbildung (Sporulation). Während junge Plasmodien negative Phototaxis zeigen, sich also vom Licht abwenden, verhält es sich bei älteren, sporulierenden Plasmodien genau entgegengesetzt.

Es wurde nachgewiesen, daß es nach Belichtung mit UV- oder blauem Licht über eine Signaltransduktion, an der Calcium-Ionen sowie cAMP und cGMP als intrazelluläre Messenger beteiligt sind, zu einer vermehrten Plasmaströmung und somit zu einer aktiven Bewegung des Plasmodiums kommt.^[123-125] Die Belichtung mit blauem Licht fördert außerdem die Sporulation.^[126]

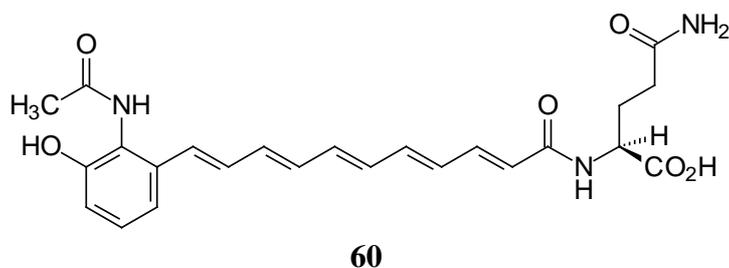
Die Struktur des Photorezeptors und seines Antennenpigmentes sind aber nach wie vor unbekannt. Als Antennenpigmente werden verschiedene Verbindungen diskutiert, z.B. Phytochrome, Flavone, Riboflavin, Pteridine, Peptide, phenolische Verbindungen oder stickstoffhaltige Polyene.^[127,128]

5.2.2. Bisher isolierte Naturstoffe

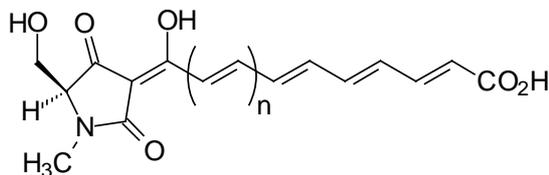
Solche Polyene, die als Bestandteile eines Photorezeptors diskutiert werden (Kapitel III, 5.2.1.), konnten aus *Physarum polycephalum* bereits isoliert werden. Es handelt sich dabei um die gelben bis roten Polyen-Plasmodienfarbstoffe Physarochrom A (**60**), Physarorubinsäure A (**61a**) und B (**61b**) und Polycephalin B (**62a**) und C (**62b**).

STEGLICH *et al.* beschrieben als erstes Polyen Physarochrom A (**60**), bei dem die Aminosäure L-Glutamin über ein Polyensystem mit *N*-Acetyl-3-hydroxyanthranilsäure verknüpft ist.^[129]

Für **60** wurde im gleichen Arbeitskreis auch eine Totalsynthese entwickelt.^[18,130]

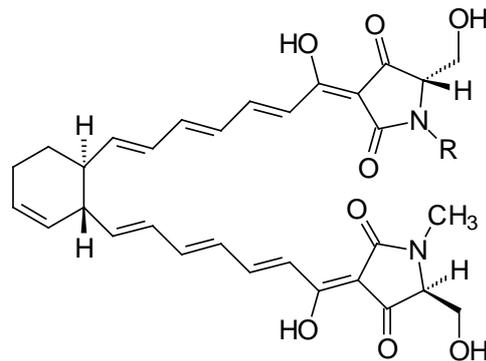


Im Arbeitskreis STEFFAN konnten mehrere strukturell interessante Polyenoiltetramsäuren isoliert und in ihrer Struktur aufgeklärt werden, die Physarorubinsäuren A (**61a**) und B (**61b**)^[131,132] sowie die Polycephaline B (**62a**) und C (**62b**).^[132] Kürzlich wurde für **61a** und **61b** eine Totalsynthese in ¹³C-markierter Form ausgearbeitet.^[133]



61a n = 2

61b n = 1



62a R = H
62b R = CH₃

NOWAK^[134] konnte durch einen HPLC-Vergleich nachweisen, daß diese Plasmodienfarbstoffe sowohl im gelben Wildtyp als auch in einer weißen Mutante von *Physarum polycephalum* vorliegen, in letzterer allerdings in deutlich geringerer Konzentration.

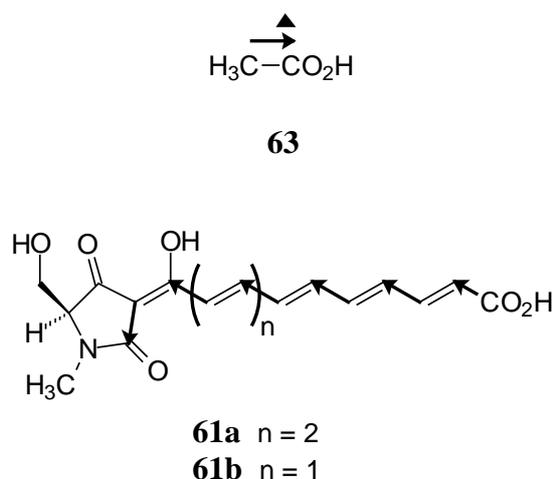
Nach Belichtung einer zunächst im Dunkeln gewachsenen Kultur konnte eine größere Menge an Polycephalin B (**62a**) und C (**62b**) isoliert werden als aus einer Kultur, die nur unter Lichtausschluß gewachsen war. Licht scheint also die Biosynthese von **62a** und **62b** zu verstärken. Bei der Bestrahlung von **62b** mit weißem oder blauem Licht (375-425 nm) konnte eine neue Verbindung gleicher Masse erhalten werden.^[135] Die Struktur ist noch unbekannt, aber sie könnte durch Isomerisierung, vielleicht eine *cis-trans*-Isomerisierung, wie sie in der Natur oft als Auslöser der Signaltransduktion vorkommt (z.B. bei Phytochrom oder Retinal), aus **62b** hervorgehen.

Polycephalin C (**62b**) könnte daher als Antennenpigment eines Blaulichtrezeptors von *Physarum polycephalum* in Frage kommen. Da die Frage nach dem tatsächlichen Photorezeptorpigment von *P. polycephalum* noch nicht abschließend geklärt ist, sollen weitere mögliche Verbindungen isoliert und untersucht werden.

5.2.3. Biosynthese der bekannten Plasmodienfarbstoffe

Zur Untersuchung der Biosynthese von **61a**, **61b**, **62a** und **62b** setzte NOWAK^[134] den kultivierten Mikroplasmodien in mehreren Ansätzen ¹³C-markiertes Acetat als mögliches Biosynthese-Vorläufer-Molekül zu. Nach der Zugabe von [1-¹³C]-, [2-¹³C]-, [¹³C₂]- bzw. [¹³C₂-d₃]-Natriumacetat und Durchlaufen von mehreren Kultivierungszyklen wurden die Plasmodien wie im Kapitel III, 6.1 beschrieben aufgearbeitet und die isolierten Polyenverbindungen NMR-spektroskopisch untersucht.

Dabei konnte das in den Schemata 4 und 5 dargestellte Einbaumuster von Acetat erhalten werden. Die Essigsäureeinheiten (**63**) werden durch Pfeile von der Methylgruppe zur Carboxylgruppe (Pfeilspitze) dargestellt. Mit einem Dreieck werden einzelne aus Carboxylgruppen stammende Kohlenstoffatome gekennzeichnet.

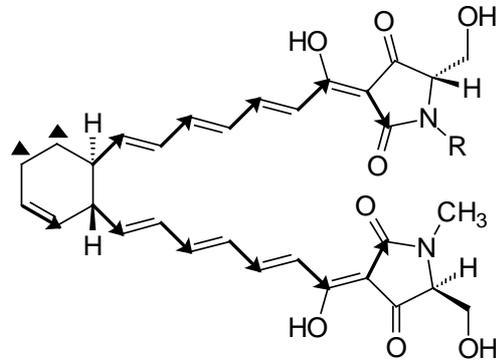


Schema 4. Acetateinbau in Physarorubinsäure A (**61a**) und B (**61b**)

In Physarorubinsäure A (**61a**) werden sieben Acetateinheiten eingebaut, in Physarorubinsäure B (**61b**) ein Acetatbaustein weniger. Die Säurefunktion ist in beiden Verbindungen auf eine Methylgruppe zurückzuführen und muß also durch spätere Oxidation entstanden sein.

Für die Tetramsäureeinheit wird Serin als Biosynthese-Vorläufer postuliert. Die Verfütterung von ¹³C-markiertem Serin führte zwar zu keinem nachgewiesenen Einbau, aber aus anderen

Untersuchungen ist bekannt, daß Tetransäuren biosynthetisch aus Aminosäuren aufgebaut werden.^[136,137]



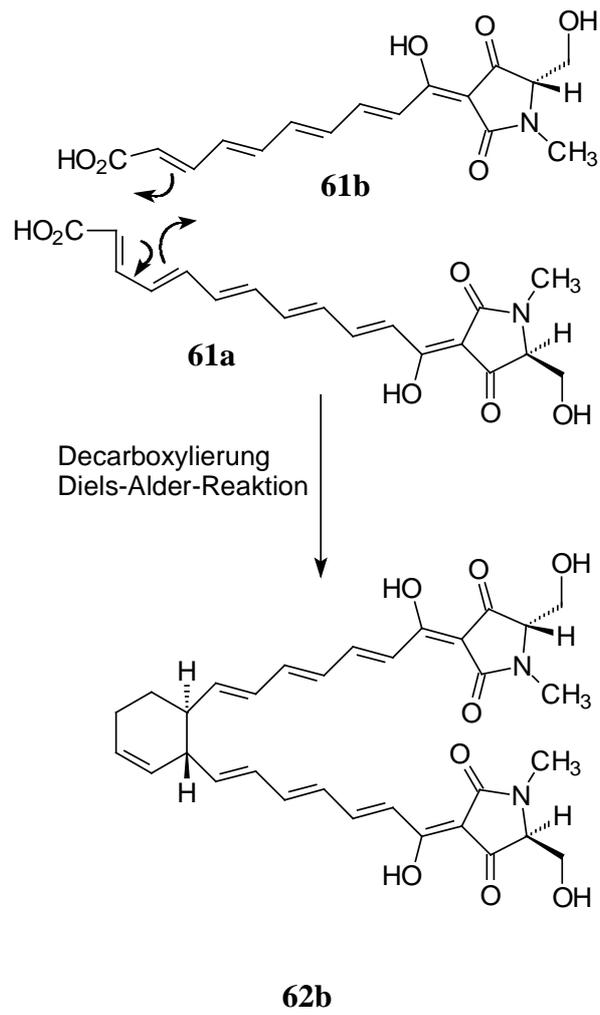
62a R = H
62b R = CH₃

Schema 5. Acetateinbau in Polycephalin B (**62a**) und C (**62b**)^[134]

Das beobachtete Einbaumuster der Polycephaline B (**62a**) und C (**62b**), vor allem die Markierung im Cyclohexen-Ring, kann nicht durch einen Biosyntheseweg über zwei Moleküle **61a** oder über eine einheitliche Polyketidkette erklärt werden. Möglich wäre eine Biosynthese, an der je ein Molekül **61a** und **61b** beteiligt sind (Schema 6). Der Cyclohexen-Ring bildete sich dabei über eine Diels-Alder-Reaktion zusammen mit einer Decarboxylierung der beiden Kettenenden.

Solche Diels-Alder-Reaktionen in der Natur werden immer wieder postuliert, z.B. bei der Biosynthese der Solanapyrone^[138-140] oder von Lovastatin.^[141,142] Bisher ist es allerdings noch nicht gelungen, eine dafür notwendige „Diels-Alderase“ eindeutig zu identifizieren.

Für Physarochrom A (**60**) gab es bislang noch keine Biosyntheseuntersuchungen.



Schema 6. Vorschlag zur Biosynthese von Polycephalin C (**62b**)^[134]

5.3. Ziel der vorliegenden Untersuchungen

Bereits während früherer chromatographischer Untersuchungen der Plasmodienfarbstoffe von *Physarum polycephalum* war eine weitere Polyen-Verbindung mit interessanten Signalen im NMR-Spektrum und mit einer leuchtend grünblauen Fluoreszenz bei der DC-Analytik aufgefallen. Bislang war es noch nicht gelungen, nähere Aussagen über diese Verbindung zu machen. Da es sich um einen Polyen-Plasmodienfarbstoff handelt, könnte dieser auch als Photorezeptorpigment in Frage kommen.

Ziel dieses Teils der vorliegenden Arbeit ist es, den neuen Plasmodienfarbstoff zu isolieren und in seiner Struktur aufzuklären. Zudem sollen durch Verfütterungsexperimente die Biosynthesebausteine der neuen Verbindung sowie von Physarochrom A (**60**) ermittelt werden.

6. Chrysophysarin A (64) aus *Physarum polycephalum*

6.1. Isolierung von Plasmodienfarbstoffen

6.1.1. Kultivierung von Mikroplasmodien

Für die Isolierung der Plasmodienfarbstoffe wurde ein gelber Wildtyp-Stamm von *Physarum polycephalum* in Suspensionskultur gehalten. Die Kultivierung erfolgte unter axenischen Bedingungen entsprechend der in unserem Arbeitskreis etablierten Methode^[134] nach DANIEL und BALDWIN.^[143] Die Ausbeute an Zellmasse (Biofeuchtmasse) betrug durchschnittlich 180 g/l Kulturflüssigkeit.

6.1.2. Isolierung und Analytik

6.1.2.1. Extraktion und Chromatographie

Aufgrund der erheblichen Lichtempfindlichkeit der Plasmodienfarbstoffe von *Physarum polycephalum* wurden alle Schritte der Extraktion und Chromatographie unter Lichtausschluß durchgeführt.

Die Extraktion der Biofeuchtmasse erfolgte mit einem Gemisch aus Aceton, Methanol, Chloroform und Ethylacetat. Aus dem erhaltenen ölig braunen Rohextrakt wurden lipide Bestandteile durch Verteilung zwischen Methanol/Wasser und *n*-Hexan entfernt. Für eine weitere Vortrennung wurde die wäßrige Phase mit Chloroform und anschließend mit Ethylacetat extrahiert.

Durch Chromatographie an Sephadex LH-20 mit Methanol als Eluenten konnten die beiden organischen Phasen (Chloroform- und Ethylacetat-Phase) aufgetrennt werden. Die Trennleistung wurde durch Kühlung der Säule während der Chromatographie auf 0 bis +4°C deutlich erhöht.

Für die Isolierung des neuen Plasmodienfarbstoffs Chrysophysarin A (**64**) war eine Nachreinigung durch Rechromatographie an Sephadex LH-20 mit Methanol nötig.

Chrysophysarin A (**64**) wurde ausschließlich aus der Chloroform-Phase isoliert, Physarochrom A (**60**) im Rahmen der Biosyntheseuntersuchungen aus der Ethylacetat-Phase.

6.1.2.2. DC- und HPLC-Analytik

Die bei der Chromatographie an Sephadex LH-20 erhaltenen Fraktionen wurden mit dem Laufmittelsystem Benzol/Ethylformiat/Ameisensäure 10:5:3 mittels Kieselgel-Dünnschichtchromatographie aufgetrennt und detektiert. Chrysophysarin A (**64**) zeigt eine auffallend leuchtend grünblaue Fluoreszenz bei 366 nm. Auf diese Weise konnten die Fraktionen für eine Feintrennung leicht zusammengefaßt werden.

Die Polyen-Verbindungen aus *Physarum polycephalum* eignen sich zum Großteil nicht für eine Trennung und Reinigung durch präparative HPLC. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß die Verbindungen in Anwesenheit von Trifluoressigsäure (TFA), die in einer Konzentration von 0.1% den HPLC-Eluenten zugesetzt ist, nicht stabil sind. Auch Chrysophysarin A (**64**) wird während der präparativen HPLC-Trennung zerstört, so daß nur die Aufnahme analytischer HPLC-Chromatogramme möglich ist.

Besonders saubere und gut aufgelöste NMR-Spektren können durch die HPLC-NMR-Kopplung (Fa. Bruker) erhalten werden. Als Detektor dient dabei eine Durchflußzelle in einem speziellem NMR-Meßkopf. Ein Nachteil dabei ist das große Lösungsmittelsignal von Acetonitril, das aber in gewissem Ausmaß durch eine spezielle NMR-Meßtechnik unterdrückt werden kann (Abbildung 6 und 7).

6.2. Struktur von Chrysophysarin A (64)

6.2.1. Strukturaufklärung

Der neue Plasmodienfarbstoff, der als amorpher Feststoff erhalten wird, erhält aufgrund seiner goldgelben Farbe (griech. χρυσός = Gold) den Namen Chrysophysarin A (**64**).^[144,145]

Das hochaufgelöste ESI-Massenspektrum zeigt das Molekülion bei $m/z = 356.23$ $[M]^+$. Dieser Peak korrespondiert mit der Summenformel $C_{21}H_{30}N_3O_2$.

Im UV/VIS-Spektrum finden sich Absorptionsmaxima bei 263 und 341, 355 und 373 nm (Abbildung 5). Die Maxima bei 341, 355 und 373 nm weisen auf ein Polyensystem hin.

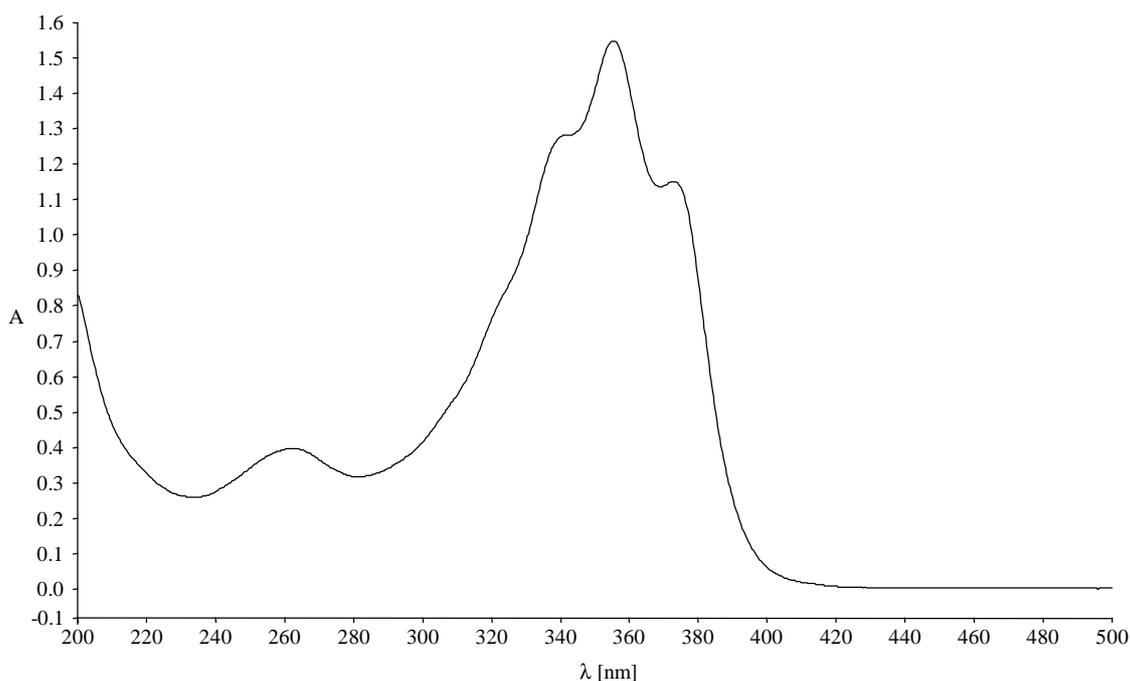


Abbildung 5. UV/VIS-Spektrum von Chrysophysarin A (**64**)

Das IR-Spektrum von **64** enthält eine starke, breite Bande bei 3401 cm^{-1} , die auf eine NH-Valenzschwingung hinweist sowie zwei weitere Banden bei 2923 und 2852 cm^{-1} als Alkyl- und N-Methylbanden (CH-Valenzschwingung). Bei der verbreiterten Bande bei 1620 cm^{-1} dürfte es sich um mehrere überlagerte Banden handeln. Die Lage spricht für ein Polyensystem

(C=C-Absorption), ein Säureamid (C=O-Absorption) und ein konjugiertes cyclisches Imin (C=N-Absorption). Eine weitere Bande bei 1712 cm^{-1} läßt sich auf ein Keton zurückführen.

Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **64** (Abbildung 6 und Tabelle 1; die angegebenen Verschiebungswerte beziehen sich auf die Messung in $[\text{D}_4]\text{Methanol/CDCl}_3$) zeigt die Signale eines Tetraensystems (acht olefinische Protonen im Bereich $\delta = 7.25\text{--}6.16$) mit Kopplungskonstanten von $^3J_{\text{H,H}} = 15.7, 14.3$ und 15.0 Hz , welche für eine *trans*-Anordnung der Doppelbindungen sprechen. Eine Kopplungskonstante für die vierte Doppelbindung zwischen 8-H und 9-H ($\delta = 6.60$) konnte aufgrund des komplexen Aufspaltungsmusters nicht exakt ermittelt werden. Die beiden Protonenwerte bei $\delta = 8.89$ und 7.69 , die als Singulets erscheinen, deuten aufgrund ihrer starken Tieffeldverschiebung auf einen Heteroaromaten hin. Das Signal bei $\delta = 4.55$ spaltet in ein Dublett von Dubletts auf ($^3J_{\text{H,H}} = 4.3$ und 10.3 Hz), drei weitere Signale bei $\delta = 1.71, 1.60$ und 1.53 werden als Multiplett detektiert und zwei Signale bei $\delta = 0.97$ und 0.93 jeweils als Dublett mit einer Kopplungskonstante $^3J_{\text{H,H}} = 6.6\text{ Hz}$. Diese Signalgruppe zwischen $\delta = 4.55$ und 0.93 deutet auf eine Aminosäure hin. Daneben finden sich die Singulets von drei isolierten Methylgruppen. Verschiebungswerte von $\delta = 3.93$ und 3.88 sprechen für *N*-Methyl-Gruppen, das Signal bei $\delta = 2.21$ für ein Methylketon.

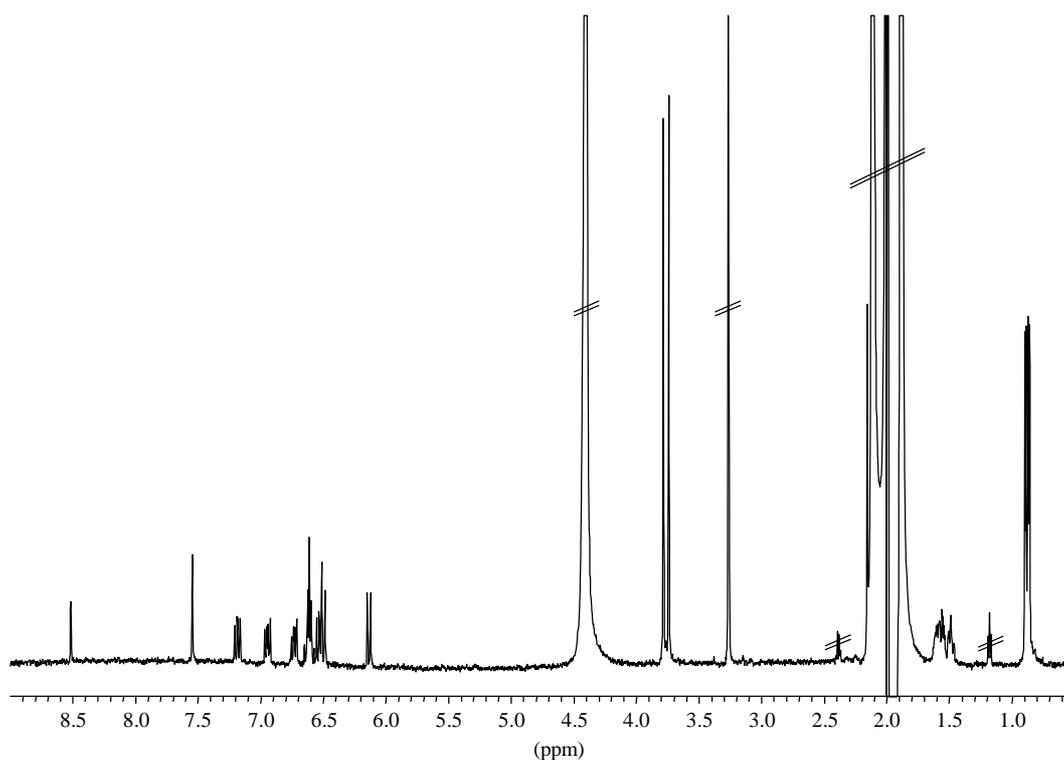


Abbildung 6. $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Chrysophysarin A (**64**) nach HPLC-NMR (600.28 MHz, Acetonitril/ D_2O)

Tabelle 1. NMR-Daten von Chrysophysarin A (**64**) {¹H: 600.28 MHz, ¹³C: 150.9 MHz, [D₄]Methanol/CDCl₃ 1:1 (v/v)}

¹ H	δ _H [ppm]	J _{H,H} [Hz]	¹³ C	δ _C [ppm]
<i>N</i> -1-CH ₃ (3H)	3.88 (s)		<i>N</i> -1-CH ₃	34.05 (Q)
2-H (1H)	8.98 (s)		C-2	145.49 (D)
<i>N</i> -3-CH ₃ (3H)	3.93 (s)		<i>N</i> -3-CH ₃	36.44 (Q)
			C-4	134.81 (S)
5-H (1H)	7.69 (s)		C-5	119.82 (D)
6-H (1H)	6.47 (d)	15.7	C-6	114.72 (D)
7-H (1H)	6.98 (dd)	9.9, 15.7	C-7	136.42 (D)
8-H (1H)	6.60 (m)		C-8	134.82 (D)
9-H (1H)	6.60 (m)		C-9	137.20 (D)
10-H (1H)	6.68 (dd)	10.3, 14.3	C-10	139.30 (D)
11-H (1H)	6.52 (dd)	11.2, 14.3	C-11	133.62 (D)
12-H (1H)	7.25 (dd)	11.2, 15.0	C-12	141.30 (D)
13-H (1H)	6.16 (d)	15.0	C-13	124.89 (D)
			C-14	167.85 (S)
15-H (1H)	4.55 (dd)	4.3, 10.3	C-15	58.45 (D)
16-H (2H)	1.53 (m)		C-16	39.73 (T)
	1.60 (m)			
17-H (1H)	1.71 (m)		C-17	25.59 (D)
18-H (3H)	0.97 (d)	6.6	C-18	21.66 (Q)
19-H (3H)	0.93 (d)	6.6	C-19	23.40 (Q)
			C-20	209.52 (S)
21-H (3H)	2.21 (s)		C-21	26.86 (Q)

Im ¹³C-NMR-Spektrum sind 21 Kohlenstoffsignale vorhanden, die über das DEPT(135)-NMR-Spektrum als drei quartäre Kohlenstoffatome, zehn olefinische bzw. heteroaromatische CH-, im aliphatischen Bereich als zwei CH-, eine CH₂- und drei CH₃- sowie zwei *N*-Methyl-Gruppen näher charakterisiert werden können.

Das ¹H-¹H-COSY-Spektrum (Abbildung 7) zeigt zwei unabhängige Spinsysteme: das Tetraensystem sowie die Signalgruppe zwischen δ = 4.55 und 0.93. Die Signallagen im ¹H- und ¹³C-NMR-Spektrum, das Kopplungsmuster, die Verknüpfung der Atome im COSY-Spektrum sowie ein Vergleich mit den NMR-Daten verschiedener Aminosäuren^[146] läßt schließen, daß es sich bei letzterer Signalgruppe um einen Leucinrest handelt.

Aus den HMBC-Korrelationen ergibt sich eine Verknüpfung der Polyenkette über eine Säureamid-Einheit mit dem Leucinrest, dessen Carboxylgruppe zum Acetylrest modifiziert ist.

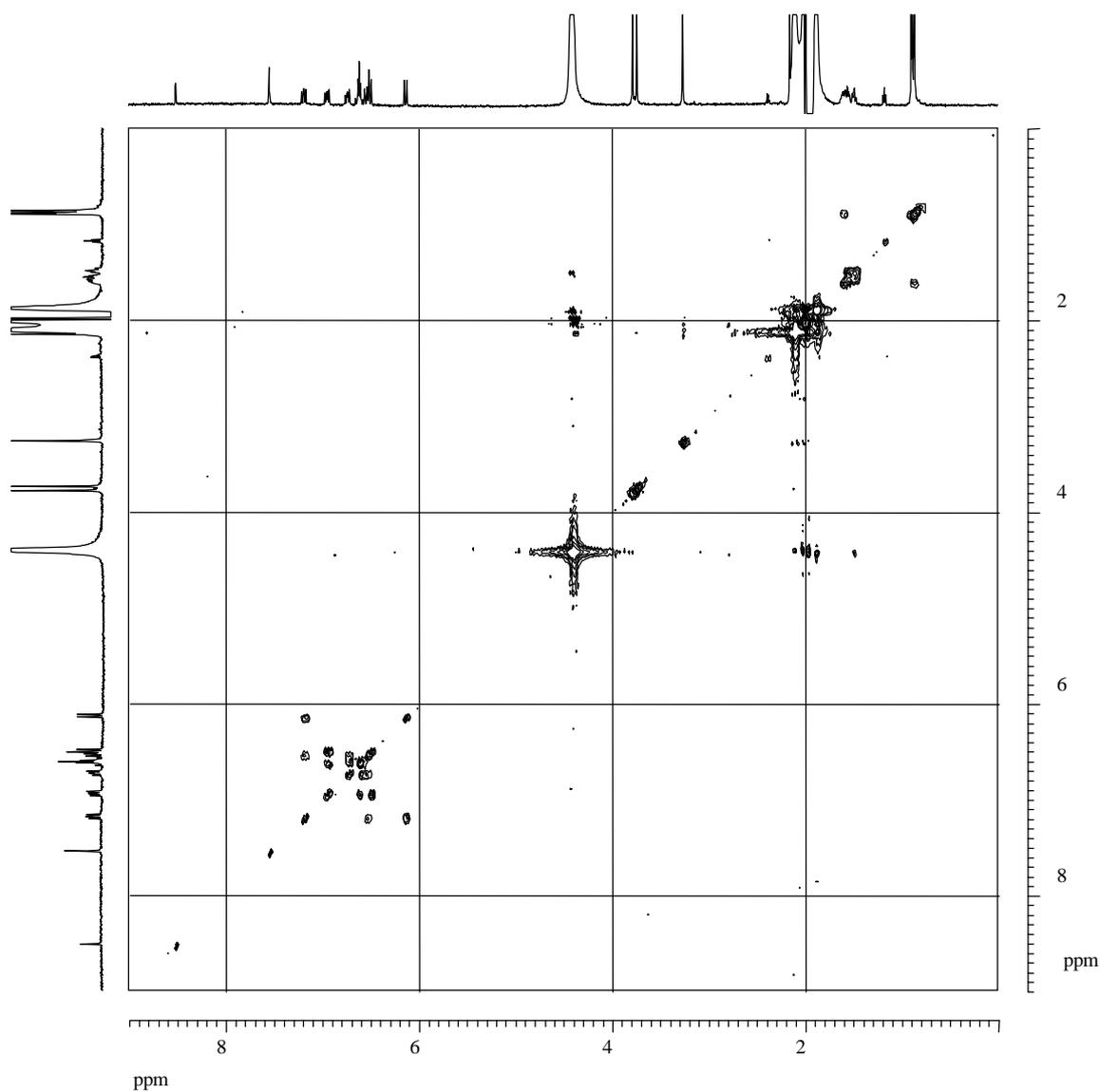


Abbildung 7. ^1H - ^1H -COSY-Spektrum von Chrysophysarin A (**64**) nach HPLC-NMR (600.28 MHz, Acetonitril/ D_2O)

Somit kann für Chrysophysarin A (**64**) folgende Partialstruktur abgeleitet werden (Abbildung 8):

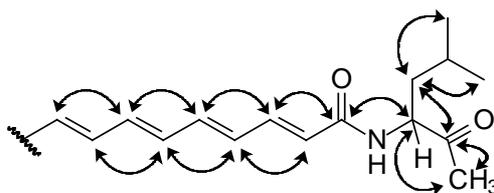
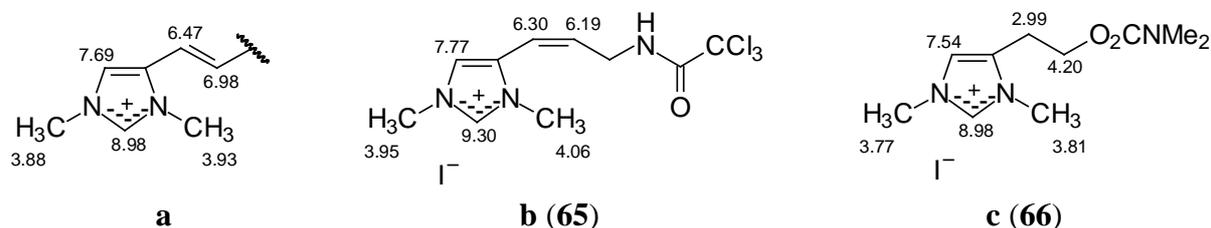


Abbildung 8. Partialstruktur von Chrysophysarin A (**64**) mit wichtigen *long-range*-Kopplungen

Die heteroaromatischen Protonen- und Kohlenstoffsignale können aufgrund ihrer Verschiebung und ihrer charakteristischen $^1J_{C,H}$ -Kopplungskonstanten von 215 und 195 Hz einem Imidazol-Ring zugeordnet werden. Kopplungen im HMBC-Spektrum zeigen, daß dieser Ring zweifach *N*-methyliert vorliegt.

