

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

**Norditerpen- und Diterpen-Alkaloide
aus mongolischen *Aconitum*- und *Delphinium*-Spezies**

von
Susanne Sproll
aus
München

2004

Erklärung

Diese Dissertation wurde im Sinne von §13 Abs. 3 bzw. 4 der Promotionsordnung vom 1. Januar 2000 von Prof. Dr. F. Bracher betreut.

Ehrenwörtliche Versicherung

Diese Dissertation wurde selbständig, ohne unerlaubte Hilfe erarbeitet.

München, am 10.02.2004

Susanne Sproll
(Susanne Sproll)

Dissertation eingereicht am 10.02.2004

1. Gutachter

Prof. Dr. F. Bracher

2. Gutachter

Prof. Dr. T. Lindel

Mündliche Prüfung am 02.03.2004

Danksagungen

Für die stets großzügige Förderung und Unterstützung dieser Arbeit möchte ich Herrn Prof. Dr. F. Bracher sehr herzlich danken.

Herrn Prof. Dr. T. Lindel danke ich für die freundliche Übernahme des Koreferats.

Vielen Dank an Herrn Dr. Lerche und sein Team für die Anfertigung der NMR- und Massenspektren.

Außerdem möchte ich mich bei Herrn Dr. Fischer und bei Frau Ewald für die Anfertigung der FAB-Massenspektren bedanken.

Frau Dr. Gündisch von der Universität Bonn danke ich ganz herzlich für die Durchführung der Radioligandbindungsstudien.

Besonders möchte ich Herrn Prof. Batsuren und Herrn Dr. Batbayar von der Mongolischen Akademie der Wissenschaften in Ulaanbaatar für die gute Zusammenarbeit danken.

Ferner danke ich allen Mitgliedern des AK Bracher für ihre Hilfsbereitschaft und die sehr angenehme Atmosphäre, ganz besonders meinen Laborkollegen B. Pohl, J. Müller, N. Salman, C. Neudert, M. Lotter und B. Strödke sowie M. Strobl.

Herzlichen Dank auch an Herrn W. Eisenreich für die Einarbeitung, an Frau E. Armbrust für ihre Mitarbeit sowie an Frau U. Kopp und Frau M. Klimt für ihre sehr freundliche Unterstützung.

Inhaltsverzeichnis

A	Einleitung	1
B	Themenstellung.....	5
C	Allgemeiner Teil	6
1	Biologie und Chemie der untersuchten Pflanzen.....	6
1.1	Aconitum chasmanthum	6
1.2	Delphinium-Spezies.....	7
2	Einteilung der Diterpen- und Norditerpen-Alkaloide.....	10
3	Ergebnisse.....	16
3.1	Delphinium-Spezies.....	16
3.1.1	Extraktbereitung und Isolierung der Alkaloide	16
3.1.2	Strukturaufklärung der Norditerpen-Alkaloide vom Lycoctonin-Typ	19
3.1.2.1	Norditerpen-Alkaloide vom Lycoctonin-Typ mit aromatischem Rest an C-18	20
3.1.2.2	Norditerpen-Alkaloide vom Lycoctonin-Typ ohne aromatischem Rest an C-18	51
3.1.2.3	Norditerpen-Alkaloide vom Lycoctonin-Typ mit Methylendioxybrücke zwischen C-7 und C-8	60
3.1.3	Diskussion	67
3.2	Aconitum chasmanthum	69
3.2.1	Extraktbereitung und Isolierung der Alkaloide	69
3.2.2	Strukturaufklärung der Alkaloide.....	69
3.2.2.1	Norditerpen-Alkaloide vom Aconitin-Typ.....	69
3.2.2.2	Diterpen-Alkaloide	77
3.2.3	Diskussion	88
D	Radioligandbindungsstudien an nikotinischen Acetylcholinrezeptoren ..	89
1	Norditerpen-Alkaloide als Liganden an nikotinischen Acetylcholinrezeptoren...	89
2	Ergebnisse.....	92
3	Diskussion.....	93
E	Zusammenfassung.....	96
F	Experimenteller Teil	103
1	Allgemeine Angaben.....	103

2	Herkunft des Pflanzenmaterials, Extraktbereitung und Gewinnung der Alkaloidfraktionen.....	108
3	Isolierung der Alkaloide.....	111
3.1	Aconitum chasmanthum	111
3.2	Delphinium cheilanthum	112
3.3	Delphinium dissectum	113
3.4	Delphinium grandiflorum	116
4	Physikalische Daten der isolierten Alkaloide.....	117
	Methyllycaconitin (1)	117
	10-Hydroxymethyllycaconitin (2)	119
	Grandiflorin (3).....	121
	Delavain A (4a)	123
	Delavain B (4b)	125
	Delavain B freie Säure (5)	127
	Anthranoyllycoctonin (6)	129
	10-Hydroxyanthranoyllycoctonin (7).....	131
	Anhweidelphinin (8).....	133
	Delphatin (9).....	134
	Deoxylycoctonin (10).....	135
	Delcosin (11)	136
	Deltatsin (12)	137
	6-Acetyldelphelin (13).....	138
	Deltalin (14).....	139
	Delelatin (15).....	140
	Neolin (16).....	141
	Delstaphisagnin (17).....	142
	Senbusin A (18)	143
	12-Epi-Napellin (19).....	144
	Gomandonin (20).....	145
5	Radioligandbindungsstudien an nikotinischen Acetylcholinrezeptoren	146
5.1	Membranpräparationen.....	146
5.2	Kompetitionsexperimente.....	147
G	Anhang	150
1	Verzeichnis der Abkürzungen.....	150

2 Literaturverzeichnis 152

A Einleitung

Die Familie der Ranunculaceae (Hahnenfußgewächse) umfaßt 59 Gattungen mit ungefähr 1900 verschiedenen Arten, die hauptsächlich in den nördlichen extratropischen Gebieten verbreitet sind. Dabei handelt es sich zum Großteil um ausdauernde Pflanzen mit Rhizom oder Wurzelstock.^{1,2} Mit ihren zahlreichen Gift- und Heilpflanzen haben die Hahnenfußgewächse schon immer das Interesse für phytochemische Untersuchungen geweckt.

Eine bekannte Arzneipflanze, die zur Familie der Ranunculaceae gehört, ist z. B. das Adonisröschen (*Adonis vernalis*), das wegen der enthaltenen Herzglykoside (Cardenolide) bei nervösen Herzstörungen und Angina pectoris angewendet werden kann. Es ist im Deutschen Arzneibuch aufgeführt (*Adonidis herba*) und in Kombination mit anderen herzwirksamen Pflanzen als Fertigarzneimittel erhältlich (Miroton[®]).

Ein anderes herzwirksames Hahnenfußgewächs ist die Nieswurz (*Helleborus niger*; *Hellebori radix*), die Herzglykoside vom Bufadienolid-Typ enthält. Hier ist allerdings nur die Anwendung der isolierten Reinsubstanzen sinnvoll, da die Droge wegen der zusätzlich enthaltenen Saponine auch eine schleimhautreizende, brechreizerregende und laxierende Wirkung hat.³

Eine weitere bekannte Pflanze aus der Familie der Ranunculaceae, die sogar als Monopräparat-Fertigarzneimittel angeboten wird (Remifemin[®]), ist die Traubensilberkerze (*Cimicifuga racemosa*; *Radix Cimicifugae*). Sie hat vor allem wegen der enthaltenen Triterpenglykoside eine hormonartige Wirkung und wird daher zur Behandlung von Wechseljahresbeschwerden eingesetzt.

Daneben können Pflanzen aus der Familie Ranunculaceae cyanogene Glykoside (Gattungen *Ranunculus* und *Clematis*) und Isochinolinalkaloide wie z. B. Berberin und Magnoflorin (Gattungen *Thalictrum*, *Aquilegia* und *Hydrastis*) enthalten.¹ Die Klasse der im Rahmen dieser Arbeit beschriebenen Diterpen- und Norditerpen-Alkaloide kommt vor allem in Pflanzen der Gattungen *Delphinium* und *Aconitum* vor.

Die Gattung *Aconitum* umfaßt ca. 300 Arten, wobei die meisten bergige Regionen der nördlichen Hemisphäre bevorzugen.⁴ Der deutsche Name Eisenhut läßt sich auf die charakteristische Blütenform zurückführen, bei der das oberste kapuzenförmige Blatt einen hohlen Helm bildet. Der lateinische Name *Aconitum* leitet sich dagegen vermutlich aus dem

Griechischen ab und bedeutet soviel wie „Speer“ oder „Wurfspeer“. ⁵ Das deutet darauf hin, daß *Aconitum*-Zubereitungen als Pfeilgifte verwendet wurden. Pflanzen der Gattung *Aconitum* und ihre Giftwirkung sind schon seit der Antike bekannt. In der griechischen Mythologie wird nicht nur über ihre Verwendung als Pfeilgift berichtet, sondern auch über Giftmorde mit *Aconitum*-Abkochungen. ⁵

Aconitum-Arten können neben Diterpen- und Norditerpen-Alkaloiden auch Isochinolinalkaloide wie Magnoflorin und Catecholamine wie Noradrenalin und Dopamin enthalten. ⁴

Die bekannteste Art der Gattung *Aconitum* ist sicherlich der Blaue Eisenhut (*Aconitum napellus*), der auch im Homöopathischen Arzneibuch aufgeführt ist (*Aconiti tuber*). Diese Staudenpflanze mit blauviolettten Blüten enthält neben anderen Diterpen- und Norditerpen-Alkaloiden als Hauptalkaloid in den Knollen, aber auch in den oberirdischen Pflanzenteilen, Aconitin. Die pharmakologischen Wirkungen dieses Norditerpen-Alkaloids sind gut untersucht und bestimmen im Wesentlichen auch die Wirkungen der Droge. Aconitin erhöht die Permeabilität reizbarer Membranen für Natriumionen, es verlängert den Natrium-Einstrom während des Aktionspotentials und verzögert die Repolarisation. Das bewirkt zunächst eine Erregung, später eine Lähmung der sensiblen und motorischen Nervenendigungen und des ZNS. Daher wurde Aconitin früher bei Schmerzzuständen bei Neuralgien, insbesondere Trigeminusneuralgien eingesetzt. ⁴ Ebenso wurde die lokalanästhetische Wirkung nach Applikation auf die Haut oder Schleimhaut genutzt. Da Aconitin sehr giftig ist (2-5 mg p.o. führen zum Tod durch Atemlähmung oder Herzversagen, die Resorption durch Haut und Schleimhäute ist auch sehr gut ⁶) ist die Anwendung obsolet.

Zubereitungen aus Pflanzen der Gattung *Aconitum* wurden früher volksmedizinisch auch als Antipyretika, Sedativa und Analgetika verwendet. ⁵

In der Homöopathie wird *Aconitum* D₄ - D₆ noch als Basismittel bei Neuralgien und Neuritiden, Fieber, Endo- und Pericarditis angewendet. ³

Die Gattung *Delphinium* umfaßt ca. 250 Arten, die im extratropischen Teil der nördlichen Hemisphäre wachsen. ⁷ Gelegentlich wird die Gattung noch unterteilt in zwei selbständige Gattungen, *Delphinium* (ein- oder zweijährige Pflanzen) und *Consolida* (nur einjährige Kräuter).

Der Name *Delphinium* geht darauf zurück, daß die geschlossenen Blütenknospen dieser Pflanzen Ähnlichkeit mit Delphinen haben. ⁵ Ebenso spielt der deutsche Name Rittersporn auf den dorn- oder spornartigen Fortsatz der Knospen an.

Die Pflanzen der Gattung *Delphinium* sind aufgrund ihres Gehalts an Diterpen- und vor allem Norditerpen-Alkaloiden auch giftig, jedoch nicht so dafür bekannt wie die Gattung *Aconitum*. Zubereitungen aus *Delphinium*-Arten wurden früher eher als Insektizide verwendet, z. B. halfen die zerstoßenen Samen von *Delphinium staphisagria* gegen Körperläuse. Allerdings bereitet die Toxizität von *Delphinium*-Arten auch heute noch den Ranchern in den USA große Probleme, da häufig Rinder sterben, nachdem sie zuviel Rittersporn gefressen haben.⁵

Als Hauptalkaloid kommt das Norditerpen-Alkaloid Methyllycaconitin in vielen *Delphinium*-Arten vor. Es zeigt eine Curare-artige Wirkung, da es als Ligand an nikotinischen Acetylcholinrezeptoren angreift und dadurch eine Lähmung der Skelettmuskulatur bewirkt. Außerdem greift es an demselben Rezeptor im zentralen und peripheren Nervensystem an. Detaillierter wird diese Wirkung im Teil Biologische Prüfung diskutiert. Darüber hinaus wurde über eine vorübergehende blutdrucksenkende Wirkung nach Injektion von Methyllycaconitin in Tierversuchen berichtet.⁵

Zubereitungen aus Pflanzen der Gattung *Delphinium* wurden früher volksmedizinisch als Analgetika, Sedativa, Emetika, Anthelmintika, Antipyretika und bei durch Gallenstörungen verursachten Durchfällen angewendet.^{5,8}

Neben den Diterpen- und Norditerpen-Alkaloiden wurden in *Delphinium*-Arten das Isochinolinalkaloid Magnoflorin sowie β -Sitosterin, β -Sitosterin glucosid, ungesättigte Paraffine und Wachsalkohole gefunden.⁷

Man kann davon ausgehen, daß die angeführten pharmakologischen bzw. toxischen Wirkungen von Pflanzen der Gattungen *Aconitum* und *Delphinium* auf den Gehalt an Diterpen- und Norditerpen-Alkaloiden zurückzuführen sind.^{5,9} Viele dieser Alkaloide wurden isoliert und verschiedenen pharmakologischen Tests unterzogen, so daß folgende Wirkungen festgestellt werden konnten: Herzwirkung (sowohl Vermindern als auch Verursachen von Herzrhythmusstörungen), Effekte auf die glatte Muskulatur und Skelettmuskulatur, zentralnervöse Aktivität, Analgesie.⁹

Es stellt sich natürlich die Frage, welchen Nutzen die Pflanzen aus der Produktion dieser Alkaloide ziehen. Zwei mögliche Funktionen der Alkaloide werden diskutiert. Zum einen konnte bei der Art *D. ajacis* gezeigt werden, daß das Norditerpen-Alkaloid Delcosin das Wachstum der Pflanze hemmt und damit einen Gegenspieler zu den wachstumsfördernden Gibberellinen darstellt. Das bedeutet, die Alkaloide könnten eine entscheidende Rolle bei der Regulation des Wachstums spielen.^{10,11}

Eine andere Erklärung läßt sich aus der insektiziden Wirkung, die vor allem von den Alkaloiden aus *Delphinium*-Arten bekannt ist, ableiten. Pflanzen der Gattungen *Aconitum* und *Delphinium* leiden kaum unter Insektenbefall und eine Aktivität der Alkaloide von *D. geyeri* gegen Insektenfraß konnte in einem Bioassay gezeigt werden.¹² Diese insektizide Wirkung ist auch auf eine Affinität der Alkaloide zu nikotinischen Acetylcholinrezeptoren zurückzuführen.⁹

Man kann also annehmen, daß Pflanzen, die diese Alkaloide enthalten, weitgehend von Insekten verschont werden. Das bedeutet, daß sich diese Arten im Vergleich zu anderen Pflanzen einen ökologischen Vorteil durch die Produktion toxischer Alkaloide verschaffen.

B Themenstellung

Aufgrund einer von der DFG geförderten Kooperation mit Wissenschaftlern des Instituts für Chemie der Mongolischen Akademie der Wissenschaften in Ulaanbaatar kamen zwei mongolische Wissenschaftler, Herr Dr. N. Batbayar und Herr Prof. D. Batsuren, jeweils für einen Forschungsaufenthalt von drei Monaten an unseren Lehrstuhl. Dabei brachten sie aus der Mongolei Extrakte bzw. Alkaloidfraktionen der drei *Delphinium*-Arten *D. cheilanthum*, *D. dissectum* und *D. grandiflorum* sowie der *Aconitum*-Art *A. chasmanthum* mit. Aufgrund ihrer Zugehörigkeit zu den Gattungen *Delphinium* bzw. *Aconitum* war zu erwarten, daß diese Pflanzen reich an Diterpen- und Norditerpen-Alkaloiden sind. Obwohl über die erste Isolierung eines Diterpen-Alkaloids bereits 1819 berichtet worden war⁶³ und mittlerweile die Strukturen von über 400 Diterpen- und Norditerpen-Alkaloiden aufgeklärt wurden, werden immer wieder Berichte über die Isolierung von Alkaloiden mit neuen Strukturelementen veröffentlicht. Daher bleibt die phytochemische Untersuchung dieser beiden Gattungen nach wie vor interessant und vielversprechend, zumal die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Pflanzen aus der Mongolei stammen, deren Flora bisher wenig untersucht wurde.

Die Mongolei hat einige klimatische Besonderheiten zu bieten, die sich von denen der meisten anderen Regionen der Welt deutlich unterscheiden. Die Luftfeuchtigkeit ist mit 50-60 % sehr niedrig und die Niederschläge betragen nur ca. 50-300 mm pro Jahr. Der Sommer dauert nur von Juni bis August, während des sehr strengen Winters fällt die Temperatur oft bis auf $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$. In Kombination mit der hohen Lage über dem Meeresspiegel werden so einzigartige Wachstumsbedingungen geschaffen. Eine Folge davon ist, daß die Pflanzen dort nur eine sehr kurze Vegetationsperiode haben und weitgehend unempfindlich gegen Frost und Dürre sind. Man kann annehmen, daß sich unter diesen speziellen Bedingungen auch eine besondere Zusammensetzung der Sekundärstoffe wie z. B. der Alkaloide entwickelt. Daher sollte im Rahmen dieser Arbeit die Alkaloidzusammensetzung der mongolischen Pflanzen untersucht und dabei festgestellt werden, ob in der Sekundärstoffzusammensetzung Unterschiede zu gleichen, aber in anderen Regionen heimischen Arten bestehen. Abgesehen von der Mongolei sind die *Delphinium*-Arten *D. cheilanthum* und *D. grandiflorum* noch in China und in Sibirien beheimatet, *D. dissectum* kommt außer in der Mongolei noch in Sibirien vor. *Aconitum chasmanthum* ist außer in der Mongolei noch in Sibirien, Indien, Pakistan und in den westlichen Himalayagebieten heimisch.^{14, 13}

C Allgemeiner Teil

1 Biologie und Chemie der untersuchten Pflanzen

1.1 *Aconitum chasmanthum*

Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchte *Aconitum*-Art läßt sich systematisch folgendermaßen einordnen:

Abteilung:	Angiospermae
Unterabteilung:	Magnoliophytina
Klasse:	Magnoliopsida
Unterklasse:	Ranunculidae
Ordnung:	Ranunculales
Familie:	Ranunculaceae
Gattung:	<i>Aconitum</i>
Art:	<i>Aconitum chasmanthum</i> Stapf.

Aconitum chasmanthum ist eine mehrjährige 30 bis 50 cm hohe Pflanze, die bevorzugt in bergigen Gegenden wächst. An dem unverzweigten unbehaarten Stengel befinden sich fünf- bis siebenfingrige ebenfalls unbehaarte Blätter (ca. 4,5 x 5,0 cm). Die blauvioletten Blüten öffnen sich im Juli, die Samen reifen im August und September.¹⁴

Bisher wurden noch keine Untersuchungen von aus der Mongolei stammendem *A. chasmanthum* veröffentlicht. In den Wurzeln einer in Pakistan heimischen Art konnten bisher die folgenden Norditerpen-Alkaloide vom Aconitin-Typ gefunden werden: 14-O-Benzoyl-8-ethoxybikhaconin, 14-O-Benzoyl-8-methoxybikhaconin¹⁵, Chasmaconitin, Chasmanthinin,¹⁶ Chasmanin¹⁷, Chasmanthinin¹⁸, Indaconitin¹⁹. Außerdem konnte Homochasmanin²⁰, das demselben Strukturtyp zuzuordnen ist, aus Pflanzen indischer Herkunft isoliert werden.

1.2 *Delphinium*-Spezies

Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten *Delphinium*-Arten lassen sich systematisch folgendermaßen einordnen:

Abteilung:	Angiospermae
Unterabteilung:	Magnoliophytina
Klasse:	Magnoliopsida
Unterklasse:	Ranunculidae
Ordnung:	Ranunculales
Familie:	Ranunculaceae
Gattung:	<i>Delphinium</i>
Art:	<i>Delphinium cheilanthum</i> Fisch. <i>Delphinium dissectum</i> Huth <i>Delphinium grandiflorum</i> L.

Bei *D. cheilanthum* handelt es sich um eine 0,8 bis 1,4 m hohe Pflanze mit einem verzweigten oder unverzweigten unbehaarten Stengel, an dem gelappte Blätter mit einem Durchmesser von 7 bis 10 cm wachsen (Abb. 1). Die violettblauen Blüten mit einem ca. 2 cm langen Sporn sind in einer 12 bis 20 cm langen Traube angeordnet. Blütezeit ist von Juli bis August.¹⁴



Abb. 1: *Delphinium cheilanthum* Fisch.

Über *D. cheilanthum* wurde neben einer Untersuchung der Fettsäurezusammensetzung der Samen²¹ bisher nur eine Isolierung der Norditerpen-Alkaloide vom Lycoctonin-Typ Deltalin und Methyllycaconitin aus Pflanzen mongolischer Herkunft veröffentlicht.²² Autoren dieser Publikation sind u. a. die mongolischen Wissenschaftler, mit denen eine Kooperation besteht.

Delphinium dissectum ist eine mehrjährige Pflanze, die 30 bis 60 cm hoch wird (Abb. 2). An mehreren unbehaarten Stengeln wachsen drei- bis fünf-fingrige Blätter und zahlreiche blaue Blüten, die sich im Juli öffnen. Die Samen reifen im August bis September.



Abb. 2: *Delphinium dissectum* Huth



Diese Pflanze wurde erstmals im Rahmen dieser Arbeit phytochemisch untersucht, erste Ergebnisse wurden bereits in einer Publikation veröffentlicht.⁴²

Der 14 bis 65 cm hohe verzweigte Stengel von *Delphinium grandiflorum* trägt gelappte 4 bis 12 cm große Blätter und violettblaue oder blaue Blüten. *D. grandiflorum* wächst in lichten Wäldern, Unterholz, an Böschungen, auf Feldern und Wiesen.¹⁴ Aus der Pflanze *Delphinium grandiflorum* wurden durch Züchtungen die verschiedenen Formen des häufig in Gärten kultivierten Rittersporn erhalten. Obwohl hier heute unterschiedliche Farbvariationen existieren, zeigt sich bei der Vermehrung durch Samen von Generation zu Generation eine Rückentwicklung zu der ursprünglichen violettblauen bis blauen Blütenfarbe.



Abb. 3: *Delphinium grandiflorum* L.

Pflanzen der Art *D. grandiflorum* wurden phytochemisch schon ausführlich untersucht. Neben der Fettsäureanalyse der Samen wurden Flavonoide und Alkaloide isoliert. Dabei konnten neben dem Isochinolinalkaloid Magnoflorin²³ und den Diterpen-Alkaloiden vom Typ A2 (Atisan-Typ) Delgramin²⁴, Delgrandin und Acetyldelgrandin²⁵ folgende Norditerpen-Alkaloide vom Lycoctonin-Typ identifiziert werden: Anhwedelphinin, 14-Dehydrodelcosin, Delphatin, Delsolin, Grandiflorin, Lycoctonin, Methyllycaconitin,²⁶ Anthranoyllycoctonin, Dictyocarpin,²⁷ Demethyldelavain, Delsemin A und B²⁸, Grandifloricin und Grandifloritin.²⁹ Die meisten dieser Alkaloide wurden aus Pflanzen chinesischer Herkunft isoliert. *D. grandiflorum* aus der Mongolei wurde bisher nicht phytochemisch untersucht.

2 Einteilung der Diterpen- und Norditerpen-Alkaloide

Diterpen- und Norditerpen-Alkaloide kommen in den Pflanzenfamilien Compositae, Garryaceae, Ranunculaceae, Rosaceae und Saxifragaceae vor. Vor allem die Gattungen *Aconitum*, *Delphinium* und *Consolida* sind reich an diesen Alkaloiden.

Norditerpen-Alkaloide besitzen ein C₁₉-Grundgerüst, das aus einem 7-gliedrigen Ring, drei 6-gliedrigen Ringen und zwei 5-gliedrigen Ringen besteht.

Man kann vier verschiedene Typen unterscheiden (Abb. 4):

1. Aconitin-Typ

Hier ist immer nur Wasserstoff an C-7 gebunden. Häufig sind C-3, C-13 und/oder C-15 mit Hydroxygruppen substituiert.

2. Lycoctonin-Typ

Bei diesem Typ ist an C-7 immer ein Sauerstoff-Substituent gebunden.

3. Heteratisin-Typ

Hier handelt es sich bei Ring C um eine δ -Lacton-Einheit.

4. Pyroaconitin-Typ

Dieser Typ besitzt zwischen C-8 und C-15 eine Doppelbindung. Vermutlich handelt es sich dabei um Artefakte, die bei der Aufarbeitung entstehen.⁶³

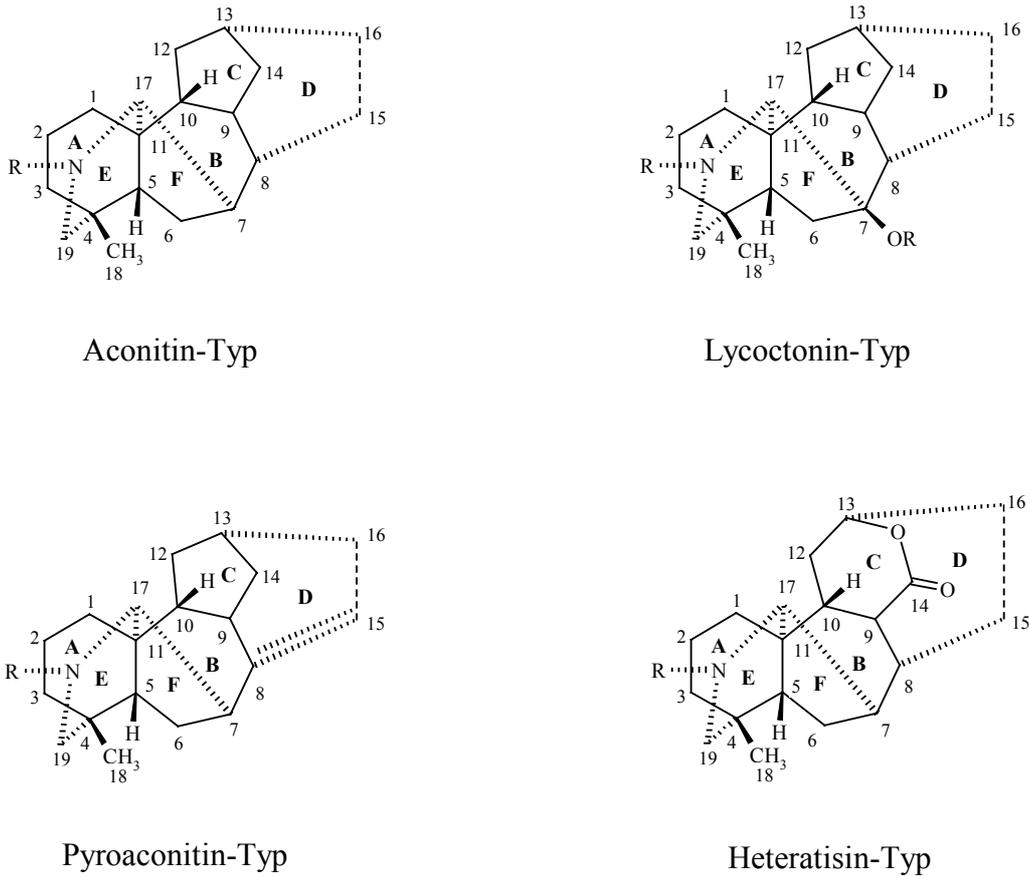


Abb. 4: Grundtypen der Norditerpen-Alkaloide

Diterpen-Alkaloide besitzen ein C_{20} -Grundgerüst und lassen sich je nach der Anknüpfung der C-15-C-16-Brücke an C-12 oder C-13 in zwei Haupttypen einteilen:

1. Atisan-Typ

Hier ist die C-15-C-16-Brücke mit C-12 verbunden, wodurch ein [2.2.2]-Ringsystem entsteht. Es wird noch weiter in vier Subtypen A1, A2, A3 und A4 unterteilt.

2. Kauran-Typ

Die C-15-C-16-Brücke ist mit C-13 verknüpft, wodurch ein [3.2.1]-Ringsystem entsteht. Auch hier wird noch weiter in drei Subtypen B1, B2 und B3 unterteilt.

Das Grundgerüst der Diterpen-Alkaloide zeigt größere Variationen als das der Norditerpen-Alkaloide, z. B. kann C-20 statt mit C-7 auch mit C-14 verknüpft sein oder als Methylenkohlenstoff vorliegen. Abgebildet ist hier nur jeweils ein Subtyp der Kauran-Struktur (B3-Typ) und ein Subtyp der Atisan-Struktur (A4-Typ) (Abb. 5).