Diese Substruktur wird durch den Vergleich der NMR-Daten von Chrysophysarin A (**64**) mit literaturbekannten Daten von Synthesezwischenstufen mit einer ähnlichen 1,3-Dimethyl-4-alkenyl (bzw. alkyl) imidazolium-Einheit bestätigt. Bei der Synthese von Keramadin, einem Pyrrol-Imidazol-Alkaloid aus dem marinen Schwamm *Agelas* sp. entsteht als Nebenprodukt 1,3-Dimethyl-4-[3-(2,2,2-trichloracetamido)prop-1-enyl]-1*H*-imidazoliumiodid (**65**).^[147] Im Rahmen von Synthesen von ω -Carbamoyloxyalkylimidazolium-Salzen für die Evaluierung als Inhibitoren der Acetylcholinesterase wurde auch 1,3-Dimethyl-4-[2-(*N,N*-dimethylcarbamoyloxy)ethyl]-1*H*-imidazoliumiodid (**66**) synthetisiert.^[148] Die 1H - und ^{13}C -NMR-Daten dieser beiden Vergleichsverbindungen stimmen relativ gut mit den Daten von **64** überein (Abbildung 9).

1H -NMR-Daten:



^{13}C -NMR-Daten:

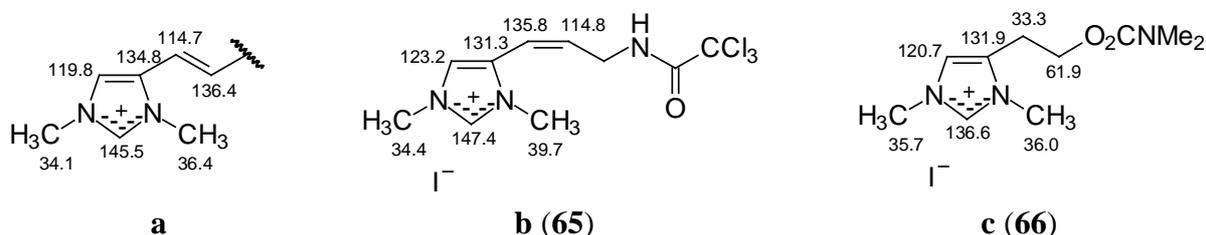
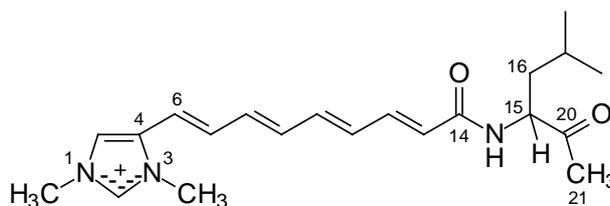


Abbildung 9. 1H - und ^{13}C -NMR-Daten von **a**: Molekülausschnitt von Chrysophysarin A (**64**), **b**: 1,3-Dimethyl-4-[3-(2,2,2-trichloracetamid)prop-1-enyl]-1*H*-imidazolium-iodid (**65**)^[147] und **c**: 1,3-Dimethyl-4-[2-(*N,N*-dimethylcarbamoyloxy)ethyl]-1*H*-imidazoliumiodid (**66**)^[148] (**a**: 600 MHz, $[D_4]$ Methanol/ $CDCl_3$ 1:1 (v/v), **b**: 300 MHz, $CDCl_3$ + 3 Tropfen $[D_4]$ Methanol, **c**: 300 MHz, $[D_6]$ DMSO)

Long-range-Kopplungen im HMBC-Spektrum zeigen eine Verknüpfung zwischen dem zweifach *N*-methylierten Imidazol-Ring und dem Molekülfragment aus Polyenkette und modifiziertem Leucin-Rest.

Aus diesen Daten ergibt sich für Chrysophysarin A die Struktur **64**.



64

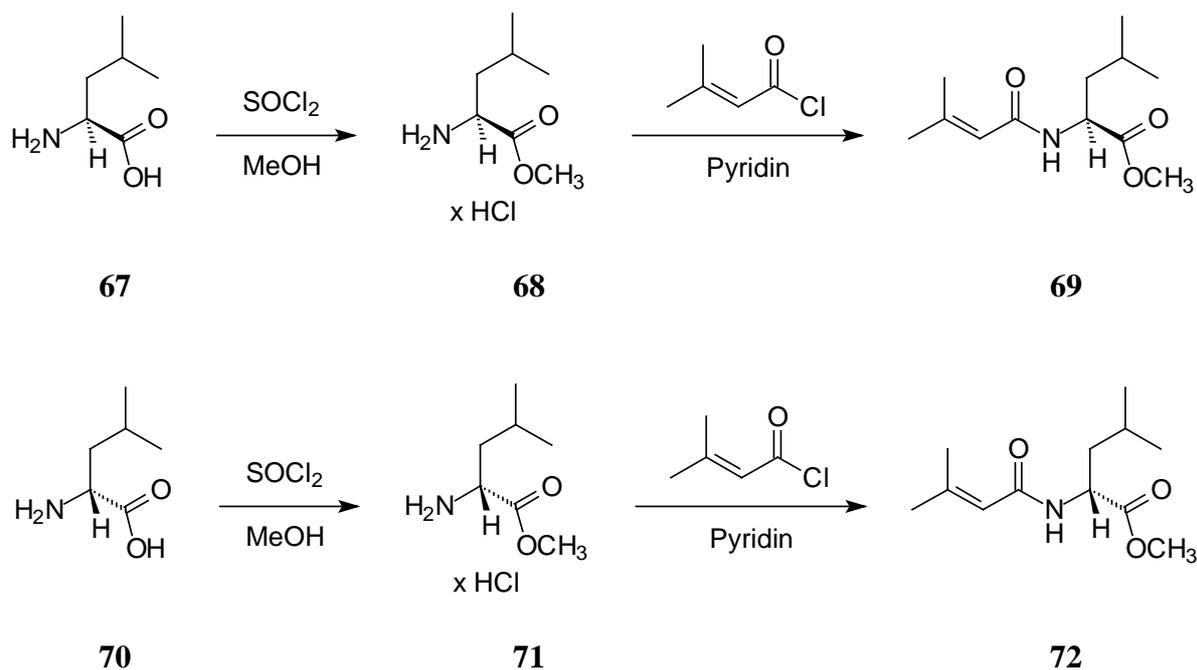
6.2.2. Absolute Konfiguration

Zur Klärung der absoluten Konfiguration an C-15 wurden *N*-Dimethylacryloyl-Derivate von L- und D-Leucinmethylester hergestellt, um ihre CD-Spektren mit dem CD-Spektrum von Chrysophysarin A (**64**) zu vergleichen.

6.2.2.1. Synthese von *N*-(3,3-Dimethylacryloyl)-L-leucinmethylester (**69**) und *N*-(3,3-Dimethylacryloyl)-D-leucinmethylester (**72**)

Die Synthese (Schema 7) geht von L- bzw. D-Leucin (**67** bzw. **70**) aus, das mit Thionylchlorid und Methanol bei tiefer Temperatur (-10°C) in sehr guter Ausbeute in L- bzw. D-Leucinmethylester-Hydrochlorid (**68** bzw. **71**) überführt wird.^[149]

Der L- bzw. D-Leucinmethylester (**68** bzw. **71**) wird mit 3,3-Dimethylacrylsäurechlorid in Pyridin zu den entsprechenden Amiden umgesetzt.^[150,151] *N*-(3,3-Dimethylacryloyl)-L- bzw. -D-leucinmethylester (**69** bzw. **72**) werden als farblose Kristalle erhalten.



Schema 7. Synthese von *N*-(3,3-Dimethylacryloyl)-L-leucinmethylester (**69**) und *N*-(3,3-Dimethylacryloyl)-D-leucinmethylester (**72**)

6.2.2.2. Ableitung der absoluten Konfiguration durch CD-Vergleich

Zur Ableitung der absoluten Konfiguration werden die CD-Spektren von *N*-(3,3-Dimethylacryloyl)-L-leucinmethylester (**69**) und *N*-(3,3-Dimethylacryloyl)-D-leucinmethylester (**72**) mit dem CD-Spektrum von Chrysophysarin A (**64**) verglichen. Die beiden enantiomeren Verbindungen **69** und **72** zeigen einen annähernd spiegelbildlichen Verlauf ihrer CD-Kurven (Abbildung 10).

Der CD-Effekt von **64** ist weniger deutlich ausgeprägt als bei **69** und **72**, die CD-Kurve verläuft parallel zu derjenigen von *N*-(3,3-Dimethylacryloyl)-L-leucinmethylester (**69**) (Abbildung 11). Da L-Leucin *S*-Konfiguration besitzt, kann für Chrysophysarin A (**64**) die *S*-Konfiguration an C-15 abgeleitet werden.

Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen zu Physarochrom A (**60**), dessen mit dem Polyensystem verknüpfte Aminosäure Glutamin ebenfalls in der *S*-Konfiguration vorliegt.^[129]

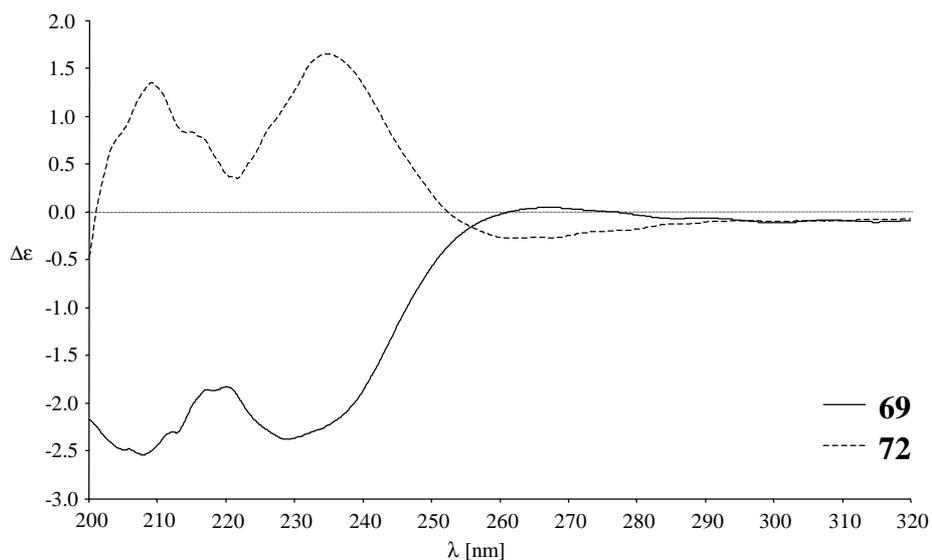


Abbildung 10. CD-Spektren von *N*-(3,3-Dimethylacryloyl)-L-leucinmethylester (**69**) und *N*-(3,3-Dimethylacryloyl)-D-leucinmethylester (**72**)

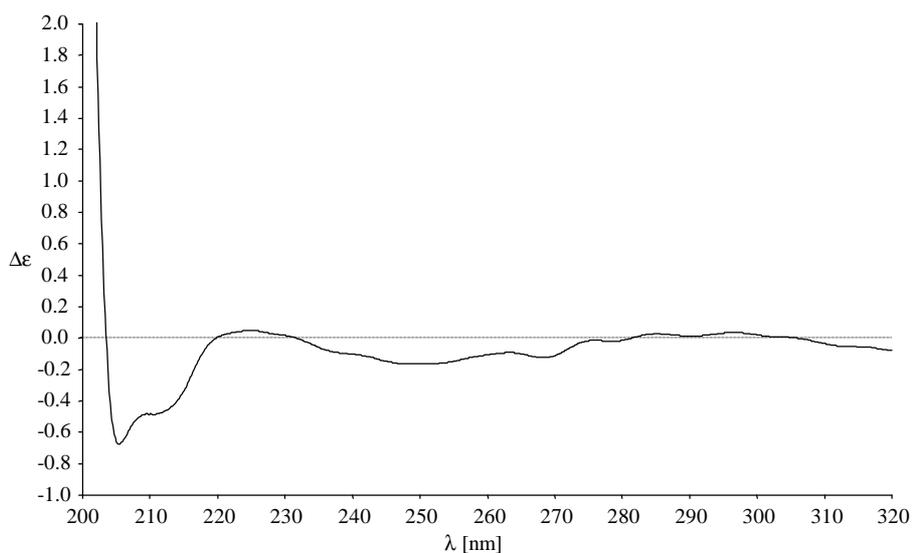
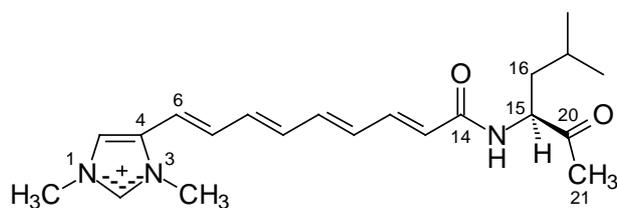


Abbildung 11. CD-Spektrum von Chrysophysarin A (**64**)

Für Chrysophysarin A ergibt sich somit aus allen vorliegenden Daten die Struktur **64**.

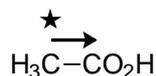


64

6.3. Biosynthese von Plasmodienfarbstoffen

Zur Untersuchung der Biosynthese von Chrysophysarin A (**64**) und Physarochrom A (**60**) wurden die beiden Polyen-Verbindungen aus Plasmodien isoliert, denen während des Wachstums [2-¹³C]- bzw. [¹³C₂-d₃]-Natriumacetat zugesetzt worden war. Anschließend wurden die Verbindungen mittels ¹³C-NMR-Spektroskopie untersucht.

Der Einbau von Acetat in **64** und **60** wird im folgenden gezeigt. Die Essigsäureeinheiten (**63**) werden durch Pfeile von der Methylgruppe zur Carboxylgruppe (Pfeilspitze) dargestellt. Mit einem Stern werden einzelne aus der Methylgruppe stammende Kohlenstoffatome gekennzeichnet.



63

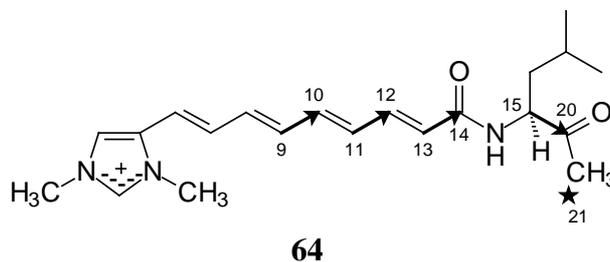
6.3.1. Chrysophysarin A (**64**)

Für Chrysophysarin A (**64**) ergibt sich aus den beiden Verfütterungsexperimenten das in Schema 8 dargestellte Einbaumuster.

Das ¹³C-¹³C-COSY-Spektrum (Abbildung 13) zeigt die intakten Acetateinheiten C9-C10, C11-C12 und C13-C14. Für diese Kohlenstoffatome beträgt die Einbaurrate 4.5% (berechnet aus dem ¹³C-NMR-Spektrum, Abbildung 12).^[152] Die Kohlenstoffatome C-15 und C-20 entstammen einer weiteren Acetateinheit mit einer Einbaurrate von 1.4%. Der Einbau in diesen von Leucin abgeleiteten Molekülteil entspricht der Biosynthese dieser Aminosäure aus Valin und Acetyl-CoA.^[87,153] Die geringere Einbaurrate kann dadurch erklärt werden, daß *Physarum polycephalum* bei der Biosynthese von Chrysophysarin A (**64**) auch auf vorhandenes, unmarkiertes Leucin aus dem Medium zurückgreifen kann.

Für das Kohlenstoffatom C-21 belegt der Einbau bei beiden Verfütterungsexperimenten mit einer Rate von 4.6%, daß diese Methylgruppe einer fragmentierten Acetateinheit entstammt

und der Methylgruppe von Acetat entspricht, dessen Carboxylgruppe vermutlich durch Decarboxylierung verloren geht.



Schema 8. Acetateinbau in Chrysophysarin A (**64**)

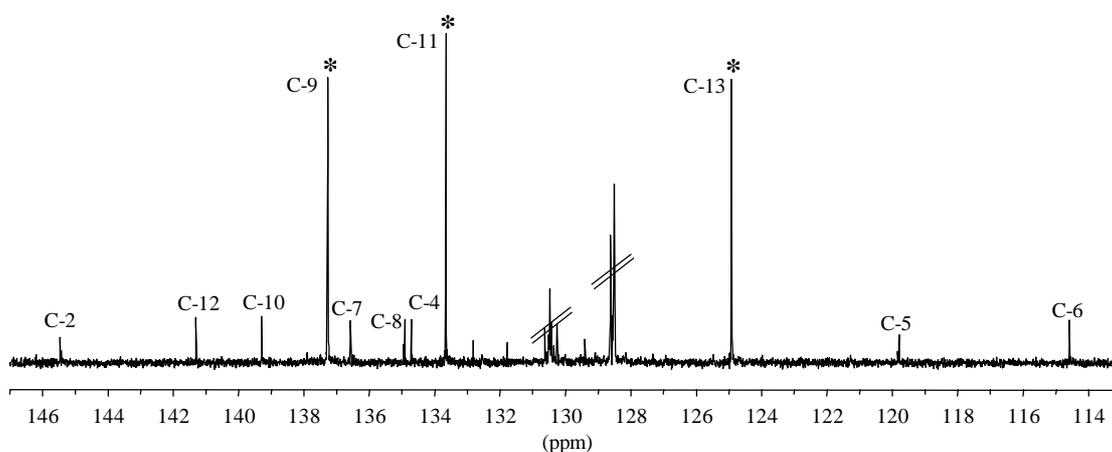


Abbildung 12. Ausschnitt aus dem ^{13}C -NMR-Spektrum von Chrysophysarin A (**64**), Verfütterung von $[2\text{-}^{13}\text{C}]$ -Natriumacetat {600.28 MHz, $[\text{D}_4]$ Methanol/ CDCl_3 1:1 (v/v)}

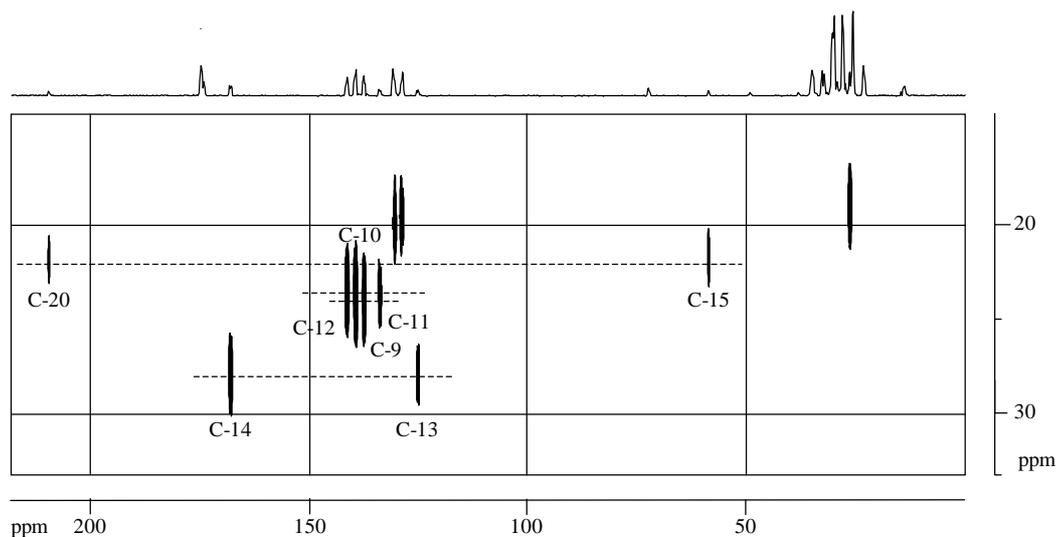
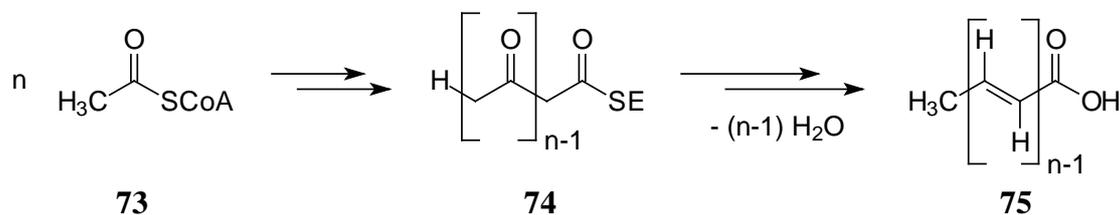


Abbildung 13. Ausschnitt aus dem ^{13}C - ^{13}C COSY (INADEQUATE)-Spektrum von Chrysophysarin A (**64**), Verfütterung von $[^{13}\text{C}_2\text{-d}_3]$ -Natriumacetat {600.28 MHz, $[\text{D}_4]$ Methanol/ CDCl_3 1:1 (v/v)}

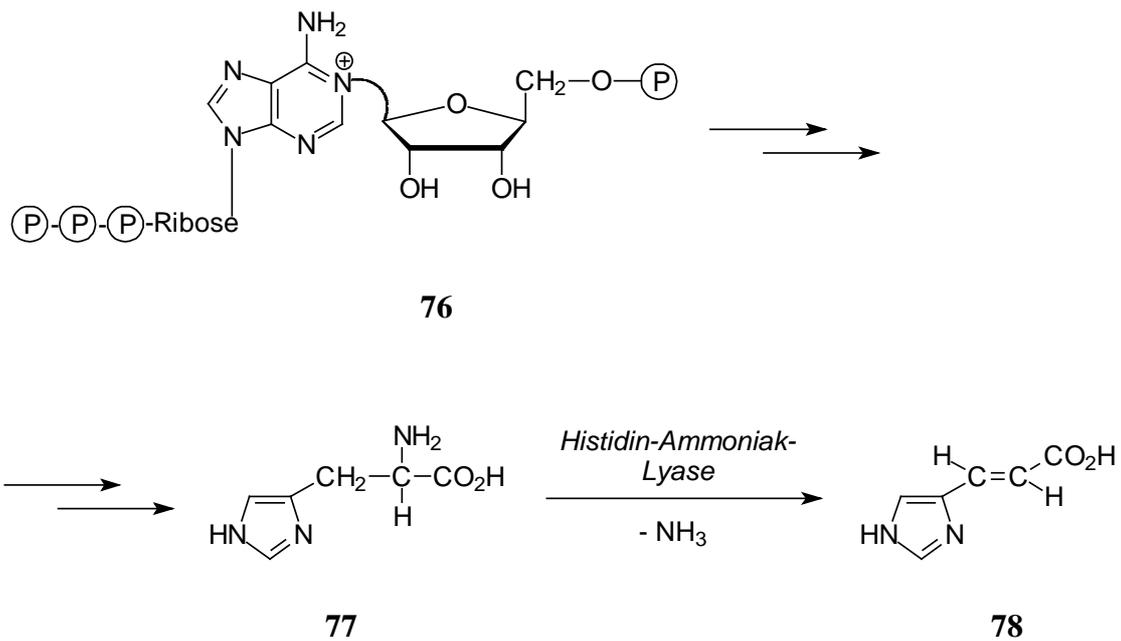
Der biosynthetische Aufbau des Polyensystems aus Acetateinheiten deutet auf den Polyketidweg hin. Polyketide können nur von Pflanzen, Pilzen und Mikroorganismen gebildet werden. Man bezeichnet damit Naturstoffe, deren Biosynthese über Poly(β -oxocarbonsäuren), die nur aus Acetatbausteinen aufgebaut sind, verläuft. Die Polyketidketten werden an Multienzymkomplexen, den Polyketid-Synthasen, aus Acetyl-CoA (**73**) und Malonyl-CoA, z.T. zusätzlich aus Propionyl- oder Butyryl-CoA gebildet. Die an den Enzymkomplex (E) gebundene Poly(β -oxocarbonsäure) (**74**) kann durch Reduktion oder Cyclisierung mittels Ester- oder Aldolkondensation verändert werden. Durch Eliminierung von Wasser können Polyencarbonsäuren (**75**) aufgebaut werden (Schema 9).^[153]



Schema 9. Biosynthese von Polyencarbonsäuren (**75**) über den Polyketidweg

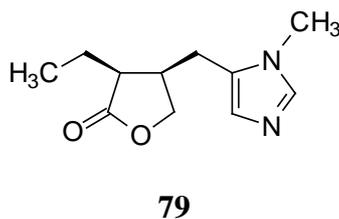
Der Rest des Moleküls entspricht mit hoher Wahrscheinlichkeit einem modifizierten Histidin. Dafür sprechen der Imidazolring, Zahl und Anordnung der Kohlenstoffatome und die Tatsache, daß in diesem Verbindungsbestandteil kein Acetat eingebaut ist, was mit der Biosynthese von Histidin aus Phosphoribosyl-ATP (**76**) übereinstimmt. Die enzymatische Desaminierung der α -Aminogruppe durch *trans*-Eliminierung aus Histidin (**77**), die in Organismen belegt ist, führt zu einer α,β -ungesättigten Säure, der Urocaninsäure (**78**) (Schema 10). Diese kann über die Carboxylgruppe mit den drei Acetat-Einheiten zum Polyen verbunden werden. Ebenso denkbar ist die Verknüpfung der Acetat-Einheiten mit Histidin und anschließende Eliminierung zur ungesättigten Verbindung.

Der Imidazolring ist zusätzlich zweifach *N*-methyliert, möglicherweise über *S*-Adenosylmethionin, einem der wichtigsten Methylgruppen-Überträger in Organismen.^[87,153]



Schema 10. Biosynthese von Histidin (77) und Urocaninsäure (78) aus Phosphoribosyl-ATP (76)

Ein bekanntes Beispiel eines weiteren Sekundärmetaboliten, für den die *N*-Methylierung von Histidin gezeigt ist, ist Pilocarpin (79). Dieser aus den Blättern des südamerikanischen Jaborandi-Baumes isolierte Naturstoff wird klinisch als cholinerges Parasympatiko-mimetikum und zur Glaukomtherapie eingesetzt.^[25,29,154,155]

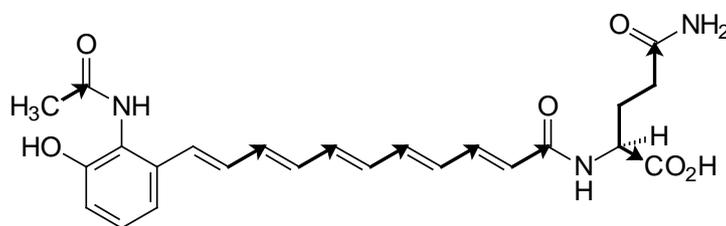


6.3.2. Physarochrom A (60)

Für Physarochrom A (60) ergibt sich aus den Verfütterungsexperimenten das in Schema 11 dargestellte Einbaumuster.

Fünf Acetateinheiten sind mit einer Einbaurate von 2.5% zur Polyenkette verknüpft, die vermutlich über 3-Hydroxyanthranilsäure weiter verlängert ist. Für 3-Hydroxyanthranilsäure als Biosynthesebaustein spricht, daß man für diesen Molekülteil keinen Einbau feststellen kann, was aus der Biosynthese über den Shikimatweg zu erwarten ist. Eine weitere Acetateinheit mit einer Einbaurate von 2.8% ist amidisch an die 3-Hydroxyanthranilsäure gebunden.

Des weiteren findet man Acetatbausteine in L-Glutamin, die biosynthetisch im Citratcyclus eingebaut werden. C-1' koppelt mit C-2' und C-4' mit C-5'. C-2' zeigt außerdem Kopplungen mit C-3'. Die Einbaurate beträgt zwischen 2 und 3%.

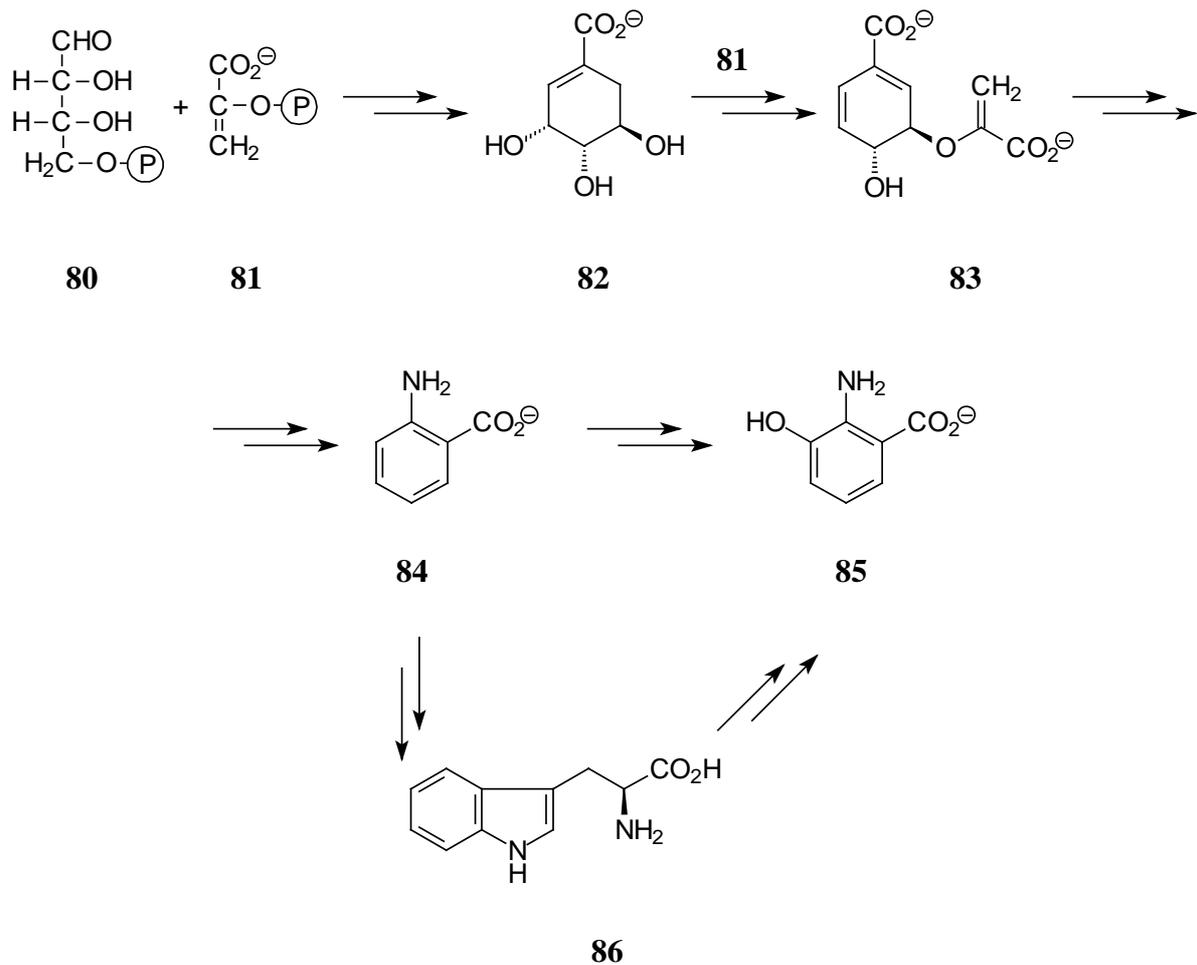


60

Schema 11. Acetateinbau in Physarochrom A (60)

3-Hydroxyanthranilsäure ist ein wichtiger und weit verbreiteter Biosynthesebaustein. Die Biosynthese erfolgt über den Shikimatweg (Schema 12). In höheren Pflanzen, Pilzen und Mikroorganismen werden über diesen Biosyntheseweg die aromatischen Aminosäuren Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan aufgebaut. Aus diesen Aminosäuren sowie aus Zwischenstufen des Shikimatweges werden zahlreiche aromatische Sekundärmetabolite gebildet.^[153,156]

Die Biosynthese von Shikimat (82) beginnt mit der Verknüpfung von Erythrose-4-phosphat (80) mit Phosphoenolpyruvat (81). Aus Shikimat (82) wird über Chorismat (83) Anthranilat (84) aufgebaut, aus dem 3-Hydroxyanthranilat (85) gebildet wird. Anthranilat (84) ist zudem Biosynthese-Vorläufer von Tryptophan (86), bei dessen Abbau wiederum 3-Hydroxyanthranilat (85) entstehen kann.



Schema 12. Biosynthese von 3-Hydroxyanthranilat (85) über den Shikimatweg

Bekannte Beispiele für Naturstoffe, die biosynthetisch auf 3-Hydroxyanthranilat (85) zurückgehen, sind die methylierte Verbindung Damascenin aus der Pflanze *Nigella damascena*,^[157] Actinomycin D aus *Streptomyces* sp.^[158] oder die Basidiomyceten-Metabolite Blennion aus *Lactarius blennius*, Lilacinon aus *Lactarius lilacinus* und Orellanin aus *Cortinarius orellanus*.^[159,160]

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse läßt sich zusammenfassen, daß die Biosynthese der Polyen-Verbindungen aus *Physarum polycephalum* nach einem vergleichbaren Schema abläuft: Das Polyensystem wird über den Polyketid-Biosyntheseweg aus Acetateinheiten aufgebaut und mit verschiedenen Aminosäuren oder deren Derivaten, Vorstufen oder Abbauprodukten verknüpft.

7. *Pentapora fascialis*

7.1. Taxonomie und Beschreibung

Pentapora fascialis (Pall.) wurde erstmals 1766 von PALLAS^[161,162] unter dem Namen *Eschara fascialis*, Bandkoralle, beschrieben. In dieser Zeit konnte noch nicht zwischen Korallen und Moostierchen unterschieden werden. *Pentapora fascialis* wird im Deutschen in Anlehnung an den Namen von PALLAS als Band-Moostierchen^[163] oder aufgrund seiner Gestalt als Elchgeweih-Moostierchen^[164,165] bezeichnet.

Gemäß der heutigen systematischen Einteilung der Bryozoen gehört *Pentapora fascialis* zu der Unterklasse Gymnolaemata, der Ordnung Cheilostomata, der Unterordnung Ascophora und der Familie Hippoporinidae (Schema 13).^[39,163,166]

Klasse: **BRYOZOA** (Polyzoa, Ectoprocta, Moostierchen)

1. Unterklasse: PHYLACTOLAEMATA (Lophopoda)

2. Unterklasse: STENOLAEMATA

3. Unterklasse: **GYMNO LAEMATA**

1. Ordnung: CTENOSTOMATA (Kammünder)

2. Ordnung: **CHEILOSTOMATA** (Lippenmünder)

1. Unterordnung: ANASCA

2. Unterordnung: **ASCOPHORA**

Familien: Adeonidae, Watersiporidae, Schizoporellidae,

Savignyellidae, Reteporidae, Margaretidae,

Myriaporidae, Celleporidae, Smittinidae, Sertellidae

Familie: **HIPPOPORINIDAE**

Gattung: *Hippodiplosia*

Gattung: ***Pentapora***

Schema 13. Taxonomische Stellung von *Pentapora fascialis* nach ERHARDT^[163] und CALVIN^[166]

Die korallenähnlichen, verkalkten Kolonien von *Pentapora fascialis* (Abbildung 14 und 15) wachsen strauchförmig mit blattartig abgeflachten Verzweigungen, die sich annähernd regelmäßig aufspalten, so daß sie in ihrer Form an ein Elchgeweih erinnern. Die unteren Zweigabschnitte bilden eine lamellenförmige, kompakte Struktur.

Die Basis der Kolonie ist häufig abgestorben und von Algen besetzt. Der lebende Bereich ist durch eine lachsrote bis kräftig orange Farbe gekennzeichnet, die in trockenem Zustand verblaßt.

Eine einzelne Kolonie kann bis 20 cm groß werden und eine Gesamtoberfläche von 1000 cm² erreichen. *Pentapora fascialis* lebt auf schwach erhellten Hartböden in einer Wassertiefe von 25 bis 100 m. Selten findet man sie auch an beschatteten Stellen im flacheren Wasser.

Pentapora fascialis kommt im Mittelmeer und im Atlantik vor.^[163-165]



Abbildung 14. Kolonie von *Pentapora fascialis*. Aus ERHARDT und MOOSLEITNER^[163]



Abbildung 15. Kolonie von *Pentapora fascialis* als Aufwuchs auf einer Gorgonie.
Aus MOJETTA und GHISOTTI^[165]

7.2. Bisherige Untersuchungen zu *Pentapora fascialis*

Mit Ausnahme von Arbeiten zur Ökologie und Verbreitung von *Pentapora fascialis* gibt es bisher keine Untersuchungen zu diesem Organismus, es sind keine Inhaltsstoffe bekannt.

7.3. Testung des Extraktes von *Pentapora fascialis* auf biologische Aktivität

Im Rahmen des vom Bundesministerium für Bildung und Forschung geförderten Projektes „Endo- und exocytische Organismen als Quelle biologisch aktiver Naturstoffe“ wurden Extrakte von marinen Makroorganismen und von Mikroorganismen, die an der Universität Regensburg aus diesen Makroorganismen isoliert worden waren, bei der Bayer AG Monheim auf pharmakologische Aktivität getestet. Die Testungen erfolgten in den Bereichen Pflanzenschutz und Tiergesundheit.

Dabei konnte der Toluol- und der Butanol-Phase des Extraktes von *Pentapora fascialis* eine anthelmintische *in vitro* Aktivität gegen *Trichinella spiralis* und *Nippostrongylus brasiliensis* zugeordnet werden.

Auch in Extrakten von verschiedenen Mikroorganismen, die aus *P. fascialis* isoliert worden waren, findet sich eine biologische Aktivität gegen *Nippostrongylus brasiliensis*, Coccidien und Insekten. Der Ursprung dieser Aktivität konnte aus Mangel an Material nicht weiterverfolgt werden. Da schon lange bekannt ist, daß in Makroorganismen lebende endosymbiontische Bakterien oder Algen die eigentlichen Produzenten von einigen Sekundärmetaboliten sind, die aus den Makroorganismen isoliert worden waren, wäre es möglich, daß auch die aus *Pentapora fascialis* isolierten biologisch aktiven Verbindungen mikrobiellen Ursprungs sein könnten. Bei einem Vergleich der NMR-Spektren konnten die Signale der aktiven Substanzen jedoch nicht in den Spektren der mikrobiologischen Extrakte wiedergefunden werden.

7.4. Ziel dieser Untersuchungen

Ziel dieses Teils der vorliegenden Arbeit war es nun, die für die anthelmintische Aktivität des Extraktes von *Pentapora fascialis* verantwortlichen Verbindungen Bioassay-begleitet zu isolieren und deren Struktur aufzuklären.

8. Pentaporin A (87), B (88) und C (89) aus *Pentapora fascialis*

8.1. Isolierung der Pentaporine

8.1.1. Probenmaterial

Das bearbeitete Probenmaterial der Bryozoe *Pentapora fascialis* wurde auf Tauchgängen an der nordspanischen Mittelmeerküste, Costa Brava, in einer Wassertiefe von 35 bis 45 m gesammelt. Die Organismen wurden taxonomisch bestimmt und sofort tiefgefroren.

8.1.2. Extraktion und Chromatographie

Die Extraktion der gefrorenen Biomasse von *P. fascialis* erfolgte mit einem Gemisch aus Methanol und Chloroform (1:1). Der resultierende ölig braune Rohextrakt wurde aufeinanderfolgend zwischen Toluol und Wasser sowie die wäßrige Phase zwischen 2-Butanol und Wasser verteilt.

Durch Chromatographie an Sephadex LH-20 wurde der Toluol-Extrakt mit Methanol/Chloroform und der 2-Butanol-Extrakt mit Methanol als Eluenten aufgetrennt. Die erhaltenen Fraktionen wurden bei der Bayer AG auf anthelminthische Aktivität getestet.

Nach einem weiteren gelchromatographischen Reinigungsschritt wurden sowohl aus dem Toluol- als auch aus dem 2-Butanol-Extrakt je drei saubere aktive Reinstoff-Fractionen gelber Farbe erhalten.

8.1.3. DC- und HPLC-Analytik

Bei der DC-Analytik zeigen die drei aktiven Verbindungen eine Absorption bei 254 nm, aber keine Fluoreszenz bei 366 nm. Sie lassen sich in der Iod-Kammer anfärben und bilden als

charakteristischstes Merkmal beim Besprühen mit Echtblausalz B-Reaktionslösung einen leuchtend rotvioletten stabilen Azofarbstoff. Mit dieser Reaktionslösung, in der Bis-diazotiertes *o*-Dianisidin-Zinkdoppelsalz als Kupplungskomponente enthalten ist, können kupplungsfähige Phenole und aromatische Amine detektiert werden.^[167]

Die drei aktiven Verbindungen können auch durch HPLC-Analytik nachgewiesen werden. Die gute Trennbarkeit bei der Gelchromatographie machte aber eine Trennung mittels präparativer HPLC unnötig.

8.2. Struktur von Pentaporin A (87), B (88) und C (89)

8.2.1. Strukturaufklärung

Die drei neuen Inhaltsstoffe aus *Pentapora fascialis* erhalten die Namen Pentaporin A (87), B (88) und C (89).^[168] Es handelt sich bei ihnen um gelbliche, amorphe Substanzen, die in unterschiedlichen Konzentrationen in der Bryozoe vorkommen und nur geringe Unterschiede in ihren ¹H-NMR-Spektren aufweisen (Abbildung 16). Hauptverbindung ist Pentaporin B (88).

8.2.1.1. Pentaporin A (87)

Das ESI-Massenspektrum von 87 weist Peaks bei $m/z = 442$ und 885 auf. Bei $m/z = 885$ handelt es sich um das Molekülion $[M+H]^+$. Bei Vergrößerung des Massenspektrums im Bereich des Massenpeaks von $m/z = 442$ zeigt sich, daß die Schritte zwischen den Peaks verschiedener Ionen mit jeweils um eins erhöhter Anzahl an ¹³C-Atomen nicht um den Wert eins, sondern um den Wert 0.5 differieren. Dies beweist, daß $m/z = 442$ dem Molekülpeak $[M]^{2-}$ entspricht, welcher aufgrund doppelter Ladung ($z = 2$) bei halber Masse detektiert wird. Aus dem hochaufgelösten ESI-Massenspektrum konnte anfangs keine passende Summenformel abgeleitet werden.

Das UV/VIS-Spektrum von **87** weist Absorptionsmaxima bei 202, 223 und 274 nm auf.

Das CD-Spektrum zeigt starke Cotton-Effekte bei 204, 217, 219 und 232 nm. Dies, sowie der Drehwert $[\alpha]_D$ von -13.1 , weist auf optische Aktivität der Verbindung und die Anwesenheit eines oder mehrerer stereogener Zentren hin.

Das IR-Spektrum von **87** zeigt eine starke, verbreiterte Bande bei 3436 cm^{-1} , welche auf eine OH-Valenzschwingung schließen läßt. Weitere charakteristische Banden finden sich bei 2926 und 2853 (CH-Valenzschwingung von Alkylgruppen), 1599 (C=C-Valenzschwingung von Aromaten) sowie bei 1216, 1150 und 1058 cm^{-1} .

Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Pentaporin A (**87**) (Abbildung 16a und Tabelle 2) zeigt die Signale eines 1,3,5-trisubstituierten Benzolringes ($\delta = 6.19$ und 6.11), wobei das Signal $\delta = 6.19$ gemäß Integration zwei aromatischen Protonen entspricht. Die beiden Signale erscheinen als Dublett mit einer Kopplungskonstante von 2.1 Hz, die für eine *meta*-Kopplung ($^4J_{\text{HH}}$) charakteristisch ist.

Die Signallage zweier Multipletts bei $\delta = 6.10\text{--}6.05$ und $5.61\text{--}5.60$ spricht für olefinische Protonen. Die Kopplungskonstanten von 14.5 und 14.6 Hz ($^3J_{\text{HH}}$) weisen auf eine *trans*-Anordnung dieser olefinischen Protonen hin.

Zwei Signale bei $\delta = 4.58$ und 2.93 können durch Abgleich mit dem DEPT(135)-NMR-Spektrum den Methin-Protonen zweier CH-Gruppen, an die jeweils ein Heteroatom gebunden ist, zugeordnet werden. Die beiden Signale erscheinen als Dublett von Dubletts von Dubletts. Die jeweiligen Kopplungskonstanten konnten durch Entkopplungsexperimente bestimmt werden.

Das Signal bei $\delta = 2.47$ erscheint als Triplet mit einer Kopplungskonstante von 7.9 Hz, das Signal bei $\delta = 1.73$ als Dublett mit einer Kopplungskonstante von 6.7 Hz. Daneben finden sich die diastereotopen Protonen zweier CH_2 -Gruppen ($\delta = 1.99$ und 1.87 sowie $\delta = 1.76$ und 1.67). Diese vier und die übrigen Signale ($\delta = 2.57\text{--}1.37$) erscheinen als Multipletts.

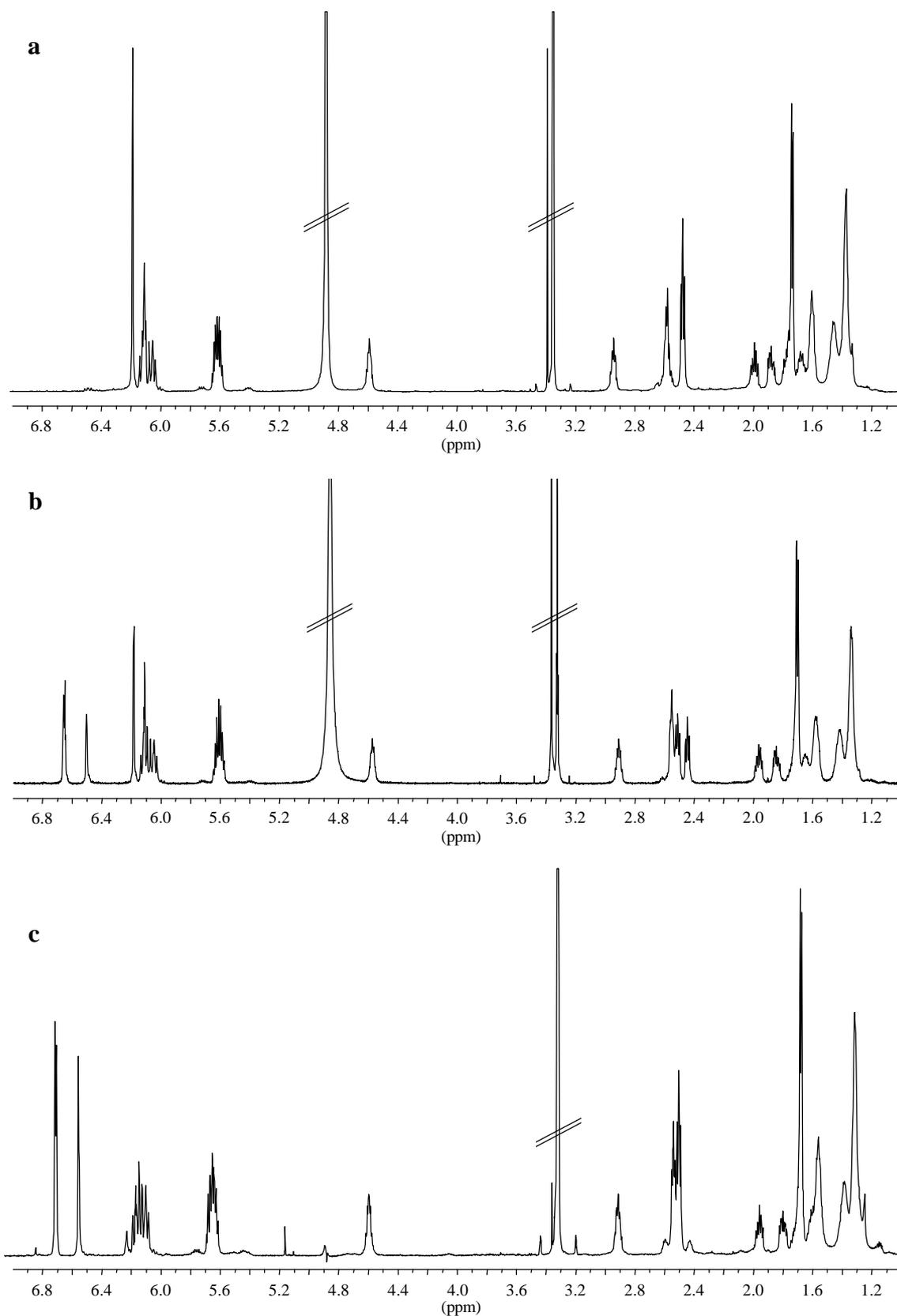


Abbildung 16. ¹H-NMR-Spektren von **a**: Pentaporin A (**87**), **b**: Pentaporin B (**88**),
c: Pentaporin C (**89**) (600.13 MHz, [D₄]Methanol)

Tabelle 2. NMR-Daten von Pentaporin A (**87**) (^1H : 600.13 MHz, ^{13}C : 150.9 MHz, $[\text{D}_4]\text{Methanol}$)

^1H	δ_{H} [ppm]	$J_{\text{H,H}}$ [Hz]	^{13}C	δ_{C} [ppm]
2-H (1H)	6.11 (t)	2.1	C-1	159.2 (S)
			C-2	101.0 (D)
			C-3	159.2 (S)
4-H (1H)	6.19 (d)	2.1	C-4	108.0 (D)
			C-5	146.4 (S)
6-H (1H)	6.19 (d)	2.1	C-6	108.0 (D)
7-H (2H)	2.47 (t)	7.9	C-7	37.0 (T)
8-H (2H)	1.60 (m)		C-8	32.4 (T)
9-H (2H)	1.37 (m)		C-9	30.5 (T)
10-H (2H)	1.37 (m)		C-10	30.3 (T)
11-H (2H)	1.45 (m)		C-11	27.5 (T)
12-H _a (1H)	1.76 (m)		C-12	34.5 (T)
12-H _b (1H)	1.67 (m)			
13-H (1H)	2.93 (m)	8.0, 5.8	C-13	49.9 (D)
14-H _a (1H)	1.99 (ddd)	14.5, 7.9, 5.8	C-14	40.2 (T)
14-H _b (1H)	1.87 (ddd)	14.5, 8.0, 5.0		
15-H (1H)	4.58 (m)	7.9, 5.0	C-15	77.6 (D)
16-H (2H)	2.57 (m)		C-16	38.5 (T)
17-H (1H)	5.60 (m)	14.5	C-17	127.0 (D)
18-H (1H)	6.10 (m)	14.5, 10.8	C-18	135.0 (D)
19-H (1H)	6.05 (m)	14.6, 10.8	C-19	132.9 (D)
20-H (1H)	5.61 (m)	14.6, 6.7	C-20	128.6 (D)
21-H (3H)	1.73 (d)	6.7	C-21	18.2 (Q)

Im ^{13}C -NMR-Spektrum (Tabelle 2) sind 21 Kohlenstoffsignale vorhanden, die über das DEPT(135)-NMR-Spektrum als drei quartäre Kohlenstoffatome, sieben aromatische bzw. olefinische CH-, zwei aliphatische CH-, acht CH_2 - und eine CH_3 -Gruppe charakterisiert werden können.

Das ^1H - ^1H -COSY-Spektrum (Abbildung 17) zeigt die schwach koppelnden aromatischen Protonen und verknüpft alle übrigen Signale zu einer zusammenhängenden Kette. Diese Kette beginnt mit einer Methylgruppe ($\delta = 1.73$), die mit einem *trans*-Diensystem ($\delta = 5.60$ – 6.10) verknüpft ist. Daran schließt sich eine CH_2 -Gruppe ($\delta = 2.57$), eine CH-Gruppe ($\delta = 4.58$), eine diastereotope CH_2 -Gruppe ($\delta = 1.99$ und 1.87), eine weitere CH-Einheit ($\delta = 2.93$) sowie eine CH_2 -Gruppe mit nicht äquivalenten Protonen ($\delta = 1.76$ und 1.67) an. Den Abschluß bildet eine Kette aus fünf CH_2 -Gruppen ($\delta = 1.60$ – 1.37).

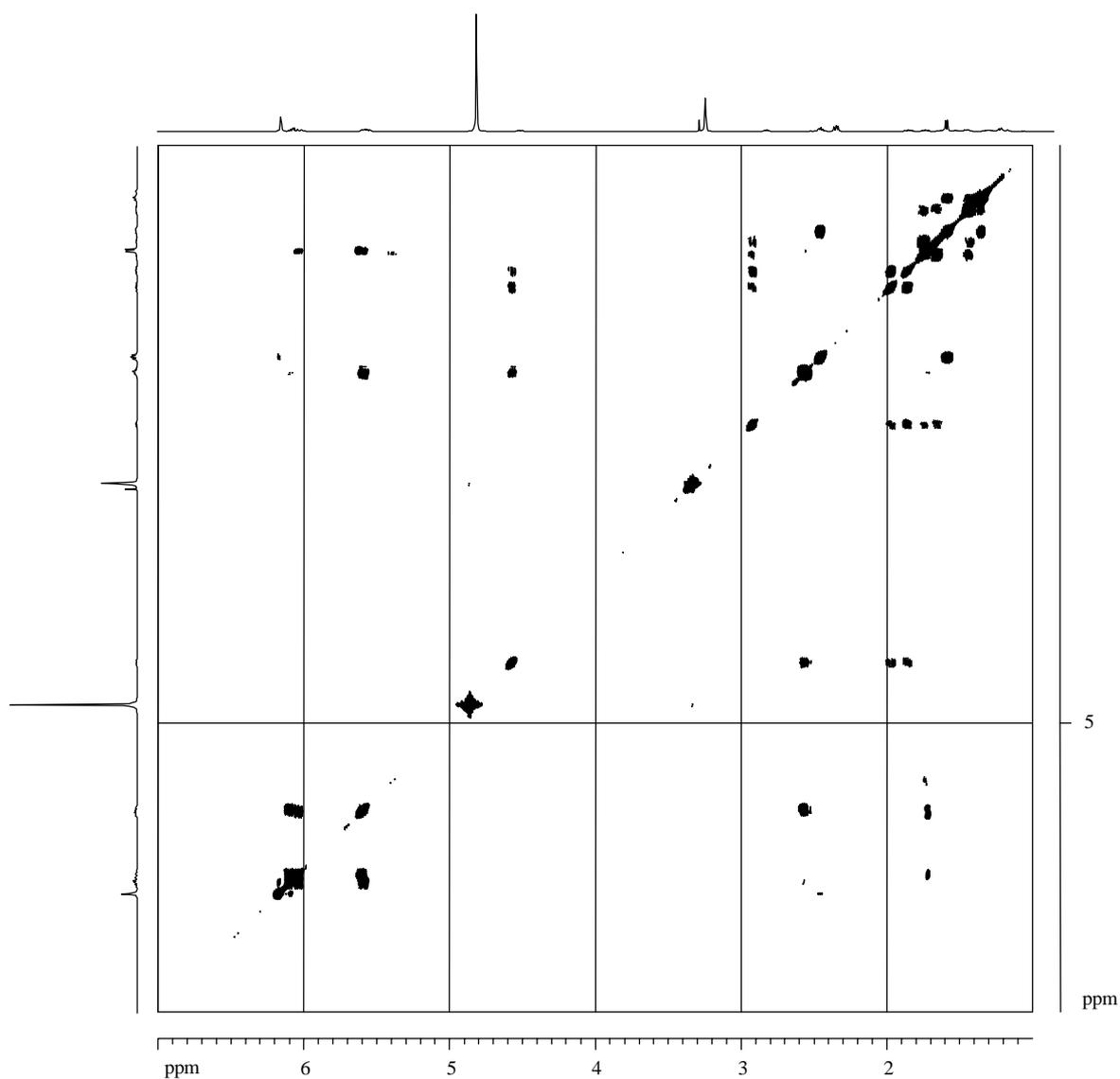


Abbildung 17. ^1H - ^1H -COSY-Spektrum von Pentaporin A (**87**)
(600.13 MHz, $[\text{D}_4]$ Methanol)

Über die im HMBC-Spektrum (Abbildung 18) beobachteten *long-range*-Kopplungen kann der Aromat in *meta*-Position zu den beiden noch unbekanntem Substituenten mit der Kohlenstoffkette verknüpft werden.

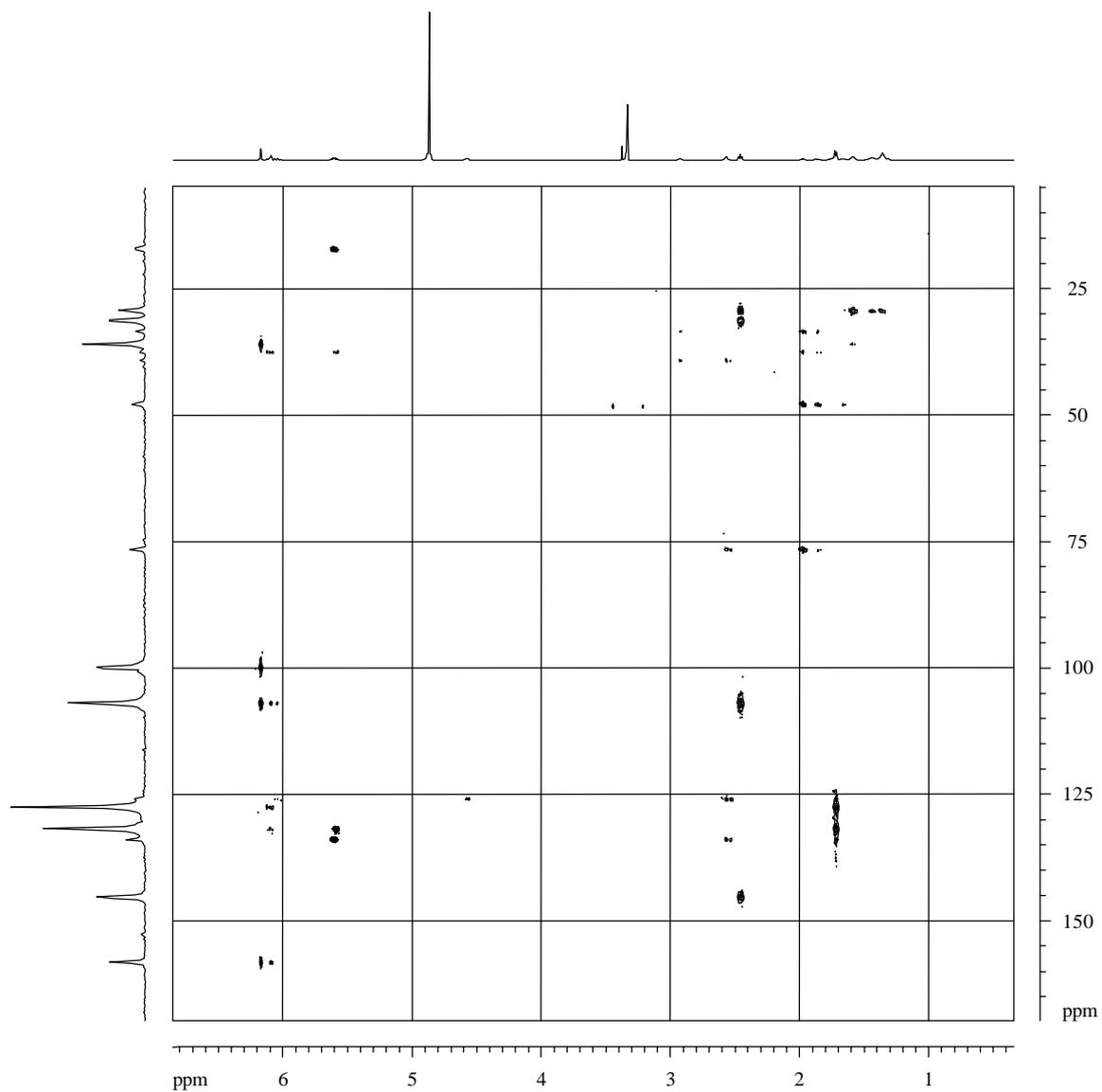


Abbildung 18. HMBC-Spektrum von Pentaporin A (**87**)
(600.13 MHz, $[\text{D}_4]$ Methanol)

Durch Vergleich der NMR-Daten von Pentaporin A (**87**) mit Literaturdaten^[169,170] für 5-Alkylresorcin-Verbindungen (Abbildung 19) läßt sich das Substitutionsmuster des Aromaten einem 5-Alkyl-1,3-dihydroxybenzol zuordnen.

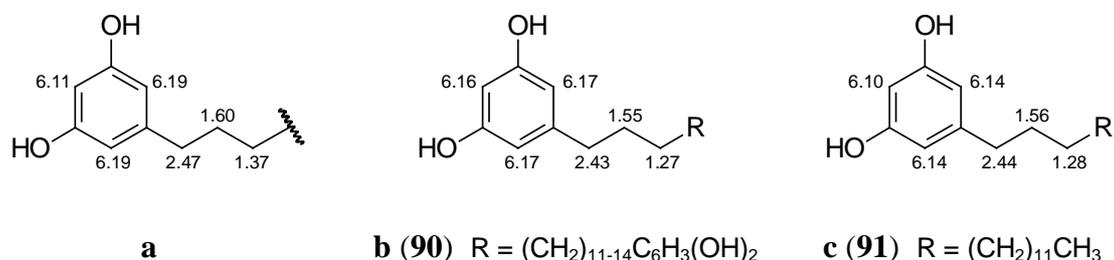


Abbildung 19. Molekülausschnitte von **a**: Pentaporin A (**87**), **b**: 5,5′-(Alkadiyl)diresorcin (**90**)^[169] und **c**: 5-*n*-Pentadecylresorcin (**91**)^[170] mit ¹H-NMR-Daten
(**a**: 600 MHz, [D₄]Methanol, **b**: 400 MHz, [D₆]Aceton, **c**: 270 MHz, [D₄]Methanol)

Einen zusätzlichen Beweis für dieses Substitutionsmuster des Aromaten erhält man durch die Acetylierung von **87** (Kapitel III, 8.2.3.1.). Dabei beobachtet man nicht nur den charakteristischen Acetylierungsshift, sondern kann durch Integration auch nachweisen, daß **87** zwei aromatische Hydroxylgruppen enthält.