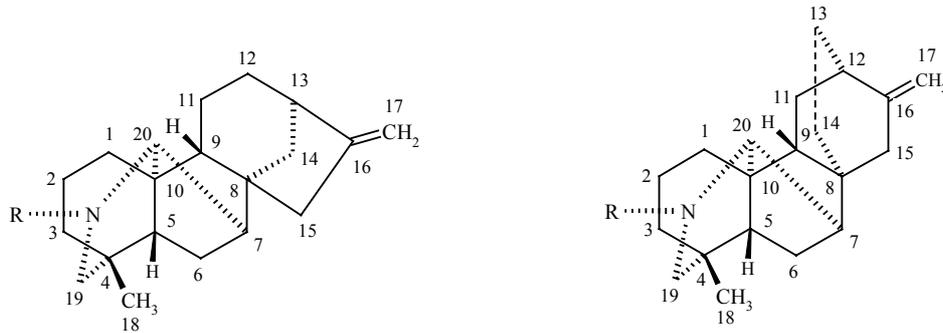


Abb. 5: Subtyp B3 (Kauran-Struktur; links) und Subtyp A4 (Atisan-Struktur; rechts) der Diterpen-Alkaloide

Der Name Diterpen-Alkaloide deutet an, daß sie biosynthetisch von den C_{20} -Terpenen abgeleitet sind. Die Biosynthese der Alkaloide ist noch weitgehend ungeklärt, es gibt aber Hinweise darauf, daß sie tatsächlich aus Isopren-Einheiten aufgebaut werden. Aus vier Isopren-Einheiten entsteht Geranylgeranyldiphosphat, das über verschiedene Zwischenstufen das Kauran-Gerüst bildet (Abb. 6).³⁰

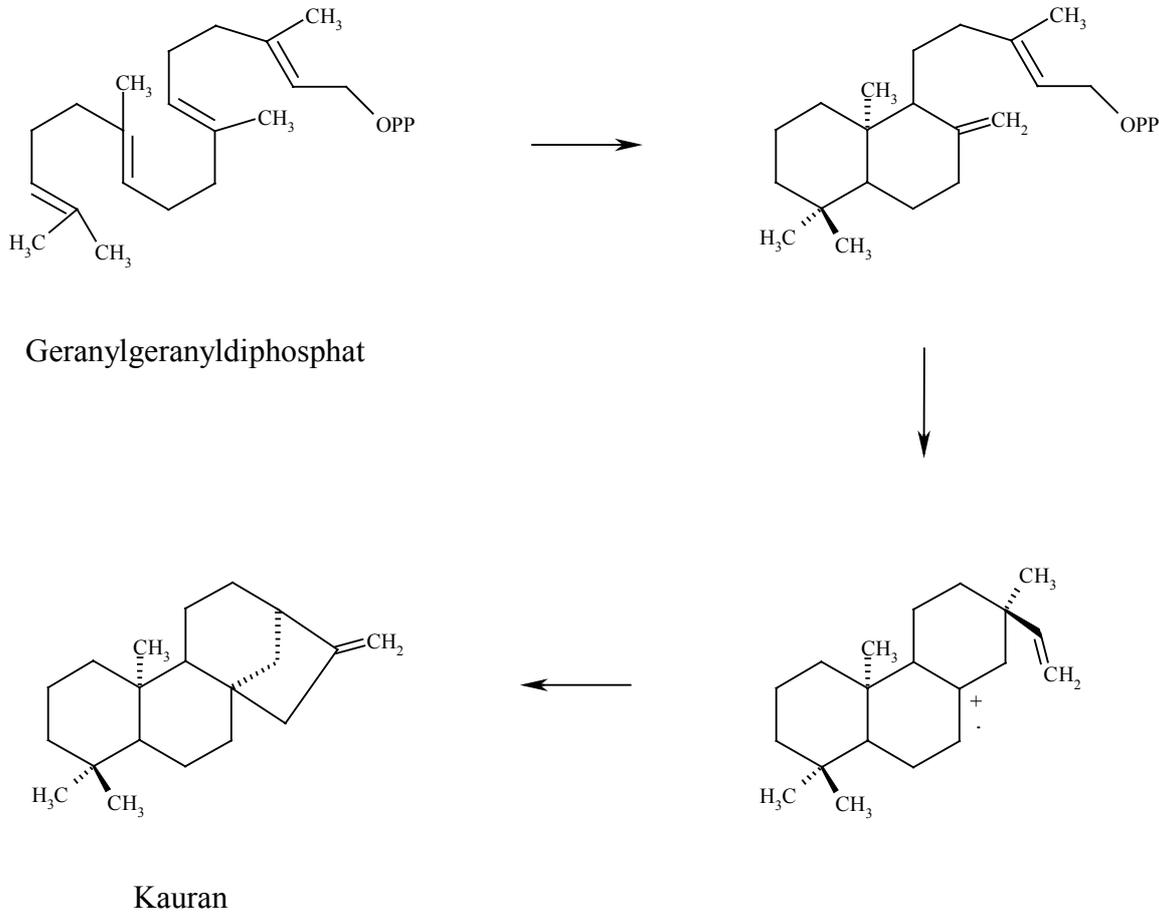


Abb. 6: Biosyntheseschritte von Geranylgeranyldiphosphat zum Kauran-Gerüst

Um die Entstehung der beiden Grundtypen Atisan und Kauran zu erklären, wurde das Vorhandensein einer gemeinsamen carbokationischen Zwischenstufe vorgeschlagen (Abb. 7).⁹

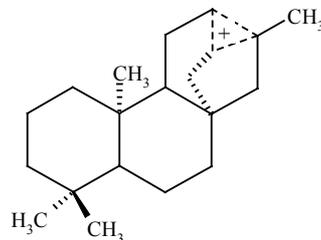


Abb. 7: Postulierte gemeinsame Biosynthesezwischenstufe des Atisan- und Kauran-Typs

Die Entstehung der Norditerpen-Alkaloide versucht man durch die Verschiebung einer C-C-Bindung zu erklären, wodurch sowohl aus dem Atisan- als auch aus dem Kauran-Typ das Norditerpen-Gerüst entstehen könnte (Abb. 9). Man nimmt an, daß das Kohlenstoffatom an Position 17 des Diterpen-Gerüsts nach vorangegangener Oxidation als CO_2 abgespalten wird.³¹ Unterstützt wird diese Vermutung durch die Isolierung des Alkaloids Actalin aus einer *Aconitum*-Art (Abb. 8).^{32, 9} Dieses Alkaloid repräsentiert eine Zwischenstufe, da es zwar noch 20 Kohlenstoffatome enthält, diese aber in der Struktur eines Norditerpen-Gerüsts angeordnet sind.

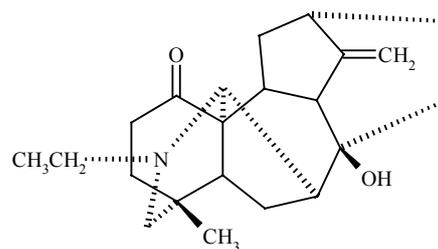


Abb. 8: Die Struktur von Actalin, einem C_{20} -Alkaloid mit Norditerpen-Grundgerüst

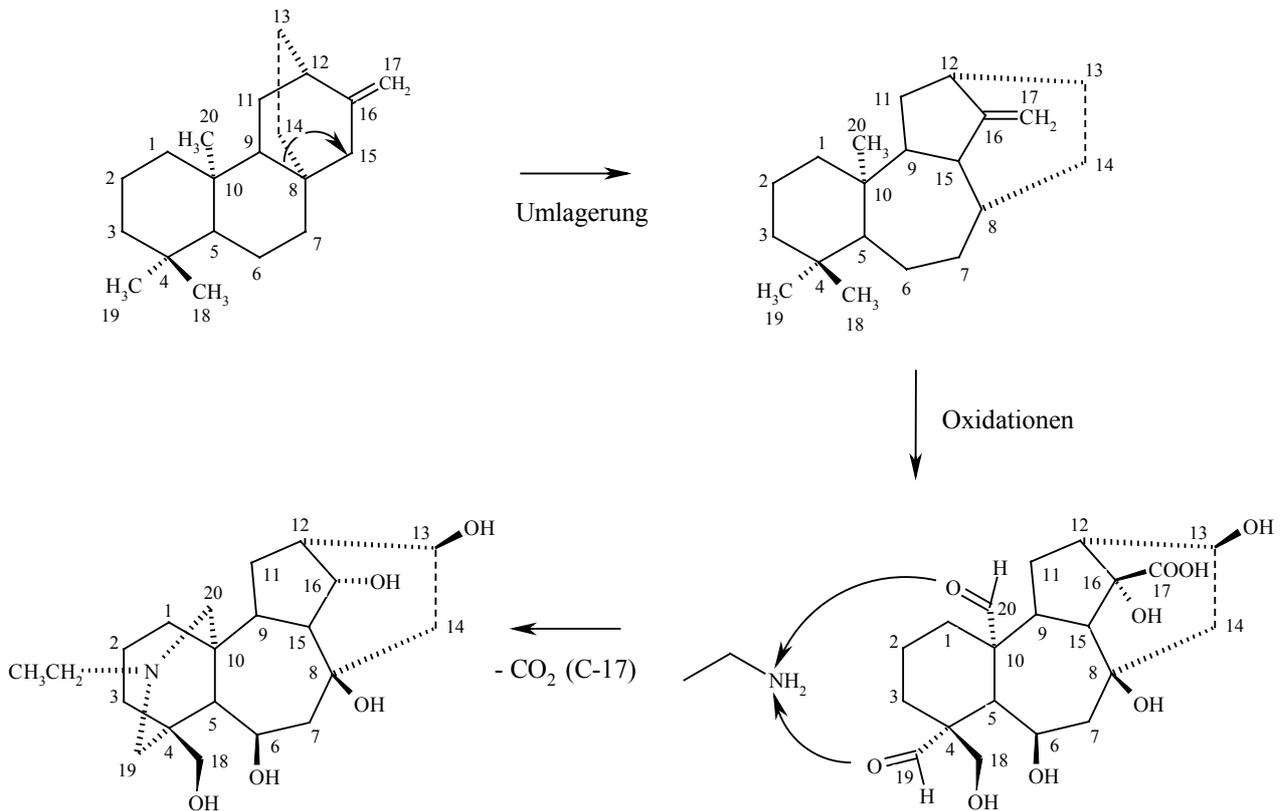


Abb. 9: Vorgeschlagener Weg vom Diterpen- zum Norditerpen-Gerüst (Positionen der Sauerstoffsubstituenten willkürlich); Vorschlag zum Einbau des Stickstoffs

Wie und auf welcher Stufe der Stickstoff in das Molekül eingeführt wird, ist ebenfalls noch nicht geklärt. Ein Vorschlag beinhaltet, daß nach zahlreichen Oxidationsreaktionen am Kohlenstoffgerüst eine Dialdehydstruktur gebildet wird, die dann mit Ammoniak (möglicherweise aus Glutamin oder Lysin) oder mit Ethylamin in einer Art reduktiver Aminierung reagiert (Abb. 9).^{31, 9}

Um die Verknüpfung zwischen C-17 (Norditerpen) bzw. C-20 (Diterpen) und C-7 zu erklären, wurde eine Art Mannich-Reaktion vorgeschlagen (Abb. 10).³³ Ein Hinweis darauf könnte sein, daß die meisten Norditerpen-Alkaloide an Position 6 eine Sauerstofffunktion tragen. Allerdings trifft das nur auf einige der Diterpen-Alkaloide zu.

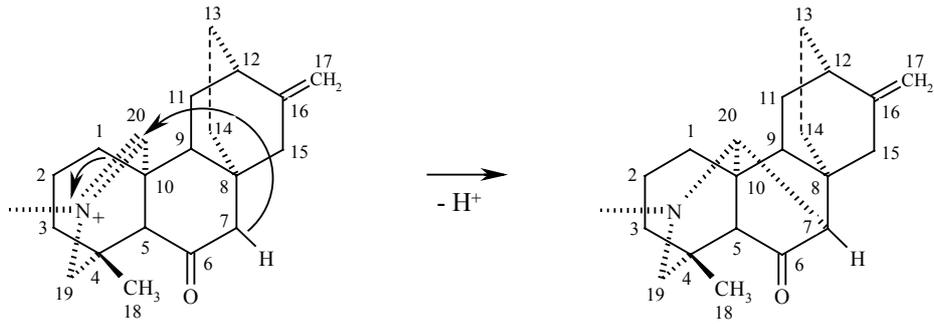


Abb. 10: Vorschlag für die Entstehung der Bindung zwischen C-20 (Diterpen-Alkaloide) bzw. C-17 (Norditerpen-Alkaloide) und C-7 durch eine Art Mannich-Reaktion

Es wurden Versuche unternommen, die Biosynthese der Diterpen-Alkaloide aufzuklären, indem Pflanzen radioaktiv markierte Vorstufen wie Acetat, Mevalonat und Glycin zugeführt wurden. Dabei konnte allerdings kein oder nur ein sehr geringer Einbau der radioaktiv markierten Präkursoren in die Alkaloide festgestellt werden, was aber vermutlich eher auf Transportschwierigkeiten (unzureichende Zellmembranpermeabilität) zurückzuführen ist.⁹

3 Ergebnisse

3.1 *Delphinium*-Spezies

3.1.1 Extraktbereitung und Isolierung der Alkaloide

Die Extrakte aus den drei mongolischen *Delphinium*-Arten *D. cheilanthum*, *D. dissectum* und *D. grandiflorum* wurden alle nach dem gleichen Schema bereits in der Mongolei von den Wissenschaftlern des Instituts für Chemie der Mongolischen Akademie der Wissenschaften, mit denen eine Kooperation besteht, hergestellt. Die gesammelten oberirdischen Pflanzenteile wurden zunächst getrocknet und gepulvert, um dann erschöpfend durch Perkolation mit 80 % Ethanol extrahiert zu werden. Nach dem Abdampfen des Ethanols wurden die konzentrierten Extrakte einem modifizierten Stas-Otto-Gang unterzogen, um die Alkaloide von den übrigen Pflanzenbestandteilen abzutrennen. Diese Aufarbeitung wurde bei *D. grandiflorum* und *D. dissectum* in der Mongolei durchgeführt, bei *D. cheilanthum* zum Teil hier in München am Institut für Pharmazie. Dazu wurde nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure zunächst mehrmals mit Ether ausgeschüttelt, um lipophile Bestandteile zu entfernen. Danach wurde durch Zugabe von Natriumhydrogencarbonat der pH-Wert auf 4,5 eingestellt und mehrmals mit Chloroform ausgeschüttelt. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels erhielt man so die konzentrierte Alkaloidfraktion A.

Die wäßrige Phase wurde mit Natriumcarbonat auf den pH-Wert 8,0 eingestellt, anschließend wurde wieder mit Chloroform ausgeschüttelt, um nach dem Abdampfen des Lösungsmittels Fraktion B zu gewinnen. Nachdem der pH-Wert der wäßrigen Phase dann mit 40 % Natriumhydroxidlösung auf 10,0 eingestellt worden war, wurde erneut mit Chloroform ausgeschüttelt, so daß man nach dem Abdampfen des Lösungsmittels die dritte Alkaloidfraktion C erhielt. Diese wurde allerdings bei *D. grandiflorum* nicht gewonnen.

Wie durch Vergleich der Fraktionen A, B und C mittels Dünnschichtchromatographie zu erkennen war, befanden sich trotz dieser Vortrennung durch den Ausschüttelgang zum Großteil dieselben Alkaloide in den drei Alkaloidfraktionen. Da sich die meisten enthaltenen Alkaloide in ihrer chemischen Struktur nur geringfügig unterscheiden, z. B. nur durch die zusätzliche Veretherung einer Alkoholfunktion, war es sehr schwierig, aufgrund von DC-Untersuchungen Aussagen über die Zusammensetzung der einzelnen Alkaloidfraktionen zu machen.

Die Alkaloidfraktionen A, B und C wurden zum Großteil über wiederholte Säulenchromatographie mit den Sorbentien Kieselgel oder basischem bzw. neutralem Aluminiumoxid aufgetrennt. Dabei wurden häufig Chloroform bzw. Chloroform-Methanol-Gradientensysteme verwendet, da sich darin fast alle zu isolierenden Alkaloide gut lösen. Andere Fließmittel, die sich für die DC-Untersuchung zwar gut eigneten, wie z.B. Heptan-Ethylacetat-Ethyldimethylamin (50:50:5), konnten meist wegen Löslichkeitsproblemen nicht für die Säulenchromatographie verwendet werden.

Die vollständige Aufreinigung bzw. Isolierung der Alkaloide erfolgte dann häufig über präparative Dünnschichtchromatographie mit Platten, die mit Kieselgel oder basischem Aluminiumoxid beschichtet sind. Hier wurden ebenfalls Chloroform-Methanol-Mischungen verwendet (z. B. Chloroform-Methanol (80:20) bei Kieselgelplatten). Außerdem wurden verschiedene HPLC-Systeme für die vollständige Trennung der Substanzen verwendet, wobei sowohl Reversed-Phase-Materialien als auch Diol-Säulen zur Anwendung kamen.

Es wurde ebenfalls versucht, durch Umkristallisieren aus verschiedenen Lösungsmittelgemischen (z. B. Isohexan-Aceton oder Aceton-Methanol) Substanzen weiter aufzureinigen, was aber nur im Fall von Delcosin (**11**) gelang.

Mit den angeführten Methoden konnten folgende Alkaloide aus den drei *Delphinium*-Arten isoliert werden:

Aus Fraktion A von *D. cheilanthum* wurden über Säulenchromatographie die Alkaloide Methyllycaconitin (**1**), Anhwedelphinin (**8**), 6-Acetyldelphelin (**13**) und Deltalin (**14**) isoliert. Aus Fraktion B der gleichen Pflanze konnte mittels Säulenchromatographie das Alkaloid Delelatin (**15**) isoliert werden.

Von *D. dissectum* stand mehr Material zur Verfügung als von den anderen untersuchten Pflanzen, so daß diese Art ausgiebig untersucht werden und im Vergleich zu den anderen beiden *Delphinium*-Arten die meisten Alkaloide isoliert werden konnten.

Aus Fraktion C wurde das Alkaloid Methyllycaconitin (**1**) mittels Säulenchromatographie isoliert. Der neue Naturstoff 10-Hydroxymethyllycaconitin (**2**) konnte nach vorausgehender Säulenchromatographie mittels präparativer HPLC erhalten werden.

Aus Fraktion B konnten über verschiedene Techniken, u. a. HPLC und präparative Dünnschichtchromatographie die Alkaloide Anthranoyllycoctonin (**6**), Delavain B freie Säure (**5**), Delphatin (**9**) und Deoxylycoctonin (**10**) isoliert werden. Außerdem wurden der neue

Naturstoff 10-Hydroxyanthranoyllycoctonin (**7**) und das Regioisomerengemisch Delavain A (**4a**) und B (**4b**) gefunden.

Aus Fraktion A von *D. grandiflorum* konnten mittels verschiedener Chromatographie-Techniken die Alkaloide Methyllycaconitin (**1**), Grandiflorin (**3**), Delcosin (**11**) und Deltatsin (**12**) isoliert werden.

3.1.2 Strukturaufklärung der Norditerpen-Alkaloide vom Lycoctonin-Typ

Alkaloide vom Lycoctonin-Typ wurden im Rahmen dieser Arbeit nur aus den drei *Delphinium*-Arten isoliert und nicht aus *Aconitum chasmanthum*. Sie können aber prinzipiell auch in *Aconitum*-Arten vorkommen. Sie zeigen die folgenden typischen Strukturmerkmale (Abb. 11):

- Ethylgruppe am Stickstoff
- Sauerstoffhaltige Substituenten an C-1, C-6, C-8, C-14, C-16 (meist Hydroxy-, Methoxy- oder Acetoxygruppen)
- Hydroxygruppe an C-7

Ebenso folgt die stereochemische Anordnung der sauerstoffhaltigen Substituenten meist folgendem Schema:

- C-1- α -OR
- C-6- β -OR
- C-14- α -OR
- C-16- β -OR

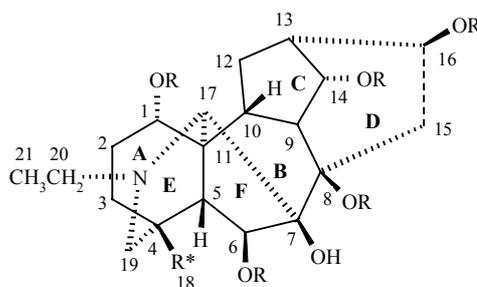


Abb. 11: Grundgerüst der Norditerpen-Alkaloide vom Lycoctonin-Typ; R meist -H, -CH₃, -COCH₃; R* meist -CH₃, -CH₂OCH₃, -CH₂OH oder aromatisch

Es gibt auch Alkaloide, die nicht diesen Regeln folgen, aber dabei handelt es sich um seltene Ausnahmen.

Zum Beispiel kann der Stickstoff statt der Ethylgruppe einen Wasserstoff oder eine Methyl- oder Formylgruppe tragen.³⁴ Genauso gibt es mit dem Alkaloid Pubescenin (C-6- α -OH) eine Ausnahme von der Regel, daß der Substituent an Position 6 β -ständig ist.

Dagegen ist bis jetzt noch kein Alkaloid identifiziert worden, bei dem eine Methoxygruppe an C-1 β -ständig wäre.

Die charakteristische Stereochemie wurde durch Röntgenstrukturanalysen einiger Alkaloide bestimmt und auch für andere Alkaloide übernommen. Grundlage dafür war die partialsynthetische Überführung von durch Röntgenstrukturanalyse charakterisierten Alkaloiden in andere Alkaloide durch einfache chemische Umsetzungen (z. B. Methylierung von Hydroxygruppen).³⁵

3.1.2.2 Norditerpen-Alkaloide vom Lycoponin-Typ mit aromatischem Rest an C-18

Methyllycaconitin (1)

Die Substanz **1** ist ein weißes Pulver mit Schmelzpunkt bei 137 °C und zeigt auf der DC-Platte eine positive Reaktion mit Dragendorffs Reagenz. Der Drehwinkel beträgt $[\alpha]_D^{20} = +45.0^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3 ; Lit.: $[\alpha]_D^{22} = +49.1^\circ$, $c = 2.0$, EtOH), das IR-Spektrum zeigt Absorptionsbanden bei $\tilde{\nu} = 3473$ (OH), 2933 (CH), 1717 (C=O), 1603, 1493 (C=C), 1262 und 1088 (CO) cm^{-1} . Durch hochauflösende Massenspektrometrie wurde ein Molekulargewicht von $m/z = 682.3469$ ermittelt, woraus sich die Summenformel $\text{C}_{37}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_{10}$ ableiten läßt (berechnet für $\text{C}_{37}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_{10}$: 682.3465).

Im ^1H -NMR-Spektrum sieht man das für Norditerpen-Alkaloide mit *N*-Ethylgruppe typische Signal bei $\delta_{\text{H}} = 1.05$ ppm (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, H-21). Außerdem sind die Signale von vier Methoxygruppen zu erkennen ($\delta_{\text{H}} = 3.40, 3.35, 3.34$ und 3.25 ppm, jeweils s, 3 H). Im tiefen Feld bei $\delta_{\text{H}} = 7.27 - 8.04$ ppm erkennt man Signale für 4 aromatische Protonen. Das Vorhandensein eines aromatischen Anteils wird durch das UV-Spektrum bestätigt ($\lambda_{\text{max}} = 278, 228, 206$ nm).

Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind übereinstimmend mit der durch hochauflösende Massenspektrometrie gefundenen Summenformel 37 Kohlenstoff-Signale zu finden.

Im tiefen Feld von $\delta_{\text{C}} = 77.4 - 90.8$ ppm deuten 6 Signale darauf hin, daß neben den vier Methoxy-substituierten C-Atomen noch 2 weitere aliphatische, Sauerstofffunktionen tragende Kohlenstoffe vorhanden sind. Bei einer chemischen Verschiebung von $\delta_{\text{C}} = 164.1, 175.8$ und 179.8 ppm erscheinen drei quartäre Kohlenstoffe, offensichtlich Carbonylkohlenstoffe. Ein weiterer Sauerstoff muß an den Kohlenstoff bei $\delta_{\text{C}} = 69.5$ ppm gebunden sein, um dessen

Tieffeldverschiebung zu erklären. Insgesamt deutet also auch das ^{13}C -NMR-Spektrum auf das Vorliegen von 10 Sauerstoffatomen hin, entsprechend der Summenformel.

Im ^{13}C -NMR- und DEPT-Spektrum sind die vier Methoxygruppen-Signale bei $\delta_{\text{C}} = 58.2$, 57.8, 56.3 und 55.7 ppm erkennbar. Außerdem gibt es zwei Methylgruppensignale, von denen das bei $\delta_{\text{C}} = 14.0$ ppm über das CH-COSY-Spektrum der Methylgruppe des *N*-Ethylrests zugeordnet werden kann.

Mit Hilfe des CH-COSY-Spektrums kann man den Methoxykohlenstoff-Signalen die entsprechenden Protonensignale zuordnen.

Im HMBC-Spektrum erkennt man, daß bei $\delta_{\text{C}} = 83.9$ ppm zwei Kohlenstoffe, die zu einem Signal zusammenfallen jeweils mit einer Methoxygruppe ($\delta_{\text{C}} = 55.7$ und 57.8 ppm) substituiert sind.

Über das CH-COSY-Spektrum sieht man die zu diesen beiden Kohlenstoffen zugehörigen H-Signale bei $\delta_{\text{H}} = 2.98$ und 3.59 ppm. Das Proton bei $\delta_{\text{H}} = 2.98$ ppm zeigt im HH-COSY-Spektrum Kopplungen mit den Signalen bei $\delta_{\text{H}} = 2.17$ und 2.08 ppm. Diese wiederum koppeln zusätzlich mit zwei Protonen bei $\delta_{\text{H}} = 1.75$ und 1.54 ppm (zugehöriges Kohlenstoff-Signal bei $\delta_{\text{C}} = 32.0$ ppm). Außerdem sieht man im HMBC-Spektrum Fernkopplungen des Protons bei $\delta_{\text{H}} = 2.98$ ppm mit den Kohlenstoffen bei $\delta_{\text{C}} = 26.0$ ppm (zugehörig zu den durch HH-COSY zugeordneten benachbarten Protonensignalen), einem quartären Kohlenstoff bei $\delta_{\text{C}} = 49.0$ ppm, zwei Methinkohlenstoffen bei $\delta_{\text{C}} = 46.1$ und 64.5 ppm (Abb. 12). Das zu letzterem zugehörige Protonensignal bei $\delta_{\text{H}} = 2.93$ ppm (br. s) zeigt im HMBC-Spektrum zahlreiche Fernkopplungen, u. a. mit dem Signal bei $\delta_{\text{C}} = 50.9$ ppm, das der Methylengruppe der *N*-Ethylgruppe zuzuordnen ist (eindeutig durch Kopplung der zugehörigen Protonen bei $\delta_{\text{H}} = 2.92$ und 2.81 ppm mit dem Signal bei $\delta_{\text{H}} = 1.05$ ppm im HH-COSY-Spektrum bestimmbar).

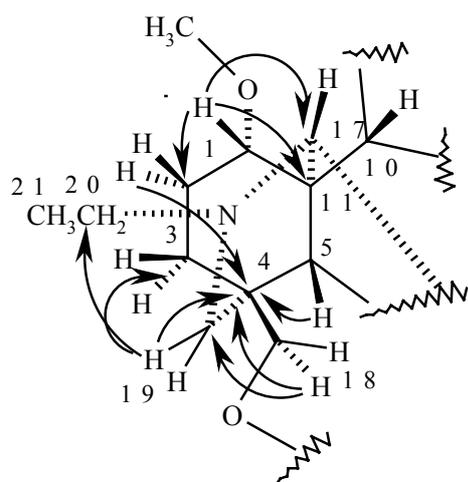
Der Kohlenstoff mit dem Signal bei $\delta_{\text{C}} = 64.5$ ppm muß also einem Stickstoff benachbart sein. Ausgehend von der Annahme, daß es sich bei der Substanz um ein Norditerpen-Alkaloid vom Lycoctonin-Typ handelt, kann es sich bei diesem Methinatom also nur um C-17 handeln. Die typische chemische Verschiebung und die charakteristische Kopplung von H-17 mit einem H-Atom ($\delta_{\text{H}} = 1.72$ ppm, br. s, 1 H, H-5) im HH-COSY-Spektrum, obwohl C-17 nur quartäre Kohlenstoffe bzw. Stickstoff als Nachbarn hat, sprechen ebenfalls dafür.

H-5 zeigt u. a. eine Fernkopplung mit einem quartären Kohlenstoff bei $\delta_{\text{C}} = 37.6$ ppm, der als C-4 bestimmt wird, da er Fernkopplungen mit den Protonen ($\delta_{\text{H}} = 2.70$ ppm, d, $J = 11.7$ Hz, 1

H und 2.41 ppm, d, $J = 11.7$ Hz, 1 H) eines Methylenkohlenstoffs bei $\delta_C = 52.3$ ppm zeigt. Diese koppeln im HH-COSY-Spektrum wiederum mit H-20a, sind also ebenfalls dem Stickstoff benachbart, folglich kann es sich bei dem Kohlenstoff nur um C-19 handeln.