Hierdurch läßt sich die Kupplung mit dem Echtblausalz B-Reagenz, das für die Detektion von *n*-Alkylresorcinen besonders geeignet ist, erklären.^[167]

Somit ergibt sich aus den Daten für Pentaporin A (**87**) folgende Partialstruktur (Abbildung 20).

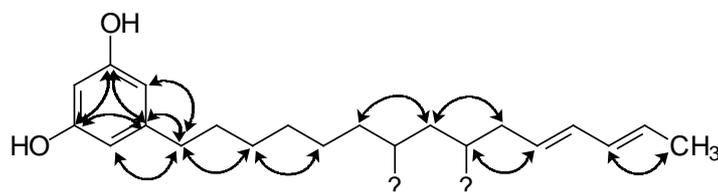


Abbildung 20. Partialstruktur von Pentaporin A (**87**) mit wichtigen *long-range*-Kopplungen

Für die in Abbildung 20 dargestellte Partialstruktur beträgt das Molekulargewicht 314 u; somit ergibt sich eine Differenz von 570 u zu dem auf Grundlage des ESI-Massenspektrums bestimmten Molekulargewicht von 884 u.

Da im Rahmen einer weiteren Strukturaufklärung der Pentaporine für eine Elementaranalyse zu wenig Material zur Verfügung stand, wurde zur qualitativen Bestimmung der Heteroatome jeweils eine EDX-Analyse durchgeführt. Es handelt sich dabei um die Energie-dispersive Röntgen-Spektroskopie, die in einem entsprechend ausgestatteten Rasterelektronenmikroskop durchgeführt wird. Dabei wird die für chemische Elemente charakteristische Röntgenstrahlung detektiert, die als Folge der Anregung durch Elektronenstrahlung emittiert wird.

Für Pentaporin A (**87**) konnte das in Abbildung 21 dargestellte Röntgen-Spektrum erhalten werden. Neben Kohlenstoff und Sauerstoff, die auch in der verwendeten Trägerfolie enthalten sind, zeigt das Spektrum die Anwesenheit von Schwefel im Molekül sowie von Natrium und in geringerem Maße von Kalium, die als Gegenionen vorliegen könnten.

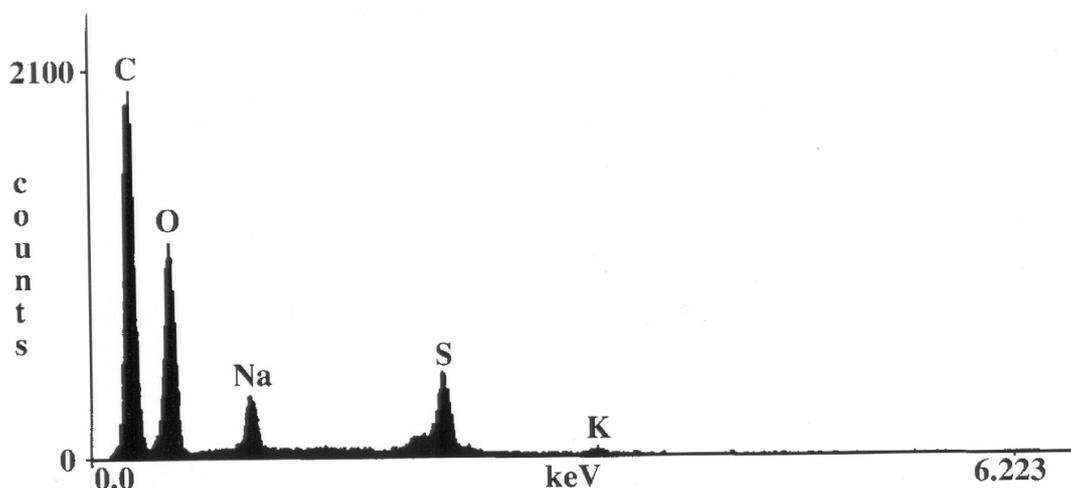
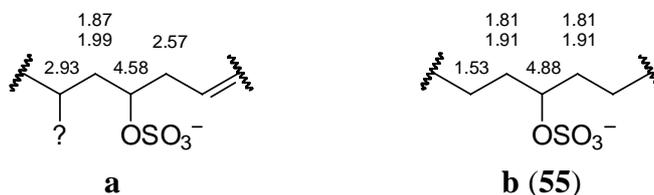


Abbildung 21. EDX-Spektrum von Pentaporin A (**87**)

Die Verschiebewerte für Position 15 in Pentaporin A (**87**) ($\delta_{\text{H}} = 4.58$, $\delta_{\text{C}} = 77.6$) sprechen für eine Sulfatgruppe. Dies läßt sich durch den Vergleich der NMR-Daten mit denen der entsprechenden Positionen innerhalb der Toxadociale A (**54**), B (**55**) und C (**56**)^[104,105] (Kapitel II, 4.) ($\delta_{\text{H}} = 4.48\text{-}4.88$, $\delta_{\text{C}} = 78.78\text{-}78.94$) bestätigen (Abbildung 22). Die geringe Abweichung der Werte kann dadurch erklärt werden, daß die Positionen, welche die Sulfatgruppen tragen, bei den Toxadocialen mit längeren Alkylketten verknüpft sind, bei Pentaporin A (**87**) befindet sich zudem in 3-Position zur Sulfatgruppe ein weiterer elektronenziehender Substituent.

¹H-NMR-Daten:



¹³C-NMR-Daten:



Abbildung 22. Molekülausschnitte mit ¹H- und ¹³C-NMR-Daten von

a: Pentaporin A (**87**) und **b:** Toxadociale B (**55**)^[105]

(**a:** 600 MHz, [D₄]Methanol, **b:** 600 MHz, [D₅]Pyridin)

Die Verschiebewerte für Position 13 in Pentaporin A (**87**) ($\delta_{\text{H}} = 2.93$, $\delta_{\text{C}} = 49.9$) und die aus dem EDX-Spektrum gewonnene Information, daß außer Kohlenstoff, Wasserstoff, Sauerstoff und Schwefel keine weiteren Atomsorten im Molekül vorkommen, sprechen für eine direkte Verknüpfung mit Schwefel.

In der Literatur finden sich nur wenige Beispiele für Naturstoffe, in denen Schwefel direkt an eine CH-Gruppe gebunden ist. Bekannt sind einige flüchtige Disulfide, z.B. Di-2-butylsulfid und Di-2-butyltrisulfid (**92**) aus *Ferula asafoetida*, einem Doldenblütler aus Afghanistan^[171] oder Verbindungen, in denen eine Disulfid-Einheit in einem substituierten

gesättigten Ring vorkommt, z.B. (-)-3-Hexyl-4,5-dithiacycloheptanon (**93**) aus dem Seetang *Dictyopteris* sp.^[172]

Es gibt daher nur wenige spektroskopische Vergleichsdaten (Abbildung 23).

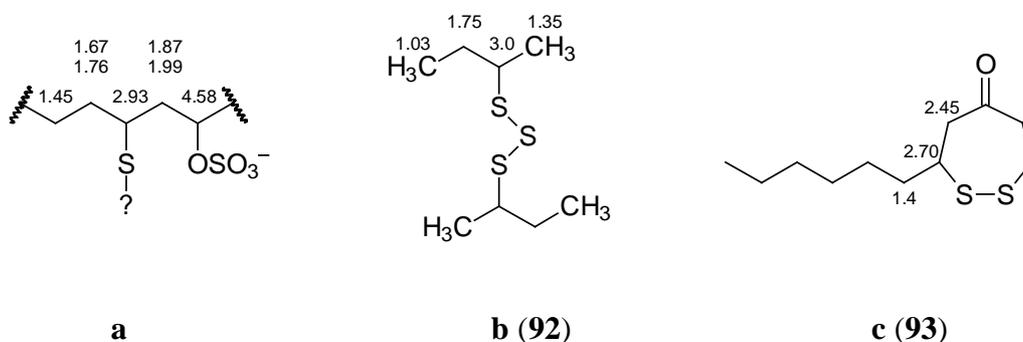
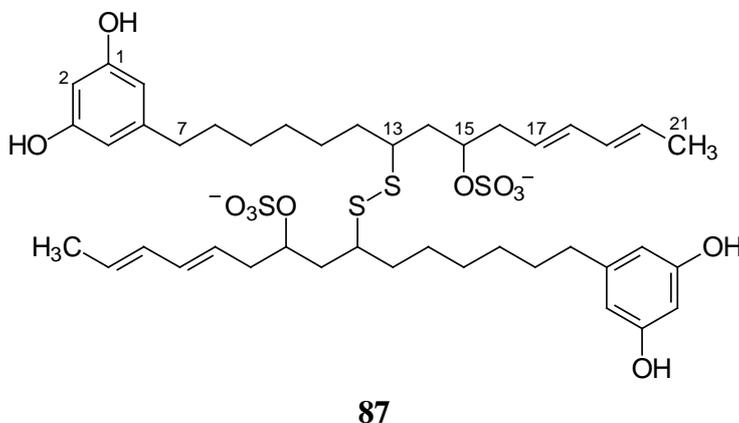


Abbildung 23. **a**: Molekülausschnitt von Pentaporin A (**87**), **b**: Di-2-butyltrisulfid (**92**)^[171] und **c**: (-)-3-Hexyl-4,5-dithiacycloheptanon (**93**)^[172] mit ¹H-NMR-Daten (**a**: 600 MHz, [D₄]Methanol, **b**: 90 MHz, CCl₄, **c**: MHz nicht angegeben, [D₆]Benzol)

Mit der Sulfatgruppe und einem zusätzlichen Schwefelatom hätte die Verbindung ein Molekulargewicht von 442. Es liegt nun nahe, daß Pentaporin A (**87**) ein symmetrisches dimeres Molekül ist, dessen Monomere über eine Disulfidbrücke verbunden sind. Es ergibt sich eine Summenformel von C₄₂H₆₀S₄O₁₂, die durch das hochaufgelöste ESI-Massenspektrum bestätigt werden konnte. Dieser dimere Bau konnte durch die Aufklärung der Strukturen von Pentaporin B (**88**) und C (**89**) untermauert werden.

Für Pentaporin A ergibt sich somit die Struktur **87**.



8.2.1.2. Pentaporin B (88)

Das ESI-Massenspektrum von **88** zeigt Peaks bei $m/z = 321$, 482 und 965. Bei $m/z = 965$ handelt es sich um das Molekülion $[M+2H]^+$. Bei der Vergrößerung des Massenspektrums im Bereich des Massenpeaks von $m/z = 482$ zeigt sich, daß die Schritte zwischen den Peaks verschiedener Ionen mit jeweils um eins erhöhter Anzahl an ^{13}C -Atomen um den Wert 0.5 differieren. Der Peak $m/z = 482$ entspricht damit dem Molekülion $[M+H]^{2+}$, das aufgrund doppelter Ladung ($z = 2$) bei halber Masse detektiert wird. Der Molekülpeak $[M]^{3+}$ erscheint infolge dreifach negativer Ladung ($z = 3$) bei einem Drittel der Masse ($m/z = 321$).

Für den Peak $m/z = 965$ ($[M+2H]^+$) konnte im hochaufgelösten ESI-Massenspektrum die Summenformel $\text{C}_{42}\text{H}_{61}\text{S}_5\text{O}_{15}$ abgeleitet werden. In diesem Zusammenhang wurde durch EDX-Analyse von **88** nachgewiesen, daß lediglich Kohlenstoff, Wasserstoff, Sauerstoff und Schwefel im Molekül vorkommen (vgl. **87**).

Die spektroskopischen Daten von Pentaporin B (**88**) haben große Ähnlichkeit mit denen von Pentaporin A (**87**).

Das UV/VIS-Spektrum von **88** zeigt Absorptionsmaxima bei 202, 224 und 271 nm.

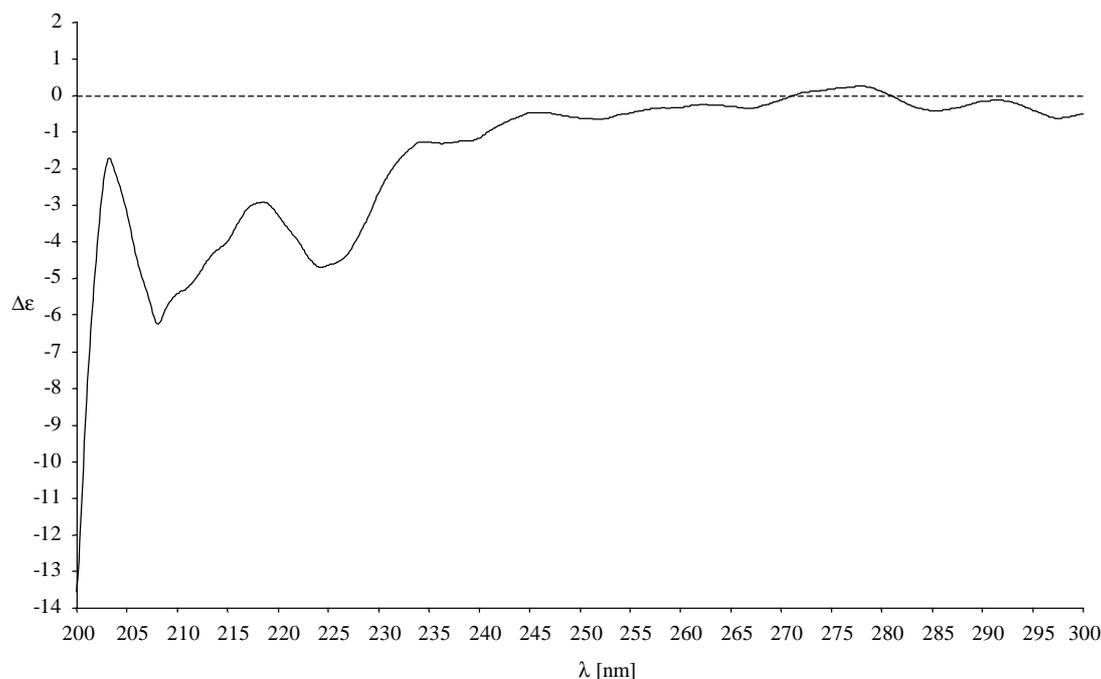


Abbildung 24. CD-Spektrum von Pentaporin B (**88**)

Das CD-Spektrum (Abbildung 24) weist starke Cotton-Effekte bei 208, 219, 224 und 234 nm auf. Der Drehwert $[\alpha]_D$ von **88** beträgt -13 . Dies spricht für die Anwesenheit eines oder mehrerer stereogener Zentren.

Im IR-Spektrum von **88** zeigen sich charakteristische Banden bei 3436 cm^{-1} (breit, OH-Valenzschwingung), 2929 und 2855 (CH-Valenzschwingung von Alkylgruppen) sowie bei 1628 (C=C-Valenzschwingung), welche auf einen Aromaten hinweist. Weitere Banden findet man bei 1451 (CH-Deformationsschwingung von Alkanen), 1331 (OH-Deformationsschwingung) sowie bei 1245 , 1154 und 1061 cm^{-1} . Letztere drei Banden können wie bei Pentaporin A (**87**) auf Sulfatgruppen zurückgeführt werden.

Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Pentaporin B (**88**) (Abbildung 16b und Tabelle 3) zeigt die Signale zweier unterschiedlicher 1,3,5-trisubstituierter Benzolreste, wobei einer der Reste dem Aromaten von Pentaporin A (**87**) ($\delta = 6.19$ und 6.11) und somit einem 5-Alkylresorcin entspricht. Der zweite Benzolring ($\delta = 6.66$, 6.65 und 6.50) weist dagegen ein unsymmetrisches Substitutionsmuster auf. Die übrigen $^1\text{H-NMR}$ -Signale sind bis auf ein zusätzliches Triplett bei $\delta = 2.54$ ($^3J_{\text{HH}} = 7.8\text{ Hz}$) dieselben wie bei **87**. Die Integration der Signale im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum legt nahe, daß die Kohlenstoffkette im Vergleich zu den beiden Aromaten im Molekül zweimal vorliegt.

Das HMBC-Spektrum gibt Hinweise darauf, daß die beiden in Triplets aufspaltenden Methylengruppen (7-H und 7'-H) jeweils mit einem der beiden Aromaten sowie mit dem Rest der Kette verknüpft sind. Bei Pentaporin B (**88**) sollte es sich somit um ein unsymmetrisches Dimer handeln.

Im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum (Abbildung 25a und Tabelle 3) sind 27 Kohlenstoffsignale vorhanden, die über das DEPT(135)-NMR-Spektrum (Abbildung 25b) als fünf quartäre Kohlenstoffatome und fünf aromatische CH-Signale sowie als vier olefinische CH-, zwei aliphatische CH-, zehn CH_2 - und eine CH_3 -Gruppe identifiziert werden können. Der Unterschied zu den Spektren von **87** besteht nur in den zusätzlichen Signalen eines Aromaten und zweier CH_2 -Gruppen.

Im ^1H - ^1H -COSY-Spektrum findet man die eigenständigen Spinsysteme der beiden Aromaten und die zusammenhängenden Signale der zwei Kohlenstoffketten, die bis auf die beiden endständigen CH_2 -Gruppen zusammenfallen.

Tabelle 3. NMR-Daten von Pentaporin B (**88**) (^1H : 600.13 MHz, ^{13}C : 150.9 MHz, $[\text{D}_4]$ Methanol)

^1H	δ_{H} [ppm]	$J_{\text{H,H}}$ [Hz]	^{13}C	δ_{C} [ppm]
			C-1	158.9 (S)
			C-1'	159.2 (S)
2-H (1H)	6.66 (d)	2.3	C-2	107.0 (D)
2'-H (1H)	6.11 (t)	2.1	C-2'	101.0 (D)
			C-3	154.7 (S)
			C-3'	159.2 (S)
4-H (1H)	6.65 (d)	2.3	C-4	113.6 (D)
4'-H (1H)	6.19 (d)	2.1	C-4'	108.0 (D)
			C-5	146.1 (S)
			C-5'	146.4 (S)
6-H (1H)	6.50 (d)	2.3	C-6	113.0 (D)
6'-H (1H)	6.19 (d)	2.1	C-6'	108.0 (D)
7-H (2H)	2.54 (t)	7.8	C-7	36.9 (T)
7'-H (2H)	2.47 (t)	7.9	C-7'	37.0 (T)
8-H (2H), 8'-H (2H)	1.60 (m)		C-8	32.3 (T)
			C-8'	32.4 (T)
9-H (2H), 9'-H (2H)	1.37 (m)		C-9, C-9'	30.5 (T)
10-H (2H), 10'-H (2H)	1.37 (m)		C-10, C-10'	30.3 (T)
11-H (2H), 11'-H (2H)	1.45 (m)		C-11, C-11'	27.5 (T)
12-H _a (1H), 12'-H _a (1H)	1.76 (m)		C-12, C-12'	34.5 (T)
12-H _b (1H), 12'-H _b (1H)	1.67 (m)			
13-H (1H), 13'-H (1H)	2.93 (m)	8.0, 5.8	C-13, C-13'	49.9 (D)
14-H _a (1H), 14'-H _a (1H)	1.99 (ddd)	14.5, 7.9, 5.8	C-14, C-14'	40.2 (T)
14-H _b (1H), 14'-H _b (1H)	1.87 (ddd)	14.5, 8.0, 5.0		
15-H (1H), 15'-H (1H)	4.58 (m)	7.9, 5.0	C-15, C-15'	77.6 (D)
16-H (2H), 16'-H (2H)	2.57 (m)		C-16, C-16'	38.5 (T)
17-H (1H), 17'-H (1H)	5.60 (m)	14.5	C-17, C-17'	127.0 (D)
18-H (1H), 18'-H (1H)	6.10 (m)	14.5, 10.8	C-18, C-18'	135.0 (D)
19-H (1H), 19'-H (1H)	6.05 (m)	14.6, 10.8	C-19, C-19'	132.9 (D)
20-H (1H), 20'-H (1H)	5.61 (m)	14.6, 6.7	C-20, C-20'	128.6 (D)
21-H (3H), 21'-H (3H)	1.73 (d)	6.7	C-21, C-21'	18.2 (Q)

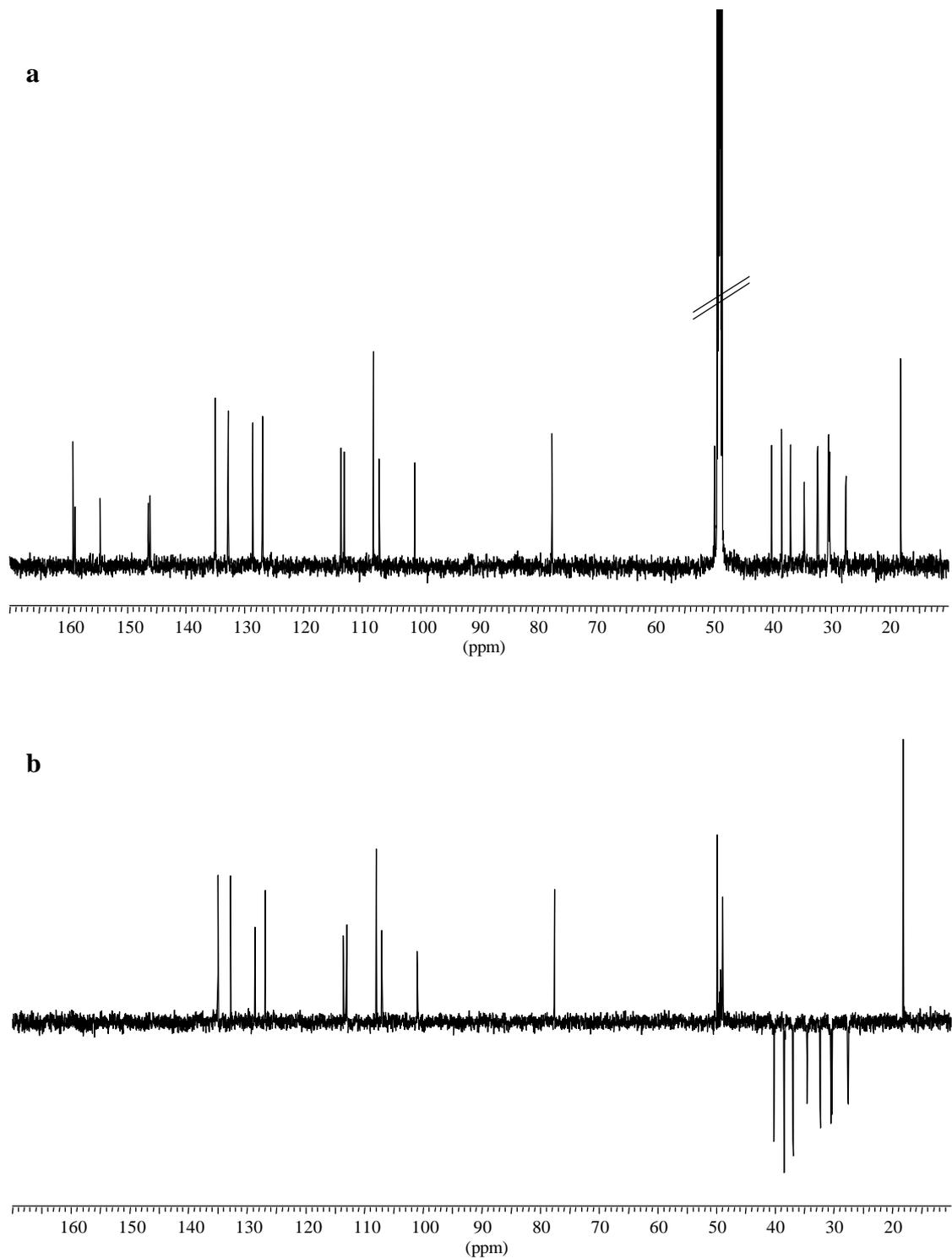


Abbildung 25. **a**: ^{13}C -NMR-Spektrum, **b**: DEPT(135)-NMR-Spektrum von Pentaporin B (**88**) (600.13 MHz, $[\text{D}_4]$ Methanol)

Aufgrund der Übereinstimmung mit den NMR-Daten von Pentaporin A (**87**) kann abgeleitet werden, daß es sich bei einem der Aromaten um 5-Alkylresorcin handelt. Der zweite Aromat ist ebenfalls 1,3,5-trisubstituiert, wobei der Substituent in Position 5 aufgrund der Kopplung im HMBC-Spektrum und aufgrund des Verschiebungswertes ($\delta_C = 146.1$) eine Alkylkette sein muß. Bei einem weiteren Substituenten handelt es sich um eine OH-Gruppe. Dies konnte durch Acetylierung und Methylierung von Pentaporin B (**88**) nachgewiesen werden (Kapitel III, 8.2.3.).

Da die NMR-Daten der Kette von **87** und **88** identisch sind und für **88** durch EDX-Analyse die Anwesenheit von Schwefel nachgewiesen werden konnte, ergibt sich für Pentaporin B (**88**) folgende Partialstruktur (Abbildung 26).

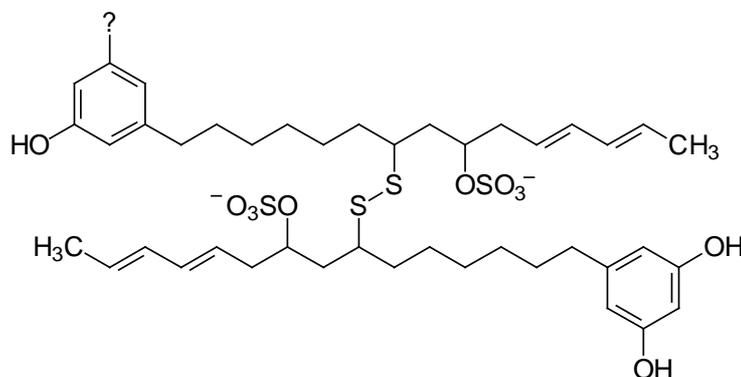
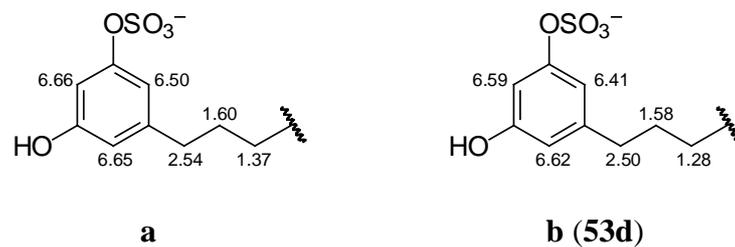


Abbildung 26. Partialstruktur von Pentaporin B (**88**)

Durch Vergleich der NMR-Daten des zweiten Aromaten von **88** mit den Daten der Panosialine wA-wD (**53a-d**)^[103] (Kapitel II, 4.) kann der fehlende Substituent als weitere Sulfatgruppe identifiziert werden (Abbildung 27).

^1H -NMR-Daten:



^{13}C -NMR-Daten:

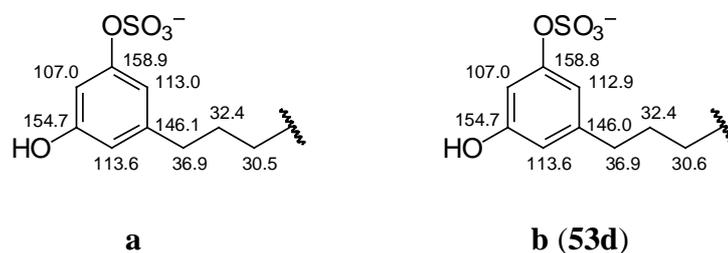
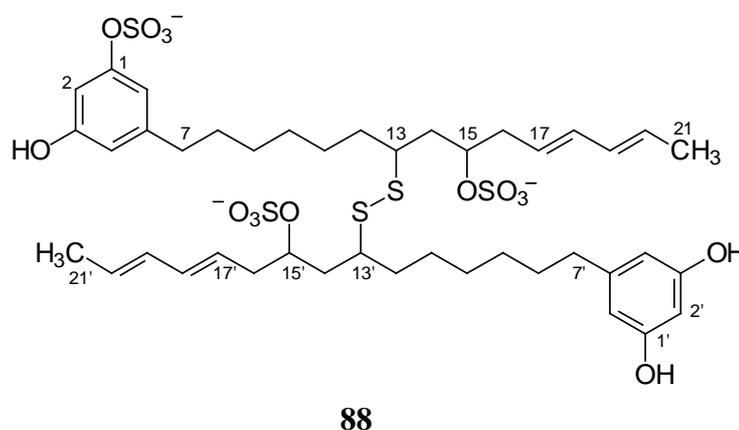


Abbildung 27. Molekülausschnitte mit ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten von **a**: Pentaporin B (**88**) und **b**: Panosialin wD (**53d**)^[103]
(**a**: 600 MHz, $[\text{D}_4]$ Methanol, **b**: MHz nicht angegeben, $[\text{D}_4]$ Methanol)

Durch diese dritte Sulfatgruppe erhält man ein Molekül mit der Summenformel $\text{C}_{42}\text{H}_{59}\text{S}_5\text{O}_{15}$, was mit den Ergebnissen des hochaufgelösten ESI-Massenspektrums übereinstimmt.

Für Pentaporin B ergibt sich somit die Struktur **88**.



8.2.1.3. Pentaporin C (89)

Das ESI-Massenspektrum von **89** zeigt Peaks bei $m/z = 260, 348, 522$ und 1054 . Der Peak $m/z = 1045$ ($[M+3H]^+$) ist nur sehr schwach sichtbar. Die Vergrößerung des Massenspektrums im Bereich des Massenpeaks von $m/z = 522$ zeigt, daß die Schritte zwischen den Peaks der verschiedenen Ionen mit jeweils um eins erhöhter Anzahl an ^{13}C -Atomen um den Wert 0.5 differieren. Der Peak $m/z = 522$ entspricht damit dem Molekülion $[M+2H]^{2+}$, das aufgrund doppelter Ladung ($z = 2$) bei halber Masse detektiert wird. Der Peak bei $m/z = 348$ steht für das Molekülion $[M+H]^{3+}$ mit einem Drittel der Masse bei dreifacher Ladung ($z = 3$). Der Molekülpeak $[M]^{4+}$ wird demzufolge bei $m/z = 260$ beobachtet ($z = 4$).

Für den Molekülpeak $m/z = 1045$ ($[M+3H]^+$) konnte im hochaufgelösten ESI-Massenspektrum die Summenformel $\text{C}_{42}\text{H}_{61}\text{S}_6\text{O}_{18}$ abgeleitet werden. Durch EDX-Analyse konnte wiederum nachgewiesen werden, daß **89** ausschließlich Kohlenstoff, Wasserstoff, Sauerstoff und Schwefel enthält.

Die spektroskopischen Daten von Pentaporin C (**89**) haben große Ähnlichkeit mit denen von Pentaporin A (**87**) und besonders mit denen von Pentaporin B (**88**).

Das UV/VIS-Spektrum von **89** zeigt Absorptionsmaxima bei $202, 222$ und 272 nm.

Das CD-Spektrum weist starke Cotton-Effekte bei $206, 209, 220$ und 233 nm auf. Der Drehwert $[\alpha]_D$ von **89** beträgt -11 .

Im IR-Spektrum von **89** zeigen sich charakteristische Banden bei 3435 cm^{-1} (breit, OH-Valenzschwingung), 2929 und 2855 (CH-Valenzschwingung von Alkylgruppen), 1623 (C=C-Valenzschwingung von Aromaten) sowie 1457 (CH-Deformationsschwingung von Alkanen). Weitere Banden beobachtet man bei $1244, 1153$ und 1057 cm^{-1} , welche sich wie bei Pentaporin A (**87**) und Pentaporin B (**88**) auf Sulfatgruppen zurückführen lassen.

Das ^1H -NMR-Spektrum von Pentaporin C (**89**) (Abbildung 16c und Tabelle 4) zeigt wiederum die Signale eines einzigen 1,3,5-trisubstituierten Benzolrestes, der dem 5-Alkyl-1,3-dihydroxy-1-sulfat-benzol von Pentaporin B (**88**) entspricht. Die übrigen Signale entstammen der mit diesem Aromaten verknüpften Kette, welche mit einer der Ketten von **88** übereinstimmt.

Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind 21 Kohlenstoffsignale vorhanden, die über das DEPT(135)-NMR-Spektrum charakterisiert werden können als drei quartäre Kohlenstoffatome, sieben aromatische bzw. olefinische CH-, zwei aliphatische CH-, acht CH_2 - und eine CH_3 -Gruppe.

Tabelle 4. NMR-Daten von Pentaporin C (**89**) (^1H : 600.13 MHz, ^{13}C : 150.9 MHz, $[\text{D}_4]$ Methanol)

^1H	δ_{H} [ppm]	$J_{\text{H,H}}$ [Hz]	^{13}C	δ_{C} [ppm]
2-H (1H)	6.66 (d)	2.3	C-1	158.9 (S)
			C-2	107.0 (D)
			C-3	154.7 (S)
4-H (1H)	6.65 (d)	2.3	C-4	113.6 (D)
			C-5	146.1 (S)
6-H (1H)	6.50 (d)	2.3	C-6	113.0 (D)
7-H (2H)	2.54 (t)	7.8	C-7	36.9 (T)
8-H (2H)	1.60 (m)		C-8	32.3 (T)
9-H (2H)	1.37 (m)		C-9	30.5 (T)
10-H (2H)	1.37 (m)		C-10	30.3 (T)
11-H (2H)	1.45 (m)		C-11	27.5 (T)
12-H _a (1H)	1.76 (m)		C-12	34.5 (T)
12-H _b (1H)	1.67 (m)			
13-H (1H)	2.93 (m)	8.0, 5.8	C-13	49.9 (D)
14-H _a (1H)	1.99 (ddd)	14.5, 7.9, 5.8	C-14	40.2 (T)
14-H _b (1H)	1.87 (ddd)	14.5, 8.0, 5.0		
15-H (1H)	4.58 (m)	7.9, 5.0	C-15	77.6 (D)
16-H (2H)	2.57 (m)		C-16	38.5 (T)
17-H (1H)	5.60 (m)	14.5	C-17	127.0 (D)
18-H (1H)	6.10 (m)	14.5, 10.8	C-18	135.0 (D)
19-H (1H)	6.05 (m)	14.6, 10.8	C-19	132.9 (D)
20-H (1H)	5.61 (m)	14.6, 6.7	C-20	128.6 (D)
21-H (3H)	1.73 (d)	6.7	C-21	18.2 (Q)

Das ^1H - ^1H -COSY-Spektrum (Abbildung 28) zeigt das Spinsystem des Aromaten und die zusammenhängenden Signale der damit verknüpften Kette.

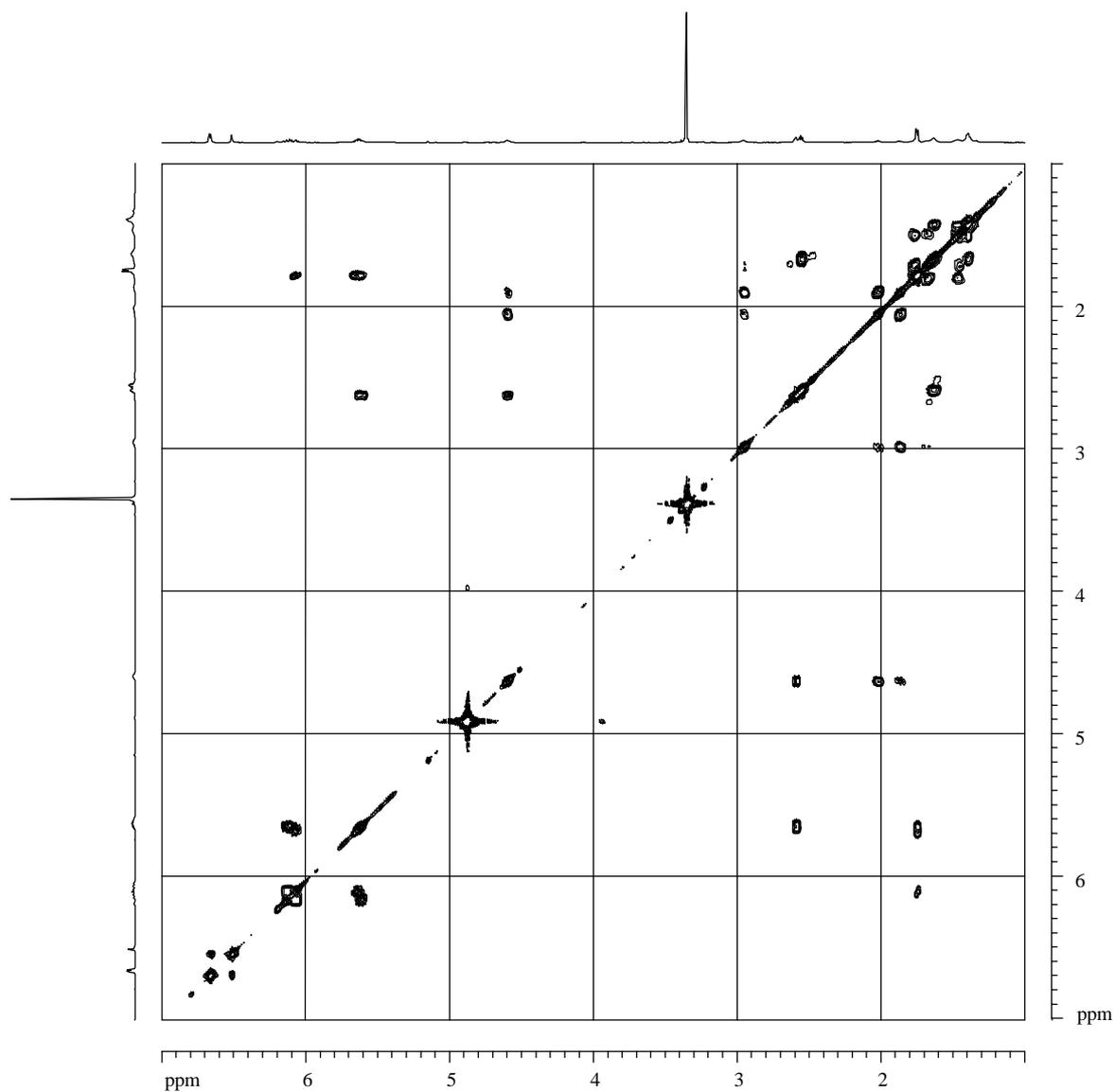
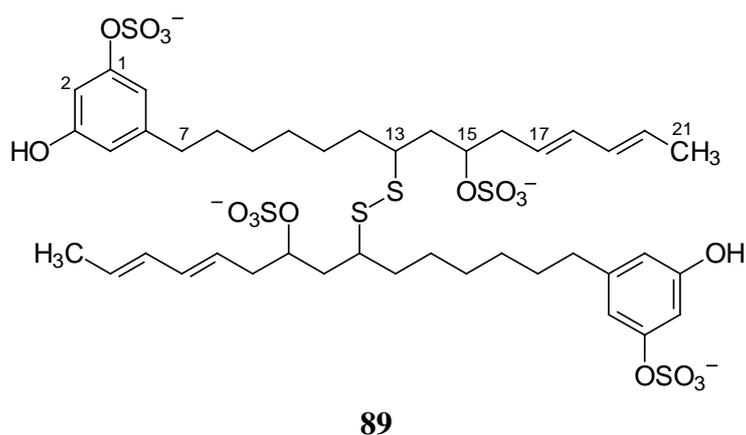


Abbildung 28. ^1H - ^1H -COSY-Spektrum von Pentaporin C (**89**)
(600.13 MHz, $[\text{D}_4]$ Methanol)

Wegen der Übereinstimmung der NMR-Daten von **89** mit den Daten einer der beiden Ketten von **88** kann für Pentaporin C die Struktur **89** abgeleitet werden. Diese dimere Struktur ergibt sich aus der gemäß ESI-Massenspektrum abgeleiteten Molekülmasse.

Durch die vierte Sulfatgruppe ergibt sich ein Molekül mit der Summenformel $C_{42}H_{58}S_6O_{18}$, was mit den Ergebnissen des hochaufgelösten ESI-Massenspektrums übereinstimmt.



8.2.2. Testung der Reinsubstanzen

Die drei Reinsubstanzen Pentaporin A (**87**), B (**88**) und C (**89**) wurden bei der Bayer AG Monheim auf anthelmintische Aktivität getestet. Dabei wurden folgende Ergebnisse erhalten (Tabelle 5):

Tabelle 5. Testung von Pentaporin A (**87**), B (**88**) und C (**89**)
auf anthelmintische Aktivität bei der Bayer AG Monheim

	Aktivität gegen:	
	<i>Trichinella spiralis</i>	<i>Nippostrongylus brasiliensis</i>
Pentaporin A (87)	++	+
Pentaporin B (88)	++	
Pentaporin C (89)	++	+

+: Aktivität, ++: starke Aktivität

Bei diesen Tests handelte es sich um *in vitro* Tests an in Petrischalen gehaltenen Nematoden. Ein *in vivo* Test wurde an einer mit Nematoden infizierten Maus durchgeführt, wobei die zu testende Substanz intraperitoneal injiziert wurde. Da für einen solchen Test, der immer an mehreren Versuchstieren und mit verschiedenen Wirkstoffkonzentrationen durchgeführt wird, mindestens 20 mg Reinsubstanz benötigt werden, konnte er nur mit Pentaporin B (**88**) durchgeführt werden.

88 zeigte *in vivo* keine Aktivität, was daran liegen könnte, daß die Verbindung in der Maus inaktiviert wird, bevor sie an den Nematoden wirken kann oder daß die Verbindung nicht zu den Nematoden gelangt oder daß sie nicht in ausreichender Konzentration appliziert wurde.

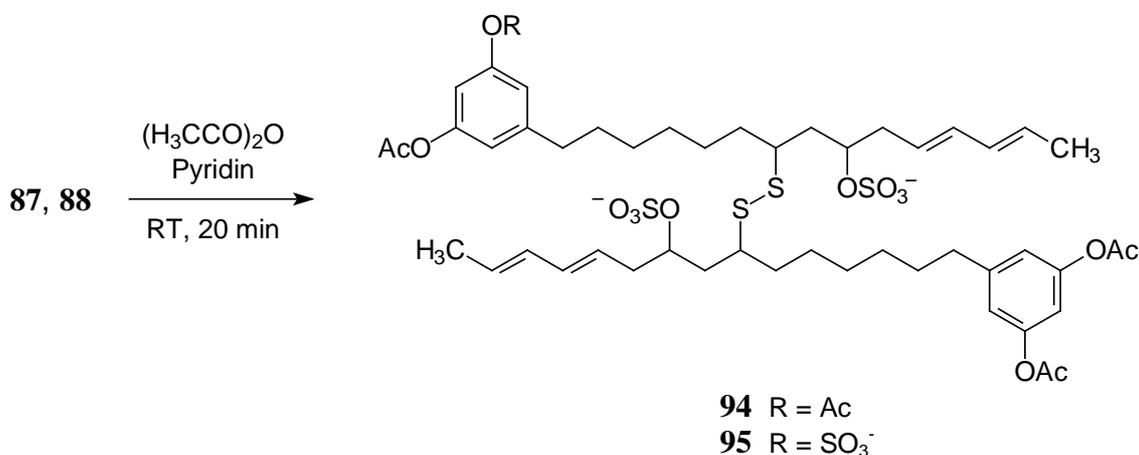
Weitere Tests wurden mit den drei Verbindungen nicht durchgeführt. Da aber andere Naturstoffe mit Sulfatgruppen bei verschiedenen Targets aktiv sind (Kapitel II, 4.), ist anzunehmen, daß die Pentaporine Wirksamkeit besitzen, die über die anthelmintische *in vitro* Aktivität hinausgeht.

8.2.3. Derivatisierungen

Im Zuge der Strukturaufklärung und der Strukturbestätigung wurden von Pentaporin A (**87**), vor allem aber von Pentaporin B (**88**) verschiedene Derivate dargestellt.

8.2.3.1. Acetylierung

Der Nachweis der aromatischen OH-Gruppen sowie die Ermittlung von deren Anzahl erfolgte durch Acetylierung von Pentaporin A (**87**) und B (**88**). Sie gelang in quantitativer Ausbeute durch Umsetzung mit Essigsäureanhydrid und Pyridin (Schema 14).^[173] In den ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren der Acetylierungsprodukte zeigt sich deutlich ein Acetylierungsshift gegenüber den ursprünglichen Spektren. Durch Integration der Methylprotonen der Acetatreste kann die Anzahl der Acetatreste und somit der OH-Gruppen bestimmt werden.



Schema 14. Acetylierung von Pentaporin A (**87**) und B (**88**)

Beim Acetylierungsprodukt von Pentaporin A (**94**) sind es pro Monomer zwei Acetat- und somit zwei OH-Gruppen, deren NMR-Signale wegen der Symmetrie des Aromaten zusammenfallen.

Im ^1H -NMR-Spektrum des Acetylierungsproduktes von Pentaporin B (**95**) finden sich zwei Signale für die Methylprotonen der Acetatgruppen. Bezogen auf ein Monomer entspricht eines der beiden Signale einer Acetatgruppe, das andere zwei Acetatgruppen. **88** enthält somit drei OH-Gruppen. Der Acetylierungsshift führt im ^{13}C -NMR-Spektrum von **95** zu einer Trennung der Kohlenstoffsignale der CH_2 -Gruppen innerhalb der beiden an die Aromaten gebundenen Alkylketten (Abbildung 29).

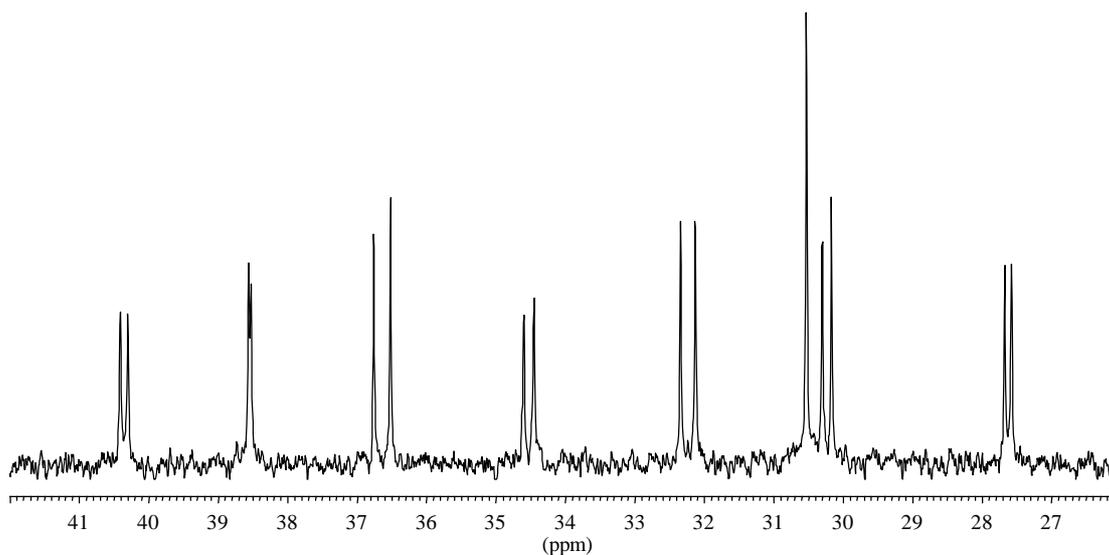
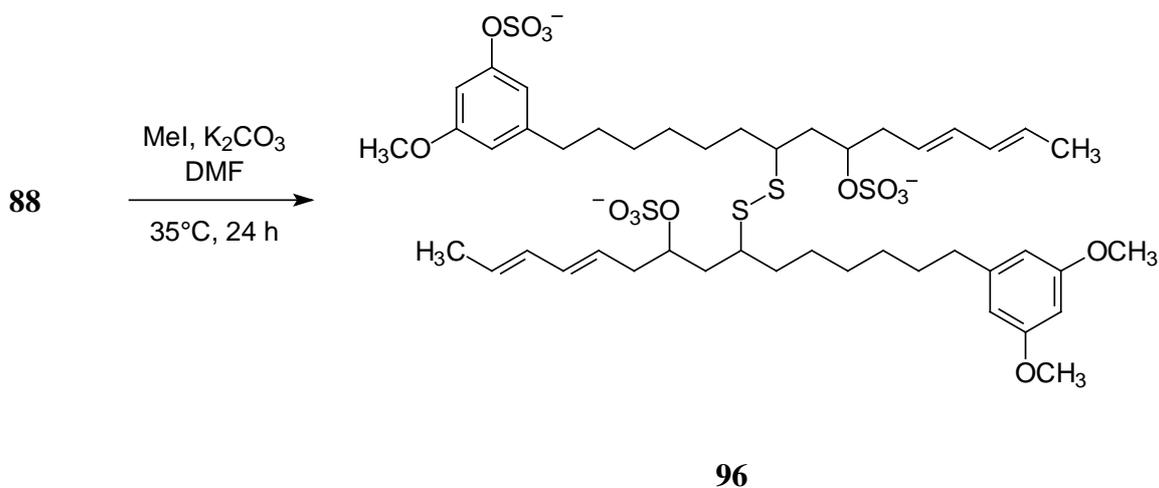


Abbildung 29. Ausschnitt aus dem ^{13}C -NMR-Spektrum des Acetylierungsproduktes **95** (150.9 MHz, $[\text{D}_4]$ Methanol)

8.2.3.2. Methylierung

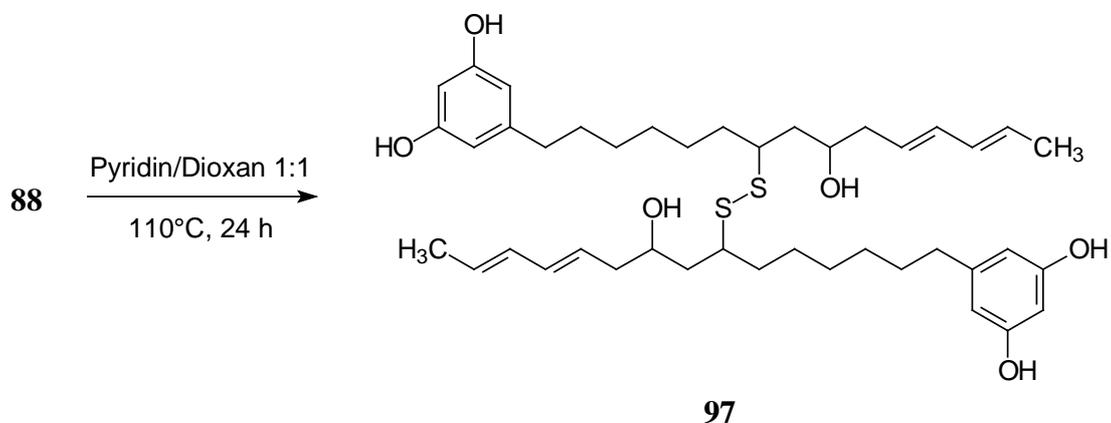
Für die Methylierung wurde Pentaporin B (**88**) mit Methyljodid und Kaliumcarbonat in Dimethylformamid umgesetzt (Schema 15).^[174,175] Durch Integration der Methylprotonen der Methoxygruppen kann ebenfalls die Anzahl der OH-Gruppen bestimmt werden. Im ^1H -NMR-Spektrum des Methylierungsproduktes von Pentaporin B (**96**) finden sich zwei Signale für die Methylprotonen der Methoxygruppen, wovon das eine, bezogen auf ein Monomer, einer Methoxygruppe, das andere zwei Methoxygruppen entspricht.



Schema 15. Methylierung von Pentaporin B (**88**)

8.2.3.3. Solvolyse

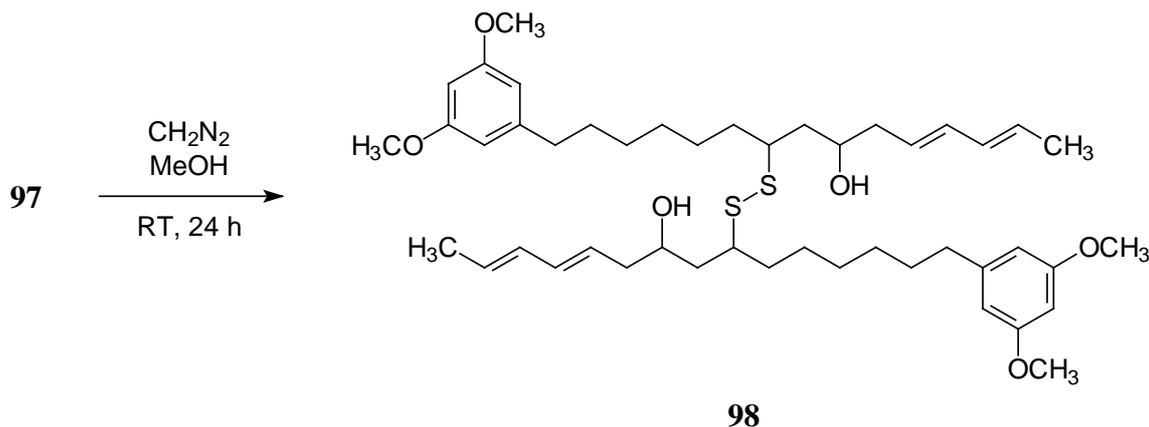
Bei der Entfernung der Sulfatgruppen durch Solvolyse muß darauf geachtet werden, daß die Konfiguration in C-15 von Pentaporin B (**88**) erhalten bleibt. Dies ist durch die Verwendung eines 1:1 Gemisches aus Pyridin und Dioxan gewährleistet (Schema 16).^[176,177] Die Erhaltung der absoluten Konfiguration an den Stereozentren belegt das CD-Spektrum des Solvolyseproduktes **97**, das den gleichen Verlauf aufweist wie die Ausgangsverbindung **88**.



Schema 16. Solvolyse von Pentaporin B (**88**)

8.2.3.4. Methylierung des Solvolyseproduktes

Um gezielt nur die phenolischen OH-Gruppen zu methylieren, wurde das Solvolyseprodukt von Pentaporin B (**97**) mit Diazomethan umgesetzt (Schema 17).^[178,179] Die erhaltene Verbindung **98** ist nun zusätzlich zu Methanol auch in Chloroform löslich.



Schema 17. Methylierung des Solvolyseproduktes **97**

8.2.3.5. Entschwefelung

Eine Entschwefelung von **97** erfolgte unter H_2 -Atmosphäre mit Raney-Nickel in Diethylether.^[180] Die erfolgreiche Umsetzung der Verbindung wurde durch das Verschwinden des ursprünglichen Signals von 13-H im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum nachgewiesen. Nach Entfernen der Disulfidbrücken sollte in jeder Kette eine weitere CH_2 -Gruppe entstanden sein. Bei dieser Reaktion wurde allerdings ein Substanzgemisch erhalten, das wegen der geringen Menge nicht aufgetrennt und näher charakterisiert werden konnte.

8.2.4. Testung von Derivaten

Die beiden Derivate **97** und **98** wurden bei der Bayer AG auf eine anthelmintische Aktivität getestet. Während die Ausgangsverbindung Pentaporin B (**88**) Wirksamkeit gegen den Nematoden *Trichinella spiralis* besitzt, konnte eine solche Aktivität für die Derivate **97** und **98** nicht nachgewiesen werden. Da sich **97** und **98** von **88** darin unterscheiden, daß sie keine Sulfatgruppen besitzen, ist es wahrscheinlich, daß die Sulfatgruppen für die *in vitro* Aktivität von Pentaporin B (**88**) gegen *Trichinella spiralis* mitverantwortlich sind.

8.2.5. Konfiguration

Zur Aufklärung der relativen und absoluten Konfiguration der Positionen 13 und 15 von Pentaporin A (**87**), B (**88**) und C (**89**) wurden mehrere spektroskopische und chemische Methoden angewandt. Bei einer *anti*-Anordnung der beiden Protonen von C-13 und C-15 würde das der Konfiguration (13*R*,15*R*) oder (13*S*,15*S*) entsprechen, bei einer *syn*-Anordnung (13*R*,15*S*) oder (13*S*,15*R*).

Alle Methoden wurden mit Pentaporin B (**88**) durchgeführt, da hiervon am meisten Material zur Verfügung stand. Es wird davon ausgegangen, daß die Konfiguration der zwei Stereozentren in beiden Ketten jeweils gleich ist, da die Signale von 13-H, 14-H_a, 14-H_b und 15-H bei der ¹H-Spektroskopie und bei den Entkopplungsexperimenten exakt zusammenfallen.

8.2.5.1. NMR-Spektroskopie

Durch NMR-Spektroskopie konnten einige Anhaltspunkte zur relativen Konfiguration gewonnen werden.

Die Protonen der CH₂-Gruppe zwischen den beiden Stereozentren C-13 und C-15 zeigen eine starke diastereotope Aufspaltung ($\delta = 1.99$ und 1.87) (Abbildung 16). Die einzelnen Kopplungskonstanten der vier Signale 13-H, 14-H_a, 14-H_b und 15-H konnten durch

Entkopplungsexperimente, bei denen jeweils auf eines dieser vier Protonensignale selektiv eingestrahlt wurde, ermittelt werden. Die geminale Kopplungskonstante $^2J_{\text{H,H}}$ beträgt für die Protonen 14- H_a und 14- H_b zueinander 14.5 Hz. Die vicinalen Kopplungskonstanten $^3J_{\text{H,H}}$ sind sowohl von 14- H_a als auch von 14- H_b zu 13-H und 15-H unterschiedlich groß. Sie betragen für 14- H_a 5.8 Hz zu 13-H und 7.9 Hz zu 15-H sowie für 14- H_b 8.0 Hz zu 13-H und 5.0 Hz zu 15-H (Abbildung 30).

Die $^3J_{\text{H,H}}$ -Kopplung hängt außer von Substituenteneinflüssen vor allem von Parametern des Molekülbaus wie Bindungslänge, Bindungswinkel und Torsionswinkel ab.^[181] Daher ist davon auszugehen, daß 14- H_a und 14- H_b auf unterschiedlichen Seiten einer durch die Atome C-13, C-14 und C-15 festgelegten Ebene liegen. Dies könnte für eine *anti*-Anordnung der Substituenten an C-13 und C-15 sprechen. Bei einer *syn*-Anordnung müßten beide Enden der Kohlenstoffkette auf der gleichen Seite der erwähnten Ebene liegen, um zu identischen Verhältnissen bei den Kopplungskonstanten zu gelangen.

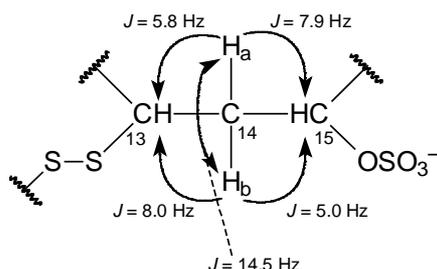


Abbildung 30. Molekülausschnitt von Pentaporin B (**88**) mit Kopplungskonstanten zwischen 13-H, 14- H_a , 14- H_b und 15-H

8.2.5.2. VCD-Spektroskopie

Als weitere spektroskopische Methode zur Bestimmung der absoluten Konfiguration von Pentaporin B (**88**) wurde eine VCD (Vibrational Circular Dichroism)-Messung durchgeführt und das gemessene VCD-Spektrum mit berechneten VCD-Spektren, die durch *ab initio*-Rechnungen erhalten werden, verglichen.

Die Tatsache, daß **88** trotz der vier stereogenen Zentren keine VCD-Aktivität zeigt, läßt darauf schließen, daß infolge konformativer Flexibilität eine Auslöschung der VCD-Banden erfolgt.

8.2.5.3. Mosher-Methode

Mit Hilfe der Mosher-Methode kann die absolute Konfiguration von sekundären Alkoholen bestimmt werden,^[182-184] indem sie mit (*R*)- und (*S*)-MTPA (2-Methoxy-2-phenyl-2-(trifluormethyl)essigsäure) verestert und ¹H-NMR-spektroskopisch untersucht werden.

Die Anwendung der Methode auf Pentaparin B (**88**) erfordert zunächst die Darstellung eines entsprechenden Derivates. Geeignet scheint in diesem Zusammenhang das Methylierungsderivat **98**, das an C-15 eine sekundäre Alkoholfunktion besitzt. Trotz mehrerer Versuche und einer Reaktionszeit von bis zu einigen Tagen gelang keine Umsetzung. Dies könnte daran liegen, daß die OH-Gruppe durch die zweite Kohlenstoffkette an der Disulfidbrücke sterisch stark abgeschirmt ist.

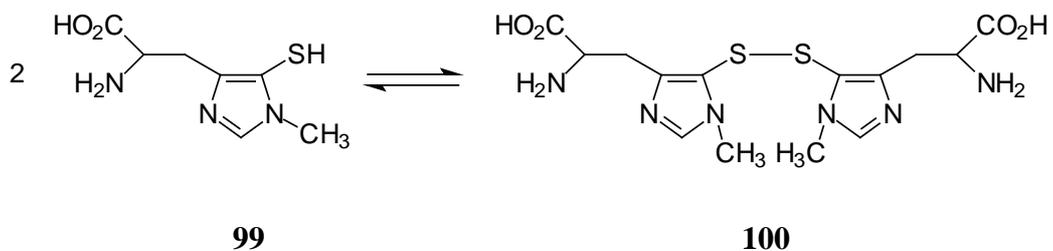
8.2.5.4. Exiton-Chiralitäts-Methode

Um die von NAKANISHI^[185] entwickelte Exiton-Chiralitäts-Methode anwenden zu können, bedarf es eines Derivats mit zwei geeigneten Chromophoren in chiraler Umgebung. Günstig wäre ein 1,3-Dibenzoat-System, aus dessen CD-Spektrum direkt die absolute Konfiguration abgeleitet werden kann.^[186] Während die OH-Gruppe in C-15 des Derivates **98** direkt mit *p*-Brombenzoylchlorid zum Benzoat umgesetzt werden könnte, würde die Einführung einer zweiten Benzoat-Einheit in C-13 die Spaltung des Disulfides zum Thiol und anschließende Umsetzung mit *p*-Brombenzoylchlorid erfordern.

Für eine Disulfid-Spaltung wurden die Reduktionsmittel NaBH₄,^[187,188] LiAlH₄,^[189,190] Formamidinsulfinsäure,^[191,192] Zink/Säure^[193,194] und Dithiothreitol^[195-197] eingesetzt. Es konnten weder das Thiol noch ein Abfangprodukt bei gleichzeitigem Einsatz von Methyljodid oder *p*-Brombenzoylchlorid erhalten werden.

Eine mögliche Ursache hierfür stellt die Tatsache dar, daß Disulfide, welche in der Umgebung der Disulfidbrücke verzweigt und sterisch gehindert sind, generell schwer reduzierbar sind. Darüber hinaus gestaltet sich die Spaltung umso schwieriger, je höher das Molekulargewicht eines Disulfides ist.^[189]

Auch eine sehr leicht ablaufende und spontane Reoxidation nach vollzogener Spaltung ist vorstellbar, wie von anderen Naturstoffen mit einer Disulfidbrücke bekannt ist. Als Beispiel hierfür sei Ovothiol (**99**) angeführt, eine schwefelhaltige Aminosäure aus Seeegelleiern, die vor allem als Ovothiol-Disulfid (**100**) isoliert wird. Nach einer Spaltung mit NaBH₄ reoxidiert die Verbindung an Luft spontan zum Disulfid.^[198] Ovothiol soll ähnlich wie Glutathion Bedeutung als Oxidationsschutzsubstanz und Puffersystem für den Redox-Zustand von Zellen besitzen.^[198,199]

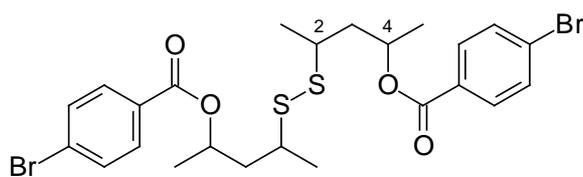
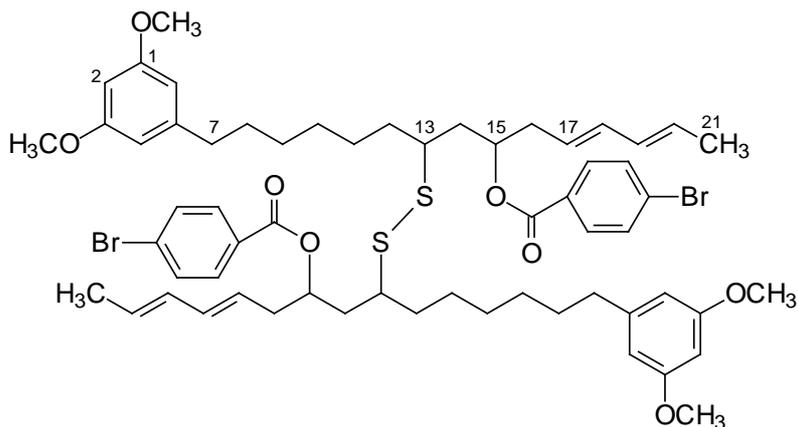


8.2.5.5. Ausblick

Ein neuer Ansatz für die Aufklärung der absoluten Konfiguration von Pentaporin A (**87**), B (**88**) und C (**89**) könnte die Synthese geeigneter Vergleichsverbindungen für die CD-Spektroskopie sein.