H-19a und H-19b zeigen im HMBC-Spektrum eine Fernkopplung mit dem bereits oben erwähnten mit H-1 koppelnden Methylenignal bei $\delta_C = 32.0$ ppm. Dabei muß es sich also um C-3 handeln. Das benachbarte Methylenignal bei $\delta_C = 26.0$ ppm ist folglich C-2 zuzuordnen. Als zusätzlichen Beweis für diese Verknüpfung zeigt C-4 eine Fernkopplung mit dem Proton bei $\delta_H = 2.08$ ppm (H-2a). Folglich ist die Methoxygruppe bei $\delta_C = 55.7$ ppm an C-1 gebunden. Damit wurden in Ring A und E alle Signale zugeordnet.

Über Fernkopplungen mit C-3, C-4 und C-19 kann H-18b ($\delta_H = 4.12$, d, $J = 11.2$ Hz) und mit Hilfe des CH-COSY-Spektrums C-18 ($\delta_C = 69.5$ ppm) bestimmt werden (Abb. 12).



- 1: $\delta_C = 83.9$, $\delta_H = 2.98$ ppm
- 2: $\delta_C = 26.0$, $\delta_H = 2.17, 2.08$ ppm
- 3: $\delta_C = 32.0$, $\delta_H = 1.75, 1.54$ ppm
- 4: $\delta_C = 37.6$ ppm
- 5: $\delta_C = 50.3$, $\delta_H = 1.72$ ppm
- 10: $\delta_C = 46.1$, $\delta_H = 1.94$ ppm
- 11: $\delta_C = 49.0$ ppm
- 17: $\delta_C = 64.5$, $\delta_H = 2.93$ ppm
- 18: $\delta_C = 69.5$, $\delta_H = 4.12, 4.06$ ppm
- 19: $\delta_C = 52.3$ ppm, $\delta_H = 2.70, 2.41$ ppm
- 20: $\delta_C = 50.9$ ppm, $\delta_H = 2.92, 2.81$ ppm
- 21: $\delta_C = 14.0$ ppm, $\delta_H = 1.05$ ppm

Abb. 12: Ausgewählte Fernkopplungen im Ring A und E von Methyllycaconitin (**1**)

C-4 zeigt im HMBC-Spektrum eine Kopplung mit einem Methinproton bei $\delta_H = 3.87$ ppm, bei dem es sich nur um H-6 handeln kann (Abb. 13). Das zugehörige Kohlenstoffsignal ($\delta_C = 90.8$ ppm) zeigt Fernkopplungen mit H-5 und H-17 und ist mit einer Methoxygruppe substituiert, die mit Hilfe des HMBC- und CH-COSY-Spektrums eindeutig bestimmt wird ($\delta_C = 58.2$ ppm, $\delta_H = 3.35$ ppm).

Darüber hinaus erkennt man Fernkopplungen zwischen H-6 und zwei quartären Kohlenstoffen, die aufgrund ihrer Tieffeldverschiebung jeweils eine Sauerstofffunktion tragen müssen.

Der quartäre Kohlenstoff bei $\delta_C = 49.0$ ppm zeigt neben der bereits erwähnten Fernkopplung mit H-1 ebenso Fernkopplungen mit H-5, H-6 und H-17 und kann daher nur Position 11 einnehmen.

Das dem bereits erwähnten mit H-1 im HMBC-Spektrum koppelnde Methinsignal bei $\delta_C = 46.1$ ppm zugehörige Proton bei $\delta_H = 1.94$ ppm zeigt u. a. eine Fernkopplung mit dem quartären Hydroxy-substituierten Kohlenstoff bei $\delta_C = 77.4$ ppm, mit C-17 und C-11. Daneben koppelt es direkt mit einem Proton bei $\delta_H = 3.06$ ppm und mit den Methylenprotonen bei $\delta_H = 2.46$ (dd, $J = 14.7$ Hz, $J = 5.1$ Hz, 1 H) und 1.84 ppm (m, 1 H). Es befindet sich also an Position 10. Das Proton ($\delta_H = 3.06$ ppm) des Methinkohlenstoffs ($\delta_C = 43.2$ ppm) zeigt eine Fernkopplung mit dem quartären Kohlenstoff bei $\delta_C = 77.4$ ppm. Somit konnten im Ring B alle Signale zugeordnet werden ($\delta_C = 43.2$ ppm (C-9), $\delta_C = 77.4$ ppm (C-8), $\delta_C = 88.5$ ppm (C-7).

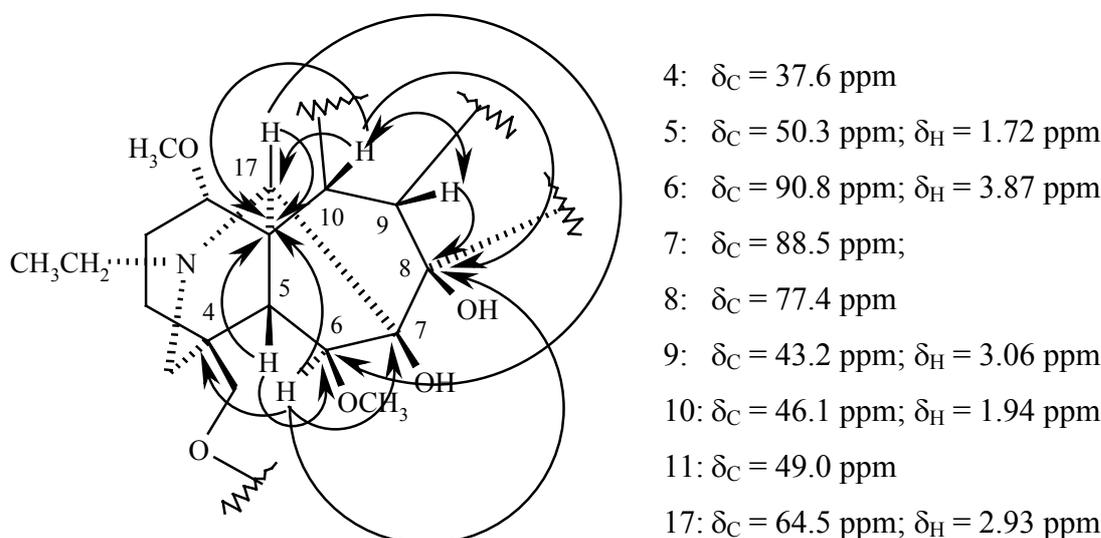


Abb. 13: Ausgewählte Fernkopplungen im Ring B von Methyllycaconitin (**1**)

H-9 ($\delta_H = 3.06$ ppm, dd, $J = 6.9$ Hz, $J = 4.7$ Hz) koppelt außer mit H-10 noch mit einem Proton bei $\delta_H = 3.59$ ppm (t, $J = 4.7$ Hz), auch deutlich an den übereinstimmenden Kopplungskonstanten zu sehen (Abb. 14). Dieses Proton ist mit dem Methoxy-substituierten Kohlenstoff, der mit C-1 zu einem Signal zusammenfällt, verknüpft. Da es ein Triplet bildet,

muß noch ein weiteres Nachbarproton mit ähnlicher Kopplungskonstante vorhanden sein: $\delta_{\text{H}} = 2.33$ ppm (dd, $J = 7.1$ Hz, $J = 4.5$ Hz). Dieses Proton zeigt außerdem im HH-COSY-Spektrum eine Kopplung mit einem der beiden Methylenprotonen ($\delta_{\text{H}} = 1.84$ ppm), die mit H-10 koppeln. Somit konnten die Protonen und zugehörigen Kohlenstoff-Signale von Ring C bestimmt werden ($\delta_{\text{C}} = 38.0$ ppm (C-13), $\delta_{\text{C}} = 28.7$ ppm (C-12)).

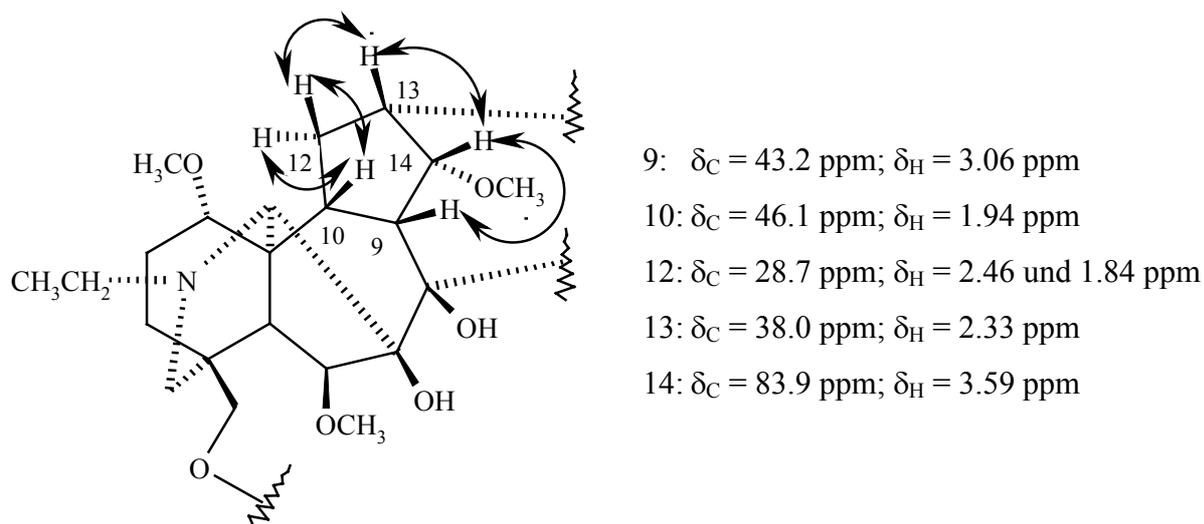


Abb. 14: Ausgewählte Kopplungen der Protonen im Ring C von Methyllycaontin (**1**)

C-8 zeigt im HMBC-Spektrum nicht nur Kopplungen mit den bereits bestimmten Protonen H-6, H-14, H-9, H-17 und H-10, sondern auch noch mit zwei Methylenprotonen bei $\delta_{\text{H}} = 2.60$ ppm (dd, $J = 15.2$ Hz, $J = 8.9$ Hz, 1 H) und $\delta_{\text{H}} = 1.67$ ppm (dd, $J = 15.2$ Hz, $J = 7.0$ Hz, 1 H) (Abb. 15). Da auch C-7 mit beiden und C-9 mit einem der beiden Protonen intensive Fernkopplungen zeigen, ist diese Methylengruppe offensichtlich ein direkter Nachbar von C-8. Die beiden Methylenprotonen koppeln im HH-COSY-Spektrum mit dem Protonensignal bei $\delta_{\text{H}} = 3.21$ ppm (t, $J = 7.9$ Hz, 1 H). Dieses Signal hat eine Kopplungskonstante, die ziemlich genau zwischen denen der beiden Nachbarprotonen liegt. An den zugehörigen Methinkohlenstoff (C-16, $\delta_{\text{C}} = 82.5$ ppm) ist die letzte noch zuzuordnende Methoxygruppe gebunden ($\delta_{\text{C}} = 56.3$ ppm).

Darüber hinaus weist C-16 Fernkopplungen mit den Methylprotonen bei $\delta_{\text{H}} = 2.46$ und 1.84 ppm auf.

Mit der Zuordnung von C-15 ($\delta_C = 33.6$ ppm) und C-16 konnten alle Kohlenstoffe des Ring D bestimmt werden und die Struktur eines Norditerpen-Alkaloids vom Lycoctonin-Typ endgültig bewiesen werden.

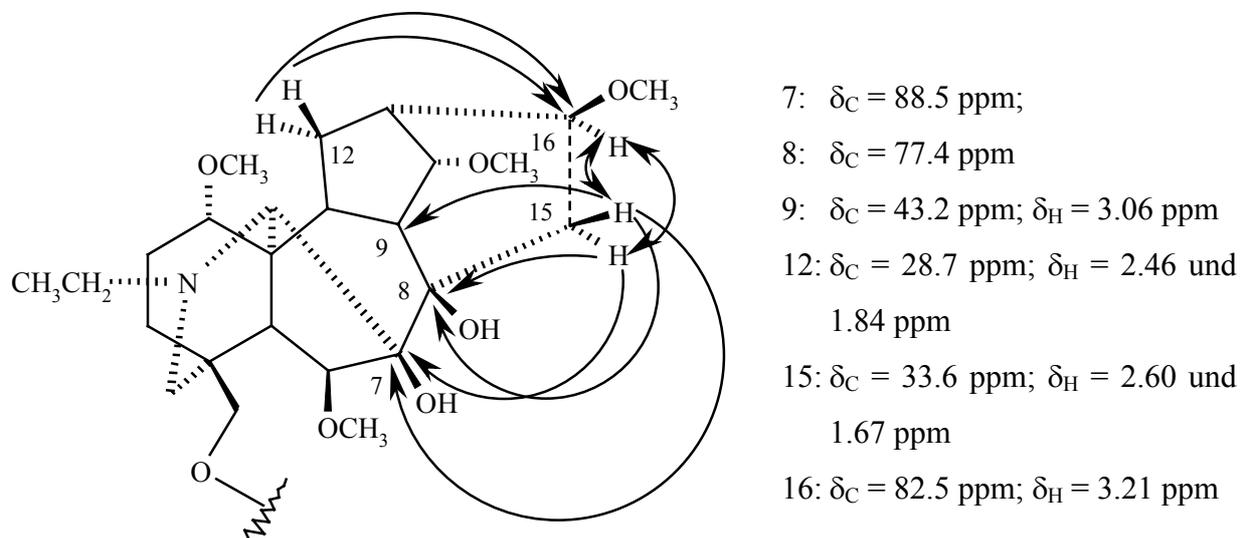


Abb. 15: Ausgewählte Fernkopplungen (HMBC; einfache Pfeile) und Kopplungen (HH-COSY; Doppelpfeile) der Kohlenstoffe bzw. Protonen an Position 15 und 16 von Methyllycaconitin (**1**)

Die Stereochemie entspricht dem typischen Muster bei Norditerpen-Alkaloiden vom Lycoctonin-Typ und kann folgendermaßen bestimmt werden:

Methoxysubstituent an C-6:

Im HH-COSY-Spektrum ist nur eine schwache Kopplung zwischen H-6 und H-5 zu erkennen, woraus folgt, daß die Methoxygruppe β -ständig sein muß.

Methoxysubstituent an C-16:

Im HH-COSY-Spektrum ist keine Kopplung zwischen H-16 und H-13 zu erkennen, woraus folgt, daß die Methoxygruppe β -ständig ist.

Methoxysubstituent an C-14:

Dagegen erkennt man bei H-14 im HH-COSY-Spektrum deutlich die Kopplung mit H-9 und H-13, was dafür spricht, daß H-14 β -ständig und damit die Methoxygruppe α -ständig ist.

Methoxysubstituent an C-1:

Hier ist die Bestimmung der stereochemischen Anordnung schwierig, da nur ein quartärer Kohlenstoff und eine Methylengruppe, deren Protonen Multiplettsignale geben, benachbart sind. Es wurde allerdings wie oben bereits erwähnt noch nie ein Alkaloid vom Lycopodium-Typ mit β -ständiger Methoxygruppe an C-1 identifiziert, so daß hier von einer α -Stellung ausgegangen werden kann.

Abschließend waren noch die Art und Position des aromatischen Rests, der Carbonylgruppen und der drei verbleibenden aliphatischen Kohlenstoffe zu klären.

Bei $\delta_C = 127.1, 129.4, 130.0, 131.0, 133.1$ und 133.6 ppm im für aromatische Kohlenstoffatome typischen Bereich erkennt man durch Vergleich des ^{13}C - und DEPT-Spektrums zwei quartäre und vier Methinkohlenstoffe, passend zu dem für 1,2-disubstituierte Aromaten typischen Signalmuster im ^1H -NMR-Spektrum ($\delta_H = 8.04$ ppm, d, $J = 7.1$ Hz, 1 H, H-6'; $\delta_H = 7.68$ ppm, t, $J = 7.7$ Hz, 1 H, H-4'; $\delta_H = 7.54$ ppm, t, $J = 7.7$ Hz, 1 H, H-5'; $\delta_H = 7.27$ ppm, d, $J = 7.0$ Hz, 1 H, H-3').

Da das Molekül laut Summenformel zwei Stickstoffatome enthält und im ^{13}C -NMR-Spektrum drei Carbonylsignale identifiziert wurden, liegt die Vermutung nahe, daß eine 2-(Methylsuccinimido)benzoyl-Einheit an das Norditerpen-Grundgerüst gebunden ist. Diese Partialstruktur ist literaturbekannt.³⁶ Dafür spricht auch ein Fragment von $m/z = 216$ im Massenspektrum, das der Masse dieser Einheit entspricht.

Im HMBC-Spektrum sieht man eine Fernkopplung zwischen dem Carbonylkohlenstoff bei $\delta_C = 164.1$ ppm mit H-18b und dem aromatischen Proton H-6'. An Position 2 des aromatischen Ringes sitzt die Methylsuccinimido-Einheit. Diese Struktur wird durch die Fernkopplungen im HMBC-Spektrum zwischen H-5'' ($\delta = 1.47$ ppm) und C-1'', C-2'' und C-3'' und die Kopplungen im HH-COSY-Spektrum zwischen H-5'', H-2'', H-3''a/b bestätigt (Abb. 16).

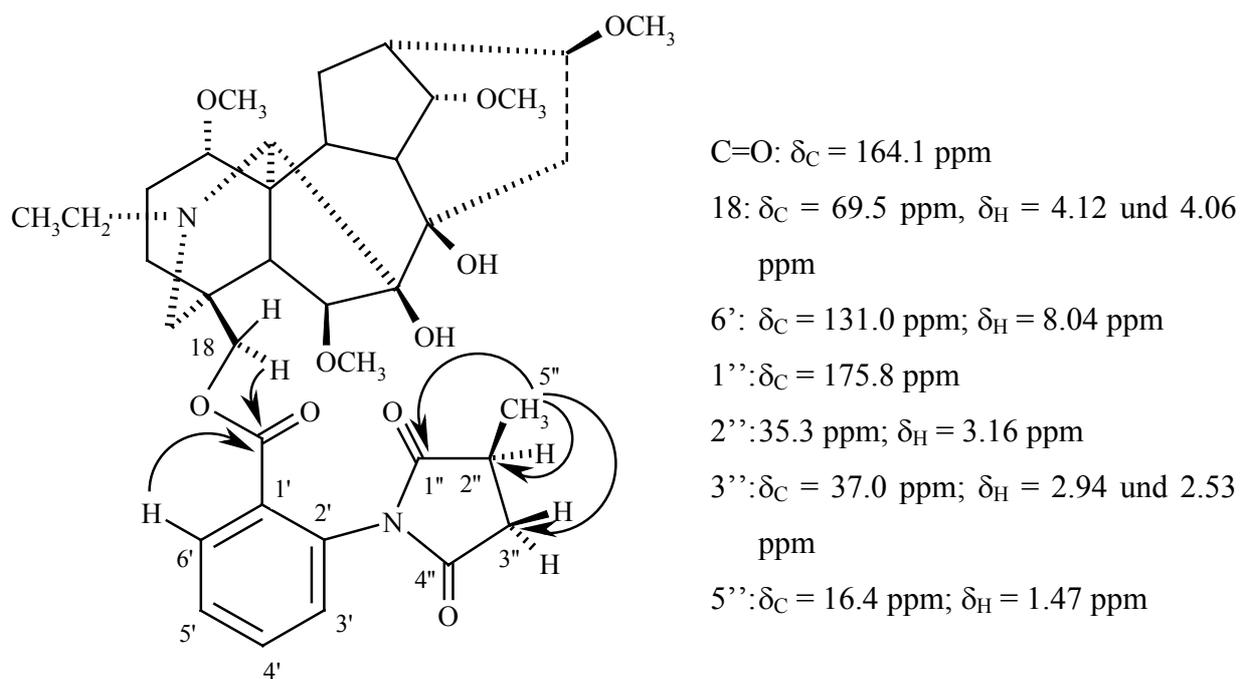


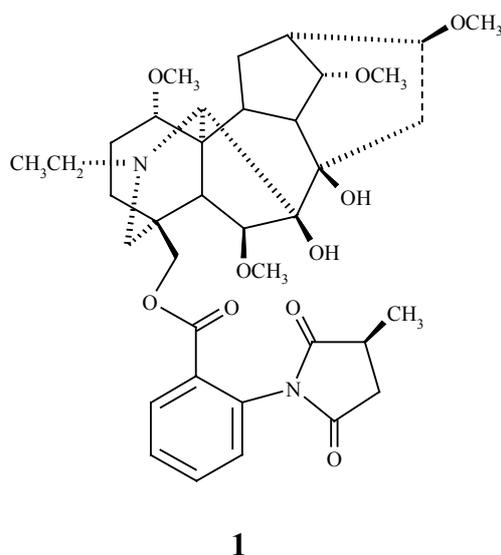
Abb. 16: Ausgewählte Fernkopplungen im Bereich der 2-(Methylsuccinimido)benzoyl-Einheit von Methyllycaconitin (**1**)

Die *S*-Konfiguration des Chiralitätszentrums in der Methylsuccinimido-Einheit wurde bereits früher durch Vergleich der NMR-Daten für C-3 des durch alkalische und anschließende saure Hydrolyse erhaltenen chiralen Abbauproduktes 2-Methylbutandisäure mit der entsprechenden synthetischen racemischen und *S*-konfigurierten Substanz bewiesen.³⁷

Letztlich konnte die abgebildete Struktur für **1** bewiesen werden. Es handelt sich bei diesem Alkaloid somit eindeutig um den bekannten Naturstoff Methyllycaconitin (**1**). Dieses Alkaloid wurde bereits in den 40er Jahren des vergangenen Jahrhunderts erstmals isoliert³⁸, 1977 wurden die ersten ¹³C-NMR-Daten veröffentlicht.⁸⁹ Die Literaturwerte³⁹ für die chemischen Verschiebungen der Kohlenstoffe stimmen mit den Meßdaten überein, wobei im Rahmen dieser Arbeit aber falsche Zuordnungen der Signale von C-5/C-9, C-10/C-13, C-6'/C-3'/C-5' bzw. von C-6-OCH₃/C-14-OCH₃ korrigiert werden konnten. Die Literaturangaben für ¹³C-NMR-Daten vieler im Rahmen dieser Arbeit isolierter Alkaloide enthalten falsche Zuordnungen der Signale. Das liegt daran, daß die Strukturen häufig Ende der 70er und in den 80er Jahren des letzten Jahrhunderts aufgeklärt wurde, als die ¹³C-NMR-Spektroskopie möglich wurde, jedoch noch nicht die Messung von 2D-Spektren. Später erkannte man oft die Fehler, z. B. die bei vielen Alkaloiden vertauschte Zuordnung von C-10/C-13⁴⁰, jedoch wurden in vielen Fällen die korrigierten Daten für die einzelnen Verbindungen nie

veröffentlicht. Deshalb wurde hier bei der Diskussion der anderen Alkaloide darauf verzichtet, die einzelnen korrigierten Zuordnungen aufzuführen. Im experimentellen Teil wurden diese aber bei der Auflistung der ^{13}C -NMR-Daten angegeben.

Methyllycaconitin (**1**) kommt als Hauptalkaloid in vielen *Delphinium*-Arten vor.³⁶



Die komplette und sichere Zuordnung aller Kohlenstoff- und Protonensignale von **1** bildete die Basis für die Aufklärung der Strukturen zahlreicher anderer von mir isolierter strukturell verwandter Norditerpen-Alkaloide.

10-Hydroxymethyllycaconitin (**2**)

Die Substanz **2** ist ein weißer Feststoff (Zersetzung ab 148 °C), der eine positive Reaktion mit Dragendorffs Reagenz zeigt. Die spezifische Drehung beträgt $[\alpha]_D^{20} = +51^\circ$ ($c = 0.1$, CHCl_3) und das UV-Spektrum ($\lambda_{\text{max}} = 277, 227, 205 \text{ nm}$) ist nahezu identisch mit dem von Methyllycaconitin (**1**). Auch die Absorptionsbanden im IR-Spektrum sind sehr ähnlich ($\tilde{\nu} = 3442$ (OH), 2930 (CH), 1717 (C=O), 1618, 1490 (C=C), 1259 und 1084 (CO) cm^{-1}). Im FAB-Massenspektrum sieht man wie bei **1** das der 2-(Methylsuccinimido)benzoyl-Einheit entsprechende Fragment von $m/z = 216$. Die Summenformel $\text{C}_{37}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_{11}$ ($m/z = 699.3492$, berechnet für $\text{C}_{37}\text{H}_{51}\text{N}_2\text{O}_{11}$: 699.3493) konnte mit Hilfe der hochauflösenden

Massenspektrometrie ermittelt werden. Die Substanz ist also strukturell dem Methyllycaconitin (**1**) sehr ähnlich, enthält aber ein Sauerstoffatom mehr.

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum sieht man, daß neben einer *N*-Ethylgruppe ($\delta_{\text{H}} = 2.96$ ppm, m, 1 H, H-20b; $\delta_{\text{H}} = 2.82$ ppm, m, 1 H, H-20a; $\delta_{\text{H}} = 1.07$ ppm, t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, H-21) vier Methoxygruppen ($\delta_{\text{H}} = 3.43, 3.37, 3.34, 3.21$ ppm, jeweils s, 3 H), ein 14- β -Proton ($\delta_{\text{H}} = 4.12$ ppm, t, $J = 4.6$ Hz), ein 6- α -Proton ($\delta_{\text{H}} = 3.91$ ppm, s) und die charakteristischen Signale eines aromatischen Restes an C-18 wie bei Methyllycaconitin (**1**) vorhanden sind ($\delta_{\text{H}} = 8.04$ ppm, dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.0$ Hz, 1 H, H-6'; $\delta_{\text{H}} = 7.68$ ppm, dt, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.0$ Hz, 1 H, H-4'; $\delta_{\text{H}} = 7.54$ ppm, dt, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.0$ Hz, 1 H, H-5'; $\delta_{\text{H}} = 7.27$ ppm, dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.0$ Hz, 1 H, H-3'). Außerdem erkennt man bei $\delta_{\text{H}} = 1.45$ ppm (m, 3 H) ein Signal, das der Methylgruppe der Succinimido-Einheit entspricht.

Ebenso enthält das $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum einen Signalsatz, der sehr dem der *N*-(2-Methylsuccinimido)benzoyl-Einheit von **1** ähnelt (Abb. 17). Insgesamt zeigen die $^{13}\text{C-NMR}$ - und DEPT-Spektren zehn quartäre Kohlenstoffe, dreizehn Methinsignale, acht Methylensignale und sechs Methylsignale. Offensichtlich wurde im Vergleich zu **1** ein Methinkohlenstoff ($\delta_{\text{C}} = 46.1$ ppm) durch einen quartären Kohlenstoff ($\delta_{\text{C}} = 81.2$ ppm) ersetzt.

Wenn man die anderen $^{13}\text{C-NMR}$ -Daten von **1** und **2** vergleicht, fallen lediglich Unterschiede der chemischen Verschiebungen bei C-1, C-5, C-11 und in Ring C auf (Tab. 1). Die Signale von C-9, C-10, C-11 und C-12 sind um 10.3, 35.1, 5.5 bzw. 11.0 ppm tieffeldverschoben. Das deutet darauf hin, daß einer der Kohlenstoffe C-9, C-10 oder C-13 zusätzlich mit Sauerstoff substituiert ist. Das Signal bei $\delta_{\text{H}} = 4.12$ ppm (t, $J = 4.6$ Hz, H-14) weist darauf hin, daß nicht C-9 oder C-13 an den neuen Sauerstoff gebunden sind.⁴¹

All das deutet darauf hin, daß **2** die gleiche Struktur wie **1** hat, mit dem Unterschied, daß sich an Position 10 eine Hydroxygruppe befindet.

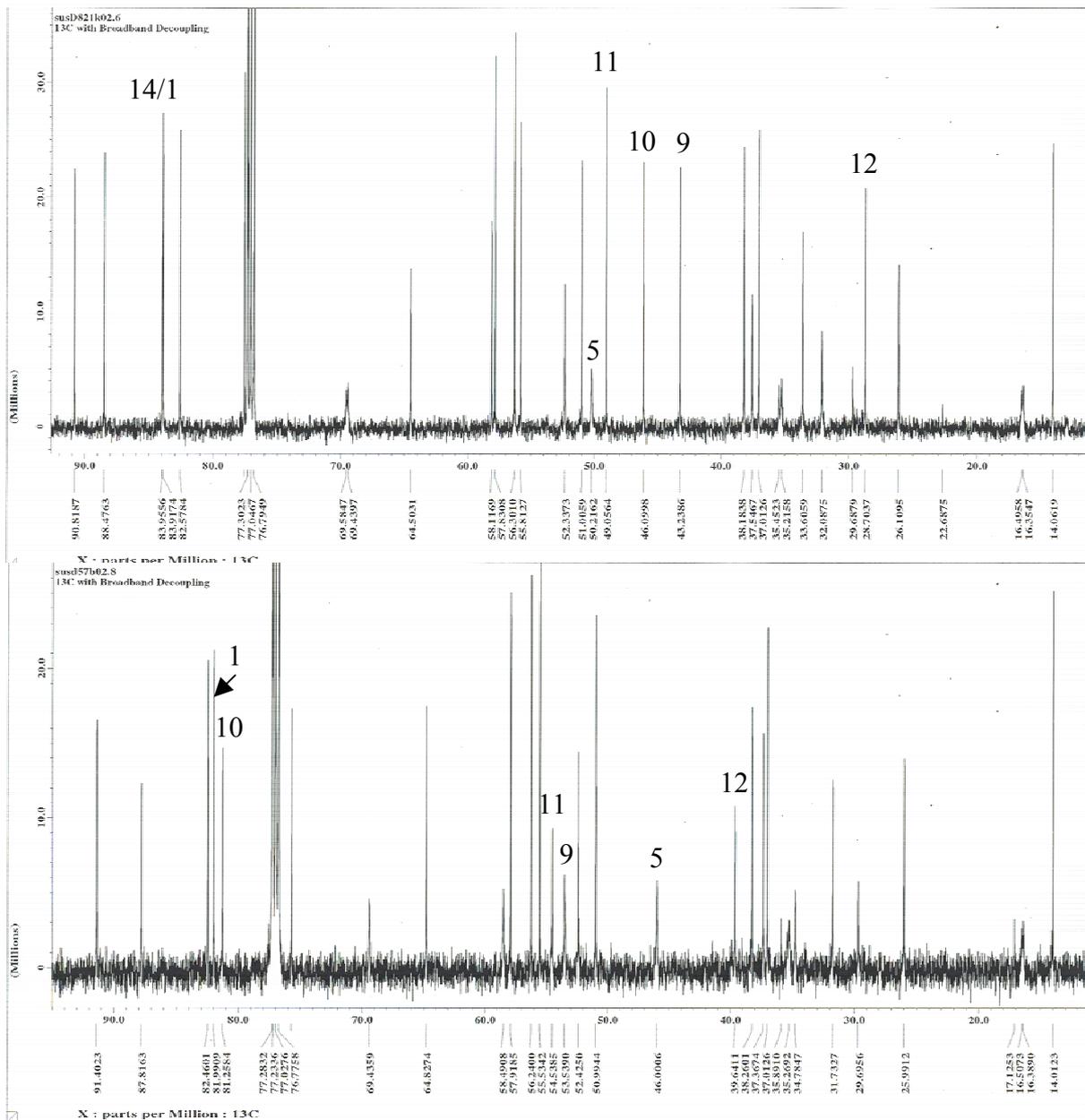


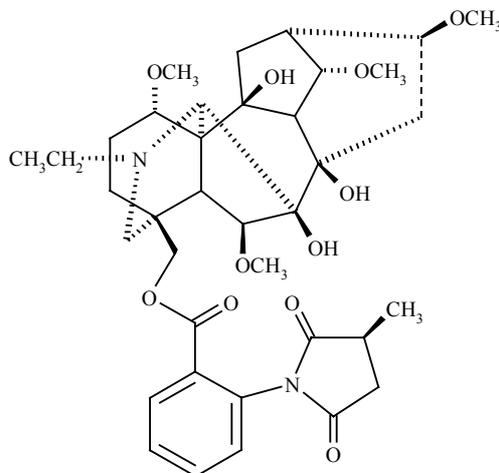
Abb. 17: Vergleich der ^{13}C -NMR-Spektren von 1 und 2

Tab. 1: Vergleich der ^{13}C -NMR-Daten von **1** und **2** (δ , ppm; CDCl_3)

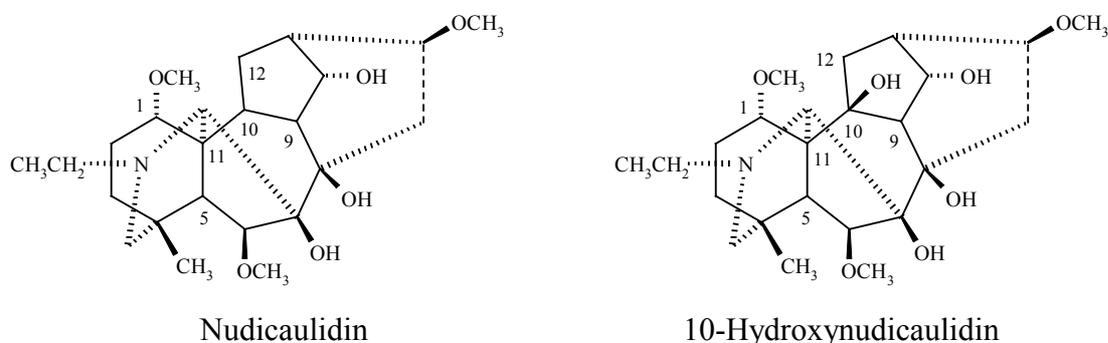
Kohlenstoff-atom	Substanz				Kohlenstoff-atom	Substanz			
	1		2			1		2	
1	83.9	CH	77.2	CH	20	50.9	CH ₂	51.0	CH ₂
2	26.0	CH ₂	26.0	CH ₂	21	14.0	CH ₃	14.0	CH ₃
3	32.0	CH ₂	31.7	CH ₂	1-OCH ₃	55.7	CH ₃	55.6	CH ₃
4	37.6	C	37.3	C	6-OCH ₃	58.2	CH ₃	58.5	CH ₃
5	50.3	CH	46.0	CH	14-OCH ₃	57.8	CH ₃	57.9	CH ₃
6	90.8	CH	91.4	CH	16-OCH ₃	56.3	CH ₃	56.3	CH ₃
7	88.5	C	87.8	C	C=O	164.1	C	164.2	C
8	77.4	C	75.8	C	1'	127.1	C	127.1	C
9	43.2	CH	53.5	CH	2'	133.1	C	132.9	C
10	46.1	CH	81.2	C	3'	130.0	CH	130.0	CH
11	49.0	C	54.5	C	4'	133.6	CH	133.7	CH
12	28.7	CH ₂	39.7	CH ₂	5'	129.4	CH	129.5	CH
13	38.0	CH	38.2	CH	6'	131.0	CH	131.1	CH
14	83.9	CH	82.4	CH	1''	175.8	C	176.0	C
15	33.6	CH ₂	34.8	CH ₂	2''	35.3	CH	35.2	CH
16	82.5	CH	82.0	CH	3''	37.0	CH ₂	37.0	CH ₂
17	64.5	CH	64.8	CH	4''	179.8	C	180.0	C
18	69.5	CH ₂	69.3	CH ₂	5''	16.4	CH ₃	16.2	CH ₃
19	52.3	CH ₂	52.4	CH ₂					

Mit Hilfe der Fernkopplungen von H-1 ($\delta_{\text{H}} = 3.59$ ppm, t, $J = 7.8$ Hz, 1 H) mit C-1-OCH₃ ($\delta_{\text{C}} = 55.6$ ppm), von H-6 ($\delta_{\text{H}} = 3.91$ ppm, s, 1 H) mit C-6-OCH₃ ($\delta_{\text{C}} = 58.5$ ppm), von H-14 ($\delta_{\text{H}} = 4.12$ ppm, t, $J = 4.6$ Hz, 1 H) mit C-14-OCH₃ ($\delta_{\text{C}} = 57.9$ ppm) und von H-16 ($\delta_{\text{H}} = 3.18$ ppm, t, $J = 8.0$ Hz, 1 H) mit C-16-OCH₃ ($\delta_{\text{C}} = 56.3$ ppm) im HMBC-Spektrum kann die Position der Methoxygruppen eindeutig bestimmt werden. Die Stereochemie läßt sich analog zu **1** festlegen.

Für das neue Alkaloid wurde somit eindeutig die Struktur **2** (10-Hydroxymethyllycaconitin) bewiesen.



Weiterhin wird die Struktur von **2** bestätigt durch den Vergleich der NMR-Daten mit denen der bereits bekannten 10-Hydroxy-Norditerpen-Alkaloide Delcarolin, Delterin, 18-*O*-Methyldelterin und 10-Hydroxynudicaulidin. Diese Alkaloide wurden vor kurzem von den mongolischen Wissenschaftlern, mit denen eine Kooperation besteht, aus *Delphinium excelsum* isoliert. Bei 18-*O*-Methyldelterin und 10-Hydroxynudicaulidin handelt es sich um neue Naturstoffe, die in einer gemeinsamen Publikation erstmals beschrieben wurden.⁴² Genauso wie bei 10-Hydroxymethyllycaconitin (**2**) und Methyllycaconitin (**1**), wurden auch die ¹³C-NMR-Daten von Nudicaulidin mit denen von 10-Hydroxynudicaulidin verglichen. Man kann hier genau vergleichbare Änderungen der chemischen Verschiebungen an den Kohlenstoffatomen C-1, C-5, C-9, C-10, C-11 und C-12 feststellen wie bei dem Vergleich von **1** und **2**.



Tab. 2: Vergleich der chemischen Verschiebungen der Kohlenstoffatome C-1, C-5, C-9, C-10, C-11 und C-12 von Nudicaulidin und 10-Hydroxynudicaulidin

Kohlenstoffatom	Nudicaulidin	10-Hydroxynudicaulidin
1	85.5 CH	77.7 CH
5	55.0 CH	51.4 CH
9	45.1 CH	54.6 CH
10	46.0 CH	80.7 C
11	48.5 C	54.4 C
12	27.5 CH ₂	38.3 CH ₂

Grandiflorin (3)

Für die Substanz **3** konnte durch hochauflösende Massenspektrometrie die Summenformel C₃₆H₄₈N₂O₁₀ ermittelt werden ($m/z = 668.3299$, berechnet für C₃₆H₄₈N₂O₁₀: 668.3309). Im EI-Massenspektrum erkennt man das für die 2-(Methylsuccinimido)benzoyl-Einheit charakteristische Fragment von $m/z = 216$. Ebenso deutet das mit dem von Methyllycaconitin (**1**) fast identische UV-Spektrum ($\lambda_{\max} = 276, 227, 205$ nm) auf einen aromatischen Rest und eine strukturelle Ähnlichkeit mit **1** hin.

Im ¹H-NMR-Spektrum sieht man die charakteristischen Signale für H-21 ($\delta_{\text{H}} = 1.12$ ppm, t, $J = 7.1$ Hz, 3 H), H-14 ($\delta_{\text{H}} = 3.63$ ppm, t, $J = 4.7$ Hz, 1 H), H-6 ($\delta_{\text{H}} = 3.99$ ppm, s, 1 H), für die vier aromatischen Protonen ($\delta_{\text{H}} = 8.02$ ppm, d, $J = 8.5$ Hz, 1 H, H-6'; $\delta_{\text{H}} = 7.70$ ppm, dt, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.5$ Hz, 1 H, H-4'; $\delta_{\text{H}} = 7.55$ ppm, dt, $J = 7.8$ Hz, 1.5 Hz, 1 H, H-5'; $\delta_{\text{H}} = 7.24$ ppm, d, $J = 8.5$ Hz, 1 H, H-3') und die Methylgruppe der Succinimido-Einheit ($\delta_{\text{H}} = 1.47$ ppm, m, 3 H, H-5''), wie sie auch bei **1** vorliegen. Im Unterschied zu **1** sind statt vier nur drei Methoxygruppen erkennbar ($\delta_{\text{H}} = 3.41, 3.37, 3.28$ ppm, jeweils s, 3 H). Außerdem existiert statt dem Signal bei $\delta_{\text{H}} = 2.98$ ppm (dd, $J = 10.0$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1 H), das bei **1** H-1 zugeordnet wurde, ein neues Signal bei $\delta_{\text{H}} = 3.75$ ppm (br. s, 1 H).

Das ¹³C-NMR- und DEPT-Spektrum zeigt genauso wie das von **1** neun quartäre Kohlenstoffe, vierzehn Methinsignale und acht Methylensignale, aber statt sechs nur fünf Methylensignale, wie es auch schon aus dem ¹H-NMR-Spektrum zu sehen war (Tab. 3). Die chemischen Verschiebungen sind denen von **1** sehr ähnlich, so daß die Signale problemlos der Norditerpen-Struktur zugeordnet werden können. Es fällt allerdings auf, daß das Signal von

C-1 um 11.5 ppm ins höhere Feld verschoben ist. Mit Hilfe des HMQC-Spektrums läßt sich das zugehörige Proton H-1, das schon im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum bei $\delta_{\text{H}} = 3.75$ ppm aufgefallen war, bestimmen. Bestätigt wird diese Zuordnung durch das HH-COSY-Spektrum: Hier sieht man die Kopplung von H-1 mit H-2a und H-2b, die wiederum mit H-3a und H-3b koppeln. Zwei benachbarte Methylenkohlenstoffe kommen nur in Ring A vor.

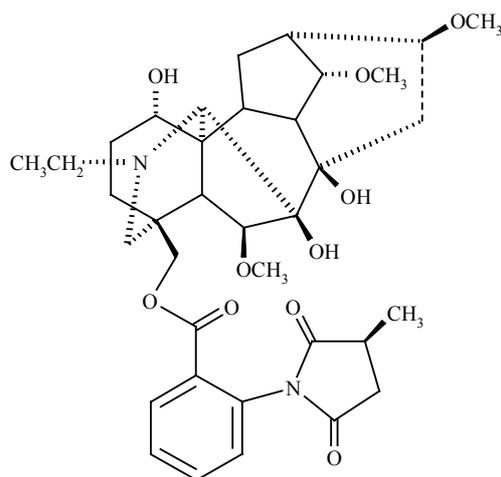
Tab. 3: Vergleich der $^{13}\text{C-NMR}$ -Daten von **1** und **3** (δ , ppm; CDCl_3)

Kohlenstoff- atom	Substanz				Kohlenstoff- atom	Substanz			
	1		3			1		3	
1	83.9	CH	72.4	CH	20	50.9	CH ₂	50.2	CH ₂
2	26.0	CH ₂	29.1	CH ₂	21	14.0	CH ₃	13.5	CH ₃
3	32.0	CH ₂	30.4	CH ₂	1-OCH ₃	55.7	CH ₃	-	
4	37.6	C	36.6	C	6-OCH ₃	58.2	CH ₃	57.9	CH ₃
5	50.3	CH	45.0	CH	14-OCH ₃	57.8	CH ₃	57.7	CH ₃
6	90.8	CH	90.7	CH	16-OCH ₃	56.3	CH ₃	56.3	CH ₃
7	88.5	C	87.8	C	C=O	164.1	C	164.2	C
8	77.4	C	74.8	C	1'	127.1	C	126.9	C
9	43.2	CH	43.3	CH	2'	133.1	C	133.1	C
10	46.1	CH	44.0	CH	3'	130.0	CH	130.1	CH
11	49.0	C	49.5	C	4'	133.6	CH	133.7	CH
12	28.7	CH ₂	26.9	CH ₂	5'	129.4	CH	129.4	CH
13	38.0	CH	37.6	CH	6'	131.0	CH	130.8	CH
14	83.9	CH	84.4	CH	1''	175.8	C	175.8	C
15	33.6	CH ₂	33.5	CH ₂	2''	35.3	CH	35.3	CH
16	82.5	CH	82.8	CH	3''	37.0	CH ₂	36.9	CH ₂
17	64.5	CH	65.8	CH	4''	179.8	C	179.6	C
18	69.5	CH ₂	68.6	CH ₂	5''	16.4	CH ₃	16.3	CH ₃
19	52.3	CH ₂	56.9	CH ₂					

Mit $\delta_{\text{C}} = 72.4$ ppm zeigt C-1 eine chemische Verschiebung wie sie bei einer Substitution mit einer α -ständigen Hydroxygruppe an Position 1 typisch ist.³⁶

Unter weiterer Berücksichtigung der Summenformel wurde das Vorhandensein einer Hydroxyfunktion in Position 1 bewiesen, so daß **3** eindeutig als Grandiflorin identifiziert wurde. Die NMR-Daten stimmen mit den Literaturwerten überein.⁸⁶

Grandiflorin wurde erstmals 1993 aus *Delphinium grandiflorum* chinesischer Herkunft isoliert.⁴³

**3**

Delavain A/B (4a/b)

Bei **4** handelt es sich um ein Gemisch aus zwei Regioisomeren, das nicht aufgetrennt werden konnte. Die spezifische Drehung des Gemisches (im Verhältnis Delavain A : Delavain B = 2 : 1) beträgt $[\alpha]_D^{20} = + 25.9^\circ$ ($c = 1.70$, CHCl_3 ; Lit.⁴⁴: $[\alpha]_D^{29} = + 36.2^\circ$, $c = 1.7$, CHCl_3 , keine Angabe des Verhältnisses der beiden Isomere) und das UV-Spektrum zeigt Maxima bei $\lambda = 308$, 252 und 223 nm. Im IR-Spektrum sieht man Absorptionen bei $\tilde{\nu} = 3454$ (OH), 2942, 2824 (CH), 1686 (C=O), 1449 (C=C), 1258 und 1088 (CO) cm^{-1} . Die Summenformel $\text{C}_{38}\text{H}_{54}\text{N}_2\text{O}_{11}$ ($m/z = 715.3848$ [$\text{M}^+ + 1$], berechnet für $\text{C}_{38}\text{H}_{55}\text{N}_2\text{O}_{11}$: 715.3806) konnte durch hochauflösende Massenspektrometrie ermittelt werden. Im ESI-Massenspektrum erkennt man neben dem [$\text{M}^+ + 1$]-Peak zwei Fragmente bei $m/z = 248$ und 216. Da letzteres charakteristisch ist für die 2-(Methylsuccinimido)benzoyl-Einheit und die Substanz außerdem zwei Stickstoffatome enthält, war wieder eine strukturelle Ähnlichkeit mit Methyllycaconitin (**1**) zu vermuten.

Das ^{13}C -NMR-Spektrum zeigt einen ähnlichen Signalsatz wie bei **1**, jedoch erkennt man bei genauerer Überprüfung, daß nicht nur ein zusätzliches Signal zu erkennen ist, wie entsprechend der Summenformel zu erwarten war, sondern mehrere zusätzliche Signale auftreten. Im tiefen Feld sieht man statt der erwarteten drei Carbonylsignale fünf quartäre Kohlenstoffsignale. Außerdem sieht man die entsprechenden aromatischen Signale des Benzoylrestes von **1**, allerdings sind sie über einen viel breiteren Bereich der ppm-Skala verteilt ($\delta_{\text{C}} = 141.8 - 114.5$ ppm, zum Vergleich bei **1**: $\delta_{\text{C}} = 133.6 - 127.1$ ppm). Bei genauerem Hinsehen erkennt man, daß die beiden quartären Signale, die C-1' und C-2' zuzuordnen sind, „verdoppelt“ sind, d. h. es handelt sich dabei jeweils um zwei Signale, die sehr dicht beieinander liegen (C-1': $\delta_{\text{C}} = 114.6$ und 114.5 ppm; C-2': $\delta_{\text{C}} = 141.8$ ppm und 141.6 ppm (Abb. 18). Außerdem fällt auf, daß das Signal für die Methylgruppe des Succinimids C-5'' im Vergleich zu **1** leicht verschoben und ebenfalls „doppelt“ vorhanden ist (**4**: $\delta_{\text{C}} = 17.9$ und 17.0 ppm; **1**: $\delta_{\text{C}} = 16.4$ ppm). Des weiteren sind die C-2''' und C-3''' entsprechenden Signale nicht bei der gleichen chemischen Verschiebung wie bei **1** zu finden. Statt dessen sieht man zwei Methinsignale bei $\delta_{\text{C}} = 39.0$ und 35.7 ppm und zwei Methylen-signale bei $\delta_{\text{C}} = 41.3$ und 37.5 ppm. Im Vergleich zu **1** sind zwei zusätzliche Methoxysignale vorhanden, die wiederum dicht beieinander liegen ($\delta_{\text{C}} = 51.9$ bzw. 51.7 ppm).

Abgesehen davon entspricht der Signalsatz im ^{13}C -NMR-Spektrum exakt demjenigen von Methyllycaconitin (**1**). Offensichtlich entspricht die Struktur von **4** der von **1**, mit dem Unterschied, daß der Substituent am Benzoylrest etwas anders aufgebaut ist. Den doppelten Signalsatz kann man durch das Vorliegen zweier Regio- oder Stereoisomere erklären. Bei diesen muß sich der Substituent am Benzoylrest unterscheiden, weil nur die diesen Bereich betreffenden Kohlenstoffe bzw. die sich in der Nähe befindenden Kohlenstoffe einen doppelten Signalsatz aufweisen. Damit lassen sich auch die fünf Carbonylsignale erklären: Während die Carbonylkohlenstoffe, die zu dem Substituenten am Benzoylring gehören, einen doppelten Signalsatz liefern (= vier Signale), fallen die Carbonylkohlenstoffe der Esterfunktion zu einem Signal zusammen. Alle anderen Kohlenstoffsignale der Isomere fallen ebenfalls jeweils zu einem Signal zusammen, so daß es im Spektrum wie ein einzelner Signalsatz aussieht.

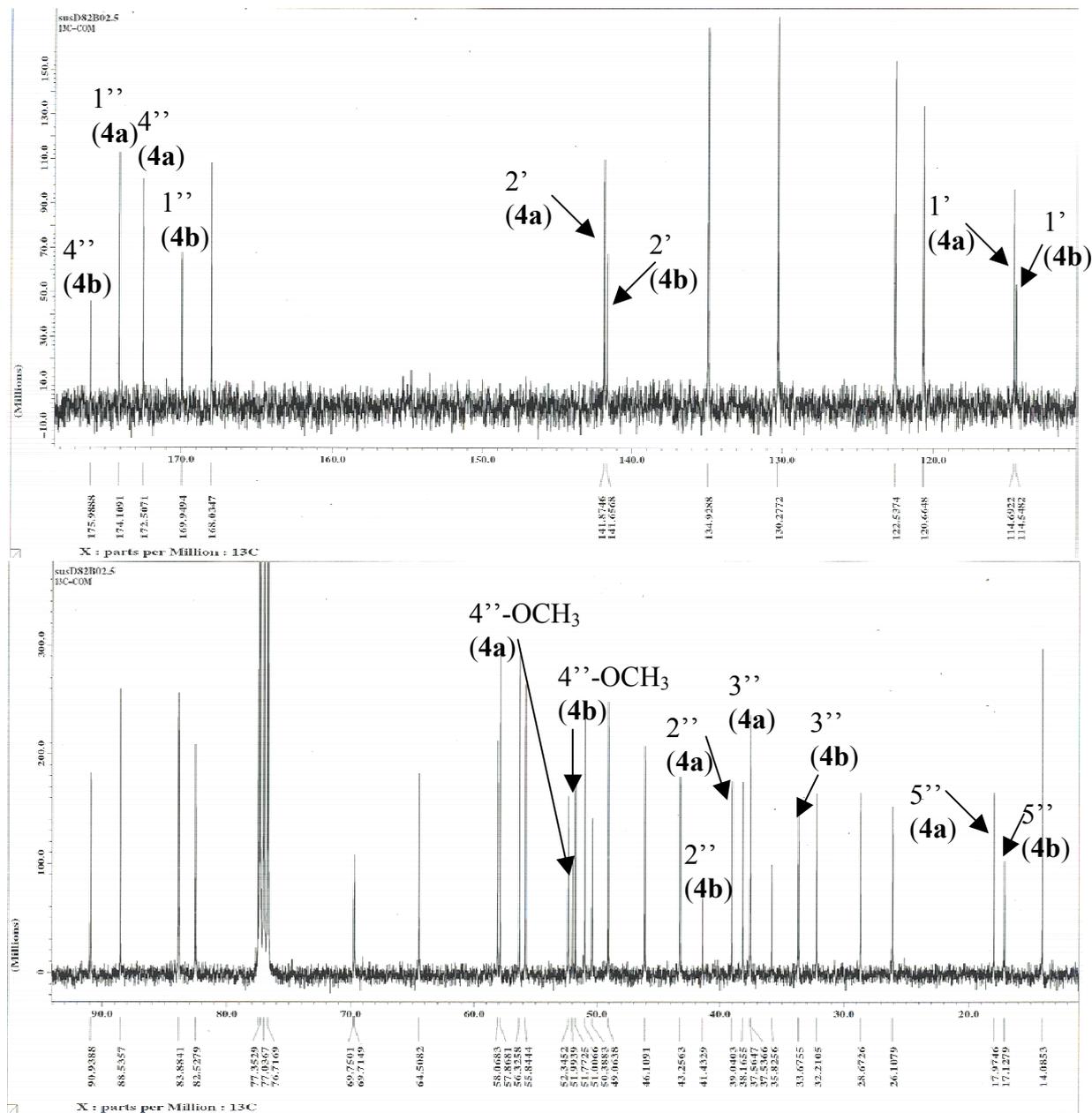


Abb. 18: ^{13}C -NMR-Spektrum von **4a** und **4b**; „doppelt“ auftretende Signale sind markiert

Im ^1H -NMR-Spektrum fallen zunächst zwei Signale bei $\delta_{\text{H}} = 11.20$ und 11.07 ppm auf. Aufgrund ihrer Form (br. s) und Lage, kann man sie als *N*-H Signale identifizieren. Da das für die übliche *N*-Ethylgruppe typische Signal (H-21: $\delta_{\text{H}} = 1.07$ ppm, t, $J = 7.1$ Hz, 3 H) zu sehen ist, muß es sich dabei also um ein Proton am zweiten Stickstoff des Restes an C-18 handeln. Außerdem sieht man im ^1H -NMR-Spektrum die Protonensignale einer zusätzlichen Methoxygruppe mit doppeltem Signalsatz ($\delta_{\text{H}} = 3.71$ und 3.68 ppm, jeweils s, 3 H) und die zugehörigen Protonensignale von C-5'', ebenfalls doppelt ($\delta_{\text{H}} = 1.33$ und 1.27 ppm, jeweils d, $J = 7.1$ Hz, 3 H). Davon abgesehen ist wie im ^{13}C -NMR-Spektrum ein einfacher Signalsatz zu

sehen. Der Signalsatz der aromatischen Protonen liegt wieder im Vergleich zu **1** gespreizt vor ($\delta_{\text{H}} = 8.72 - 7.10$ ppm; bei **1**: $\delta_{\text{H}} = 8.04 - 7.27$ ppm).

Die Struktur des Substituenten am Benzoylrest lässt sich wie folgt aufklären: Wegen des *N*-H Signals im ^1H -NMR-Spektrum liegt die Vermutung nahe, daß das bei **1** vorliegende Succinimid an einer Seite geöffnet vorliegt.

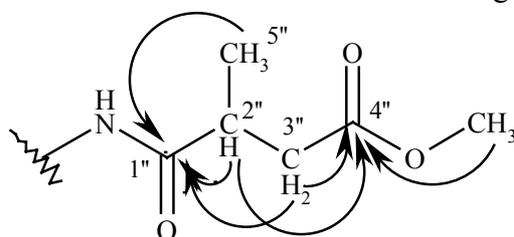
Delavain A:

Im HH-COSY-Spektrum koppelt die Methylgruppe H-5'' ($\delta_{\text{H}} = 1.33$ ppm; zugehöriger Kohlenstoff bei $\delta_{\text{C}} = 17.9$ ppm) mit einem Methinproton bei ca. $\delta_{\text{H}} = 3.02$ ppm (genaue Angabe der chemischen Verschiebung schwierig, da mehrere Signale zu einem Multiplett zusammenfallen; zugehöriger Kohlenstoff bei $\delta_{\text{C}} = 39.0$ ppm).

Im HMBC-Spektrum zeigt die Carbonylgruppe bei $\delta_{\text{C}} = 174.0$ ppm Fernkopplungen mit H-5'', mit dem Methinproton bei $\delta_{\text{H}} = 3.02$ ppm und mit den Methylenprotonen bei ca. $\delta_{\text{H}} = 2.91$ und 2.45 ppm (zugehöriger Kohlenstoff bei $\delta_{\text{C}} = 37.5$ ppm) (Abb. 19, Abb. 21).

Die Carbonylgruppe bei $\delta_{\text{C}} = 172.4$ ppm weist Fernkopplungen mit den Protonen bei $\delta_{\text{H}} = 3.02$, 2.91 und 2.45 ppm und mit den Methoxyprotonen bei $\delta_{\text{H}} = 3.68$ ppm (zugehöriger Kohlenstoff bei $\delta_{\text{C}} = 51.7$ ppm) auf.