Dafür käme beispielsweise Verbindung **101** in Frage, welche als Chromophore die Disulfideinheit und das *p*-Brombenzoat enthält und in den vier möglichen Konfigurationen (*2R,4R*), (*2R,4S*), (*2S,4R*) und (*2S,4S*) synthetisiert werden müßte.

Für den CD-Vergleich müßte das Methylierungsprodukt **98** des Naturstoffs mit *p*-Brombenzoylchlorid umgesetzt werden, um das sterisch anspruchsvolle Bis-benzoat **102** zu erhalten.

**101****102**

IV. EXPERIMENTELLER TEIL

9. Geräte, Materialien und allgemeine Arbeitsmethoden

Die **NMR-Spektren** wurden mit dem Spektrometer Bruker AMX2-600 bei 300K aufgenommen. Die chemische Verschiebung δ der Signale wird in ppm angegeben. Das Lösungsmittelsignal dient dabei als interner Standard {[D₄]Methanol und [D₄]Methanol/CDCl₃ 1:1 (v/v): $\delta_{\text{H}} = 3.35$, $\delta_{\text{C}} = 49.0$; CDCl₃: $\delta_{\text{H}} = 7.24$, $\delta_{\text{C}} = 77.0$ }. Lösungsmittel und Meßfrequenz sind jeweils angezeigt. Die Kopplungskonstanten nJ über n Bindungen werden in Hz, die Multiplizitäten der Signale wie folgt angegeben: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet), q (Quartett), m (Multipllett), br (breit). (¹H, ¹³C)-Direktkopplungen werden mit Großbuchstaben gekennzeichnet.

Die Messung der **EI-Massenspektren** wurde an einem Finnigan MAT95Q Sektorfeld-Quadropol Hybridgerät und einem Finnigan MAT90 Sektorfeldgerät bei einer Quellentemperatur von 200 bis 300°C und einer Ionisierungsenergie von 70 eV durchgeführt. Die Probenaufnahme erfolgte mittels Direktinsertion, die Aufheizung der Proben auf einem Aluminiumfaden von 20 bis 1600°C mit einer Rate von 120°C/min. Angegeben werden die Massenzahlen m/z der Peaks mit mehr als 3% Intensität bezogen auf den Basispeak sowie die relativen Intensitäten in %. Bei hochaufgelösten Massenspektren (HREI-MS) werden berechnete und gefundene Massen aufgeführt.

Die **ESI-Massenspektren** wurden mit dem Finnigan MAT95Q Sektorfeld-Quadropol Hybridgerät an einem API-Interface II mit ESI-Kopf (Finnigan) bei einer Spraykapillarenspannung von 2.5 kV und einer Heizerkapillarentemperatur von 250°C aufgenommen. Die Probenaufgabe erfolgte über eine 2 cm C18 Vorsäule als Lösung in Methanol/Wasser 9:1 (v/v) (0.1% Ameisensäure) mit einer Flußrate von 100 µl/min mittels Flußinjektionsanalyse (FIA). Angegeben werden die Massenzahlen m/z der Peaks. Bei hochaufgelösten Massenspektren (HRESI-MS) werden die berechneten und gefundenen Massen aufgeführt.

Die Aufnahme der **IR-Spektren** erfolgte mit einem Perkin-Elmer Spectrum 1000 Spectrophotometer. Die Substanzen wurden als KBr-Preßlinge oder als Film auf KBr-Platten vermessen. Angegeben sind die Wellenzahlen $\tilde{\nu}$ in cm^{-1} und die Intensitäten der Banden als vs (sehr stark), s (stark), m (mittel) w (schwach) und br (breit).

Die **UV/VIS-Spektren** wurden mit einem Perkin-Elmer Lambda 16 Spectrometer in Standard-Quarzküvetten bei Raumtemperatur gemessen. Angegeben werden das verwendete Lösungsmittel, die Wellenlängen λ der Absorptionsmaxima in nm sowie die zugehörigen dekadischen Logarithmen der Extinktionskoeffizienten ϵ .

Die Messung der **CD-Spektren** wurde mit dem Gerät Instruments S. A. Jobin Yvon CD 6 Dichrograph in cyclischen Quarzküvetten bei Raumtemperatur durchgeführt. Angegeben werden das verwendete Lösungsmittel, die Wellenlängen λ der Maxima und Minima der CD-Kurve in nm sowie deren differentielle Absorbanz $\Delta\epsilon$.

Die **Drehwerte** wurden mit einem Perkin-Elmer Polarimeter 241 in einer 10 cm Küvette bei 589 nm (Natrium-D-Linie) und Raumtemperatur gemessen. Das Lösungsmittel und die Konzentration der Probe sind jeweils angegeben.

Schmelzpunkte wurden mit einem Büchi Melting Point B-540 Apparat gemessen. Die angegebenen Werte sind nicht korrigiert.

Analytische Dünnschichtchromatographie wurde auf DC-Aluminiumfolien Kieselgel 60 F₂₅₄ der Schichtdicke 0.2 mm (Fa. Merck) durchgeführt. Folgende Laufmittelsysteme wurden verwendet:

System 1: Benzol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10:5:3 (v/v/v)

System 2: *n*-Butanol/Eisessig/Wasser 5:4:1 (v/v/v), Verwendung der oberen Phase

Die Detektion der Banden erfolgte bei Tageslicht und UV-Licht der Wellenlängen 254 nm und 366 nm sowie durch Anfärben der Banden mit Iod-Dampf, Dragendorff-Reaktionslösung, Ninhydrin- oder Echtblausalz-Reaktionslösung. Angegeben werden der R_f -Wert und das verwendete Laufmittelsystem.

Analytische HPLC wurde an einer Anlage der Fa. Bruker mit folgenden Spezifikationen durchgeführt: Pumpe LC22 mit Gradientenformer LC225, Rheodyne-Injektionsventil, Transputer-Integriertes-Dioden-Array-Spektrometer (TIDAS) mit Spectralys 1.50-Software (Fa. J&M Analytische Meß- und Regeltechnik) als Detektor, Bruker AMX2-600 Spektrometer mit Durchflußzelle als Detektor (HPLC-NMR-Kombination), Hystar-Software (Version 1.2).

Detektoreinstellungen: Spektrale Auflösung: 2 nm, Scan Intervall: 2 s.

Detektionswellenlänge: 360 nm (Chrysophysarin A), 220 nm (Pentaporin A, B und C)

Säulenmaterial: C₁₈ ProntoSil Eurobond, 5 µm Korngröße (Fa. Bischoff)

Säulendimension: 250 × 4 mm (ID)

Eluenten: Gradienten aus Acetonitril und Wasser mit jeweils 0.1% TFA

Flußrate: 1 ml/min

Gradient, Laufzeit und Retentionszeit R_t sind jeweils angegeben.

Säulenchromatographie: Sephadex LH-20 (Fa. Pharmacia, Fa. Fluka) mit Methanol oder Methanol/Chloroform 1:1 (v/v) als Eluenten.

Die **EDX-Analysen** wurde von Herrn Prof. Dr. Gerhard Wanner am Institut für Botanik der Universität München durchgeführt. Die Messungen erfolgten in einem Feldemissions-Rasterelektronenmikroskop (Hitachi S-4100) mit einem Vantage EDX-Analysensystem (Noran Instruments) bei einer Beschleunigungsspannung von 15 kV. Geringe Mengen der Proben wurden in Methanol gelöst, auf eine Melinex® Folie (DuPont) getropft und diese nach dem Trocknen auf Aluminium-Objektträger aufgebracht.

Allgemeine Arbeitsmethoden: Alle Reaktionen wurden nach den für ein präparativ organisch-chemisches Laboratorium üblichen Methoden durchgeführt.

Reagenzien, Lösungsmittel: Reagenzien und Lösungsmittel wurden von den Firmen Acros, Aldrich, Fluka, Lancaster, Merck und Sigma bezogen. Lösungsmittel für Extraktion und Chromatographie wurden durch Destillation gereinigt.

10. Kulturbedingungen für *Physarum polycephalum*

Suspensionskulturen (Mikroplasmodien) bzw. Spherulen eines gelben Wildtyp-Stammes von *Physarum polycephalum* wurden von Herrn Dr. Wolfgang Marwan (Universität Freiburg) zur Verfügung gestellt.

10.1. Stammhaltung

Die Mikroplasmodien der gelben Wildtyp-Zelllinie von *Physarum polycephalum* wurden in folgendem Stammhaltungsmedium (Tabelle 6) nach DANIEL und BALDWIN^[143] unter axenischen Bedingungen in Kultur gehalten.

Die Flüssigkulturen wurden bei $22 \pm 1^\circ\text{C}$ auf einem Schüttler (Fa. New Brunswick Scientific) bei 150 rpm im Dunkeln inkubiert. Dabei wurden zur Stammhaltung 250 ml Erlenmeyer-Kolben mit jeweils 100 ml Stammhaltungsmedium verwendet. 2 ml der Flüssigkultur (Inokulum) wurden alle 7 Tage in frischem Medium subkultiviert.

Tabelle 6. Stammhaltungsmedium^[143,a]

	Menge (g/l)
Trypton	10.0
Hefeextrakt	1.5
Glucose \times H ₂ O	11.0
KH ₂ PO ₄	2.0
MgSO ₄	0.6
FeCl ₂ \times 4 H ₂ O	0.06
MnCl ₂ \times 4 H ₂ O	0.084
ZnSO ₄ \times 7 H ₂ O	0.034
CaCl ₂	0.6
Zitronensäure \times H ₂ O	3.54
Hämoglobin-Lösung ^[b]	10.0 ml/l

^[a] pH mit 6 M NaOH auf 4.60 einstellen, 30 min bei 1 atü und 120°C autoklavieren.

^[b] Hämoglobin-Lösung: 1.3 g Rinderhämoglobin und 1.0 g NaOH in 100 ml destilliertem Wasser lösen. Getrennt autoklavieren. Vor dem Animpfen der Flüssigkultur steril zugeben.

10.2. Großproduktion und Ernte

Für die Großproduktion der Mikroplasmodien wurden zusätzlich zur Stammhaltung 500 ml bzw. 1 l Erlenmeyer-Kolben mit je 200 ml bzw. 400 ml Medium (Tabelle 6) eingesetzt. Um eine höhere Zelldichte zu erreichen, wurden 6 ml Kultur pro 100 ml frischem Medium als Inokulum verwendet.

Zur Ernte ließ man die Flüssigkulturen absetzen, dekantierte den Überstand und zentrifugierte den Rückstand bei 2000 g für 5-10 min (Heraeus Instruments Varifuge 3.0 RS). Die Pellets wurden einmal in ISHIDA-Waschlösung^[200] [1 mM $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ /10 mM Glucose] resuspendiert und erneut bei 2000 g 10 min zentrifugiert. Bis zur späteren Extraktion wurden die Pellets bei -30°C aufbewahrt.

10.3. Verfütterung markierter Vorläufer-Moleküle

Für die Biosyntheseuntersuchungen wurden dem Standardmedium (Tabelle 6) vor dem Autoklavieren (2- ^{13}C)-Natriumacetat bzw. ($^{13}\text{C}_2\text{-d}_3$)-Natriumacetat zugesetzt. Die Konzentration betrug dabei 50 mg Acetat pro 100 ml Medium. Die Verimpfung erfolgte über 3 oder 5 Cyclen in 3 bis 5 Parallelen. Aufgrund des Acetatzusatzes hatte das verwendete Kulturmedium abweichend von den Standardbedingungen (Tabelle 6) einen pH-Wert von 4.75.

11. Chrysophysarin A (64)

11.1. Isolierung

Wegen der hohen Lichtempfindlichkeit der Plasmodienfarbstoffe von *Physarum polycephalum* wurden alle Schritte der Extraktion und Chromatographie unter Lichtausschluß durchgeführt.

Die Biofeuchtmasse (z.B. 250 g) wurde mit einem Gemisch aus Aceton/Methanol/Chloroform/Essigsäureethylester 3:2:1:1 (v/v/v/v) in einem Mixer bei Raumtemperatur erschöpfend extrahiert (4×1000 ml) und über einen Büchnertrichter mit Celite als Filterhilfsmittel abfiltriert. Anschließend wurde das Lösungsmittel der vereinigten Extrakte am Rotationsverdampfer abgezogen. Zur Entfernung lipider Bestandteile wurde der resultierende ölige dunkelbraune Rohextrakt (5.5 g) zwischen 200 ml Methanol/Wasser 9:1 (v/v) und *n*-Hexan (3×100 ml) verteilt. Die vereinigten *n*-Hexan-Phasen wurden einmal mit Methanol/Wasser 9:1 (v/v) (100 ml) gewaschen. Alle Methanol/Wasser-Phasen wurden zusammengefaßt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, ebenso wurde mit den *n*-Hexan-Phasen verfahren (800 mg *n*-Hexan-Extrakt).

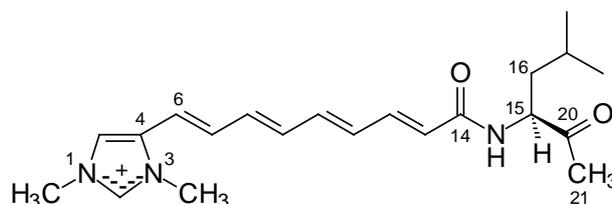
Der Rückstand der Methanol/Wasser-Phase wurde in 200 ml Wasser gelöst und Chloroform (3×100 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden einmal mit Wasser (100 ml) gewaschen und das Lösungsmittel abgezogen (337 mg Chloroform-Extrakt).

Die vereinigten wässrigen Phasen wurden mit Essigsäureethylester (3×100 ml) extrahiert und einmal mit Wasser (100 ml) gewaschen. Nach Entfernung des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurden 135 mg Ethylacetat-Extrakt erhalten.

Chromatographie [80 cm \times 6 cm (ID)] des Chloroform-Extraktes an Sephadex LH-20 bei 4°C im Dunkeln mit Methanol als Eluenten lieferte neben den bereits bekannten Inhaltsstoffen Physarorubinsäure A (**61a**) und B (**61b**) und Polycephalin B (**62a**) und C (**62b**) den neuen Plasmodienfarbstoff Chrysophysarin A (**64**). Durch erneute Chromatographie an Sephadex LH-20 [85 cm \times 3.5 cm (ID)] wurde Chrysophysarin A (**64**) sauber erhalten.

Für Biosyntheseuntersuchungen wurde Physarochrom A (**60**) aus der Ethylacetat-Phase in gleicher Weise durch Chromatographie (Sephadex LH-20 [80 cm × 6 cm (ID)] und [85 cm × 3.5 cm (ID)], Methanol) isoliert.

11.2. Chrysophysarin A (**64**)



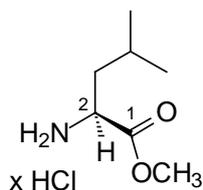
64

Ausbeute	26 mg (0.00104 ‰ bezogen auf BFM), goldgelber Feststoff.				
Isolierung	Aus 250 g BFM nach Chromatographie des Chloroform-Extraktes (337 mg).				
C ₂₁ H ₃₀ N ₃ O ₂	ber.	356.2338	gef.	356.2327	[M ⁺] (HRESI-MS)
ESI-MS	<i>m/z</i> = 357.4 [M + H] ⁺ , 356.3 [M] ⁺ .				
DC	<i>R_f</i> = 0.12 (System 1).				
HPLC	<i>R_t</i> = 10.98 min (von 30% auf 90% Acetonitril in 40 min).				
UV/VIS	(Methanol): λ _{max} (lg ε) = 263 nm (6.49), 341 (7.00), 355 (7.08), 373 (6.96).				
CD	(Methanol): λ _{max} (Δε) = 210 nm (−0.50), 226 (+0.04), 250 (−0.16), 297 (+0.03).				
IR	(KBr): ν̄ = 3401 cm ^{−1} (s), 2923 (s), 2852 (m), 1711 (w), 1620 (s), 1467 (m), 1396 (m), 1017 (w), 951 (w).				
Drehwert	[α] _D = +2.7 (<i>c</i> = 0.0088 in CHCl ₃).				
¹ H-NMR	{[D ₄]Methanol/CDCl ₃ 1:1 (v/v), 600.28 MHz}. s. Tabelle 1. (S. 44)				
¹³ C-NMR	{[D ₄]Methanol/CDCl ₃ 1:1 (v/v), 150.9 MHz}. s. Tabelle 1. (S. 44)				

11.3. Synthese von *N*-(3,3-Dimethylacryloyl)-*L*-leucinmethylester (69) und *N*-(3,3-Dimethylacryloyl)-*D*-leucinmethylester (72)

L-Leucinmethylester-Hydrochlorid (68)

5.0 g (38.1 mmol) L-Leucin (67) wurden in 50 ml absolutem Methanol gelöst und auf -10°C abgekühlt. Unter Rühren wurden langsam 10 ml (138 mmol) Thionylchlorid zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur erwärmt und weitere 24 h gerührt. Nach Abziehen des Lösungsmittels wurde aus Ether umkristallisiert.^[149]

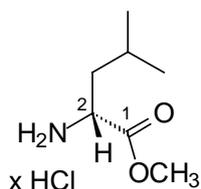


68

Ausbeute	5.7 g (31.4 mmol, 82%), weißer Feststoff
Schmp.	148°C
EI-MS	m/z (%) = 146 (0.1) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 145 (0.03) $[\text{M}]^+$, 88 (22), 87 (5), 86 (100), 74 (3), 70 (4), 56 (3), 44 (49), 43 (21), 42 (7), 41 (12), 39 (5), 38 (4), 36 (12), 35 (3).
EI-MS	für m/z = 145.1 (Bibliothekssuche in Mainlib erfolgreich)
Drehwert	$[\alpha]_{\text{D}} = +13.1$ ($c = 0.0049$ in CHCl_3).
$^1\text{H-NMR}$	{ $[\text{D}_4]$ Methanol/ CDCl_3 1:1 (v/v), 600.13 MHz}: $\delta = 1.01$ (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, 6-H), 1.02 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$ Hz, 3 H, 5-H), 1.74 (m, 2 H, 3-H), 1.81 (m, 1 H, 4-H), 3.86 (s, 3 H, - OCH_3), 3.97 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7.1$ Hz, 1 H, 2-H), 8.58 (br, 3 H, - NH_3^+).
$^{13}\text{C-NMR}$	{ $[\text{D}_4]$ Methanol/ CDCl_3 1:1 (v/v), 150.9 MHz}: $\delta = 22.3$ (C-6), 22.4 (C-5), 25.0 (C-4), 40.1 (C-3), 51.9 (- OCH_3), 53.5 (C-2), 170.7 (C-1).
$\text{C}_7\text{H}_{15}\text{NO}_2 \times \text{HCl}$	$M = 145.2$ g/mol $\times \text{HCl}$

D-Leucinmethylester-Hydrochlorid (71)

Die Darstellung erfolgte analog zu L-Leucinmethylester-Hydrochlorid (**68**) mit 5.0 g D-Leucin (**70**).

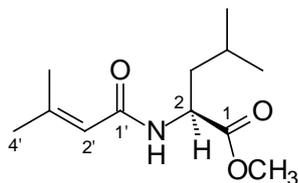
**71**

Ausbeute	5.8 g (31.9 mmol, 84%), weißer Feststoff
Schmp.	148°C
EI-MS	m/z (%) = 146 (0.1) $[M+H]^+$, 145 (0.02) $[M]^+$, 88 (25), 87 (6), 86 (100), 74 (3), 70 (9), 60 (5), 59 (4), 56 (7), 44 (69), 43 (40), 42 (21), 41 (24), 38 (3), 36 (10), 35 (4).
EI-MS	für m/z = 145.1 (Bibliothekssuche in Mainlib erfolgreich)
Drehwert	$[\alpha]_D = -13.3$ ($c = 0.0055$ in $CHCl_3$).
1H -NMR	{ $[D_4]$ Methanol/ $CDCl_3$ 1:1 (v/v), 600.13 MHz}: $\delta = 1.01$ (d, $^3J_{H,H} = 6.5$ Hz, 6-H), 1.02 (d, $^3J_{H,H} = 6.5$ Hz, 3 H, 5-H), 1.74 (m, 2 H, 3-H), 1.81 (m, 1 H, 4-H), 3.86 (s, 3 H, -OCH ₃), 3.97 (t, $^3J_{H,H} = 7.1$ Hz, 1 H, 2-H), 8.56 (br, 3 H, -NH ₃ ⁺).
^{13}C -NMR	{ $[D_4]$ Methanol/ $CDCl_3$ 1:1 (v/v), 150.9 MHz}: $\delta = 22.2$ (C-6), 22.3 (C-5), 25.0 (C-4), 40.1 (C-3), 51.9 (-OCH ₃), 53.4 (C-2), 170.7 (C-1).
$C_7H_{15}NO_2 \times HCl$	$M = 145.2$ g/mol $\times HCl$

N-(3,3-Dimethylacryloyl)-L-leucinmethylester (69)

Zu einer Lösung von 500 mg (2.75 mmol) L-Leucinmethylester-Hydrochlorid (**68**) in 20 ml absolutem Pyridin wurden unter Kühlung auf 0°C 0.5 ml (4.13 mmol) 3,3-Dimethylacryloylchlorid zugegeben und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung in 50 ml Wasser gegossen und mit Ethylacetat (3 × 50 ml)

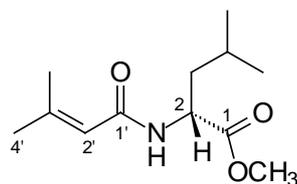
extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mehrmals mit Wasser, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung (pH = 8), gesättigter Zitronensäure-Lösung (pH = 3) und gesättigter Kochsalzlösung (jeweils 50 ml) gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Produkt **69** wurde nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. erhalten.^[150,151]

**69**

Ausbeute	443 mg (1.95 mmol, 71%), farbloser Feststoff.
Schmp.	56-57°C
EI-MS	m/z (%) = 228 (3), 227 (5) $[M]^+$, 171 (16), 169 (3), 168 (21), 149 (3), 146 (3), 144 (3), 139 (3), 99 (3), 86 (19), 84 (6), 83 (100), 82 (17), 55 (11), 42 (4).
HR-EI-MS	ber. 227.1521 gef. 227.1518 $[M]^+$
DC	R_f = 0.45 (System 1).
UV/VIS	(Methanol): λ_{\max} (lg ϵ) = 219 nm (7.20).
CD	(Methanol): λ_{\max} ($\Delta\epsilon$) = 207 nm (-2.50), 219 (-1.85), 229 (-2.36), 264 (-0.27).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3436 cm^{-1} (m), 3302 (s), 3072 (w), 2958 (m), 2872 (w), 1745 (s), 1664 (s), 1634 (s), 1547 (s), 1435 (w), 1387 (w), 1369 (w), 1362 (w), 1334 (w), 1271 (m), 1215 (s), 1184 (s), 1153 (m), 1034 (w), 980 (w).
Drehwert	$[\alpha]_D = -8.5$ ($c = 0.0067$ in CHCl_3).
$^1\text{H-NMR}$	{ $[\text{D}_4]$ Methanol/ CDCl_3 1:1 (v/v), 600.28 MHz}: δ = 0.94 (d, 3 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.6$ Hz, 6-H), 0.96 (d, 3 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.6$ Hz, 5-H), 1.62 (m, 2 H, 3-H), 1.69 (m, 1 H, 4-H), 1.87 (d, 3 H, $^4J_{\text{H,H}} = 1.1$ Hz, 5'-H), 2.12 (d, 3 H, $^4J_{\text{H,H}} = 1.1$ Hz, 4'-H), 3.73 (s, 3 H, -OCH ₃), 4.52 (m, 1 H, 2-H), 5.75 (m, 1 H, 2'-H).
$^{13}\text{C-NMR}$	{ $[\text{D}_4]$ Methanol/ CDCl_3 1:1 (v/v), 150.9 MHz}: δ = 20.03 (C-6), 21.85 (C-5), 23.07 (C-5'), 25.42 (C-4), 27.31 (C-4'), 41.18 (C-3), 51.38 (-OCH ₃), 52.45 (C-2), 118.49 (C-2'), 152.27 (C-3'), 168.77 (C-1'), 174.71 (C-1).
$\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{NO}_3$	$M = 227.3$ g/mol

***N*-(3,3-Dimethylacryloyl)-D-leucinmethylester (72)**

Die Darstellung erfolgte analog zu *N*-(3,3-Dimethylacryloyl)-L-leucinmethylester (69) mit 500 mg D-Leucinmethylester-Hydrochlorid (71).

**72**

Ausbeute	444 mg (1.95 mmol, 71%), farbloser Feststoff.
Schmp.	56-57°C
EI-MS	m/z (%) = 228 (4), 227 (5) $[M]^+$, 171 (17), 169 (3), 168 (21), 149 (4), 146 (3), 144 (3), 139 (3), 99 (3), 86 (19), 84 (5), 83 (100), 82 (17), 55 (10).
HR-EI-MS	ber. 227.1521 gef. 227.1516 $[M]^+$
DC	R_f = 0.45 (System 1).
UV/VIS	(Methanol): λ_{\max} (lg ϵ) = 218 nm (7.22).
CD	(Methanol): λ_{\max} ($\Delta\epsilon$) = 210 nm (+1.11), 221 (+0.53), 235 (+1.55), 267 (+0.04).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3436 cm^{-1} (m), 3302 (s), 3072 (w), 2958 (m), 2872 (w), 1745 (s), 1664 (s), 1634 (s), 1545 (s), 1442 (m), 1387 (w), 1362 (w), 1335 (w), 1271 (m), 1215 (s), 1183 (s), 1153 (m), 1072 (w), 1018 (w), 981 (w).
Drehwert	$[\alpha]_D = +9.3$ ($c = 0.0094$ in CHCl_3).
$^1\text{H-NMR}$	{ $[\text{D}_4]$ Methanol/ CDCl_3 1:1 (v/v), 600.28 MHz}: $\delta = 0.94$ (d, 3 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.6$ Hz, 6-H), 0.96 (d, 3 H, $^3J_{\text{H,H}} = 6.6$ Hz, 5-H), 1.62 (m, 2 H, 3-H), 1.69 (m, 1 H, 4-H), 1.87 (d, 3 H, $^4J_{\text{H,H}} = 1.1$ Hz, 5'-H), 2.12 (d, 3 H, $^4J_{\text{H,H}} = 1.1$ Hz, 4'-H), 3.73 (s, 3 H, -OCH ₃), 4.52 (m, 1 H, 2-H), 5.75 (m, 1 H, 2'-H).
$^{13}\text{C-NMR}$	{ $[\text{D}_4]$ Methanol/ CDCl_3 1:1 (v/v), 150.9 MHz}: $\delta = 20.03$ (C-6), 21.85 (C-5), 23.07 (C-5'), 25.42 (C-4), 27.31 (C-4'), 41.18 (C-3), 51.38 (-OCH ₃), 52.45 (C-2), 118.49 (C-2'), 152.27 (C-3'), 168.77 (C-1'), 174.71 (C-1).
$\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{NO}_3$	$M = 227.3$ g/mol

12. Pentaporin A (87), B (88) und C (89)

12.1. Probenmaterial

Das bearbeitete Probenmaterial von *Pentapora fascialis* wurde in den Zeiträumen Juli 1999, September 2000 und August 2001 in Tiefen von 35 bis 45 m an der Costa Brava, Spanien (Mittelmeer) gesammelt. Im Anschluß an die Tauchgänge wurde das Probenmaterial in Methanol eingelegt, tiefgefroren, in geschlossener Kühlkette nach München transportiert und dort bis zur Extraktion im Tiefkühlschrank (-30°C) aufbewahrt.

12.2. Isolierung

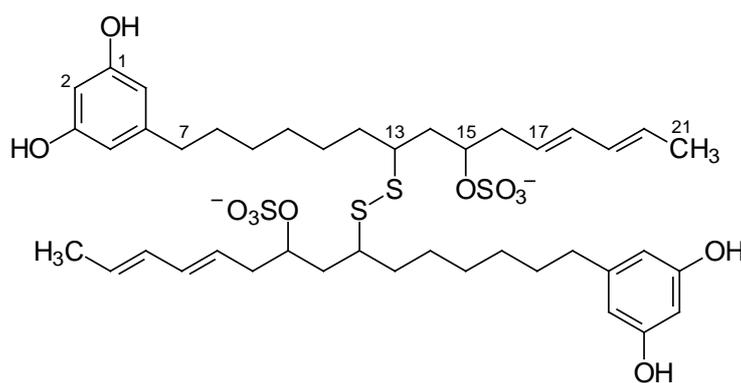
Die gefrorene Biomasse von *Pentapora fascialis* (485 g) wurde in Methanol aufgetaut, in einem Mixer bei Raumtemperatur zerkleinert, mit Methanol/Chloroform 1:1 (v/v) (3×500 ml) extrahiert und über einen Büchnertrichter abfiltriert (Filtrierhilfsmittel: Celite). Durch Entfernen des Lösungsmittels aus den vereinigten Extrakten wurden 25 g öliges Rohextraktes erhalten.

Der Rohextrakt wurde in einem Toluol/Wasser-Gemisch (150 ml/100 ml) gelöst. Nach Abtrennung der Toluol-Phase wurde die Wasser-Phase noch dreimal mit 150 ml Toluol extrahiert. Die Toluol-Phasen wurden vereinigt, mit 10 ml Wasser gewaschen und das Lösungsmittel i. Vak. abgezogen (1.56 g Toluol-Extrakt). Die gesammelten Wasser-Phasen wurden anschließend noch dreimal mit jeweils 150 ml 2-Butanol (H_2O -gesättigt) extrahiert. Die vereinigten 2-Butanol-Phasen wurden mit 10 ml Wasser gewaschen und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt (229 mg 2-Butanol-Extrakt).

Chromatographie des Toluol-Extraktes (1.56 g) an Sephadex LH-20 [80 cm \times 6 cm (ID)] bei Raumtemperatur mit Methanol/Chloroform 1:1 (v/v) als Eluenten und Zweitreinigung an Sephadex LH-20 [43 cm \times 3 cm (ID)] mit Methanol lieferte Pentaporin A (87) (23 mg), Pentaporin B (88) (62 mg) und Pentaporin C (89) (1 mg). Bei der Chromatographie des 2-Butanol-Extraktes (229 mg) an Sephadex LH-20 [43 cm \times 3 cm (ID)] bei Raumtemperatur

mit Methanol als Eluent und Zweitreinigung an Sephadex LH-20 [43 cm × 3 cm (ID)] mit Methanol wurden ebenfalls Pentaporin A (**87**) (7 mg), Pentaporin B (**88**) (24 mg) und Pentaporin C (**89**) (6 mg) erhalten.