Aus diesen Daten kann man nur die folgende Teilstruktur ableiten:



1'': $\delta_{\text{C}} = 174.0$ ppm

2'': $\delta_{\text{C}} = 39.0$ ppm; $\delta_{\text{H}} = 3.02$

3'': $\delta_{\text{C}} = 37.5$ ppm; $\delta_{\text{H}} = 2.91$ und 2.45 ppm

4'': $\delta_{\text{C}} = 172.4$ ppm

5'': $\delta_{\text{C}} = 17.9$ ppm; $\delta_{\text{H}} = 1.33$ ppm

C-4''-OCH₃: $\delta_{\text{C}} = 51.7$ ppm; $\delta_{\text{H}} = 3.68$

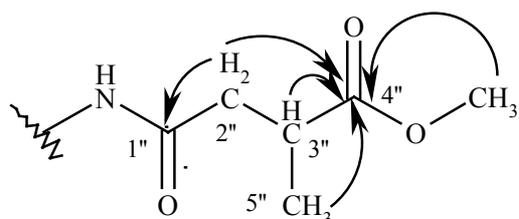
Abb. 19: Fernkopplungen in der Teilstruktur von Delavain A (**4a**)

Delavain B:

Im HH-COSY-Spektrum koppelt die Methylgruppe H-5'' ($\delta_{\text{H}} = 1.27$ ppm; zugehöriger Kohlenstoff bei $\delta_{\text{C}} = 17.0$ ppm) mit einem Methinproton bei ca. $\delta_{\text{H}} = 3.04$ ppm (zugehöriger Kohlenstoff bei $\delta_{\text{C}} = 35.7$ ppm).

Im HMBC-Spektrum zeigt die Carbonylgruppe bei $\delta_{\text{C}} = 169.9$ ppm Fernkopplungen mit den Methylenprotonen bei $\delta_{\text{H}} = 2.88$ und 2.54 ppm (zugehöriger Kohlenstoff bei $\delta_{\text{C}} = 41.3$ ppm) (Abb. 20, Abb. 21).

Die Carbonylgruppe bei $\delta_C = 175.9$ ppm hat Fernkopplungen mit denselben Protonen wie die Carbonylgruppe bei $\delta_C = 169.9$ ppm, weist aber zusätzlich Fernkopplungen mit H-5'' und den Methoxyprotonen bei $\delta_H = 3.71$ ppm (zugehöriger Kohlenstoff bei $\delta_C = 51.9$ ppm) auf. Man erkennt die folgende Teilstruktur:



1'': $\delta_C = 169.9$ ppm

2'': $\delta_C = 41.3$ ppm; $\delta_H = 2.88$ und 2.54 ppm

3'': $\delta_C = 35.7$ ppm; $\delta_H = 3.04$ ppm

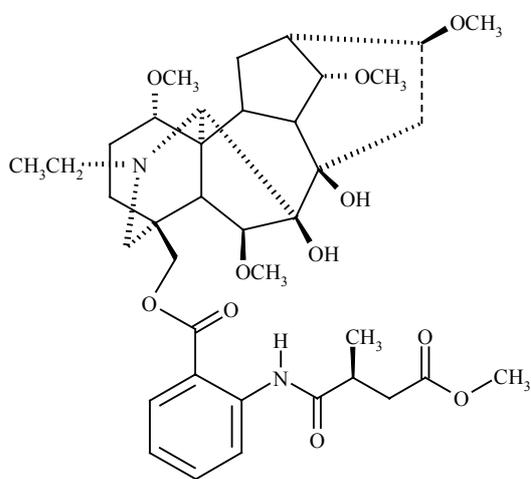
4'': $\delta_C = 175.9$ ppm

5'': $\delta_C = 17.0$ ppm; $\delta_H = 1.27$ ppm

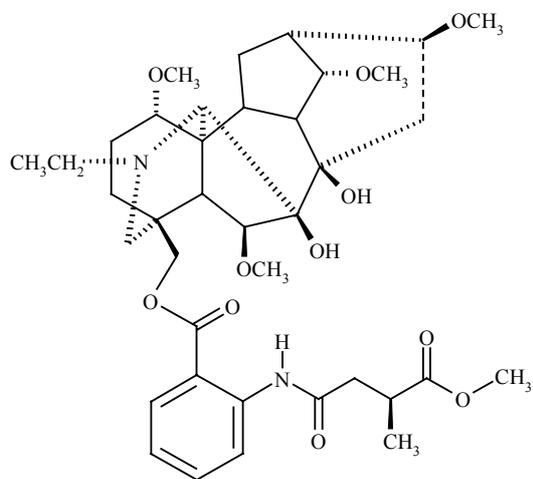
C-4''-OCH₃: $\delta_C = 51.9$ ppm; $\delta_H = 3.71$ ppm

Abb. 20: Fernkopplungen in der Teilstruktur von Delavain B

Somit wurden die Strukturen der beiden Regioisomere Delavain A (**4a**) und B (**4b**) eindeutig bewiesen. Die NMR-Daten stimmen mit den Literaturwerten⁴⁴ überein.



4a



4b

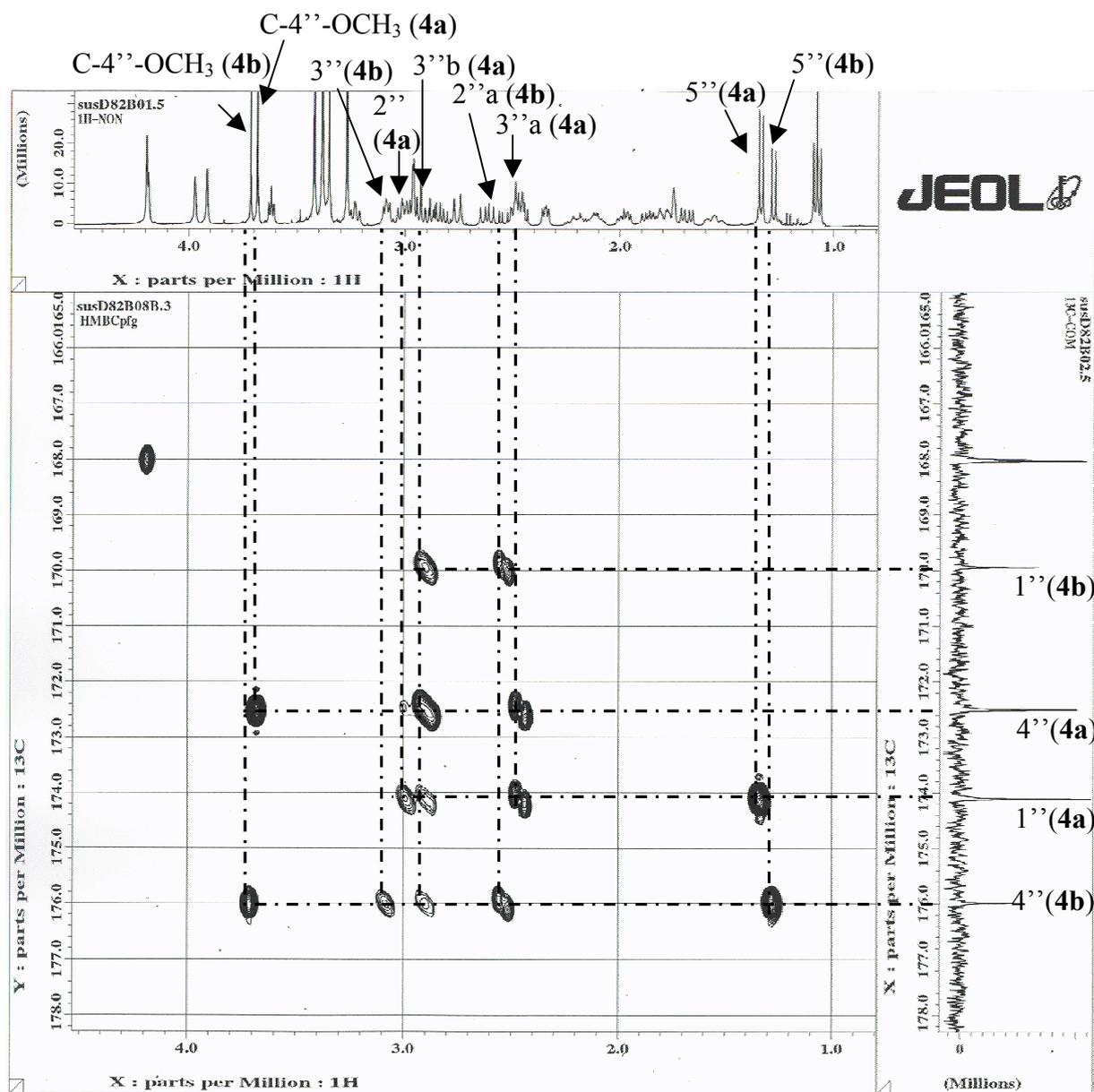


Abb. 21: Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum von **4a** und **4b**

Interessant ist die Tatsache, daß die beiden Isomere ca. im Verhältnis Delavain A : Delavain B = 2 : 1 vorliegen. Das kann man daran erkennen, daß sowohl im ^1H - als auch im ^{13}C -NMR-Spektrum die entsprechenden Signale von Delavain B deutlich kleiner sind als die von Delavain A. Anhand der Integrationen im ^1H -NMR-Spektrum kann man das Verhältnis dann bestimmen.

Delavain A (**4a**) und B (**4b**) wurden erstmals als Gemisch 1986 aus der chinesischen Pflanze *Delphinium delavayi* var. *pogonanthum* isoliert.⁴⁴ Die Alkaloide wurden später ebenfalls als Mischung aus zwei weiteren chinesischen *Delphinium*-Arten isoliert^{45,46}, wobei in der Literatur keine Angaben über die Anteile der beiden Regioisomere gemacht werden.

Die Mischung aus Delavain A (**4a**) und B (**4b**) konnte nach Vorauftrennung unter Anwendung von Säulen- und Dünnschichtchromatographie mittels HPLC (Diol Säule; Fließmittel Pentan-Ethanol (9:1) mit 0,05 % Diethylamin) isoliert werden (s. Experimenteller Teil). Dabei lieferten die beiden Regioisomere nur einen Peak im Chromatogramm. Nachdem mit Hilfe der NMR-Daten erkannt wurde, daß es sich bei **4** um zwei Substanzen handelt, wurde eine Auftrennung mit einem Reversed-Phase-HPLC-System versucht (RP-18 Säule; Fließmittel-Gradienten aus unterschiedlichen Anteilen von wäßriger Ammoniumcarbonatlösung (2%), Methanol, Acetonitril). Die beiden Substanzen konnten jedoch nicht voneinander getrennt werden. In der Literatur wurde nur einmal über den Versuch einer Trennung berichtet.⁴⁴ Dabei konnte durch umfangreiche Versuche mittels Dünnschichtchromatographie (Aluminiumoxid- und Kieselgelplatten, verschiedene Fließmittelsysteme) zunächst kein Erfolg erzielt werden. Es gelang jedoch mit Hilfe einer Aluminiumoxid-beschichteten Chromatotron-Apparatur (Fließmittel Hexen-Chloroform (2:1)) einen Teil der Mischung aufzutrennen und so die physikalischen Daten beider Regioisomere einzeln zu ermitteln. Ein Großteil der Fraktionen enthielt allerdings beide Alkaloide.

Delavain B freie Säure (5)

Die Substanz **5** ist ein weißer Feststoff (Schmelzpunkt 78 °C) und zeigt im IR-Spektrum Absorptionsbanden bei $\tilde{\nu} = 3457$ (OH), 2938 (CH), 1686 (C=O), 1588, 1525, 1448 (C=C), 1253 und 1087 (CO) cm^{-1} . Das UV-Spektrum ist nahezu identisch mit dem von Delavain A/B (**4**) ($\lambda_{\text{max}} = 309, 253, 223$ nm). Im FAB-Massenspektrum sind neben dem $[M^+ + 1]$ -Peak bei $m/z = 701$ noch Fragmente von $m/z = 683, 669$ und 636 zu sehen. Die Summenformel $\text{C}_{37}\text{H}_{52}\text{N}_2\text{O}_{11}$ konnte durch hochauflösende Massenspektrometrie bestimmt werden ($m/z = 701.3688$ $[M^+ + 1]$, berechnet für $\text{C}_{37}\text{H}_{53}\text{N}_2\text{O}_{11}$: 701.3649).

Der Signalsatz des ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektrums erinnert sehr an denjenigen von **4**, allerdings liegen bei **5** keine „doppelten“ Signale vor. Beim Vergleich der Spektren von **5** mit denen von **4** fällt auf, daß das Protonen- und Kohlenstoffsignal der an die Carbonylgruppe C-4'' gebundenen Methylesterfunktion fehlt, was mit der um eine Methyleneinheit niedrigeren Summenformel übereinstimmt. Davon abgesehen entspricht der Signalsatz genau demjenigen

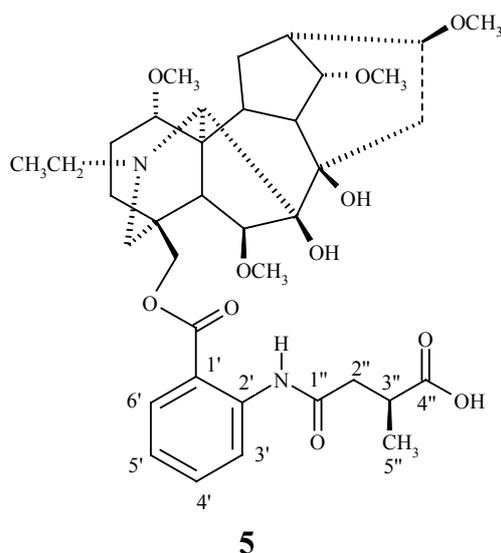
von Delavain B (**4b**), mit der Ausnahme einer Tieffeldverschiebung des Signals, das C-4'' entspricht (**4b**: $\delta_C = 175.9$ ppm; **5**: $\delta_C = 179.2$ ppm).

Aufgrund dieser Daten ist erkennbar, daß es sich bei **5** um die dem Ester Delavain B (**4b**) entsprechende Säure handelt: Delavain B freie Säure.

Die NMR-Daten stimmen mit den Literaturwerten⁸⁷ überein.

Interessanterweise wurde nicht das entsprechende Regioisomer Delavain A freie Säure gefunden.

Ein Gemisch aus Delavain A freie Säure und Delavain B freie Säure wurde erst einmal 1992 aus der in China vorkommenden Pflanze *Delphinium omeiense* isoliert.⁸⁷ Die Mischung wurde nicht aufgetrennt und es werden auch keine Angaben über den jeweiligen Anteil von Delavain A freie Säure bzw. Delavain B freie Säure gemacht.



Anthranoyllycoctonin (**6**)

Die Substanz **6** ist ein weißer Feststoff mit Schmelzpunkt 128 °C (Lit.³⁷: 130-133 °C), der auf der DC-Platte eine positive Reaktion mit Dragendorffs Reagenz zeigt. Außerdem fällt eine intensive blaue Fluoreszenz im UV-Licht ($\lambda = 365$ nm) auf. Das UV-Spektrum zeigt Maxima bei 340, 248 und 219 nm und im IR-Spektrum sieht man Absorptionen bei $\tilde{\nu} = 3464$ (OH), 2928, 2820 (CH), 1690 (C=O), 1456 (C=C), 1243 und 1088 (CO) cm^{-1} . Das FAB-Massenspektrum weist neben dem $[M^+ + 1]$ -Peak bei $m/z = 587$ Fragmente bei $m/z = 570$,

555, 537 und 434 auf. Durch hochauflösende Massenspektrometrie konnte die Summenformel $C_{32}H_{46}N_2O_8$ ermittelt werden ($m/z = 587.3303 [M^+ + 1]$, berechnet für $C_{32}H_{47}N_2O_8$: 587.3332).

Im ^{13}C -NMR- und DEPT-Spektrum erkennt man im tiefen Feld bei $\delta_C = 167.8$ ppm ein Carbonylsignal und im für aromatische Kohlenstoffe typischen Bereich sechs Signale, nämlich zwei quartäre Kohlenstoffe ($\delta_C = 150.7$ und 110.3 ppm) und vier Methinkohlenstoffe ($\delta_C = 134.3, 130.7, 116.8, 116.3$ ppm). Die übrigen Signale können durch Vergleich der chemischen Verschiebungen mit denen von Methyllycaconitin (**1**) dem Norditerpen-Grundgerüst zugeordnet werden. Dabei stellt man fest, daß, abgesehen von einer leichten Hochfeld-Verschiebung von C-18 (**6**: $\delta_C = 68.6$ ppm; **1**: $\delta_C = 69.5$ ppm) alle NMR-Signale des Grundkörpers exakt mit denen von **1** übereinstimmen, einschließlich der Methoxygruppensignale. Daraus kann man schließen, daß die Struktur von **6** der von **1** entspricht, jedoch ein anderer Rest an C-18 gebunden ist. Offensichtlich handelt es sich dabei ebenfalls um einen Aromaten, der über eine Esterfunktion an C-18 geknüpft ist und noch einen weiteren Substituenten trägt. Diesen Schluß kann man aus dem Vorhandensein von zwei quartären aromatischen Kohlenstoffen ziehen. Alle anderen Signale wurden jedoch schon eindeutig zugeordnet und es bleibt kein weiterer Kohlenstoff mehr übrig. Da das Molekül laut Summenformel zwei Stickstoffatome enthält, liegt die Vermutung nahe, daß es sich bei dem Substituenten schlicht um eine Aminofunktion handelt.

Diese Vermutung wird durch das 1H -NMR-Spektrum bestätigt. Man erkennt neben den zu erwartenden charakteristischen Signalen ($\delta_H = 3.91$ ppm, s, 1 H, H-6; $\delta_H = 3.61$ ppm, t, $J = 4.7$ Hz, 1 H, H-14; $\delta_H = 1.06$ ppm, t, $J = 7.3$ Hz, 3 H, H-21), den Methoxyprotonen ($\delta_H = 3.41, 3.37, 3.34$ und 3.26 ppm, jeweils s, 3 H) und den aromatischen Protonen ($\delta_H = 7.80$ ppm, dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1 H, H-6'; $\delta_H = 7.29$ ppm, dt, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1 H, H-4'; $\delta_H = 6.66$ ppm, t, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 2 H, H-5', H-3') bei $\delta_H = 5.74$ ppm das breite Singulett-Signal einer $N-H_2$ Funktion.

Da die Resonanzen von H-5' und H-3' zu einem Signal zusammenfallen, kann man das Substitutionsmuster allein aus dem 1H -NMR-Spektrum nicht ableiten, aber unter Berücksichtigung der Kopplungen im HH-COSY- und HMBC-Spektrum erkennt man eindeutig einen 1,2-disubstituierten Aromaten.

Die Struktur von **6** wird durch Fernkopplungen im HMBC-Spektrum zwischen dem $N\text{-H}_2$ -Signal und C-1' bzw. C-3' bestätigt (Abb. 22).

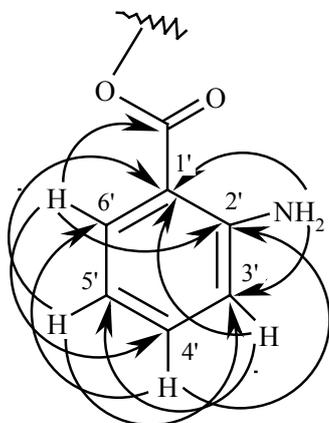
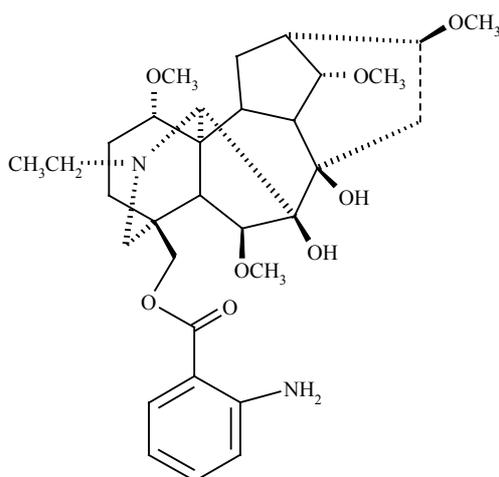


Abb. 22: Fernkopplungen im Anthranoyl-Rest an Position 18 von Anthranoyllycoctonin (**6**)

Die ermittelten Daten stimmen mit den Literaturwerten von Anthranollycoctonin (**6**) überein.⁸⁹ **6** wurde bereits 1913 als Hydrolyseprodukt von Lycaconitin, einem Analogon zu Methyllycaconitin ohne Methylgruppe an der Succinimid-Einheit, beschrieben.⁴⁷ Wann und aus welcher Pflanze **6** erstmals isoliert wurde, geht aus der Literatur nicht eindeutig hervor, sicher kann nur angegeben werden, daß **6** 1947 aus *Delphinium consolida* isoliert wurde. In der Literatur wird auch über die oben erwähnte blaue Fluoreszenz berichtet.³⁸



6

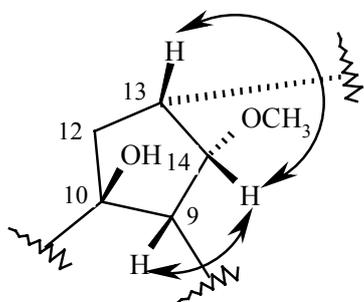
10-Hydroxyanthranoyllycoctonin (7)

Auf der DC-Platte sieht man neben Anthranoyllycoctonin (**6**) eine zweite bei UV₃₆₅-Licht blau fluoreszierende Substanz **7**, die einen niedrigeren R_F-Wert, also polarere Eigenschaften, als **6** hat. Das UV-Spektrum zeigt genau die gleichen Maxima wie das von **6** ($\lambda_{\text{max}} = 340, 248, 219 \text{ nm}$), die spezifische Drehung beträgt $[\alpha]_D^{20} = 63.9^\circ$ ($c = 0.10, \text{CHCl}_3$). Im IR-Spektrum sieht man Absorptionsbanden bei $\tilde{\nu} = 3461$ (OH), 2927, 2823 (CH), 1688 (C=O), 1455 (C=C), 1243, 1088 (CO) cm^{-1} . Im FAB-Massenspektrum erkennt man den $[M^+ + 1]$ -Peak bei $m/z = 603$, durch hochauflösende Massenspektrometrie konnte die Summenformel $\text{C}_{32}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}_9$ ermittelt werden ($m/z = 603.3321$ $[M^+ + 1]$, berechnet für $\text{C}_{32}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_9$: 603.3282). Die Substanz **7** scheint also eine ähnliche Struktur wie **6** zu haben, wobei sie aber ein Sauerstoffatom mehr als diese enthält.

Im ^1H -NMR-Spektrum bestätigt sich wieder die Norditerpen-Struktur anhand der typischen Signale ($\delta_{\text{H}} = 4.10 \text{ ppm}$, t, $J = 4.7 \text{ Hz}$, 1 H, H-14; $\delta_{\text{H}} = 3.97 \text{ ppm}$, br. s, 1 H, H-6; $\delta_{\text{H}} = 1.07$, t, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 3 H, H-21). Außerdem erkennt man wie bei **6** vier Methoxygruppen ($\delta_{\text{H}} = 3.44, 3.38, 3.34, 3.27$, jeweils s, 3 H) und im Bereich der aromatischen Protonen genau das gleiche Signalmuster wie bei **6** mit fast identischen chemischen Verschiebungen ($\delta_{\text{H}} = 7.80 \text{ ppm}$, dd, $J = 7.8 \text{ Hz}, J = 1.4 \text{ Hz}$, 1 H, H-6'; $\delta_{\text{H}} = 7.29 \text{ ppm}$, dt, $J = 7.8 \text{ Hz}, J = 1.4 \text{ Hz}$, 1 H, H-4'; $\delta_{\text{H}} = 6.66 \text{ ppm}$, t, $J = 7.8 \text{ Hz}, J = 1.4 \text{ Hz}$, 2 H, H-5', H-3'). Darüber hinaus sieht man wieder das Signal der *N*-H₂-Funktion ($\delta_{\text{H}} = 5.73 \text{ ppm}$, br. s; bei **6**: $\delta_{\text{H}} = 5.74 \text{ ppm}$, br. s).

Im ^{13}C -NMR- und DEPT-Spektrum sieht man im tiefen Feld (aromatische Kohlenstoffe und Carbonylfunktion) exakt den gleichen Signalsatz wie bei **6**. Nur der übrige Signalsatz sieht etwas anders aus. Daraus folgt, daß der Rest an C-18 bei **6** und **7** gleich ist, aber der Norditerpen-Grundkörper verschieden sein muß. Beim Vergleich der ^{13}C -NMR-Daten von **7** und **6** erkennt man, daß ein Methinkohlenstoff (bei **6**: $\delta_{\text{C}} = 46.1 \text{ ppm}$) durch einen quartären Kohlenstoff ($\delta_{\text{C}} = 81.3 \text{ ppm}$) ersetzt ist. Ansonsten stimmt ein Großteil der chemischen Verschiebungen der Kohlenstoffe gut überein. Unterschiede sind wie bei dem Vergleich von Methyllycaconitin (**1**) mit 10-Hydroxymethyllycaconitin (**2**) vor allem bei den Kohlenstoffen C-1, C-5, C-11 und in Ring C zu sehen (Tab. 4). Die Signale von C-9, C-10, C-11 und C-12 sind um 10.3, 35.2, 5.5 bzw. 10.8 ppm tieffeldverschoben (Tieffeldverschiebung der entsprechenden Signale von **2** bei Vergleich mit **1**: 10.3, 35.1, 5.5, 11.0 ppm). Daher kann man vermuten, daß wie bei **2** einer der Methinkohlenstoffe C-9, C-10 oder C-13 zusätzlich einen Sauerstoffsubstituenten trägt. Da H-14 wegen der Kopplung mit H-13 und H-9 als

typisches Tripletsignal vorliegt, kann nur der Kohlenstoff an Position 10 mit Sauerstoff substituiert sein. Dabei handelt es sich um eine Hydroxyfunktion, weil kein zusätzliches Methoxysignal zu sehen ist und das Molekül laut Summenformel nur ein Sauerstoffatom mehr enthält als **6**.



H-9: $\delta_{\text{H}} = 2.91 \text{ ppm}$ (d, $J = 4.7 \text{ Hz}$, 1 H)

H-13: $\delta_{\text{H}} = 2.50 \text{ ppm}$ (dd, $J = 7.2 \text{ Hz}$, $J = 4.7 \text{ Hz}$, 1 H)

H-14: $\delta_{\text{H}} = 4.10 \text{ ppm}$ (t, $J = 4.7 \text{ Hz}$, 1 H)

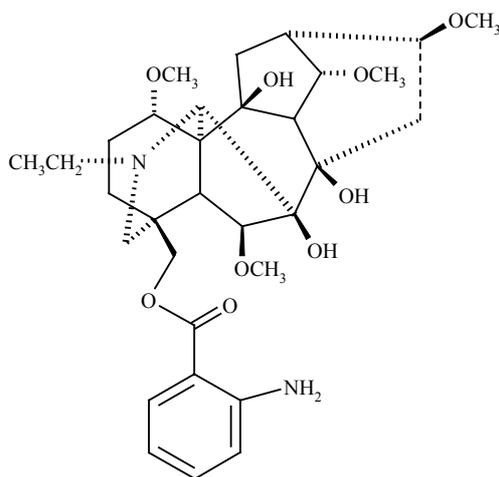
Abb. 23: Kopplungen des Protons H-14 mit den Protonen H-9 und H-13 im Ring C von **7**

Tab. 4: Vergleich der ^{13}C -NMR-Daten von **6** und **7** (δ , ppm; CDCl_3)

Kohlenstoff-atom	Substanz 6		Substanz 7		Kohlenstoff-atom	Substanz 6		Substanz 7	
	δ	CH	δ	CH		δ	CH	δ	CH
1	83.9	CH	77.2	CH	17	64.5	CH	64.7	CH
2	26.1	CH ₂	26.0	CH ₂	18	68.6	CH ₂	68.7	CH ₂
3	32.2	CH ₂	31.8	CH ₂	19	52.5	CH ₂	52.5	CH ₂
4	37.6	C	37.3	C	20	51.0	CH ₂	50.9	CH ₂
5	50.4	CH	46.1	CH	21	14.0	CH ₃	13.9	CH ₃
6	90.9	CH	91.4	CH	1-OCH ₃	55.8	CH ₃	55.5	CH ₃
7	88.5	C	87.7	C	6-OCH ₃	58.0	CH ₃	58.2	CH ₃
8	77.5	C	75.7	C	14-OCH ₃	57.9	CH ₃	57.9	CH ₃
9	43.2	CH	53.5	CH	16-OCH ₃	56.3	CH ₃	56.2	CH ₃
10	46.1	CH	81.3	C	C=O	167.8	C	167.8	C
11	49.1	C	54.6	C	1'	110.3	C	110.3	C
12	29.0	CH ₂	39.8	CH ₂	2'	150.7	C	150.7	C
13	38.2	CH	38.4	CH	3'	116.8	CH	116.8	CH
14	84.0	CH	82.4	CH	4'	134.3	CH	134.3	CH
15	33.6	CH ₂	34.6	CH ₂	5'	116.3	CH	116.4	CH
16	82.6	CH	82.0	CH	6'	130.7	CH	130.7	CH

Mit Hilfe der Fernkopplungen im HMBC-Spektrum erkennt man, daß sich die anderen Hydroxy- und Methoxysubstituenten an den gleichen Positionen wie bei **6** befinden.

Damit wurde das neue Alkaloid eindeutig als 10-Hydroxyanthranoyllycoctonin (**7**) identifiziert.



Anhweidelphinin (**8**)

Die Substanz **8** ist ein weißer Feststoff mit Schmelzpunkt bei 138 °C (Lit.⁴⁸: 138 – 140 °C). Im IR-Spektrum sieht man Absorptionen bei $\tilde{\nu} = 3447$ (OH), 2935 (CH), 1715 (CO), 1455 (C=C), 1259 und 1088 (CO) cm^{-1} . Im FAB-Massenspektrum erkennt man den $[M^+ + 1]$ -Peak bei $m/z = 653$ und außerdem das für die 2-(Methylsuccinimido)benzoyl-Einheit charakteristische Fragment von $m/z = 216$. Durch hochauflösende Massenspektrometrie wurde die Summenformel $\text{C}_{35}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_{10}$ ermittelt ($m/z = 653.3074$ $[M^+ + 1]$, berechnet für $\text{C}_{35}\text{H}_{45}\text{N}_2\text{O}_{10}$: 653.3074). Das UV-Spektrum zeigt Maxima bei 263 und 206 nm.

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum fällt auf, daß das für die *N*-Ethylgruppe charakteristische Signal von H-21 fehlt, das sonst üblicherweise als Triplet bei ca. $\delta_{\text{H}} = 1.05$ ppm auftritt. Bei genauerem Hinsehen erkennt man, daß ebenfalls die Signale für H-20a und H-20b nicht vorhanden sind. Auffällig ist ein Signal im Bereich der aromatischen Protonen bei $\delta_{\text{H}} = 7.49$ ppm (br. s, 1 H). Davon abgesehen sieht man jedoch die anderen typischen Signale eines Norditerpen-Alkaloids vom Lycoctonin-Typ mit einem Rest an C-18, wie er bei Methyllycaconitin (**1**) vorliegt ($\delta_{\text{H}} = 8.05$ ppm, d, $J = 7.8$ Hz, 1 H, H-6'; $\delta_{\text{H}} = 7.71$ ppm, dt, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.5$ Hz, 1

H, H-4'; $\delta_{\text{H}} = 7.55$ ppm, dt, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.5$ Hz, 1 H, H-5'; $\delta_{\text{H}} = 7.29$ ppm, d, $J = 7.8$ Hz, 1 H, H-3'; $\delta_{\text{H}} = 3.78$ ppm, s, 1 H, H-6; $\delta_{\text{H}} = 3.67$ ppm, t, $J = 4.4$ Hz, 1 H, H-14; $\delta_{\text{H}} = 1.46$ ppm, m, 3 H, H-5''). Außerdem sind wieder vier Methoxygruppen zu erkennen ($\delta_{\text{H}} = 3.43, 3.36, 3.32, 3.18$ ppm, jeweils s, 3 H).

Im ^{13}C -NMR-Spektrum sieht man Signale für zehn quartäre Kohlenstoffe, vierzehn Methinsignale, sechs Methylen- und fünf Methylsignale. Das heißt, im Vergleich zu Methyllycaconitin (**1**) fehlen ein Methylsignal und zwei Methylen- und ein Methinsignal mehr vorhanden. Wie bereits vom ^1H -NMR-Spektrum zu erwarten war, fehlen die Signale von C-20 und C-21. Daraus folgt, daß ein Methylenkohlenstoff gegen einen Methinkohlenstoff ausgetauscht ist. Die anderen Signale der aliphatischen Kohlenstoffe lassen sich aufgrund der entsprechenden Kopplungen im HH-COSY- und Fernkopplungen im HMBC-Spektrum der Struktur eines Norditerpen-Grundgerüsts zuordnen. Allerdings unterscheiden sich die chemischen Verschiebungen einiger Kohlenstoffe von denen von **1**. Die Signale von C-2, C-3 und C-5 sind um 5.0, 7.3 bzw. 4.7 ppm hochfeldverschoben, während dasjenige von C-4 um 9.3 ppm tieffeldverschoben ist (Tab. 5). Ein Signal für C-19, das üblicherweise bei ca. $\delta_{\text{C}} = 52$ ppm liegt, ist nicht vorhanden.

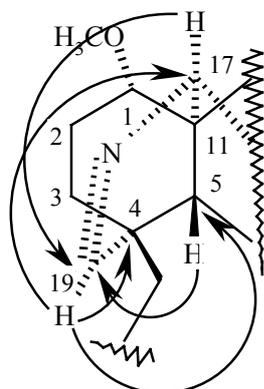
Im tiefen Feld erkennt man genau den gleichen Signalsatz der Carbonylgruppen und aromatischen Kohlenstoffe bei fast identischen chemischen Verschiebungen wie bei Methyllycaconitin (**1**). Aus diesen Daten kann man schließen, daß die Substanz **8** an Position 18 mit demselben Rest wie **1** substituiert ist. Dagegen unterscheiden sich die Strukturen im Bereich von Ring A oder E.

Das Methinsignal bei $\delta_{\text{C}} = 163.0$ ppm weist im HMBC-Spektrum Fernkopplungen mit H-17 und H-5 auf. Das mit Hilfe des HMQC-Spektrums identifizierte zugehörige, bereits im ^1H -NMR-Spektrum auffällige Proton bei $\delta_{\text{H}} = 7.49$ ppm zeigt im HMBC-Spektrum Fernkopplungen mit C-4, C-5 und C-17 (Abb. 24).

Aus diesen Daten kann man schließen, daß C-19 bei dieser Substanz nicht wie bei **1** als Methylen-Gruppe vorliegt, sondern dem Methinsignal bei $\delta_{\text{C}} = 163.0$ ppm zuzuordnen ist. Die extreme Tieffeldverschiebung läßt sich durch eine Doppelbindung zwischen C-19 und dem Stickstoff erklären (Abb. 25). Daher wurde die Lage des Signals des benachbarten Kohlenstoffs an Position 4 auch am stärksten verschoben im Vergleich zum üblichen Wert bei **1**.

Tab. 5: Vergleich der ^{13}C -NMR-Daten von **1** und **8** (δ , ppm; CDCl_3)

Kohlenstoff-atom	Substanz				Kohlenstoff-atom	Substanz			
	1	8	1	8		1	8	1	8
1	83.9	CH	82.2	CH	20	50.9	CH ₂	-	
2	26.0	CH ₂	21.0	CH ₂	21	14.0	CH ₃	-	
3	32.0	CH ₂	24.7	CH ₂	1-OCH ₃	55.7	CH ₃	56.3	CH ₃
4	37.6	C	46.9	C	6-OCH ₃	58.2	CH ₃	58.7	CH ₃
5	50.3	CH	45.6	CH	14-OCH ₃	57.8	CH ₃	57.8	CH ₃
6	90.8	CH	91.6	CH	16-OCH ₃	56.3	CH ₃	56.4	CH ₃
7	88.5	C	86.5	C	C=O	164.1	C	164.0	C
8	77.4	C	77.3	C	1'	127.1	C	127.0	C
9	43.2	CH	43.5	CH	2'	133.1	C	133.2	C
10	46.1	CH	43.1	C	3'	130.0	CH	130.1	CH
11	49.0	C	50.5	C	4'	133.6	CH	133.4	CH
12	28.7	CH ₂	30.3	CH ₂	5'	129.4	CH	129.4	CH
13	38.0	CH	38.4	CH	6'	131.0	CH	130.8	CH
14	83.9	CH	84.2	CH	1''	175.8	C	175.8	C
15	33.6	CH ₂	33.1	CH ₂	2''	35.3	CH	35.2	CH
16	82.5	CH	81.4	CH	3''	37.0	CH ₂	37.0	CH ₂
17	64.5	CH	64.5	CH	4''	179.8	C	179.8	C
18	69.5	CH ₂	66.7	CH ₂	5''	16.4	CH ₃	16.3	CH ₃
19	52.3	CH ₂	163.0	CH					



4: $\delta_C = 46.9$ ppm

5: $\delta_C = 45.6$ ppm; $\delta_H = 1.88$ ppm

17: $\delta_C = 64.5$ ppm; $\delta_H = 3.88$ ppm

19: $\delta_C = 163.0$ ppm; $\delta_H = 7.49$ ppm

Abb. 24: Fernkopplungen des Kohlenstoffs und Protons an Position 19 von Anhwedelphinin

(8)

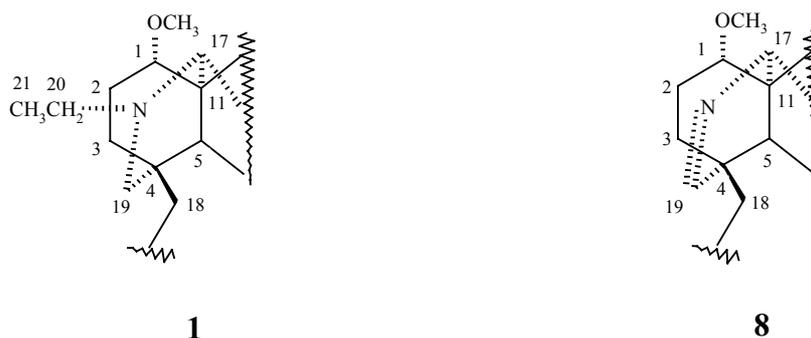
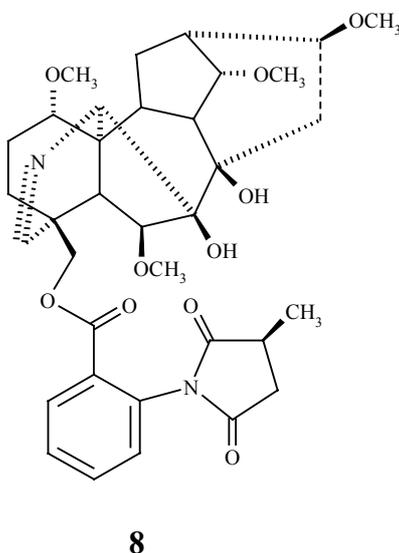


Abb. 25: Vergleich der Partialstrukturen (Ring A und E) von **1** und **8**

Somit konnte die Substanz **8** als Anhwedelphinin identifiziert werden. Dieses Alkaloid wurde erstmals 1986 aus der chinesischen Pflanze *Delphinium anhweiense* isoliert⁴⁸, wobei die Stereochemie der Methoxygruppe an Position 1 zunächst aufgrund falscher Zuordnungen der NMR-Daten als β bestimmt wurde.⁴⁸ Später konnte dann durch die korrigierte Zuordnung der NMR-Daten und außerdem durch die Überführung von **8** in **1** (Reduktion mit Natriumcyanoborhydrid und anschließende Behandlung mit Bromethan) die hier angegebene Struktur von **8** eindeutig bewiesen werden (C-1- α -OCH₃).⁴⁹ Die physikalischen Daten von **8** stimmen mit den Literaturwerten überein.⁴⁹



3.1.2.2 Norditerpen-Alkaloide vom Lycoctonin-Typ ohne aromatischem Rest an C-18

Delphatin (9)

Die Substanz **9** mit Schmelzpunkt 103 °C (Lit.⁴¹: 106 °C) hat eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +28.8^\circ$ ($c = 0.12$, CHCl_3 ; Lit.⁸⁸: $[\alpha]_D^{29} = +38.2^\circ$, $c = 2.95$, CHCl_3) und im IR-Spektrum sieht man Absorptionsbanden bei $\tilde{\nu} = 3434$ (OH), 2940, 2825 (CH), 1464, 1397, 1200, 1091 (CO) cm^{-1} . Auffällig ist, daß im Unterschied zu allen anderen bisher besprochenen Substanzen keine Carbonyl-Bande zu erkennen ist. im FAB-Massenspektrum erkennt man den $[\text{M}^+ + 1]$ -Peak bei $m/z = 482$ und Fragmente bei $m/z = 480, 464, 450, 433$ und 418. Die Summenformel $\text{C}_{26}\text{H}_{43}\text{NO}_7$ konnte durch hochauflösende Massenspektrometrie ermittelt werden ($m/z = 482.3145$ $[\text{M}^+ + 1]$, berechnet für $\text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{NO}_7$: 482.3118).

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum erkennt man die charakteristischen Signale eines Norditerpen-Alkaloids vom Lycoctonin-Typ mit *N*-Ethylgruppe ($\delta_{\text{H}} = 3.86$, s, 1 H, H-6; $\delta_{\text{H}} = 3.59$ ppm, t, $J = 4.5$ Hz, 1 H, H-14; $\delta_{\text{H}} = 1.03$ ppm, t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, H-21). Außerdem sieht man fünf Methoxygruppen ($\delta_{\text{H}} = 3.41, 3.40, 3.33, 3.29$ und 3.24 ppm, jeweils s, 3 H). Im aromatischen Bereich sind keine Signale zu finden.

Im $^{13}\text{C-NMR}$ - und DEPT-Spektrum erkennt man Signale von vier quartären Kohlenstoffen, neun Methinsignale, sieben Methylen-signale, ein Methylsignal und, wie schon vom $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zu erwarten war, fünf Methoxygruppensignale. Im tiefen Feld sind weder Signale eines Aromaten noch von Carbonylgruppen zu finden.

Die Signale kann man durch Vergleich mit typischen chemischen Verschiebungen z. B. von Methyllycaconitin (**1**) der Grundstruktur eines Norditerpen-Alkaloids zuordnen.

Auffällig ist, daß das Signal von C-18 im Vergleich zur üblichen chemischen Verschiebung der bisher besprochenen Norditerpen-Alkaloide mit aromatischem Rest ($\delta_{\text{C}} = 66-70$ ppm) tieffeldverschoben ist ($\delta_{\text{C}} = 78.1$ ppm). Es war also zu klären, welcher Rest hier statt dem Aromaten gebunden ist. Anhand der Fernkopplung im HMBC-Spektrum des Methoxyprotonensignals bei $\delta_{\text{H}} = 3.29$ ppm ($\delta_{\text{C}} = 59.0$ ppm) mit dem Kohlenstoff an Position 18 erkennt man, daß dieser mit einer Methoxygruppe substituiert sein muß.

Die Position der anderen vier Methoxygruppen kann man durch die Fernkopplungen der Methoxyprotonen bei $\delta_{\text{H}} = 3.24$ ppm ($\delta_{\text{C}} = 55.7$ ppm) mit C-1 ($\delta_{\text{C}} = 84.4$ ppm), der Methoxyprotonen bei $\delta_{\text{H}} = 3.40$ ppm ($\delta_{\text{C}} = 57.3$ ppm) mit C-6 ($\delta_{\text{C}} = 90.6$ ppm), der Methoxyprotonen bei $\delta_{\text{H}} = 3.41$ ppm ($\delta_{\text{C}} = 57.8$ ppm) mit C-14 ($\delta_{\text{C}} = 84.0$ ppm) und der

Methoxyprotonen bei $\delta_H = 3.40$ ppm ($\delta_C = 56.3$ ppm) mit C-16 ($\delta_C = 82.6$ ppm) problemlos bestimmen. Das entspricht wieder dem typischen Substitutionsschema bei Norditerpen-Alkaloiden.

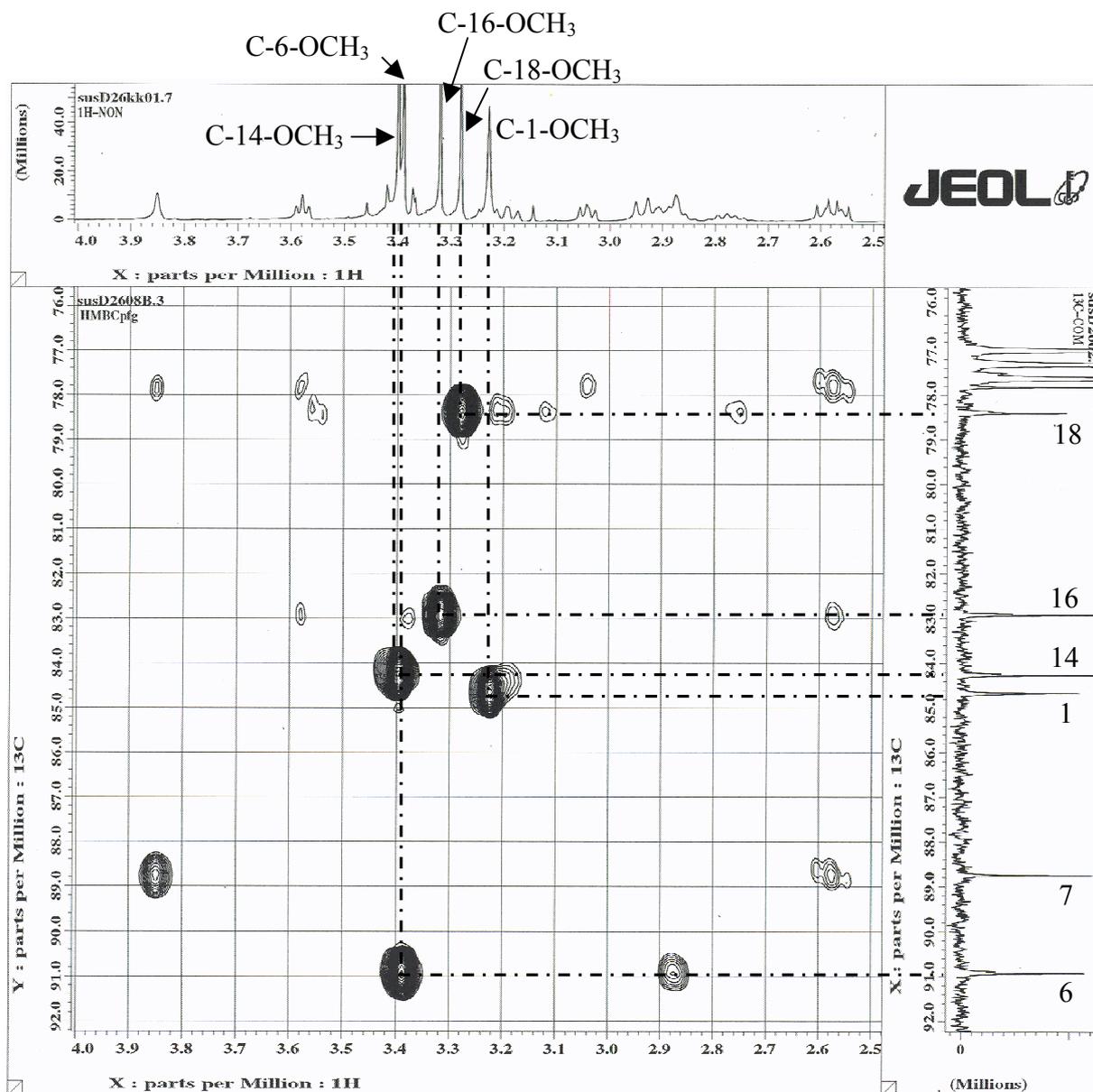
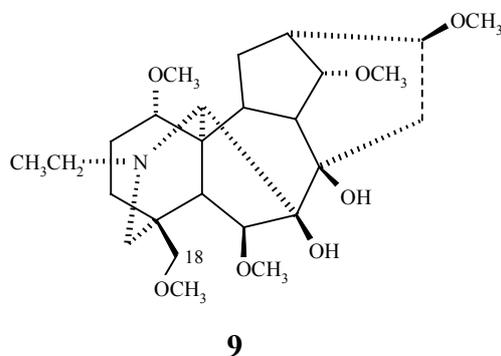


Abb. 26: Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum von **9**

Damit wurde dieses Alkaloid eindeutig als der bekannte Naturstoff Delphatin (**9**) identifiziert. Über eine Isolierung dieses Alkaloids aus der in Rußland vorkommenden Pflanze *Delphinium biternatum* wurde bereits 1949 berichtet⁵⁰, die Struktur konnte aber erst 20 Jahre später aufgeklärt werden.⁵¹

Die ^{13}C -NMR-Daten stimmen vollständig mit den Literaturwerten⁸⁹ überein. Eine Methoxygruppe an Position 18 ist ein sehr häufiges Strukturelement bei Norditerpen-

Alkaloiden. Es gibt zahlreiche Beispiele dafür in der Literatur mit entsprechenden NMR-Daten, die zeigen, daß die chemische Verschiebung von C-18 ähnliche Werte aufweist wie hier bei Delphatin (**9**).³⁶



Deoxylycoctonin (**10**)

Die Substanz **10** mit Schmelzpunkt 81 °C (Lit.⁴²: 81.5 – 84.5 °C) zeigt eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +28.3^\circ$ ($c = 0.30$, CHCl_3 ; Lit.⁹²: $[\alpha]_D = +50^\circ$, EtOH). Im IR-Spektrum sieht man Absorptionsbanden bei $\tilde{\nu} = 3445$ (OH), 2961, 1918, 2849 (CH), 1457, 1262 und 1092 (CO) cm^{-1} . Das ESI-Massenspektrum zeigt neben dem $[\text{M}^+ + 1]$ -Peak von $m/z = 452$ Fragmente bei $m/z = 334$ und 285. Die Summenformel $\text{C}_{25}\text{H}_{41}\text{NO}_6$ konnte mit Hilfe der hochauflösenden Massenspektrometrie ermittelt werden (452.2984 $[\text{M}^+ + 1]$, berechnet für $\text{C}_{25}\text{H}_{42}\text{NO}_6$: 452.3012).

Anhand der charakteristischen Signale im ^1H -NMR-Spektrum ($\delta_{\text{H}} = 3.86$ ppm, s, 1 H, H-6; $\delta_{\text{H}} = 3.59$ ppm, t, $J = 5.0$ Hz, 1 H, H-14; $\delta_{\text{H}} = 1.03$ ppm, t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, H-21) erkennt man, daß es sich bei Substanz **10** um ein Norditerpen-Alkaloid mit *N*-Ethylgruppe und vier Methoxysubstituenten ($\delta_{\text{H}} = 3.41, 3.40, 3.33, 3.23$ ppm, jeweils s, 3 H) handelt. Im aromatischen Bereich sind keine Signale zu sehen. Auffällig ist ein Singulett bei $\delta_{\text{H}} = 0.97$ ppm mit einer Integration von 3 H, bei dem es sich offensichtlich nicht um eine Methoxygruppe, sondern um eine an ein Kohlenstoffatom gebundene Methylgruppe handelt.

Da das Alkaloid **10** ebenso wie Delphatin (**9**) keinen aromatischen Rest an Position 18 trägt, wurden die Daten von **9** zum Vergleich der ^{13}C -NMR-Daten herangezogen. Die Signale von **10** können so der Struktur eines Norditerpen-Alkaloids vom Lycoctonin-Typ zugeordnet werden. Als Unterschied zu **9** fällt auf, daß eine Methoxygruppe und eine Methylengruppe weniger, dafür aber eine Methylgruppe bei $\delta_{\text{C}} = 26.8$ ppm mehr vorhanden ist (zugehöriges

Protonensignal: $\delta_H = 0.97$ ppm). Außerdem ist zu sehen, daß die Signale von C-3, C-5 und C-19 im Vergleich zu **9** um 3.0, 2.3 bzw. 3.7 ppm tieffeldverschoben sind. Dagegen ist das Signal von C-4 um 4.1 ppm ins höhere Feld verschoben (Tab. 6). Da die übliche Methylengruppe von C-18 fehlt, ist klar, daß an dieser Position eine Veränderung im Vergleich zu **9** vorliegen muß. Aufgrund der Fernkopplungen der Protonen der Methylgruppe bei $\delta_H = 0.97$ ppm mit C-3, C-4, C-5 und C-19 im HMBC-Spektrum, wird klar, daß es sich dabei um C-18 handeln muß.

Somit wurde die Struktur von **10** aufgeklärt, es handelt sich dabei um das bekannte Alkaloid Deoxylycoctonin. Die gemessenen Werte stimmen mit den Literaturdaten überein.⁹³ Deoxylycoctonin wurde erstmals 1952 aus dem Alkaloid Lycoctonin, das eine Alkoholfunktion an Position 18 trägt, hergestellt.⁵² Über eine Isolierung wurde erstmals 1989 aus der in Rußland vorkommenden Pflanze *Delphinium confusum* berichtet.⁵³

Tab. 6: Vergleich der ¹³C-NMR-Daten von **9** und **10** (δ , ppm; CDCl₃)

Kohlenstoff- atom	Substanz				Kohlenstoff- atom	Substanz			
	9		10			9		10	
1	84.4	CH	84.6	CH	14	84.0	CH	84.0	CH
2	26.3	CH ₂	26.7	CH ₂	15	33.5	CH ₂	33.6	CH ₂
3	32.4	CH₂	37.4	CH₂	16	82.6	CH	82.6	CH
4	38.1	C	34.0	C	17	64.8	CH	64.5	CH
5	49.8	CH	55.1	CH	18	78.1	CH₂	26.8	CH₃
6	90.6	CH	91.3	CH	19	52.8	CH₂	56.5	CH₂
7	88.5	C	88.6	C	20	51.1	CH ₂	51.0	CH ₂
8	77.5	C	77.6	C	21	14.1	CH ₃	14.2	CH ₃
9	43.3	CH	43.3	CH	1-OCH ₃	55.7	CH ₃	55.8	CH ₃
10	46.1	CH	46.1	C	6-OCH ₃	57.3	CH ₃	58.2	CH ₃
11	48.9	C	49.2	C	14-OCH ₃	57.8	CH ₃	57.8	CH ₃
12	28.8	CH ₂	28.8	CH ₂	16-OCH ₃	56.3	CH ₃	56.2	CH ₃
13	38.2	CH	38.2	CH	18-OCH ₃	59.0	CH ₃	-	-

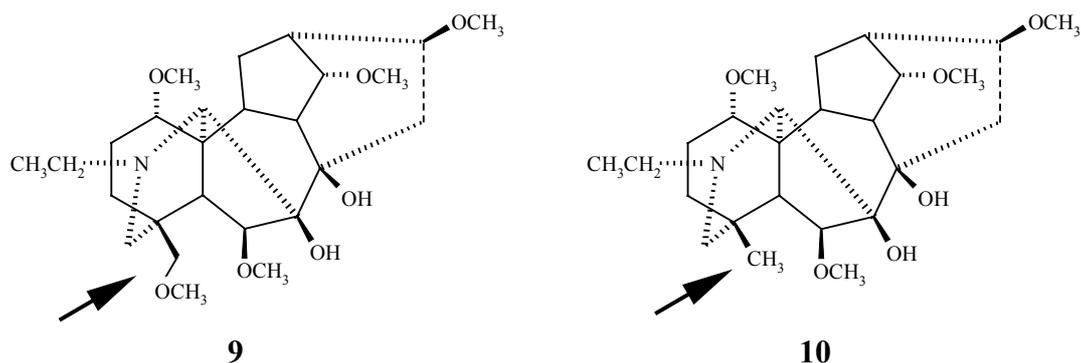


Abb. 27: Vergleich der Strukturen von Delphatin (9) und Deoxylycoctonin (10)

Delcosin (11)

Bei Substanz **11** handelt es sich um eine kristalline Substanz mit Schmelzpunkt bei 205 °C (Lit.⁹⁴: 203 – 204 °C). Die spezifische Drehung beträgt $[\alpha]_D^{20} = + 65.8^\circ$ ($c = 0.66$, CHCl_3 ; Lit.⁹⁴: $[\alpha]_D = + 53.6^\circ$, CHCl_3) und im IR-Spektrum sind Absorptionsbanden bei $\tilde{\nu} = 3517$, 3472, 3353 (OH), 2948, 2864 (CH), 1110, 1082 (CO) cm^{-1} zu sehen. Im ESI-Massenspektrum erkennt man den $[\text{M}^+ + 1]$ -Peak bei $m/z = 454$, durch hochauflösende Massenspektrometrie wird die Summenformel $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{NO}_7$ ermittelt ($m/z = 454.2814$ $[\text{M}^+ + 1]$, berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{NO}_7$: 454.2805).

Im ^1H -NMR-Spektrum sieht man an den typischen Signalen für H-21 ($\delta_{\text{H}} = 1.09$ ppm, t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, H-21) und H-20a/b ($\delta_{\text{H}} = 2.95$ ppm, m, 1 H, H-20b; $\delta_{\text{H}} = 2.83$ ppm, m, 1 H, H-20a), daß die Substanz eine *N*-Ethylgruppe enthält. Außerdem erkennt man drei Methoxygruppen ($\delta_{\text{H}} = 3.37$, 3.36, 3.33 ppm, jeweils s, 3 H). Das charakteristische Signal H-6 ($\delta_{\text{H}} = 4.02$ (s, 1 H) ist vorhanden, während das übliche Signal für H-14 (Triplet bei ca. 3.60 ppm) nicht zu sehen ist. Dagegen erkennt man bei $\delta_{\text{H}} = 4.11$ (dd, $J = 10.0$ Hz, $J = 4.7$ Hz, 1 H) und bei $\delta_{\text{H}} = 3.67$ ppm (br. s, 1 H) zwei neue Signale. Im aromatischen Bereich sind keine Signale vorhanden.

Im ^{13}C -NMR- und DEPT-Spektrum erkennt man Signale von vier quartären Kohlenstoffen, neun Methinsignale, sieben Methylen-signale, drei Methoxysignale und das Methylsignal bei $\delta_{\text{C}} = 13.5$ ppm von C-21. Im tiefen Feld von $\delta_{\text{C}} = 72.5 - 90.0$ ppm deuten sieben Signale darauf hin, daß neben den drei methoxysubstituierten C-Atomen noch vier weitere aliphatische, Sauerstofffunktionen tragende Kohlenstoffe vorhanden sind. Für die Zuordnung

der ^{13}C -NMR-Signale wurde das Spektrum von Delphatin (**9**) zum Vergleich herangezogen. Man erkennt einen sehr ähnlichen Signalsatz, der sich unter Berücksichtigung der HMQC-, HH-COSY- und HMBC-Spektren eindeutig dem Grundgerüst eines Norditerpen-Alkaloids vom Lycoctonin-Typ zuordnen läßt. Es fällt jedoch auf, daß die Signale von C-1 und C-14 um 11.9 ppm bzw. 8.2 ppm hochfeldverschoben sind. Diese Verschiebung wirkt sich auch auf die in der Nähe liegenden Signale aus. So wurden C-2, C-3, C-5, C-9, C-10, C-13, C-17 und C-19 um 3.0, 4.9, 4.3, 2.3, 2.2, 1.0, 1.4 bzw. 4.4 ppm verschoben.

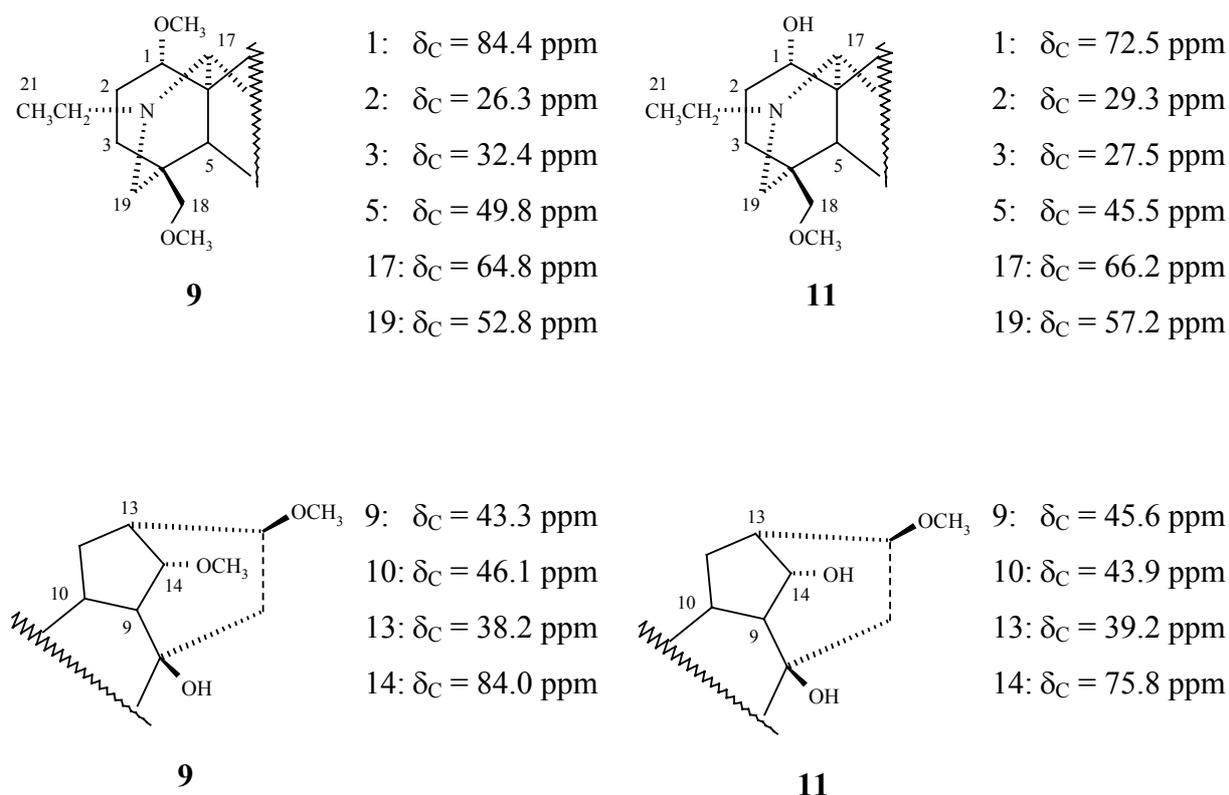
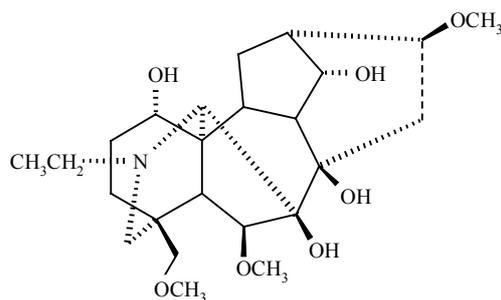


Abb. 28: Partialstrukturen von **9** und **11** im Vergleich

Da sich die drei Methoxygruppen wegen der Fernkopplungen von H-6 ($\delta_{\text{H}} = 4.02$ ppm, s, 1 H) mit C-6-OCH₃ ($\delta_{\text{C}} = 57.4$ ppm), von H-16 ($\delta_{\text{H}} = 3.37$ ppm, m, 1 H), mit C-16-OCH₃ ($\delta_{\text{C}} = 56.3$ ppm) und von H-18a/b ($\delta_{\text{H}} = 3.01$ ppm, d, $J = 8.9$ Hz, 1 H, H-18a; $\delta_{\text{H}} = 3.39$ ppm, d, $J = 8.9$ Hz, 1 H, H-18b) mit C-18-OCH₃ ($\delta_{\text{C}} = 59.0$ ppm) eindeutig zuordnen lassen, kann man aus diesen Daten schließen, daß C-1 und C-14 statt jeweils mit einer Methoxygruppe wie bei Delphatin (**9**) jeweils mit einer Hydroxyfunktion substituiert sind (Abb. 28). Das erklärt auch, warum die bereits oben erwähnten Signale der geminalen Protonen H-1 ($\delta_{\text{H}} = 3.67$ ppm, br. s, 1 H) und H-14 ($\delta_{\text{H}} = 4.11$, dd, $J = 10.0$ Hz, $J = 4.7$ Hz, 1 H) tieffeldverschoben sind. Diese

konnten mit Hilfe des HMQC-Spektrums und der Kopplungen im HH-COSY-Spektrum von H-1 mit H-2a ($\delta_{\text{H}} = 1.48$ ppm, m) und H-2b ($\delta_{\text{H}} = 1.62$ ppm, m) bzw. von H-14 mit H-9 ($\delta_{\text{H}} = 2.95$ ppm, m) und H-13 ($\delta_{\text{H}} = 2.36$ ppm, dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 4.7$ Hz) eindeutig identifiziert werden.

Damit konnte die Struktur von **11** aufgeklärt werden, es handelt sich dabei um das bekannte Alkaloid Delcosin. Über eine Isolierung aus *Delphinium consolida* wurde erstmals 1924 berichtet.⁵⁴ Die Literaturwerte stimmen mit den ermittelten Daten überein.⁵⁵

**11**

Deltatsin (**12**)

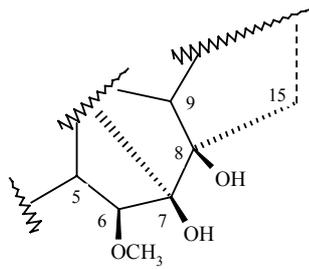
Die Substanz **12** gibt auf der DC-Platte eine positive Reaktion mit Dragendorffs Reagenz und zeigt eine spezifische Drehung von $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +15.1^{\circ}$ ($c = 0.37$, CHCl_3 ; Lit.⁵⁶: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +28.6^{\circ}$, $c = 2.4$, EtOH). Im IR-Spektrum sieht man Absorptionen bei $\tilde{\nu} = 3420, 2917, 1456, 1092$ cm^{-1} . Im EI-Massenspektrum erkennt man den Molekülpeak bei $m/z = 467$ und Fragmente bei $m/z = 452, 436, 420, 404, 390$ und 264 . Die Summenformel $\text{C}_{25}\text{H}_{41}\text{NO}_7$ konnte durch hochauflösende Massenspektrometrie erhalten werden ($m/z = 467.2857$, berechnet für $\text{C}_{25}\text{H}_{41}\text{NO}_7$: 467.2883).

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum sieht man die charakteristischen Signale eines Norditerpen-Alkaloids vom Lycoponin-Typ mit *N*-Ethylgruppe ($\delta_{\text{H}} = 3.99$ ppm, t, $J = 4.5$ Hz, 1 H, H-14; $\delta_{\text{H}} = 3.83$ ppm, s, 1 H, H-6; $\delta_{\text{H}} = 1.09$ ppm, t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, H-21). Dabei fällt allerdings auf, daß H-14 im Vergleich zum üblichen Wert bei ca. $\delta_{\text{H}} = 3.60$ ppm tieffeldverschoben ist wie bei Delcosin (**11**). Außerdem sieht man ein Signal bei $\delta_{\text{H}} = 3.65$ ppm (br. s, 1 H), das bei Delcosin H-1 entspricht ($\delta_{\text{H}} = 3.67$ ppm, br. s, 1 H). Das läßt vermuten, daß **12** eine ähnliche Struktur wie Delcosin hat und sich dessen Spektren zum Vergleich eignen.

Außerdem sind vier Methoxygruppen erkennbar ($\delta_{\text{H}} = 3.46, 3.39, 3.38, 3.36$ ppm, jeweils s, 3 H).

Im ^{13}C -NMR-Spektrum sieht man entsprechend der Summenformel 25 Signale. Neben den vier Methoxysignalen ($\delta_{\text{C}} = 59.3, 59.2, 56.3, 51.4$ ppm) und dem Methylsignal von C-21 ($\delta_{\text{C}} = 13.7$ ppm) sind vier quartäre Kohlenstoffe, neun Methinkohlenstoffe und sieben Methylenkohlenstoffe vorhanden. Sieben Signale im Bereich von $\delta_{\text{C}} = 72.2 - 91.3$ ppm deuten darauf hin, daß es neben den vier methoxysubstituierten C-Atomen noch drei weitere aliphatische, Sauerstofffunktionen tragende Kohlenstoffe gibt. Die Signale lassen sich aufgrund der Fernkopplungen im HMBC- und der Kopplungen der zugehörigen Protonen im HH-COSY-Spektrum und durch Vergleich mit den Daten von Delcosin (**11**) der Struktur eines Norditerpen-Alkaloids vom Lycoctonin-Typ zuordnen. Die Positionen von drei Methoxysubstituenten lassen sich durch die Fernkopplungen von H-6 ($\delta_{\text{H}} = 3.83$ ppm, s, 1 H) mit C-6-OCH₃ ($\delta_{\text{C}} = 59.2$ ppm) von H-16 ($\delta_{\text{H}} = 3.39$, m, 1 H) mit C-16-OCH₃ ($\delta_{\text{C}} = 56.3$) und von H-18a ($\delta_{\text{H}} = 3.16$ ppm, d, $J = 8.9$ Hz, 1 H) und H-18b ($\delta_{\text{H}} = 3.30$ ppm, d, $J = 8.9$ Hz, 1 H) mit C-18-OCH₃ ($\delta_{\text{C}} = 59.3$ ppm) im HMBC-Spektrum bestimmen.

Auffällig ist, daß nicht wie bei den anderen aliphatischen Norditerpen-Alkaloiden Delphatin (**9**), Deoxylycoctonin (**10**) und Delcosin (**11**) das Signal von C-6 den höchsten δ -Wert hat, sondern dasjenige von C-7. Es ist im Vergleich zu Delcosin (**11**) um 3.3 ppm tieffeldverschoben. Außerdem sind die Signale von C-5, C-8, C-9 und C-15 deutlich um 3.4, 3.0, 5.8 bzw. 3.4 ppm verschoben. Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß **12** genauso viele Sauerstoffatome wie **11** enthält, aber einen Methoxykohlenstoff mehr, kann man annehmen, daß bei einem dieser Kohlenstoffe ein Hydroxysubstituent gegen die noch zuzuordnende vierte Methoxygruppe ausgetauscht wurde. Da nur C-7 und C-8 chemische Verschiebungen aufweisen, wie sie einer Substitution mit Sauerstoff entsprechen, muß es sich um einen dieser beiden Kohlenstoffe handeln. Da man im HMBC-Spektrum eine Fernkopplung von C-8 mit den Methoxyprotonen bei $\delta_{\text{H}} = 3.46$ ppm ($\delta_{\text{C}} = 51.4$ ppm) sieht, sitzt die Methoxygruppe an Position 8 (Abb. 29).



11

5: $\delta_C = 45.5$ ppm

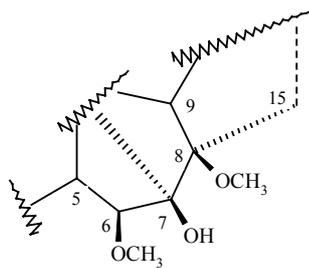
6: $\delta_C = 90.0$ ppm

7: $\delta_C = 88.0$ ppm

8: $\delta_C = 78.0$ ppm

9: $\delta_C = 45.6$ ppm

15: $\delta_C = 34.5$ ppm



12

5: $\delta_C = 48.9$ ppm

6: $\delta_C = 90.6$ ppm

7: $\delta_C = 91.3$ ppm

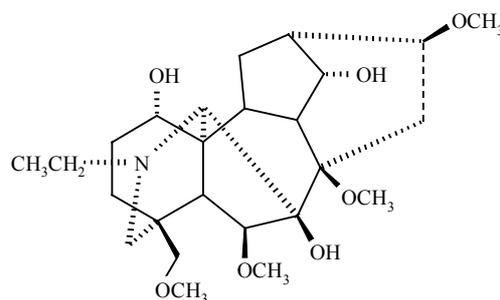
8: $\delta_C = 81.0$ ppm

9: $\delta_C = 39.8$ ppm

15: $\delta_C = 31.1$ ppm

Abb. 29: Partialstrukturen von 11 und 12 im Vergleich

Damit konnte dieses Alkaloid als der bekannte Naturstoff Deltatsin (**12**) identifiziert werden. Dieses Alkaloid wurde erstmals 1984 aus der chinesischen Art *Delphinium tatsienense* isoliert.⁹⁵ Die ermittelten spektroskopischen Daten stimmen mit den Literaturwerten⁹⁵ überein.



12

3.1.2.3 Norditerpen-Alkaloide vom Lycoctonin-Typ mit Methylendioxybrücke zwischen C-7 und C-8

6-Acetyldelphelin (13)

Substanz **13** mit Schmelzpunkt 118 °C (Lit.⁹⁶: 120 – 122 °C) zeigt eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{20} = -21.9^\circ$ ($c = 0.11$, CHCl_3 ; Lit.⁵⁷: $[\alpha]_D = -32^\circ$, CHCl_3). Im IR-Spektrum weist die Substanz Banden bei $\tilde{\nu} = 2933, 2820$ (CH), 1739 (C=O), 1455, 1365, 1244 und 1084 (CO) cm^{-1} auf. Das FAB-Massenspektrum zeigt neben dem $[\text{M}^+ + 1]$ -Peak von $m/z = 492$ Fragmente bei $m/z = 490, 460$ und 432. Die Summenformel $\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{NO}_7$ konnte durch hochauflösende Massenspektrometrie ermittelt werden ($m/z = 492.2966$ $[\text{M}^+ + 1]$, berechnet für $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{NO}_7$: 492.2961).

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum sieht man insgesamt fünf Singulettsignale mit jeweils einer Integration von 3 H. Drei davon sind Methoxysignale ($\delta_{\text{H}} = 3.40, 3.30, 3.23$ ppm), das Signal bei $\delta_{\text{H}} = 0.82$ ppm ist einer Methylgruppe ohne Nachbarprotonen zuzuordnen und das Signal bei $\delta_{\text{H}} = 2.03$ ppm liegt in einem für Acetoxypromen typischen Bereich. Außerdem fallen drei Singulettsignale (jeweils 1 H) auf, von denen zwei sehr dicht beieinander liegen ($\delta_{\text{H}} = 5.38, 4.90, 4.87$ ppm). Des weiteren sieht man für die Struktur eines Norditerpen-Alkaloids vom Lycoctonin-Typ mit *N*-Ethylgruppe charakteristische Signale ($\delta_{\text{H}} = 3.65$ ppm, t, $J = 4.7$ Hz, 1 H, H-14; $\delta_{\text{H}} = 1.02$ ppm, t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, H-21).

Obwohl das Molekül laut Summenformel 27 Kohlenstoffe enthält, sieht man im $^{13}\text{C-NMR}$ - und DEPT-Spektrum auf den ersten Blick nur 26 Signale, und zwar von vier quartären Kohlenstoffen, neun Methinkohlenstoffen, sieben Methylenkohlenstoffen, drei Methoxykohlenstoffen und drei Methylgruppen. Bei genauerem Hinsehen ist zu erkennen, daß bei $\delta_{\text{C}} = 83.3$ ppm zwei Kohlenstoffe zu einem Signal zusammenfallen. Die meisten Signale können durch Vergleich mit Literaturwerten für gängige chemische Verschiebungen³⁶ und durch die entsprechenden Kopplungen im HH-COSY- und HMBC-Spektrum dem Grundgerüst eines Norditerpen-Alkaloids vom Lycoctonin-Typ zugeordnet werden. Dabei erkennt man, daß C-18 ($\delta_{\text{C}} = 25.4$ ppm, $\delta_{\text{H}} = 0.82$ ppm, s, 3 H) keinen Sauerstoffsubstituenten trägt, sondern wie bei Deoxylycoctonin (**10**) als Methylgruppe vorliegt. Die Methoxysubstituenten kann man anhand der Fernkopplungen von H-1 ($\delta_{\text{H}} = 3.00$ ppm, t, $J = 8.7$ Hz, 1 H) mit C-1-OCH₃ ($\delta_{\text{C}} = 55.3$ ppm), von H-14 ($\delta_{\text{H}} = 3.65$ ppm, t, $J = 4.7$ Hz, 1 H) mit C-14-OCH₃ ($\delta_{\text{C}} = 57.6$ ppm) und von H-16 ($\delta_{\text{H}} = 3.22$ ppm, m, 1 H) mit C-16-OCH₃ ($\delta_{\text{C}} =$

56.1 ppm) im HMBC-Spektrum zuordnen. Da Deoxyglycoctonin (**10**) an den gleichen Positionen mit Methoxygruppen substituiert ist, eignen sich dessen Spektren zum Vergleich.

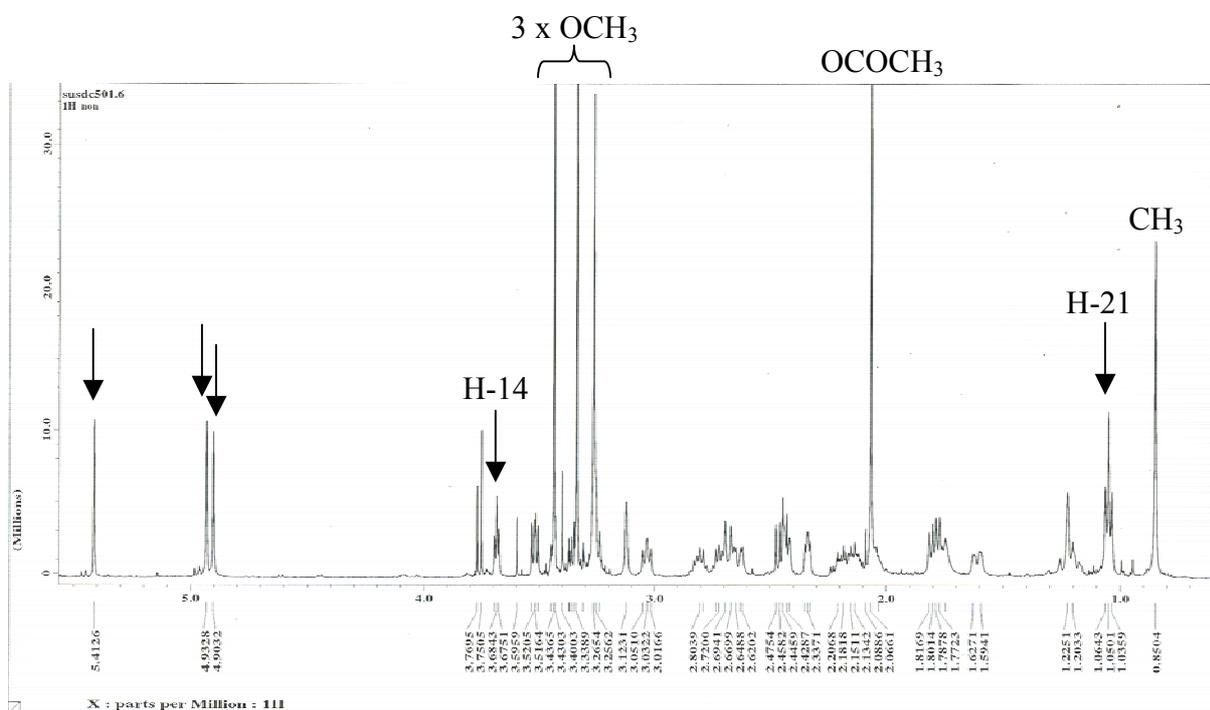


Abb. 30: ^1H -NMR-Spektrum von **13**

Die Daten von **13** stimmen gut mit denen von **10** überein, allerdings erkennt man Veränderungen der chemischen Verschiebungen im Bereich von Ring B. Während die Signale von C-6 und C-9 um 13.2 bzw. 3.5 ppm ins höhere Feld verschoben sind, liegen die Signale von C-7, C-8 und C-10 um 3.2, 5.7 bzw. 2.1 ppm tieffeldverschoben vor (Tab. 7).

Tab. 7: Vergleich der chemischen Verschiebungen der Kohlenstoffatome C-6, C-7, C-8, C-9 und C-10 von **10** und **13**

Kohlenstoffatom	Substanz 10	Substanz 13
6	91.3 CH	78.4 CH
7	88.6 C	91.8 C
8	77.6 C	83.3 C
9	43.3 CH	39.8 CH
10	46.1 CH	48.2 CH

Außerdem müssen noch die Signale bei $\delta_C = 169.9$, 93.2 und 21.6 ppm zugeordnet werden. Wegen der Tieffeldverschiebung kann das Signal bei $\delta_C = 169.9$ ppm als Carbonylgruppe identifiziert werden. Es zeigt im HMBC-Spektrum Fernkopplungen mit den Protonen bei $\delta_H = 2.03$ ppm (s, 3 H), die zu dem Kohlenstoffsignal bei $\delta_C = 21.6$ ppm gehören, und außerdem zu dem Proton bei $\delta_H = 5.38$ ppm (s, 1 H), das über das HMQC-Spektrum als H-6 identifiziert werden konnte (Abb. 31). Daraus kann man schließen, daß C-6 bei **13** statt mit einer Methoxygruppe wie bei **10** mit einer Acetoxygruppe substituiert ist. Das erklärt auch den großen Unterschied der chemischen Verschiebung von C-6.

Das verbleibende Signal zeigt mit $\delta_C = 93.2$ ppm einen ungewöhnlich hohen Wert für die chemische Verschiebung eines Methylensignals. Die zugehörigen Protonen bei $\delta_H = 4.90$ und 4.87 ppm (jeweils s, 1 H) zeigen im HH-COSY-Spektrum keine Kopplungen, so daß diese Gruppe isoliert ohne Nachbarprotonen vorliegen muß. Im HMBC-Spektrum zeigt das eine Proton bei $\delta_H = 4.87$ ppm eine Fernkopplung mit C-7, das andere bei $\delta_H = 4.90$ ppm mit C-8 und schwach mit C-7 (Abb. 31). C-7 ($\delta_C = 91.8$ ppm) und C-8 ($\delta_C = 83.3$ ppm) müssen wegen ihrer chemischen Verschiebungen mit Sauerstoff substituiert sein. Daraus kann man schließen, daß die Sauerstoffatome der hier üblicherweise vorhandenen Hydroxyfunktionen durch eine Methylengruppe miteinander verbunden sind. Das erklärt auch die leichte Verschiebung von C-7 und C-8 zu höheren δ -Werten im Vergleich zu den Werten bei **10**. Diese Methylendioxyfunktion ist ein bekanntes Strukturelement bei Norditerpen-Alkaloiden vom Lycoponin-Typ. Die chemischen Verschiebungen der Kohlenstoffe C-6, C-7 und C-8 liegen im für diese Struktur typischen Bereich.³⁶

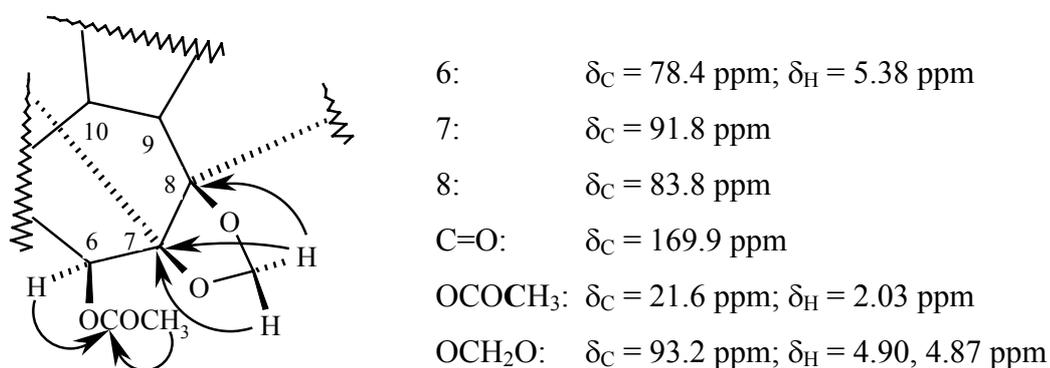
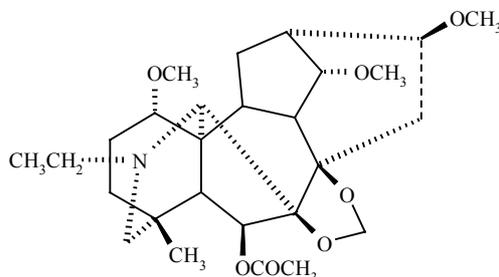


Abb. 31: Ausgewählte Fernkopplungen in Ring B von **13**

Somit wurde **13** als 6-Acetyldelphelin identifiziert. Dieses Alkaloid wurde erstmals 1988 aus der nordamerikanischen Art *Delphinium occidentale* isoliert.⁹⁶ Die ¹³C-NMR-Daten stimmen mit den Literaturwerten⁵⁸ überein.

**13**

Deltalin (14)

Die Substanz **14** hat einen Schmelzpunkt von 181 °C (Lit.⁵⁹: 185 – 187 °C) und eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{20} = -19.1^\circ$ ($c = 0.11$, CHCl_3 ; Lit.⁵⁹: $[\alpha]_D^{29} = -28^\circ$, MeOH). Das IR-Spektrum zeigt Absorptionen bei $\tilde{\nu} = 3479$ (OH), 2932, 2876, 2821 (CH), 1736 (C=O), 1456, 1367, 1245 und 1084 (CO) cm^{-1} . Im FAB-Massenspektrum sieht man neben dem $[\text{M}^+ + 1]$ -Peak bei $m/z = 508$ Fragmente bei $m/z = 476$ und 448. Die Summenformel $\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{NO}_8$ ($m/z = 508.3002$ $[\text{M}^+ + 1]$, berechnet für $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{NO}_8$: 508.2910) konnte mit Hilfe der hochauflösenden Massenspektrometrie ermittelt werden.

Im ¹H-NMR-Spektrum erkennt man die strukturelle Ähnlichkeit von **14** mit 6-Acetyldelphelin (**13**). Man sieht wieder die drei Singulettensignale bei $\delta_{\text{H}} = 5.47$ (H-6), 4.96 und 4.91 ppm (jeweils s, 1 H, OCH₂O), drei Methoxysignale bei $\delta_{\text{H}} = 3.45$, 3.33 und 3.26 ppm (jeweils s, 3 H), die Acetoxypromen bei $\delta_{\text{H}} = 2.07$ ppm (s, 3 H) und das Methylsignal bei $\delta_{\text{H}} = 0.88$ ppm (s, 3 H, H-18). Außerdem sind die *N*-Ethylgruppe ($\delta_{\text{H}} = 2.81$ ppm, m, 1 H, H-20b; $\delta_{\text{H}} = 2.72$ ppm, m, 1 H, H-20a; $\delta_{\text{H}} = 1.06$ ppm, t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, H-21) und H-14 ($\delta_{\text{H}} = 4.12$, t, $J = 4.6$ Hz, 1 H) vorhanden, das allerdings im Vergleich zu **13** tieffeldverschoben ist.