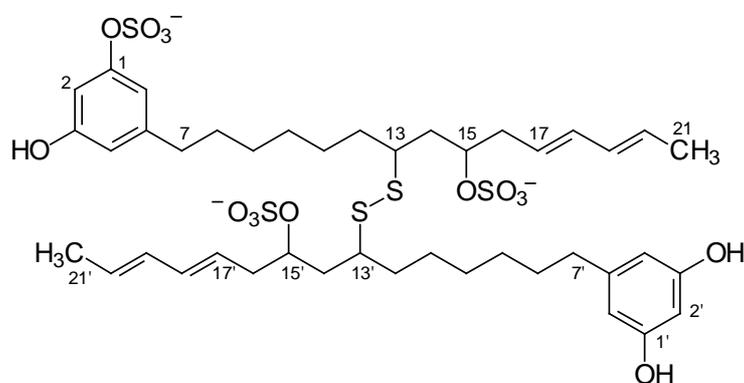
12.3. Pentaporin A (**87**)



87

Ausbeute	30 mg (0.0619% bezogen auf BFM), gelber Feststoff.		
Isolierung	Aus 485 g BFM nach Chromatographie des Toluol-Extraktes (1.56 g; 23 mg Ausbeute) und des 2-Butanol-Extraktes (229 mg; 7 mg Ausbeute).		
ESI-MS	$m/z = 907 [M+Na]^-$, $885 [M+H]^-$, $805 [M+H-SO_3]^-$, $725 [M+H-2SO_3]^-$, $442 [M]^{2-}$.		
HR-ESI-MS	ber.	442.1491	gef. 442.1484 [M] ²⁻
DC	$R_f = 0.54$ (System 2).		
HPLC	$R_t = 30.52$ min (von 3% auf 90% Acetonitril in 50 min).		
UV/VIS	(Methanol): $\lambda_{max} (\lg \epsilon) = 202$ nm (7.95), 223 (7.77), 274 (6.59).		
CD	(Methanol): $\lambda_{max} (\Delta\epsilon) = 204$ nm (-6.38), 217 (-4.16), 219 (-4.24), 232 (-3.06).		
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3436$ cm ⁻¹ (s, br), 2926 (s), 2853 (m), 1599 (s), 1454 (m), 1216 (s), 1150 (m), 1058 (m), 989 (m).		
Drehwert	$[\alpha]_D = -13.1$ ($c = 0.0065$ in Methanol).		
¹ H-NMR	([D ₄]Methanol, 600.13 MHz): s. Tabelle 2. (S. 64)		
¹³ C-NMR	([D ₄]Methanol, 150.9 MHz): s. Tabelle 2. (S. 64)		
C ₄₂ H ₆₀ S ₄ O ₁₂	M = 885.2 g/mol		

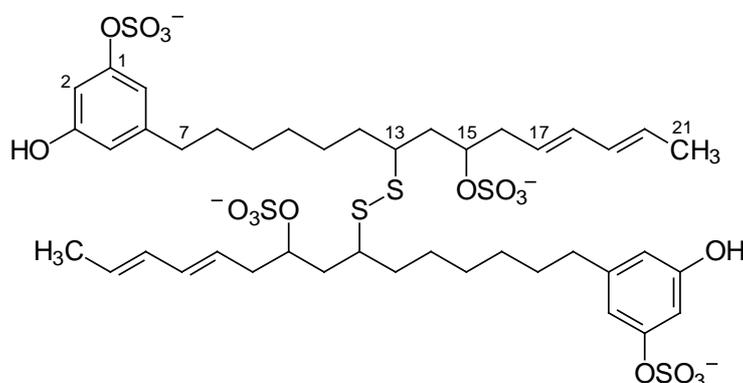
12.4. Pentaporin B (88)



88

Ausbeute	86 mg (0.177% bezogen auf BFM), gelber Feststoff.		
Isolierung	Aus 485 g BFM nach Chromatographie des Toluol-Extraktes (1.56 g; 62 mg Ausbeute) und des 2-Butanol-Extraktes (229 mg; 24 mg Ausbeute).		
ESI-MS	$m/z = 965 [M+2H]^-$, $885 [M+2H-SO_3]^-$, $805 [M+2H-2SO_3]^-$, $482 [M+H]^{2-}$, $321 [M]^{3-}$.		
HR-ESI-MS	ber.	482.1268	gef. 482.1267 $[M+H]^{2-}$
	ber.	321.0819	gef. 321.0862 $[M]^{3-}$
DC	$R_f = 0.27$ (System 2).		
HPLC	$R_t = 27.44$ min (von 3% auf 90% Acetonitril in 50 min).		
UV/VIS	(Methanol): $\lambda_{max} (\lg \epsilon) = 202$ nm (8.19), 224 (7.95), 271 (6.83).		
CD	(Methanol): $\lambda_{max} (\Delta\epsilon) = 203$ nm (-1.71), 208 (-6.24), 219 (-2.92), 224 (-4.69), 234 (-1.25).		
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3436$ cm^{-1} (s), 2929 (s), 2855 (m), 1628 (s), 1451 (m), 1331 (m), 1245 (s), 1154 (w), 1061 (m), 990 (m).		
Drehwert	$[\alpha]_D = -13$ ($c = 0.006$ in Methanol).		
1H -NMR	($[D_4]$ Methanol, 600.13 MHz): s. Tabelle 3. (S. 73)		
^{13}C -NMR	($[D_4]$ Methanol, 150.9 MHz): s. Tabelle 3. (S. 73)		
$C_{42}H_{59}S_5O_{15}$	M = 964.25 g/mol		

12.5. Pentaporin C (89)



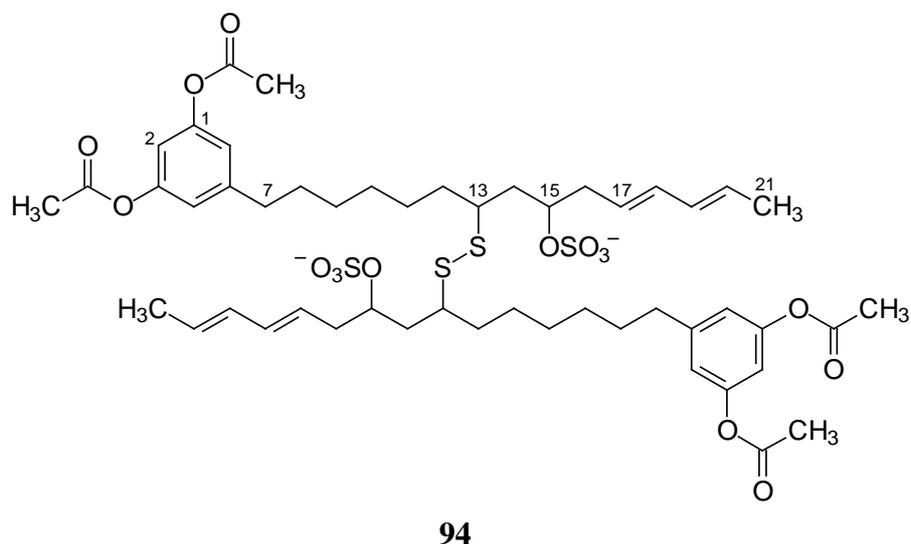
89

Ausbeute	7 mg (0.0144% bezogen auf BFM), gelber Feststoff.		
Isolierung	Aus 485 g BFM nach Chromatographie des Toluol-Extraktes (1.56 g; 1 mg Ausbeute) und des 2-Butanol-Extraktes (229 mg; 6 mg Ausbeute).		
ESI-MS	$m/z = 965 [M+3H-SO_3]^-$, $885 [M+3H-2SO_3]^-$, $522 [M+2H]^{2-}$, $348 [M+H]^{3-}$, $260 [M]^{4-}$.		
HR-ESI-MS	ber.	522.1052	gef. 522.1015 $[M+2H]^{2-}$
	ber.	347.7342	gef. 347.7466 $[M+H]^{3-}$
DC	$R_f = 0.06$ (System 2).		
HPLC	$R_t = 24.35$ min (von 3% auf 90% Acetonitril in 50 min).		
UV/VIS	(Methanol): $\lambda_{max} (\lg \epsilon) = 202$ nm (6.97), 222 (6.75), 272 (6.01).		
CD	(Methanol): $\lambda_{max} (\Delta\epsilon) = 203$ nm (0), 206 (-5.42), 209 (-4.77), 220 (-8.37), 233 (-4.44).		
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3435$ cm^{-1} (s), 2929 (m), 2855 (m), 1623 (s), 1457 (m), 1244 (s), 1153 (w), 1057 (s), 991 (m).		
Drehwert	$[\alpha]_D = -11$ ($c = 0.0021$ in Methanol).		
1H -NMR	($[D_4]$ Methanol, 600.13 MHz): s. Tabelle 4. (S. 78)		
^{13}C -NMR	($[D_4]$ Methanol, 150.9 MHz): s. Tabelle 4. (S. 78)		
$C_{42}H_{58}S_6O_{18}$	M = 1043.31 g/mol		

12.6. Derivat von Pentaporin A (87)

12.6.1. Acetylierungsprodukt 94

1.0 mg (1.1 μmol) Pentaporin A (**87**) wurde mit einem Überschuß an Essigsäureanhydrid (1 ml, 10.6 mmol) und 0.1 ml Pyridin 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Evaporation wurde das Acetylierungsprodukt **94** in quantitativer Ausbeute erhalten.^[173]



Ausbeute	1.2 mg (1.0 μmol , 100%), gelber Feststoff.
ESI-MS	$m/z = 1076 [M+Na]^-$, $1053 [M+H]^-$, $526 [M]^{2-}$.
HR-ESI-MS	ber. 526.1695 gef. 526.1646 $[M]^{2-}$
DC	$R_f = 0.27$ (System 2).
UV/VIS	(Methanol): $\lambda_{\text{max}} = 201 \text{ nm}$, 271.
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3436 \text{ cm}^{-1}$ (br), 2929 (s), 2856 (m), 1769 (s), 1620 (m), 1453 (m), 1370 (m), 1211 (vs), 1124 (s), 1063 (m), 1022 (m), 990 (s) 757 (m), 592 (w).
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_4]$ Methanol, 600.28 MHz): $\delta = 1.39$ (m, 8 H, 9-H, 10-H), 1.46 (m, 4 H, 11-H), 1.60 (m, 4 H, 8-H), 1.67 (m, 2 H, 12-H _b), 1.74 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6.4 \text{ Hz}$, 6 H, 21-H), 1.76 (m, 2 H, 12-H _a), 1.87 (m, 2 H, 14-H _b), 1.99 (m, 2 H, 14-H _a), 2.29 (s, 12 H, -COCH ₃), 2.59 (m, 4 H, 16-H), 2.65 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7.7 \text{ Hz}$, 4 H, 7-H), 2.94

(m, 2 H, 13-H), 4.58 (m, 2 H, 15-H), 5.60 (m, $^3J_{\text{H,H}} = 14.5$ Hz, 2 H, 17-H), 5.61 (m, $^3J_{\text{H,H}} = 14.6$ und 6.6 Hz, 2 H, 20-H), 6.05 (m, $^3J_{\text{H,H}} = 14.6$ und 10.8 Hz, 2 H, 19-H), 6.10 (m, $^3J_{\text{H,H}} = 14.5$ und 10.8 Hz, 2 H, 18-H), 6.77 (t, $^4J_{\text{H,H}} = 2.1$ Hz, 2 H, 2-H), 6.87 (d, $^4J_{\text{H,H}} = 2.1$ Hz, 4 H, 4-H, 6-H).

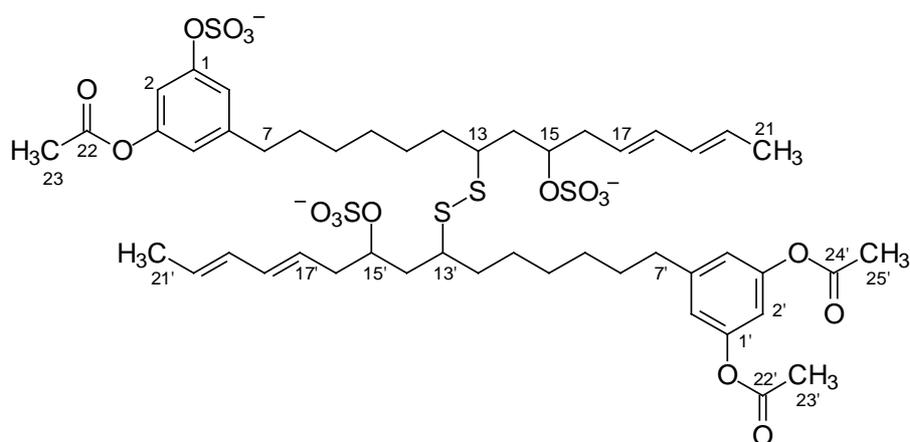
^{13}C -NMR ([D₄]Methanol, 150.9 MHz): $\delta = 18.2$ (C-21), 21.0 (-COCH₃), 27.5 (C-11), 30.2 (C-10), 30.3 (C-9), 32.1 (C-8), 34.4 (C-12), 36.5 (C-7), 38.6 (C-16), 40.4 (C-14), 49.7 (C-13), 77.5 (C-15), 113.9 (C-2), 120.1 (C-4, C-6), 127.1 (C-17), 128.5 (C-20), 132.9 (C-18), 134.9 (C-19), 146.8 (C-5), 152.5 (C-1, C-3), 170.9 (-COCH₃).

C₅₀H₆₈S₄O₁₆ M = 1053.34 g/mol

12.7. Derivate von Pentaporin B (88)

12.7.1. Acetylierungsprodukt 95

1.0 mg (1.0 μmol) Pentaporin B (**88**) wurde mit einem Überschuß an Essigsäureanhydrid (1 ml, 10.6 mmol) und 0.1 ml Pyridin 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Evaporation wurde das Acetylierungsprodukt **95** in quantitativer Ausbeute erhalten.^[173]

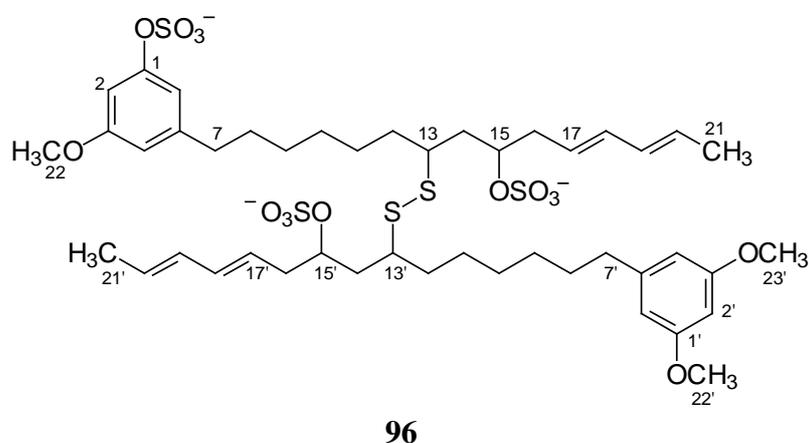


95

Ausbeute	1.1 mg (1.0 μmol , 100%), gelber Feststoff.
ESI-MS	$m/z = 1129$ $[\text{M}+\text{H}+\text{K}]^-$, 545 $[\text{M}+\text{H}]^{2-}$, 363 $[\text{M}]^{3-}$.
HR-ESI-MS	ber. 545.1426 gef. 545.1403 $[\text{M}+\text{H}]^{2-}$
DC	$R_f = 0.20$ (System 2).
UV/VIS	(Methanol): λ_{max} (lg ϵ) = 222 nm (7.60), 228 (7.59), 265 (6.37).
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3480$ cm^{-1} (s, br), 3019 (m), 2930 (s), 2856 (m), 1767 (s), 1745 (m), 1620 (m), 1591 (m), 1450 (m), 1370 (m), 1224 (s), 1154 (w), 1125 (m), 1061 (s), 1022 (w), 990 (s).
Drehwert	$[\alpha]_{\text{D}} = -14$ ($c = 0.002$ in Methanol).
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_4]$ Methanol, 600.28 MHz): $\delta = 1.37$ (m, 8 H, 9-H, 10-H, 9'-H, 10'-H), 1.46 (m, 4 H, 11-H, 11'-H), 1.60 (m, 4 H, 8-H, 8'-H), 1.67 (m, 2 H, 12-H _b , 12'-H _b), 1.74 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6.6$ Hz, 6 H, 21-H, 21'-H), 1.76 (m, 2 H, 12-H _a , 12'-H _a), 1.87 (m, 2 H, 14-H _b , 14'-H _b), 1.99 (m, 2 H, 14-H _a , 14'-H _a), 2.28 (s, 3 H, 23-H), 2.29 (s, 6 H, 23'-H, 25'-H), 2.59 (m, 4 H, 16-H, 16'-H), 2.63 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7.9$ Hz, 2 H, 7-H), 2.66 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7.7$ Hz, 2 H, 7'-H), 2.94 (m, 2 H, 13-H, 13'-H), 4.58 (m, 2 H, 15-H, 15'-H), 5.60 (m, $^3J_{\text{H,H}} = 14.5$ Hz, 2 H, 17-H, 17'-H), 5.61 (m, $^3J_{\text{H,H}} = 14.6$ und 6.6 Hz, 2 H, 20-H, 20'-H), 6.05 (m, $^3J_{\text{H,H}} = 14.6$ und 10.8 Hz, 2 H, 19-H, 19'-H), 6.10 (m, $^3J_{\text{H,H}} = 14.5$ und 10.8 Hz, 2 H, 18-H, 18'-H), 6.76 (t, $^4J_{\text{H,H}} = 2.1$ Hz, 1 H, 2'-H), 6.80 (t, $^4J_{\text{H,H}} = 1.7$ Hz, 1 H, 4-H), 6.88 (d, $^4J_{\text{H,H}} = 2.1$ Hz, 2 H, 4'-H, 6'-H), 6.95 (t, $^4J_{\text{H,H}} = 2.1$ Hz, 1 H, 2-H), 7.05 (t, $^4J_{\text{H,H}} = 1.7$ Hz, 1 H, 6-H).
$^{13}\text{C-NMR}$	($[\text{D}_4]$ Methanol, 150.9 MHz): $\delta = 18.2$ (C-21, C-21'), 21.0 (C-23, C-23', C-25'), 27.6 (C-11'), 27.7 (C-11), 30.2 (C-10'), 30.3 (C-10), 30.5 (C-9, C-9'), 32.1 (C-8'), 32.3 (C-8), 34.5 (C-12'), 34.6 (C-12), 36.5 (C-7'), 36.8 (C-7), 38.5 (C-16), 38.6 (C-16'), 40.3 (C-14), 40.4 (C-14'), 49.7 (C-13, C-13'), 77.5 (C-15, C-15'), 113.3 (C-2), 113.9 (C-2'), 119.0 (C-4), 119.7 (C-6), 120.1 (C-4', C-6'), 127.1 (C-17, C-17'), 128.5 (C-20, C-20'), 132.9 (C-18, C-18'), 134.9 (C-19, C-19'), 146.3 (C-5), 146.8 (C-5'), 152.3 (C-3), 152.5 (C-1', C-3'), 154.4 (C-1), 170.9 (C-22', C-24'), 171.0 (C-22).
$\text{C}_{48}\text{H}_{65}\text{S}_5\text{O}_{18}$	$M = 1090.33$ g/mol

12.7.2. Methylierungsprodukt 96

3.0 mg (3.1 μmol) Pentaporin B (**88**) wurden in 2 ml Dimethylformamid gelöst. 30 mg frisch geglühtes Kaliumcarbonat und 30 μl (0.48 mmol) Methyljodid wurden zugefügt und die Reaktionsmischung 24 h bei 35°C gerührt. Überschüssiges Kaliumcarbonat wurde abfiltriert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wurde mit Wasser gelöst und mit wassergesättigtem 2-Butanol extrahiert.^[174,175]



Ausbeute	1.8 mg (1.8 μmol , 58%), gelber Feststoff.
ESI-MS	$m/z = 335$ $[\text{M}]^{3-}$.
HR-ESI-MS	ber. 335.0976 gef. 335.0997 $[\text{M}]^{3-}$
DC	$R_f = 0.37$ (System 2).
UV/VIS	(Methanol): λ_{max} (lg ϵ) = 221 nm (8.16), 269 (7.02), 279 (6.98).
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3436$ cm^{-1} (s, br), 2928 (s), 2854 (s), 1594 (s), 1463 (w), 1349 (m), 1244 (s), 1151 (m), 1056 (m), 990 (m).
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_4]$ Methanol, 600.13 MHz): $\delta = 1.37$ (m, 8 H, 9-H, 10-H, 9'-H, 10'-H), 1.45 (m, 4 H, 11-H, 11'-H), 1.63 (m, 4 H, 8-H, 8'-H), 1.67 (m, 2 H, 12-H _b , 12'-H _b), 1.73 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6.7$ Hz, 6 H, 21-H, 21'-H), 1.76 (m, 2 H, 12-H _a , 12'-H _a), 1.87 (m, 2 H, 14-H _b , 14'-H _b), 1.99 (m, 2 H, 14-H _a , 14'-H _a), 2.57 (m, 4 H, 7-H, 7'-H), 2.58 (m, 4 H, 16-H, 16'-H), 2.92 (m, 2 H, 13-H, 13'-H), 3.78 (s, 6 H, 22'-H, 23'-H), 3.80 (s, 3 H, 22-H), 4.58 (m, 2 H, 15-H, 15'-H), 5.60 (m, $^3J_{\text{H,H}} = 14.5$ Hz, 2 H, 17-H, 17'-H), 5.61 (m, $^3J_{\text{H,H}} = 14.6$ und 6.7 Hz, 2 H,

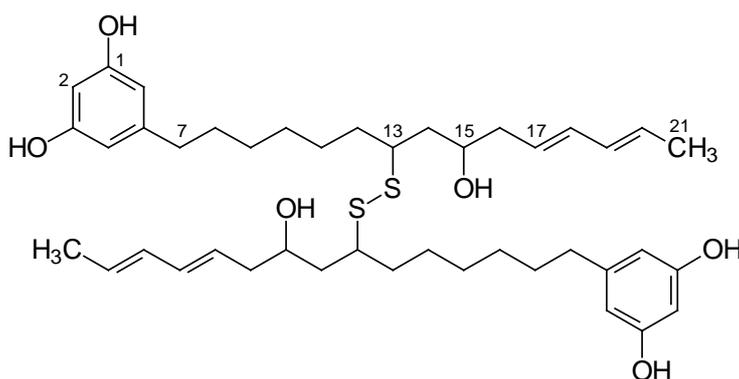
20-H, 20'-H), 6.05 (m, $^3J_{\text{H,H}} = 14.6$ und 10.8 Hz, 2 H, 19-H, 19'-H), 6.10 (m, $^3J_{\text{H,H}} = 14.5$ und 10.8 Hz, 2 H, 18-H, 18'-H), 6.31 (s, 1 H, 2'-H), 6.38 (s, 2 H, 4'-H, 6'-H), 6.61 (s, 1 H, 2-H), 6.76 (s, 1 H, 6-H), 6.77 (s, 1 H, 4-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_4]\text{Methanol}$, 150.9 MHz): $\delta = 18.2$ (C-21, C-21'), 27.5 (C-11, C-11'), 30.4 (C-10, C-10'), 30.8 (C-9, C-9'), 32.4 (C-8, C-8'), 34.5 (C-12, C-12'), 37.1 (C-7), 37.2 (C-7'), 38.5 (C-16, C-16'), 40.3 (C-14, C-14'), 49.7 (C-13, C-13'), 55.7 (C-22), 55.9 (C-22', C-23'), 77.6 (C-15, C-15'), 98.6 (C-2'), 105.6 (C-4), 107.5 (C-4', C-6'), 111.8 (C-2), 114.9 (C-6), 127.0 (C-17, C-17'), 128.6 (C-20, C-20'), 132.9 (C-19, C-19'), 135.0 (C-18, C-18'), 146.2 (C-5), 146.5 (C-5'), 154.8 (C-1), 161.4 (C-3), 162.2 (C-1', C-3').

$\text{C}_{45}\text{H}_{65}\text{S}_5\text{O}_{15}$ $M = 1006.3$ g/mol

12.7.3. Solvolyseprodukt 97

16.9 mg (17.5 μmol) Pentaporin B (**88**) wurden in Pyridin/Dioxan 1:1 (v/v) (6 ml) gelöst und 24 h auf 110°C erhitzt. Nach Evaporation des Lösungsmittels wurde ein brauner Rückstand erhalten. Dieser wurde in Methanol gelöst, filtriert und das Filtrat an Sephadex LH-20 [22 cm \times 2 cm (ID)] bei Raumtemperatur mit Methanol aufgereinigt.



97

Ausbeute 10.5 mg (14.4 μmol , 82%), gelber Feststoff.

ESI-MS $m/z = 761$ $[\text{M-H}+\text{HCl}]^+$, 725 $[\text{M-H}]^+$.

HR-ESI-MS	ber. 725.3910	gef. 725.3888	[M-H] ⁺
DC	$R_f = 0.29$ (System 1).		
UV/VIS	(Methanol): λ_{\max} (lg ϵ) = 203 nm (7.90), 224 (7.66), 275 (6.54).		
CD	(Methanol): λ_{\max} ($\Delta\epsilon$) = 204 nm (-0.20), 208 (-3.72), 213 (-1.27), 217 (-2.14), 231 (-0.11), 242 (-0.76).		
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3341$ cm ⁻¹ (s, br), 2928 (s), 2854 (s), 1600 (s), 1451 (m), 1344 (w), 1301 (w), 1147 (m), 991 (m), 837 (w).		
Drehwert	$[\alpha]_D = -6.7$ ($c = 0.006$ in Methanol).		
¹ H-NMR	([D ₄]Methanol, 600.13 MHz): $\delta = 1.38$ (m, 8 H, 9-H, 10-H), 1.47 (m, 4 H, 11-H), 1.61 (m, 4 H, 8-H), 1.65 (m, 2 H, 12-H _a), 1.69 (m, 2 H, 12-H _b), 1.74 (d, ³ $J_{H,H} = 6.7$ Hz, 6 H, 21-H), 1.74 (m, 2 H, 14-H _a), 1.79 (m, 2 H, 14-H _a), 2.27 (m, 4 H, 16-H), 2.48 (t, ³ $J_{H,H} = 7.6$ Hz, 4 H, 7-H), 2.87 (m, 2 H, 13-H), 3.82 (m, 2 H, 15-H), 5.61 (m, ³ $J_{H,H} = 14.5$ Hz, 2 H, 17-H), 5.62 (m, ³ $J_{H,H} = 14.6$ und 6.7 Hz, 2 H, 20-H), 6.07 (m, ³ $J_{H,H} = 14.6$ und 10.8 Hz, 2 H, 19-H), 6.07 (m, ³ $J_{H,H} = 14.5$ und 10.8 Hz, 2 H, 18-H), 6.12 (s, 2 H, 2-H), 6.17 (s, 4 H, 4-H, 6-H).		
¹³ C-NMR	([D ₄]Methanol, 150.9 MHz): $\delta = 18.2$ (C-21), 27.5 (C-11), 30.2 (C-10), 30.5 (C-9), 32.3 (C-8), 34.7 (C-12), 37.0 (C-7), 41.7 (C-16), 42.8 (C-14), 49.6 (C-13), 69.8 (C-15), 101.0 (C-2), 108.0 (C-4, C-6), 128.2 (C-17), 128.3 (C-20), 132.9 (C-18), 134.4 (C-19), 146.3 (C-5), 159.3 (C-1, C-3).		
C ₄₂ H ₆₂ S ₂ O ₆	M = 727.08 g/mol		

12.7.4. Methylierungsprodukt 98

12.7.4.1. Darstellung von Diazomethan

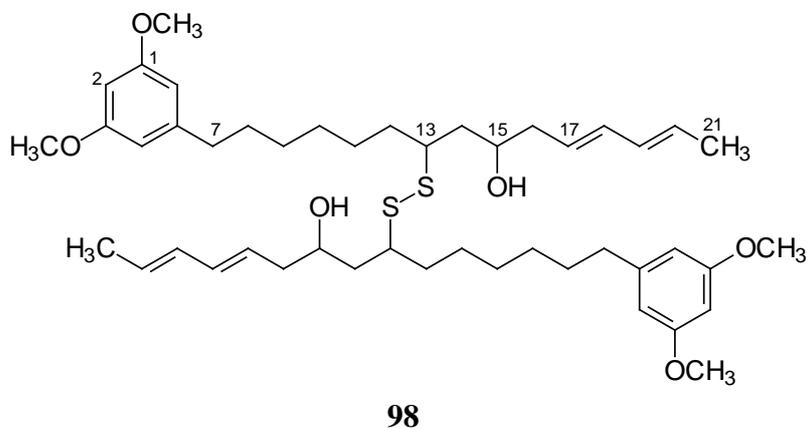
Die Darstellung von Diazomethan erfolgte in einem Aldrich MNNG Diazomethan Generator.^[201] Aufgrund der hohen Toxizität von *N*-Methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidin (MNNG) wurde dieses durch *N*-Methyl-*N*-nitroso-*p*-toluolsulfonamid (Diazald) ersetzt.^[179]

3 ml Diethylether wurden in das äußere Gefäß und 1 ml Diethylether, 1 ml Carbitol und 400 mg Diazald in das innere Gefäß gegeben. Anschließend wurde die Apparatur dicht

verschlossen und in einer Aceton/Trockeneis-Kältemischung auf -20°C gekühlt. Über das PTFE-beschichtete Silikonseptum wurde mit einer 22G-Kanüle 1.5 ml 37% KOH-Lösung tropfenweise zugegeben. Das entstehende Diazomethan destillierte in das Außengefäß und löste sich im Diethylether (gelbe Färbung). Nach 1 h Reaktionszeit erhielt man eine Lösung von ca. 1.9 mmol Diazomethan in 3 ml Diethylether, die sofort weiter verwendet wurde.^[179]

12.7.4.2. Methylierung

10.5 mg (14.4 μmol) des Solvolyseproduktes **97** wurden in einem 25 ml Meßkolben ohne Schliff in 3 ml Methanol gelöst. Unter Kühlung auf 0°C wurde die gekühlte Diazomethan/Ether-Lösung langsam zugetropft. Es wurde keine Gasentwicklung beobachtet. Die Reaktionsmischung wurde bei Raumtemperatur 24 h vorsichtig gerührt. Nach Abblasen des Lösungsmittels im Stickstoffstrom wurde ein gelber Rückstand erhalten. Dieser wurde an Sephadex LH-20 [22 cm \times 2 cm (ID)] bei Raumtemperatur mit Methanol/Chloroform 1:1 (v/v) aufgereinigt (Abtrennung geringer Verunreinigungen mit Diazald und Carbitol).^[178,179]



Ausbeute 9.4 mg (12.0 μmol , 83%), gelber Feststoff.

EI-MS m/z (%) = 782 (0.4) $[\text{M}]^+$, 319 (3), 205 (3), 191 (8), 177 (7) 166 (9), 165 (19), 164 (4), 153 (11), 152 (100), 151 (31), 139 (5), 138 (6), 137 (5), 135 (3), 121 (6), 115 (3), 109 (3), 107 (4), 105 (4), 95 (3), 93 (3), 91 (12), 81 (7), 79 (9), 78 (5), 77 (10), 67 (5), 65 (4), 55 (5), 44 (19), 41 (9), 40 (10).

HR-EI-MS ber. 783.4692 gef. 783.4692 $[\text{M}+\text{H}]^+$

DC $R_f = 0.48$ (System 1).