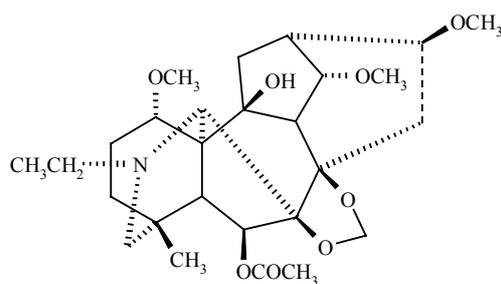
Wenn man die ¹³C-NMR-Daten von **14** und **13** vergleicht, bemerkt man, daß ein Methinkohlenstoff durch einen quartären Kohlenstoff ersetzt ist. Ansonsten fallen lediglich Unterschiede der chemischen Verschiebungen bei C-1, C-5, C-11 und in Ring C auf. Die Signale von C-9, C-10, C-11 und C-12 sind um 10.5, 35.6, 5.7 bzw. 11.4 ppm tieffeldverschoben (Tab. 8). Wenn man bedenkt, daß **14** laut Summenformel einen Sauerstoff

mehr enthält als **13**, kann man daraus schließen, daß einer der Kohlenstoffe C-9, C-10 oder C-13 zusätzlich mit Sauerstoff substituiert ist. Da H-14 wegen Kopplungen mit H-9 und H-13 - auch im HH-COSY-Spektrum gut zu erkennen - als Triplett vorliegt, sind C-9 und C-13 nicht mit Sauerstoff substituiert. Das deutet darauf hin, daß **14** die gleiche Struktur wie **13** hat, mit dem Unterschied, daß sich an Position 10 eine Hydroxygruppe befindet. Die Differenzen der chemischen Verschiebungen entsprechen genau denen zwischen Methyllycaconitin (**1**) und 10-Hydroxymethyllycaconitin (**2**).

Tab. 8: Vergleich der ^{13}C -NMR-Daten von **13** und **14** (δ , ppm; CDCl_3)

Kohlenstoff-atom	Substanz				Kohlenstoff-atom	Substanz			
	13		14			13		14	
1	82.0	CH	77.2	CH	15	33.7	CH ₂	34.7	CH ₂
2	26.9	CH ₂	27.0	CH ₂	16	81.5	CH	81.3	CH
3	36.7	CH ₂	36.5	CH ₂	17	64.1	CH	63.5	CH
4	33.8	C	33.6	C	18	25.4	CH ₃	25.6	CH ₃
5	55.8	CH	50.3	CH	19	56.7	CH ₂	56.8	CH ₂
6	78.4	CH	79.0	CH	20	50.3	CH ₂	50.2	CH ₂
7	91.8	C	91.5	C	21	13.8	CH ₃	13.8	CH ₃
8	83.3	C	81.5	C	1-OCH ₃	55.3	CH ₃	55.2	CH ₃
9	39.8	CH	50.3	CH	14-OCH ₃	57.6	CH ₃	57.7	CH ₃
10	48.2	CH	83.8	C	16-OCH ₃	56.1	CH ₃	56.1	CH ₃
11	50.2	C	55.9	C	6-OCOCH ₃	169.9	C	169.8	C
12	27.9	CH ₂	39.3	CH ₂	6-OCOCH ₃	21.6	CH ₃	21.7	CH ₃
13	38.5	CH	38.3	CH	OCH ₂ O	93.2	CH ₂	93.8	CH ₂
14	83.3	CH	81.6	CH					

Das identifizierte Alkaloid **14** heißt Deltalin. Über eine Isolierung aus der in Nordamerika heimischen Pflanze *Delphinium occidentale* wurde erstmals 1936 berichtet.⁶⁰ Die ^{13}C -NMR-Literaturdaten⁶¹ entsprechen den gemessenen Werten.

**14****Delelatin (15)**

Substanz **15** mit Schmelzpunkt 82 °C (Lit.⁹⁸: 84.5 – 86.5 °C) und der spezifischen Drehung $[\alpha]_D^{20} = -23.5^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3 ; Lit.⁹⁸: $[\alpha]_D^{23,5} = -27.7^\circ$, $c = 1.05$, CHCl_3) weist im IR-Spektrum Absorptionen bei $\tilde{\nu} = 3445$ (OH), 2932, 2824 (CH), 1456, 1367 und 1088 (CO) cm^{-1} auf. Das FAB-Massenspektrum zeigt den $[\text{M}^+ + 1]$ -Peak bei $m/z = 436$, daneben ein Fragment bei $m/z = 404$. Durch hochauflösende Massenspektrometrie kann die Summenformel $\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{NO}_6$ ermittelt werden ($m/z = 436.2730$ $[\text{M}^+ + 1]$, berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{NO}_6$: 436.2699).

Im ^1H -NMR-Spektrum sieht man neben den Signalen der Methylenedioxybrücke zwischen C-7 und C-8 ($\delta_{\text{H}} = 5.09$ und 5.19 ppm, jeweils s, 1 H) wie sie auch bei 6-Acetyldelphelin (**13**) und Deltalin (**14**) auftreten, zwei Methoxysignale ($\delta_{\text{H}} = 3.37$ und 3.25 ppm, jeweils s, 3 H), das für die *N*-Ethylgruppe charakteristische Signal von H-21 ($\delta_{\text{H}} = 1.05$ ppm, t, $J = 7.0$ Hz, 3 H) und das Methylsignal H-18 ($\delta_{\text{H}} = 0.93$ ppm, s, 3 H). Außerdem sind ein Singulett bei $\delta_{\text{H}} = 4.21$ ppm (1 H, H-6) und ein Triplett bei $\delta_{\text{H}} = 4.11$ ppm ($J = 4.5$ Hz, 1 H, H-14) erkennbar. Signale einer Acetoxygruppe, wie sie bei **13** und **14** zu sehen sind, fehlen.

Im ^{13}C -NMR- und DEPT-Spektrum sieht man entsprechend der Summenformel 24 Signale, darunter das Signal der Methylenedioxygruppe bei der charakteristischen Verschiebung von $\delta_{\text{C}} = 93.2$ ppm (zum Vergleich: **13**: $\delta_{\text{C}} = 93.2$ ppm; **14**: $\delta_{\text{C}} = 93.8$ ppm). Die beiden Methoxygruppen lassen sich aufgrund der Fernkopplungen von H-1 ($\delta_{\text{H}} = 3.03$ ppm, dd, $J = 10.2$ Hz, $J = 7.1$ Hz, 1 H) mit C-1-OCH₃ ($\delta_{\text{C}} = 56.4$ ppm) und von H-16 ($\delta_{\text{H}} = 3.48$ ppm, m, 1 H) mit C-16-OCH₃ ($\delta_{\text{C}} = 55.9$ ppm) zuordnen. Im tiefen Feld sind weder aromatische Signale noch Carbonylgruppensignale vorhanden. Die beiden Methylsignale sind C-18 ($\delta_{\text{C}} = 25.3$ ppm) und C-21 ($\delta_{\text{C}} = 14.0$ ppm) zuzuschreiben.

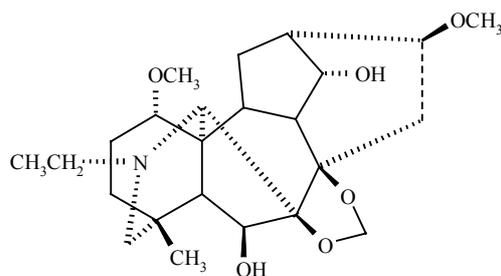
Aus diesen Daten kann man schließen, daß im Unterschied zu **13** und **14** in diesem Molekül keine Acetoxygruppe vorhanden ist.

In dem Bereich von $\delta_C = 74.0 - 94.1$ ppm, der für aliphatische Sauerstofffunktionen tragende Kohlenstoffe typisch ist, sieht man sieben Signale. Drei davon sind der Methylenedioxygruppe, C-7 und C-8 zuzuschreiben, zwei weitere (C-1 und C-16) tragen Methoxygruppen. In Übereinstimmung mit der Summenformel, die sechs Sauerstoffatome enthält, müssen die beiden verbleibenden Kohlenstoffe mit Hydroxygruppen substituiert sein.

Vergleicht man die chemischen Verschiebungen der Signale mit einem strukturähnlichen Alkaloid wie z. B. 6-Acetyldehphelin (**13**), so kann man unter Einbeziehung der Kopplungen der Protonen im HH-COSY-Spektrum und der Fernkopplungen im HMBC-Spektrum eine sichere Zuordnung der Kohlenstoffe treffen.

Dabei fällt auf, daß das Signal von C-14 um 9.3 ppm hochfeldverschoben ist, in einen Bereich, der für eine Hydroxy-Substitution an dieser Position typisch ist.³⁶ Die Signale der benachbarten Kohlenstoffe C-9 und C-13 sind ebenfalls leicht verschoben (C-9: 3.0 ppm; C-13: 2.4 ppm). Die zweite Hydroxyfunktion muß wegen dessen Tieffeldverschiebung an C-6 gebunden sein, wiederum in Übereinstimmung mit den entsprechenden Literaturwerten.³⁶ Hier sieht man im Vergleich zu **13**, das an dieser Position eine Acetoxygruppe trägt, nur leichte Veränderungen der δ -Werte (C-6: 0.5 ppm; C-7: 2.3 ppm), weil eine Acetoxy- und eine Hydroxy-Substitution eine ähnliche Auswirkung auf die chemische Verschiebung des Kohlenstoffs haben.

Somit konnte **15** als das Alkaloid Delelatin identifiziert werden. Dieses Alkaloid wurde erstmals 1988 aus in den USA käuflich erworbenen Samen der Art *Delphinium elatum* und aus Wurzeln von *Delphinium tatsienense* chinesischer Herkunft isoliert⁹⁸. Die ¹³C-NMR-Literaturdaten⁹⁸ stimmen mit den gemessenen Werten überein, wobei die falsche Zuordnung von C-9 und C-10 korrigiert werden konnte.



15

3.1.3 Diskussion

Unter Anwendung eines modifizierten Stas-Otto-Gangs und verschiedener chromatographischer Techniken wie Säulenchromatographie, präparative Dünnschichtchromatographie sowie semipräparative und präparative Hochleistungsflüssigchromatographie konnten aus drei *Delphinium*-Arten 16 verschiedene Alkaloide isoliert werden. Diese konnten vor allem anhand der ^1H -, ^{13}C -, DEPT-, HH-COSY-, HMQC- und HMBC-NMR-Spektren, aber auch mit Hilfe der Massen- und hochaufgelösten Massenspektren sowie UV- und IR-Spektren identifiziert werden. Bei allen isolierten Verbindungen handelt es sich um Norditerpen-Alkaloide vom Lycoctonin-Typ.

Aus *D. cheilanthum* konnten neben den bereits früher aus dieser Pflanze isolierten Alkaloiden Deltalin (**14**) und Methylyllycaconitin (**1**) erstmals die aus anderen Pflanzen bekannten Alkaloide Anhwedelphinin (**8**), 6-Acetyldelphelin (**13**) und Delelatin (**15**) isoliert werden. Auffällig ist, daß nur in dieser Art Norditerpen-Alkaloide mit einer Methylenedioxybrücke zwischen C-7 und C-8 gefunden werden konnten (6-Acetyldelphelin (**13**), Deltalin (**14**), Delelatin (**15**)).

Die Art *D. dissectum* wurde zum ersten Mal im Rahmen dieser Arbeit phytochemisch untersucht. Dabei wurden neben den Alkaloiden Delphatin (**9**) und Deoxylycoctonin (**10**) vor allem Alkaloide mit aromatischem Rest an Position 18 gefunden: Delavain A (**4a**) und B (**4b**), Delavain B freie Säure (**5**), Methylyllycaconitin (**1**), Anthranoyllycoctonin (**6**), 10-Hydroxymethyllycaconitin (**2**) und 10-Hydroxyanthranoyllycoctonin (**7**). Bei den beiden letzteren handelt es sich um neue Naturstoffe, die sich durch eine zusätzliche Hydroxygruppe an Position 10 von den bekannten Alkaloiden Methylyllycaconitin (**1**) bzw. Anthranoyllycoctonin (**6**) ableiten.

Aus *D. dissectum* konnte eine Mischung im Verhältnis 2:1 der beiden Regioisomere Delavain A (**4a**) und B (**4b**) isoliert werden. Diese beiden Isomere wurden bisher immer gemeinsam gewonnen, wobei aber keine Angaben über die Mengenanteile in der Literatur gemacht wurden. Darüber hinaus konnte die dem einen Regioisomer entsprechende freie Säure gefunden werden, nämlich Delavain B freie Säure (**5**). In der Literatur wurde bisher nur einmal über eine Isolierung dieser Substanz berichtet, wobei diese dort aber in Kombination mit dem Regioisomer Delavain A freie Säure auftrat.

Aus *D. grandiflorum* konnten neben den schon aus Pflanzen chinesischer Herkunft bekannten Alkaloiden Grandiflorin (**3**) und Methylllycaconitin (**1**) die Alkaloide Delcosin (**11**) und Deltatsin (**12**) isoliert werden.

Es ist auffällig, daß die beiden neuen Naturstoffe 10-Hydroxyanthranoyllycoctonin (**7**) und 10-Hydroxymethyllycaconitin (**2**) durch die zusätzliche Hydroxygruppe an Position 10 reicher an Sauerstofffunktionen sind als die gängigen Norditerpen-Alkaloide aus *Delphinium*-Spezies. 10-Hydroxymethyllycaconitin (**2**) wurde etwa zur gleichen Zeit von den mit uns kooperierenden Wissenschaftlern aus einer weiteren aus der Mongolei stammenden *Delphinium*-Art, *D. excelsum*, isoliert. In dieser Art konnten noch zwei weitere neue Alkaloide gefunden werden, die in der gemeinsamen Publikation im letzten Jahr erstmals beschrieben wurden: 10-Hydroxynudicaulidin, auf das bereits bei der Diskussion der Substanz 10-Hydroxymethyllycaconitin (**2**) Bezug genommen wurde, und 18-*O*-Methyldeltherin. Diese beiden Alkaloide leiten sich von den bekannten Alkaloiden Nudicaulidin bzw. Deltherin ab. Von diesen unterscheiden sich die beiden neuen Alkaloide ebenfalls durch den Einbau zusätzlicher Sauerstofffunktionen.

Es fällt also auf, daß aus den drei mongolischen *Delphinium*-Arten Alkaloide, die besonders viele Sauerstofffunktionen enthalten, das heißt höher oxidiert vorliegen, isoliert wurden. Wie bereits im Teil Themenstellung erwähnt wurde, sollte im Rahmen dieser Arbeit die Alkaloidzusammensetzung der Pflanzen untersucht werden, wobei geklärt werden sollte, ob ein Unterschied zu der von in anderen Ländern heimischen Pflanzen der gleichen Arten feststellbar ist. Unterschiede in der Sekundärstoffzusammensetzung könnten auf eine Anpassung an die extremen klimatischen Bedingungen in der Mongolei zurückzuführen sein. Mit den vorliegenden Daten ist es aber noch nicht möglich, definitive Aussagen zu treffen, da ein Großteil der mongolischen Flora phytochemisch noch nicht gut untersucht ist. Man kann aber anhand der in dieser Arbeit aus *Delphinium*-Spezies isolierten Alkaloide eine Tendenz erkennen: Die mongolischen *Delphinium*-Arten scheinen besonders sauerstoffreiche Alkaloide zu enthalten.

3.2 *Aconitum chasmanthum*

3.2.1 Extraktbereitung und Isolierung der Alkaloide

Der Extrakt von *Aconitum chasmanthum* wurde ebenso wie die drei anderen Pflanzenextrakte in der Mongolei von den Wissenschaftlern des Instituts für Chemie der Mongolischen Akademie der Wissenschaften, mit denen eine Kooperation besteht, hergestellt. Die Extraktbereitung und Auftrennung in die drei Alkaloidfraktionen A, B und C erfolgte nach dem Schema, das bereits bei den *Delphinium*-Arten beschrieben wurde.

Ebenso wurden auch die gleichen Chromatographie-Techniken für die Isolierung der Substanzen angewendet. Auf diese Weise konnten neben den Norditerpen-Alkaloiden Neolin (16), Delstaphisagnin (17) und Senbusin A (18) die Diterpen-Alkaloide 12-Epi-Napellin (19) und Gomandonin (20) isoliert werden.

3.2.2 Strukturaufklärung der Alkaloide

3.2.2.1 Norditerpen-Alkaloide vom Aconitin-Typ

Alkaloide vom Aconitin-Typ wurden im Rahmen dieser Arbeit nicht aus *Delphinium*-Arten, sondern nur aus *Aconitum chasmanthum* isoliert, prinzipiell kommen sie aber auch in *Delphinium*-Arten vor. Sie unterscheiden sich von den Alkaloiden vom Lycoctonin-Typ dadurch, daß C-7 immer unsubstituiert vorliegt und der Sauerstoffsubstituent an C-6 α -ständig ist. Zusammengefaßt zeigen sie die folgenden typischen Strukturmerkmale:

- Ethylgruppe am Stickstoff
- C-7 ist immer unsubstituiert, d. h. es ist nur Wasserstoff gebunden
- Sauerstoffhaltige Substituenten meist an C-1, C-6, C-8, C-14, C-16 (meist Hydroxy-, Methoxy- oder Acetoxygruppen)
- C-3, C-13 oder/und C-15 können mit Hydroxygruppen substituiert sein
- C-14 kann auch mit aromatischen Resten substituiert sein, z.B. mit einem Benzoyl-Rest

Im Unterschied zu den Alkaloiden vom Lycoponin-Typ ist beim Aconitin-Typ der Substituent an Position 6 meist α -ständig. Folgende Regeln gelten für die stereochemische Anordnung der sauerstoffhaltigen Substituenten:

- C-1- α -OR
- C-3- α -OH
- C-6- α -OR
- C-14- α -OR
- C-15- α -OH
- C-16- β -OR

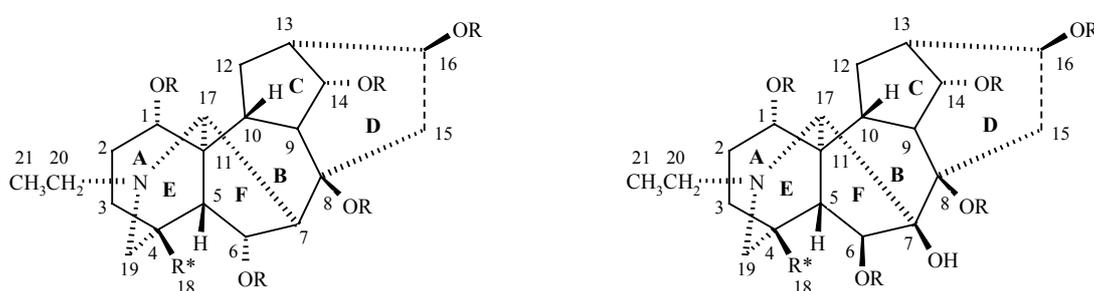


Abb. 32: Links: Grundgerüst der Norditerpen-Alkaloide vom Aconitin-Typ; Rechts: Grundgerüst der Norditerpen-Alkaloide vom Lycoponin-Typ; R meist -H, -CH₃, -COCH₃, bei Aconitin-Typ: Position 14 auch aromatisch; R* meist -CH₃, -CH₂OCH₃, -CH₂OH oder aromatisch

Auch bei den Alkaloiden vom Aconitin-Typ gibt es Ausnahmen von diesen Regeln. Zum Beispiel kann der Stickstoff statt der Ethylgruppe eine Methyl- oder Formylgruppe tragen⁴⁰ oder der Substituent an Position 6 kann β -ständig sein (z. B. bei Bicoloridin⁶²).

Die charakteristische Stereochemie wurde wiederum durch Röntgenstrukturanalysen einiger Alkaloide bestimmt und auch für andere Alkaloide aufgrund der Korrelationen der NMR-Daten übernommen.⁶³

Neolin (16)

Substanz **16** (Schmelzpunkt bei 142 °C; Lit.⁶⁴: 159 - 161 °C) zeigt eine positive Reaktion mit Dragendorffs Reagenz und eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +26.9^\circ$ (c = 0.10, CHCl₃; Lit.⁹⁹: $[\alpha]_D = +22^\circ$, EtOH). Das IR-Spektrum zeigt Absorptionsbanden bei $\tilde{\nu} = 3290$ (OH),

2968, 2933, 2869, 2813 (CH), 1455, 1112 (CO) cm^{-1} , im FAB-Massenspektrum erkennt man den $[\text{M}^+ + 1]$ -Peak bei $m/z = 438$. Die Summenformel $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{NO}_6$ wurde durch hochauflösende Massenspektrometrie ermittelt ($m/z = 438.2861$ $[\text{M}^+ + 1]$, berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{NO}_6$: 438.2856).

Im ^1H -NMR-Spektrum deuten die charakteristischen Signale bei $\delta_{\text{H}} = 4.22$ ppm (t, $J = 5.1$ Hz, 1 H, H-14), $\delta_{\text{H}} = 2.56$ ppm (dq, $J = 12.4$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1 H, H-20b), $\delta_{\text{H}} = 2.48$ ppm (dq, $J = 12.4$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1 H, H-20a) und $\delta_{\text{H}} = 1.12$ ppm (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, H-21) darauf hin, daß es sich bei **16** um ein Norditerpen-Alkaloid mit *N*-Ethylgruppe handelt. Außerdem sind drei Methoxysubstituenten vorhanden ($\delta_{\text{H}} = 3.42, 3.40, 3.29$ ppm, jeweils s, 3 H). Auffällig ist, daß in dem Bereich der chemischen Verschiebung, in dem bei den Alkaloiden vom Lycoctonin-Typ H-6 als Singulett auftritt, ein Dublett zu sehen ist ($\delta_{\text{H}} = 4.17$ ppm, d, $J = 6.6$ Hz, 1 H).

Im ^{13}C -NMR- und DEPT-Spektrum erkennt man Signale von drei quartären Kohlenstoffen, zehn Methinsignale, sieben Methylensignale, drei Methoxysignale und ein Methylsignal. Es fällt auf, daß nicht, wie bei den bisher besprochenen Norditerpen-Alkaloiden vom Lycoctonin-Typ, vier, sondern nur drei quartäre Kohlenstoffe vorhanden sind (Abb. 33). Zwei der drei Signale lassen sich aufgrund ihrer typischen chemischen Verschiebungen den Kohlenstoffen an Position 4 ($\delta_{\text{C}} = 38.1$ ppm) und 11 ($\delta_{\text{C}} = 49.4$ ppm) zuordnen. Im tiefen Feld, wo sich sonst üblicherweise die Signale der sauerstoffs substituierten Kohlenstoffe C-7 und C-8 befinden, liegt bei **16** nur ein quartäres Signal bei $\delta_{\text{C}} = 74.2$ ppm. Daher kann man vermuten, daß es sich bei **16** um ein Norditerpen-Alkaloid vom Aconitin-Typ handelt.

Durch Vergleich der ^{13}C -NMR-Daten mit den bereits oben beschriebenen Alkaloiden und mit Literaturwerten^{36, 40} und unter Einbeziehung der Kopplungen im HH-COSY- und der Fernkopplungen im HMBC-Spektrum wie bei Methyllycaconitin (**1**) beschrieben, kann man die Signale der Norditerpen-Alkaloidstruktur zuordnen. Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß C-7 bei einem Alkaloid vom Aconitin-Typ als weit hochfeldverschobenes Methinsignal vorliegen muß, kann man das Signal bei $\delta_{\text{C}} = 52.1$ ppm als C-7 identifizieren.

Außerdem koppelt dieser Kohlenstoff im HMBC-Spektrum mit H-6, H-5, H-9, H-15a und H-15b. H-6 konnte mit Hilfe des HMQC-Spektrums als das Signal bei $\delta_{\text{H}} = 4.17$ ppm identifiziert werden. Die im HH-COSY-Spektrum auftretenden Kopplungen mit H-5 ($\delta_{\text{H}} = 2.18$ ppm, m, 1 H) und H-7 ($\delta_{\text{H}} = 1.99$ ppm, s, 1 H) erklären, warum H-6 diesmal nicht als Singulett auftritt.

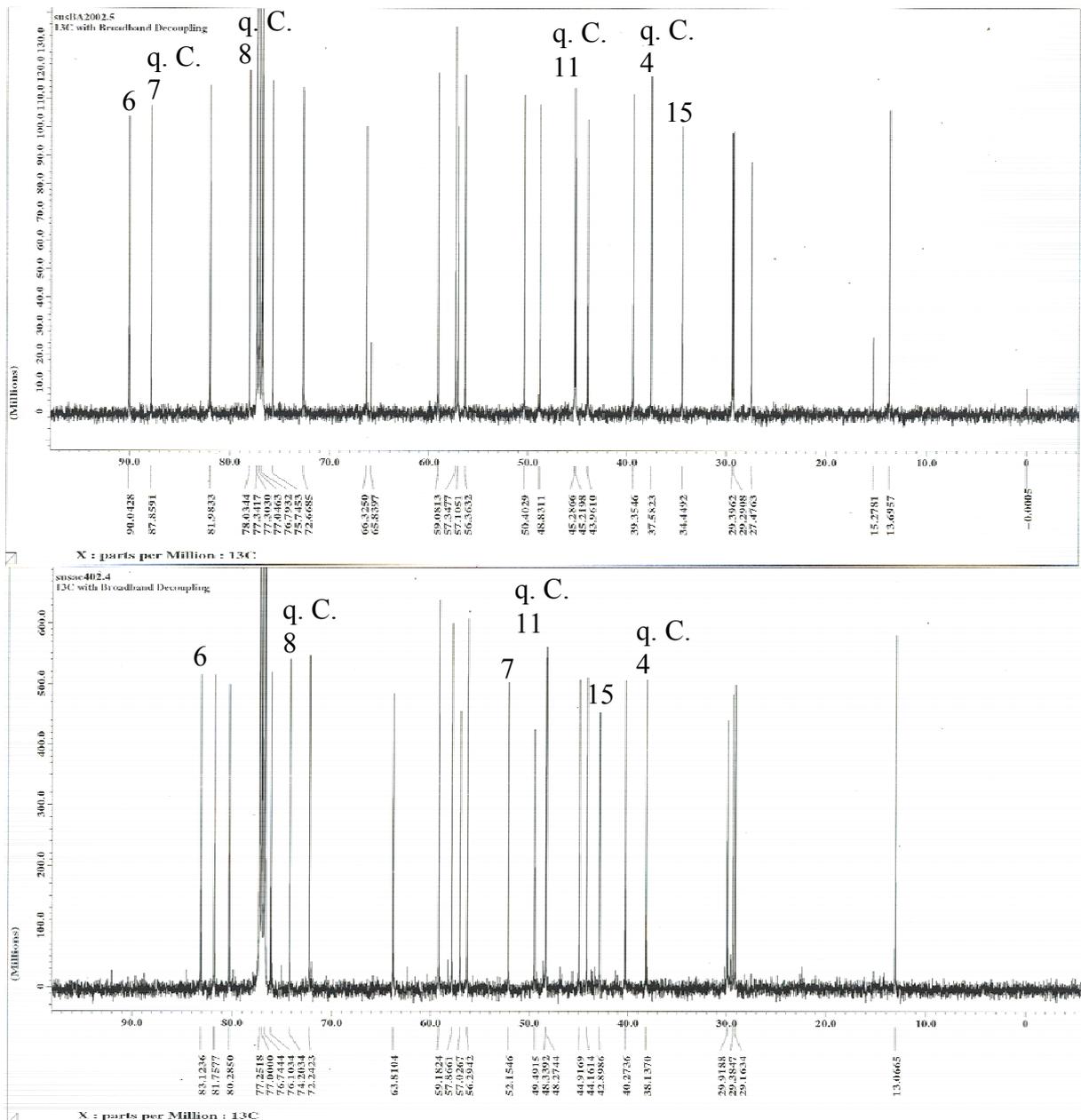


Abb. 33: Vergleich der ^{13}C -NMR-Spektren von **11** (oben) und **16** (unten); q. C. = Signal eines quartären Kohlenstoffs

Da C-7 nicht mit Sauerstoff substituiert ist, zeigen auch die in der Nähe liegenden Kohlenstoffe andere chemische Verschiebungen als bei einem vergleichbaren Alkaloid vom Lycoctonin-Typ. Im Vergleich zu den Werten bei Delcosin (**11**), das sich nur durch die Hydroxyfunktion an Position 7 von **16** unterscheidet, sind C-6 und C-8 um 6.9 bzw. 3.8 ppm hochfeldverschoben, C-15 ist um 8.3 ppm tieffeldverschoben.

Die Lage der drei Methoxygruppen kann man auf Basis der Fernkopplungen von H-6 mit C-6-OCH₃ ($\delta_C = 57.8$ ppm), von H-16 ($\delta_H = 3.37$ ppm, dd, $J = 9.1$ Hz, $J = 5.8$ Hz, 1 H) mit C-16-OCH₃ ($\delta_C = 56.2$ ppm) und von H-18a ($\delta_H = 3.26$ ppm, d, $J = 8.2$, 1 H) und H-18b ($\delta_H = 3.64$ ppm, d, $J = 8.2$ Hz, 1 H) mit C-18-OCH₃ ($\delta_C = 59.1$ ppm) im HMBC-Spektrum eindeutig bestimmen. Die anderen