UV/VIS	(Methanol): λ_{\max} (lg ϵ) = 204 nm (7.90), 227 (7.67), 274 (6.64).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3401 cm ⁻¹ (w, br), 2998 (w), 2930 (s), 2855 (m), 1596 (s), 1462 (s), 1429 (m), 1349 (w), 1293 (w), 1151 (s), 990 (m), 830 (w).
Drehwert	$[\alpha]_{\text{D}} = -1.13$ ($c = 0.0053$ in Methanol).
¹ H-NMR	([D ₄]Methanol, 600.13 MHz): δ = 1.38 (m, 8 H, 9-H, 10-H), 1.47 (m, 4 H, 11-H), 1.64 (m, 4 H, 8-H), 1.65 (m, 2 H, 12-H _a), 1.69 (m, 2 H, 12-H _b), 1.74 (d, ³ $J_{\text{H,H}} = 6.6$ Hz, 6 H, 21-H), 1.74 (m, 2 H, 14-H _a), 1.79 (m, 2 H, 14-H _b), 2.27 (m, 4 H, 16-H), 2.56 (t, ³ $J_{\text{H,H}} = 7.7$ Hz, 4 H, 7-H), 2.87 (m, 2 H, 13-H), 3.77 (s, 12 H, -OCH ₃), 3.81 (m, 2 H, 15-H), 5.61 (m, ³ $J_{\text{H,H}} = 14.5$ Hz, 2 H, 17-H), 5.62 (m, ³ $J_{\text{H,H}} = 14.6$ und 6.6 Hz, 2 H, 20-H), 6.05 (m, ³ $J_{\text{H,H}} = 14.6$ und 10.8 Hz, 2 H, 19-H), 6.10 (m, ³ $J_{\text{H,H}} = 14.5$ und 10.8 Hz, 2 H, 18-H), 6.32 (t, ³ $J_{\text{H,H}} = 2.1$ Hz, 2 H, 2-H), 6.37 (d, ³ $J_{\text{H,H}} = 2.0$ Hz, 4 H, 4-H, 6-H).
¹³ C-NMR	([D ₄]Methanol, 150.9 MHz): δ = 18.1 (C-21), 27.5 (C-11), 30.2 (C-10), 30.3 (C-9), 32.4 (C-8), 34.7 (C-12), 37.2 (C-7), 41.7 (C-16), 42.9 (C-14), 49.3 (C-13), 55.6 (C-22, C-23), 69.8 (C-15), 98.6 (C-2), 107.5 (C-4, C-6), 128.2 (C-17), 128.3 (C-20), 132.9 (C-18), 134.3 (C-19), 146.3 (C-5), 162.2 (C-1, C-3).
C ₄₆ H ₇₀ S ₂ O ₆	M = 783.19 g/mol

V. ANHANG

13. Abkürzungsverzeichnis

Ac	Acetyl
ATP	Adenosintriphosphat
ber.	berechnet
BFM	Biofeuchtmasse
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CD	Circulardichroismus
cGMP	cyclisches Guanosinmonophosphat
COSY	Correlated Spectroscopy
DC	Dünnschichtchromatographie
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonucleinsäure
EDX	Energy Dispersive X-ray
EI	Elektronenstoßionisation
ESI	Electrospray Ionization
Fa.	Firma
FIA	Flußinjektionsanalyse
G	Gauge (Eichmaß für Kanülen)
gef.	gefunden
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
HPLC	High Performance/Pressure Liquid Chromatography
HR-MS	High Resolution Mass Spectrometry
i. Vak.	im Vakuum
ID	Innendurchmesser

INADEQUATE	Incredible Natural Abundance Double Quantum Transfer Experiment
IR	Infrarotspektroskopie
M	Molekulargewicht
M ^{+/-}	Molekülion
Me	Methyl
MNNG	<i>N</i> -Methyl- <i>N'</i> -nitro- <i>N</i> -nitrosoguanidin
MS	Massenspektrometrie
MTPA	2-Methoxy-2-phenyl-2-(trifluormethyl)essigsäure
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
P	Phosphat
<i>P.</i>	<i>Physarum</i>
PTFE	Polytetrafluorethylen
Ph	Phenyl
<i>R_f</i>	Retentionsfaktor (DC)
rpm	rounds per minute
RT	Raumtemperatur
<i>R_t</i>	Retentionszeit (HPLC)
Schmp.	Schmelzpunkt
TFA	Trifluoressigsäure
TIDAS	Transputer Integriertes Dioden Array Spektrometer
UV	Ultraviolett
v/v	Volumen pro Volumen
VCD	Vibrational Circular Dichroism
VIS	Visible

14. Literaturverzeichnis

- [1] T. Panckow, *Herbarium portabile*, Berlin, **1654**.
- [2] J. H. F. Link, *Handbuch zur Erkennung der nutzbarsten und am häufigsten vorkommenden Gewächse. 3. Ordo Fungi, subordo 6. Myxomycetes*, Berlin, **1833**.
- [3] P. A. Michelius, *Nova plantarum genera iuxta Tournefortii methodum disposita, Paperinii*, Florenz, **1729**.
- [4] E. M. Fries, *Systema mycologicum, sistens fungorum ordines, genera et species, hucusque cognitae, Vol. III et ultimum, pars I*, Greifswald, **1829**.
- [5] C. J. Alexopoulos, C. W. Mims, *Introductory Mycology*, 3rd Edition, Wiley, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, **1979**.
- [6] G. W. Martin, *Bot. Rev.* **1940**, 6, 356-388.
- [7] G. W. Martin, *Mycologia* **1960**, 52, 119-129.
- [8] C. J. Alexopoulos, *Bot. Rev.* **1963**, 29, 1-78.
- [9] A. de Bary, *Die Mycetozoen (Schleimpilze). Ein Beitrag zur Kenntnis der niedersten Organismen*, 2. Auflage, Engelmann, Leipzig, **1864**.
- [10] L. S. Olive, *The Mycetozoans*, Academic Press, New York, San Francisco, London, **1975**.
- [11] K. Hausmann, N. Hülsmann, *Protozoology*, 2nd edition, G. Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **1996**.
- [12] K. Hausmann, N. Hülsmann: "Einzellige Eukaryota", Einzeller, in *Spezielle Zoologie, Teil 1: Einzeller und Wirbellose Tiere* (Hrsg.: W. Westheide, R. Rieger), Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York, **1996**, S. 32-33.

-
- [13] E. Strasburger, F. Noll, H. Schenck, A. F. W. B. Schimper, P. Sitte, H. Ziegler, F. Ehrendorfer, A. B. Bresinsky, *Lehrbuch der Botanik für Hochschulen*, 34. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, Lübeck, Ulm, **1998**.
- [14] H. Neubert, W. Nowotny, K. Baumann, *Die Myxomyceten Deutschlands und des angrenzenden Alpenraumes unter besonderer Berücksichtigung Österreichs, Band 1*, Karlheinz Baumann Verlag, Gomaringen, **1993**.
- [15] E. Müller, W. Loeffler, *Mykologie*, 4. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **1982**, S. 167-169.
- [16] W. Steglich, B. Steffan, L. Kopanski, G. Eckhardt, *Angew. Chem.* **1980**, 92, 463-464.
- [17] W. Steglich, *Pure & Appl. Chem.* **1981**, 53, 1233-1240.
- [18] W. Steglich, *Pure & Appl. Chem.* **1989**, 61, 281-288.
- [19] W. Steglich, B. Steffan, T. Eizenhöfer, B. Fugmann, R. Herrmann, J. D. Klamann, *Bioact. Comp. Plants, Ciba Found. Symp.* **1990**, 154, 56-65.
- [20] R. Fröde, C. Hinze, I. Josten, B. Schmidt, B. Steffan, W. Steglich, *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 1689-1690.
- [21] L. Kopanski, G.-R. Li, H. Besl, W. Steglich, *Liebigs Ann. Chem.* **1982**, 1722-1729.
- [22] L. Kopanski, D. Karbach, G. Selbitschka, W. Steglich, *Liebigs Ann. Chem.* **1987**, 793-796.
- [23] R. Velten, I. Josten, W. Steglich, *Liebigs Ann.* **1995**, 81-85.
- [24] I. Casser, B. Steffan, W. Steglich, *Angew. Chem.* **1987**, 99, 597-598.
- [25] W. Steglich, B. Fugmann, S. Lang-Fugmann, *Römpf-Lexikon Naturstoffe*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **1997**.
- [26] M. Ikeda, M. Suzuki, C. Djerassi, *Tetrahedron Lett.* **1967**, 3745-3750.

- [27] E. Borowski, J. Zielinski, L. Falkowski, T. Ziminski, J. Golik, P. Kolodziejczyk, E. Jereczek, M. Gdulewicz, Y. D. Shenin, T. V. Kotenko, *Tetrahedron Lett.* **1971**, 685-690.
- [28] W. Mechlinski, C. P. Schaffner, *Tetrahedron Lett.* **1970**, 3873-3876.
- [29] W. Forth, D. Henschler, W. Rummel, K. Starke, *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 7. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford, **1996**.
- [30] A. Zeeck, K. Schröder, K. Frobel, R. Grote, R. Thierke, *J. Antibiot.* **1987**, 40, 1530-1540.
- [31] B. Schlegel, I. Groth, U. Gräfe, *J. Antibiot.* **2000**, 53, 415-417.
- [32] L. Kahner, J. Dasenbrock, P. Spitteller, W. Steglich, R. Marumoto, M. Spitteller, *Phytochemistry* **1998**, 49, 1693-1697.
- [33] K. Aulinger, H. Besl, P. Spitteller, M. Spitteller, W. Steglich, *Z. Naturforsch.* **2001**, 56c, 495-498.
- [34] S. Hoc, *Die Moostiere (Bryozoa)*, A. Ziemsen Verlag, Wittenberg, **1963**.
- [35] G. Busk, *Catalogue of Marine Polyzoa in the Collection of the British Museum. Parts I, II, III*, Taylor and Francis, London, **1852**.
- [36] G. J. Allmann, *A Monograph of the fresh-water Polyzoa*, Roy. Soc., London, **1856**.
- [37] H. Nitsche, *Zeitschr. f. wissenschaftl. Zoologie* **1869**, 20, 1-36.
- [38] F. Borg: Moostierchen oder Bryozoen (Ectoprocten), in *Die Tierwelt Deutschlands und der angrenzenden Meeresteile. Teil 17* (Hrsg.: F. Dahl), Gustav Fischer Verlag, Jena, **1930**, S. 25-142.
- [39] V. Storch, U. Welsch, *Systematische Zoologie*, 5. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, Lübeck, Ulm, **1997**.

- [40] W. Westheide, R. Rieger, *Spezielle Zoologie. Teil 1: Einzeller und Wirbellose Tiere*, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York, **1996**.
- [41] D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 1-49.
- [42] D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* **2000**, *17*, 1-55.
- [43] D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* **1999**, *16*, 155-198.
- [44] D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* **1998**, *15*, 113-158.
- [45] D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* **1997**, *14*, 259-302.
- [46] D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* **1996**, *13*, 75-125.
- [47] D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* **1995**, *12*, 223-269.
- [48] D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* **1990**, *7*, 269-309.
- [49] D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* **1988**, *5*, 613-663.
- [50] D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* **1987**, *4*, 539-576.
- [51] D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* **1986**, *3*, 1-33.
- [52] D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* **1984**, *1*, 551-598.
- [53] G. R. Pettit, C. L. Herald, D. L. Doubek, D. L. Herald, E. Arnold, J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 6846-6848.
- [54] G. R. Pettit, C. L. Herald, Y. Kamano, D. Gust, R. Aoyagi, *J. Nat. Prod.* **1983**, *46*, 528-531.
- [55] G. R. Pettit, C. L. Herald, Y. Kamano, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 5354-5356.
- [56] G. R. Pettit, Y. Kamano, C. L. Herald, M. Tozawa, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 6768-6771.
- [57] G. R. Pettit, Y. Kamano, C. L. Herald, M. Tozawa, *Can. J. Chem.* **1985**, *63*, 1204-1208.

- [58] G. R. Pettit, Y. Kamano, R. Aoyagi, C. L. Herald, D. L. Doubek, J. M. Schmidt, J. J. Rudloe, *Tetrahedron* **1985**, *41*, 985-994.
- [59] G. R. Pettit, Y. Kamano, C. L. Herald, *J. Nat. Prod.* **1986**, *49*, 661-664.
- [60] G. R. Pettit, Y. Kamano, C. L. Herald, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2848-2854.
- [61] G. R. Pettit, J. E. Leet, C. L. Herald, Y. Kamano, F. E. Boettner, L. Baczynskyj, R. A. Niemann, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2854-2860.
- [62] G. R. Pettit, F. Gao, D. Sengupta, J. C. Coll, C. L. Herald, D. L. Doubek, J. M. Schmidt, J. R. Van Camp, J. J. Rudloe, R. A. Niemann, *Tetrahedron* **1991**, *47*, 3601-3610.
- [63] G. R. Pettit, F. Gao, P. M. Blumberg, C. L. Herald, J. C. Coll, Y. Kamano, N. E. Lewin, J. M. Schmidt, J. Chapuis, *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 286-289.
- [64] G. R. Pettit, *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 812-821.
- [65] R. Mutter, M. Wills, *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 1841-1860.
- [66] J. S. Carlé, C. Christophersen, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 4012-4013.
- [67] J. S. Carlé, C. Christophersen, *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 1586-1589.
- [68] J. S. Carlé, C. Christophersen, *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 3440-3443.
- [69] P. Wulff, J. S. Carlé, C. Christophersen, *Comp. Biochem. Physiol.*, *B* **1982**, *71*, 523-526.
- [70] P. Keil, E. G. Nielsen, U. Anthoni, C. Christophersen, *Acta Chem. Scand. Ser. B* **1986**, *40*, 555-558.
- [71] P. Wulff, J. S. Carlé, C. Christophersen, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1981**, 2895-2898.
- [72] J. L. C. Wright, *J. Nat. Prod.* **1984**, *47*, 893-895.

- [73] M. V. Laycock, J. L. C. Wright, J. A. Findlay, A. D. Patil, *Can. J. Chem.* **1986**, *64*, 1312-1316.
- [74] P. B. Holst, U. Anthoni, C. Christophersen, P. H. Nielsen, *J. Nat. Prod.* **1994**, *57*, 997-1000.
- [75] A. J. Blackmann, D. J. Matthews, *Heterocycles* **1985**, *23*, 2829-2833.
- [76] A. J. Blackmann, R. D. Green, *Aust. J. Chem.* **1987**, *40*, 1655-1662.
- [77] B. D. Morris, M. R. Prinsep, *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 688-693.
- [78] L. Chevolot, A.-M. Chevolot, M. Gajhede, C. Larsen, U. Anthoni, C. Christophersen, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 4542-4543.
- [79] U. Anthoni, L. Chevolot, C. Larsen, P. H. Nielsen, C. Christophersen, *J. Org. Chem.* **1986**, *52*, 4709-4712.
- [80] U. Anthoni, K. Bock, L. Chevolot, C. Larsen, P. H. Nielsen, C. Christophersen, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 5638-5639.
- [81] J. S. Carlé, C. Christophersen, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5107-5108.
- [82] D. Mebs, *Gifttiere*, 2. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, **2000**.
- [83] A. J. Blackmann, C. E. Ralph, B. W. Skelton, A. H. White, *Aust. J. Chem.* **1993**, *46*, 213-220.
- [84] Y.-H. Choi, A. park, F. J. Schmitz, I. Van Altena, *J. Nat. Prod.* **1993**, *56*, 1431-1433.
- [85] T. Shindo, A. Sato, K. Kasanuki, S. Sato, T. Iwata, T. Hata, *Experientia* **1993**, *49*, 177-178.
- [86] B. D. Morris, M. R. Prinsep, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 9545-9547.
- [87] L. Stryer, *Biochemie*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford, **1994**, S. 23.

- [88] L. Ettlinger, E. Gaumann, R. Hutter, W. Keller-Schierlein, F. Kradolfer, L. Neipp, V. Prelog, H. Zahner, *Helv. Chim. Acta* **1959**, *42*, 563-569.
- [89] T. Okaichi, Y. Hashimoto, *Agr. Biol. Chem.* **1962**, *26*, 224-227.
- [90] K. Konishi, *Agr. Biol. Chem.* **1970**, *34*, 935-940.
- [91] N. Lindquist, W. Fenical, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 2389-2392.
- [92] H. Kang, W. Fenical, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 2369-2372.
- [93] S. A. Abas, M. B. Hossain, D. van der Helm, F. J. Schmitz, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 2709-2712.
- [94] C. Ireland, P. J. Scheuer, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5688-5691.
- [95] D. E. Williams, R. E. Moore, V. J. Paul, *J. Nat. Prod.* **1989**, *52*, 732-739.
- [96] T. C. McKee, J. H. Cardellina, M. Tischler, K. M. Snader, M. R. Boyd, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 389-392.
- [97] S. Liaaen-Jensen, S. Hertzberg: Carotenoid Sulphates, in *Carotenoids. Volume 1 A: Isolation and Analysis* (Hrsg.: G. Britton, S. Liaaen-Jensen, H. Pfander), Birkhäuser Verlag, Basel, **1995**, S. 283-286.
- [98] S. Hertzberg, T. Ramdahl, J. E. Johansen, S. Liaaen-Jensen, *Acta Chem. Scand. Ser. B* **1983**, *37*, 267-279.
- [99] M. Ojika, G. Yoshino, Y. Sakagami, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 4235-4238.
- [100] T. Karow, R. Lang, *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 7. Auflage, Köln, Lüdenscheid, **1999**.
- [101] T. Aoyagi, M. Yagisawa, M. Kumagai, M. Hamada, Y. Okami, T. Takeuchi, H. Umezawa, *J. Antibiotics* **1971**, *24*, 860-869.
- [102] M. Kumagai, Y. Suhara, T. Aoyagi, H. Umezawa, *J. Antibiotics* **1971**, *24*, 870-875.

-
- [103] H. Yamada, K. Shiomi, Q. Xu, T. Nagai, M. Shibata, I. Oya, Y. Takahashi, S. Omura, *J. Antibiotics* **1995**, *48*, 205-210.
- [104] Y. Nakao, S. Matsunaga, N. Fusetani, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 1511-1514.
- [105] Y. Nakao, S. Matsunaga, N. Fusetani, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 11183-11188.
- [106] Y. Nakao, T. Maki, S. Matsunaga, R. W. M. van Soest, N. Fusetani, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 8977-8987.
- [107] S. S. Mitchell, D. Rhodes, F. D. Bushman, D. J. Faulkner, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1605-1607.
- [108] L. D. Schweinitz, *Schr. Natur. Ges. Leipzig* **1822**, *1*, 63.
- [109] H. Neubert, W. Nowotny, K. Baumann, *Die Myxomyceten Deutschlands und des angrenzenden Alpenraumes unter besonderer Berücksichtigung Österreichs, Band 2*, Karlheinz Baumann Verlag, Gomaringen, **1995**.
- [110] G. W. Martin, C. J. Alexopoulos, M. L. Farr, *The Genera of Myxomycetes*, University of Iowa Press, Iowa City, **1983**.
- [111] T. G. Laffler, J. J. Tyson, *NATO ASI Ser., Ser. A* **1986**, *106*, 79-109.
- [112] P. Loidl, A. Eberharter, *Int. Rev. Cytol.* **1995**, *162B*, 377-403.
- [113] P. R. Jayasree, P. R. Kumar, R. V. Nair, *Curr. Sci.* **2000**, *78*, 1127-1130.
- [114] J. Bailey, *Microbiology* **1995**, *141*, 2355-2365.
- [115] J. Bailey, *BioEssays* **1997**, *19*, 985-992.
- [116] K. Kohama, L. H. Ye, A. Nakamura, *Biomed. Res.* **1993**, *14*, 57-62.
- [117] A. Nakamura, K. Kohama, *Int. Rev. Cytol.* **1999**, *191*, 53-98.
- [118] N. Hardman, *Spec. Publ. Soc. Gen. Microbiol.* **1987**, *22*, 163-178.
- [119] J. Trzcinska-Danielewicz, J. Fronk, *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, 3411-3416.

- [120] H. Takano, T. Abe, R. Sakurai, Y. Moriyama, Y. Miyazawa, H. Nozaki, S. Kawano, N. Sasaki, T. Kuroiwa, *Mol. Gen. Genet.* **2001**, *264*, 539-545.
- [121] A. Hüttermann: Enzyme and protein synthesis during differentiation of *Physarum polycephalum*, in *Cell Biol. Physarum didymium* (Hrsg.: H.C. Aldrich, J.W. Daniel), Academic Press, New York, **1982**, S. 77-99.
- [122] S. Hatano, *NATO ASI Ser., Ser. A* **1986**, *106*, 165-174.
- [123] T. Ueda, Y. Mori, T. Nakagaki, Y. Kobatake, *Photochem. Photobiol.* **1988**, *47*, 271-275.
- [124] I. Block, K. E. Wohlfarth-Bottermann, *Cell Biol. Int. Rep.* **1981**, *5*, 73-81.
- [125] T. Schreckenbach: Phototaxis and Photomorphogenesis in *Physarum polycephalum* Plasmodia, in *Blue Light Effects in Biological Systems* (Hrsg.: H. Senger), Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, **1984**, S. 463-475.
- [126] T. Schreckenbach, C. Verfuether, *Eur. J. Cell Biol.* **1982**, *28*, 12-19.
- [127] L. Rakoczy, *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* **1973**, *86*, 141-164.
- [128] W. Marwan, *Compr. Ser. Photosci.* **2001**, *1*, 561-587.
- [129] B. Steffan, M. Praemassing, W. Steglich, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 3667-3670.
- [130] G. Billen, *Totalsynthese von Physarochrom A und chiralen Preanthrachinonen*, Dissertation, Universität Bonn, **1990**.
- [131] A. Nowak, B. Steffan, *Liebigs Ann. /Recueil* **1997**, 1817-1821.
- [132] A. Nowak, B. Steffan, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 3341-3343.
- [133] F. Blumenthal, *Totalsynthese von ¹³C-markierten Physarorubinsäuren A und B aus dem Schleimpilz Physarum polycephalum (Myxomycetes)*, Dissertation, Universität München, **2002**.

- [134] A. Nowak, *Isolierung, Strukturaufklärung und Partialsynthese von Plasmodienfarbstoffen aus dem Schleimpilz Physarum polycephalum (Myxomycetes)*, Dissertation, Universität München, **1998**.
- [135] F. Blumenthal, *Persönliche Mitteilung*.
- [136] P. Harrison, P. A. Duspara, S. I. Jenkins, S. A. Kassam, D. K. Liscombe, D. W. Hughes, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 4390-4402.
- [137] D. Schipper, J. L. van der Baan, F. Bickelhaupt, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1979**, 2017-2022.
- [138] H. Oikawa, K. Katayama, Y. Suzuki, A. Ichihara, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 1321-1322.
- [139] K. Katayama, J. Kobayashi, H. Oikawa, M. Honma, A. Ichihara, *Biochim. Biophys. Acta* **1998**, 1384, 387-395.
- [140] H. Oikawa, Y. Suzuki, K. Katayama, A. Naya, C. Sakano, A. Ichihara, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1999**, 1225-1232.
- [141] D. J. Witter, J. C. Vederas, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 2613-2623.
- [142] K. Auclair, A. Sutzherland, J. Kennedy, D. J. Witter, J. P. Van den Heever, C. R. Hutchinson, J. C. Vederas, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 11519-11520.
- [143] J.W. Daniel, H.H. Baldwin: Methods of culture for plasmodial myxomycetes, in *Meth. Cell Physiol., Vol. 1* (Hrsg.: D.M. Prescott), Academic Press, London, New York, **1964**, S. 9-41.
- [144] S. Eisenbarth, B. Steffan, *Tetrahedron* **2000**, 56, 363-365.
- [145] R. A. Hill, M. C. Parker, *Nat. Prod. Rep.* **2000**, 17, iii-v.
- [146] K. Wüthrich, *NMR of Proteins and Nucleic Acids*, John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, **1986**.

- [147] S. Daninos-Zeghal, A. Al Mourabit, A. Ahond, C. Poupat, P. Potier, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 7605-7614.
- [148] R. J. Sundberg, P. Van Nguyen, *Med. Chem. Res.* **1997**, *7*, 123-136.
- [149] K.H. Deimer: in *Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl), Band XV/1* (Hrsg.: E. Wünsch), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1974**, S. 315-327.
- [150] H. Henecka, P. Kurtz: in *Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl), Band VIII* (Hrsg.: E. Müller), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1952**, S. 655-658.
- [151] F. Möller: in *Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl), Band XI/2* (Hrsg.: E. Müller), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1958**, S. 10-14.
- [152] S. A. Brown, *Biosynthesis Vol. 1, A Specialist Periodical Report*, The Chemical Society, London, **1972**.
- [153] M. Luckner, *Secondary Metabolism in Microorganisms, Plants, and Animals*, 3. Auflage, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, **1990**.
- [154] A. A. Al-Badr, H. Y. Aboul-Enein, *Anal. Profiles Drug Subst.* **1983**, *12*, 385-432.
- [155] E. Brochmann-Hanssen, M. A. Nunes, C. K. Olah, *Planta Med.* **1975**, *28*, 1-5.
- [156] P. M. Dewick, *J. Nat. Prod.* **1998**, *15*, 17-58.
- [157] D. Munsche, K. Mothes, *Phytochemistry* **1965**, *4*, 705-712.
- [158] A. Stindl, U. Keller, *Biochemistry* **1994**, *33*, 9358-9364.
- [159] P. Spiteller, *Biosynthese und Strukturaufklärung von Sekundärmetaboliten aus Pilzen, Pflanzen und Flechten*, Dissertation, Universität München, **2001**.
- [160] P. Spiteller, W. Steglich, *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 725-727.
- [161] P. S. Pallas, *Elenchus zoophytorum sistens generum adumbrationes generaliores et specierum cognitarum succintas descriptiones cum selectis auctorum synonymis*, The Hague, P. van Cleef, **1766**.

- [162] P. S. Pallas, *Charakteristik der Tierpflanzen, worin von den Gattungen derselben allgemeine Entwürfe, und von den dazugehörigen Arten kurze Beschreibungen gegeben werden; nebst den vornehmsten Synonymen der Schriftsteller. Dt. Übersetzung mit Anmerkungen von C.F. Wilkens*, Raspische Buchhandlung, Nürnberg, **1787**.
- [163] H. Erhardt, H. Moosleitner, *Meerwasser Atlas Band 2: Wirbellose Tiere*, Mergus Verlag, Melle, **1995**.
- [164] H. Göthel, *Farbatlas Mittelmeerfauna; Niedere Tiere und Fische*, Ulmer Verlag, Stuttgart, **1992**.
- [165] A. Mojetta, A. Ghisotti, *Tiere und Pflanzen des Mittelmeeres*, Naturbuch Verlag, Augsburg, **1997**, S. 206-207.
- [166] J. C. Calvín, *El Ecosistema Marino Mediterráneo; Guía de su Flora y Fauna*, Murcia, **1995**.
- [167] H. Jork, W. Funk, W. Fischer, H. Wimmer, *Dünnschichtchromatographie, Band 1a*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, **1989**, S. 288-293.
- [168] S. Eisenbarth, M. Gehling, A. Harder, B. Steffan, *Tetrahedron* **2002**, 58, 8461-8464.
- [169] Y. Suzuki, Y. Esumi, I. Yamaguchi, *Phytochemistry* **1999**, 52, 281-289.
- [170] M. Arisawa, K. Ohmura, A. Kobayashi, N. Morita, *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, 37, 2431-2434.
- [171] B. Rajanikanth, B. Ravindranath, M. L. Shankaranarayana, *Phytochemistry* **1984**, 23, 899-900.
- [172] P. Roller, K. Au, R. E. Moore, *Chem. Commun.* **1971**, 503-504.
- [173] H. Henecka: in *Methoden Org. Chemie (Houben-Weyl), Band VIII* (Hrsg.: E. Müller), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1952**, S. 547-549.
- [174] M. Srebnik, R. Mechoulam, I. Yona, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1987**, 1423-1427.

- [175] H. Meerwein: in *Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl)*, Band VI/3 (Hrsg.: E. Müller), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1965**, S. 54-67.
- [176] S. De Rosa, A. Milone, A. Crispino, A. Jaklin, A. De Giulio, *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 462-463.
- [177] G. I. Nonaka, M. Muta, I. Nishioka, *Phytochemistry* **1983**, *22*, 237-241.
- [178] *Organikum*, 20. Auflage, Johann Ambrosius Barth Verlag, Heidelberg, Leipzig, **1996**, S. 599-604.
- [179] F. Ngan, M. Toofan, *Journal of Chromatographic Science* **1991**, *29*, 8-10.
- [180] G. R. Pettit, E. E. van Tamelen, *Org. Reactions* **1962**, *12*, 356-527.
- [181] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 5. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **1995**.
- [182] J. A. Dale, H. S. Mosher, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 512-519.
- [183] G. R. Sullivan, J. A. Dale, H. S. Mosher, *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 2143-2147.
- [184] I. Ohtani, T. Kusumi, Y. Kashman, H. Kakisawa, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 4092-4096.
- [185] N. Nakanishi, N. Berova, R. W. Woody, *Circular Dichroism - Principles and Applications*, Verlag Chemie, Weinheim, **1994**, S. 361-398.
- [186] N. Harada, A. Saito, H. Ono, J. Gawronski, K. Gawronska, T. Sugioka, H. Uda, T. Kuriki, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 3842-3850.
- [187] *Gattermann-Wieland: Die Praxis des Organischen Chemikers*, 43. Auflage, Walter de Gruyter, Berlin, New York, **1982**, S. 531.
- [188] *Organikum*, 19. Auflage, Johann Ambrosius Barth Verlag, Leipzig, Berlin, Heidelberg, **1993**, S. 510-514.
- [189] R. C. Arnold, A. P. Lien, R. M. Alm, *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 731-733.

- [190] H. Adams, R. Bell, Y. Y. Cheung, D. N. Jones, N. C. O. Tomkinson, *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, *10*, 4129-4142.
- [191] F. Clerici, M. L. Gelmi, D. Pocar, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 726-730.
- [192] J. V. Comasseto, E. S. Lang, J. T. B. Ferreira, F. Simonelli, V. R. Correia, *J. Organomet. Chem.* **1987**, *334*, 329-340.
- [193] S. F. Birch, W. S. Norris, *J. Chem. Soc.* **1925**, *127*, 898-907.
- [194] F. Buckel, P. Persson, F. Effenberger, *Synthesis* **1999**, *6*, 953-958.
- [195] W. W. Cleland, *Biochemistry* **1964**, *3*, 480-482.
- [196] J. Meienhofer, J. Czombos, H. Maeda, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 3080-3081.
- [197] P. Kumar, N. K. Bose, K. C. Gupta, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 967-970.
- [198] A. Palumbo, M. d'Ischia, G. Misuraca, G. Prota, *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 3207-3208.
- [199] E. Turner, R. Klevit, P. B. Hopkins, B. M. Shapiro, *J. Biol. Chem.* **1986**, *261*, 13056-13063.
- [200] N. Ishida, K. Kurihara, Y. Kobatake, *Cytobiologie* **1977**, *15*, 269-274.
- [201] *Aldrich Technical Bulletin AL-180*, **2000**.

Lebenslauf

Name Sophie Eisenbarth
geboren am 14. November 1972 in Passau

Schulausbildung

September 1979 – Juli 1983 Grundschule Grubweg in Passau
September 1983 – Juli 1992 Humanistisches Gymnasium Leopoldinum in Passau
08. Juli 1992 Abitur

Studium

November 1992 – Dezember 1998 Studium der Biologie und Chemie für das Lehramt an Gymnasien an der Ludwig-Maximilians-Universität München
27. April 1994 Zwischenprüfung Chemie
11. Oktober 1994 Zwischenprüfung Biologie
April – November 1996 Schriftliche Hausarbeit bei Prof. Dr. Ulrich Smola am Institut für Zoologie der Ludwig-Maximilians-Universität München zum Thema: „Endosymbiosen im Tierreich“
04. Dezember 1998 Erste Staatsprüfung für das Lehramt an Gymnasien

Promotion

Februar 1999 – Dezember 2001 Experimentelle Arbeiten zur Dissertation unter Anleitung von Prof. Dr. Wolfgang Steglich (Dr. Bert Steffan) am Department Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität München zum Thema: „Isolierung, Strukturaufklärung und Untersuchungen zur Biosynthese von Sekundärmetaboliten aus *Physarum polycephalum* (Myxomycetes) und *Pentapora fascialis* (Bryozoa)“

Tätigkeiten

Februar 1999 – Dezember 2001 Wissenschaftliche Angestellte am Department Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität München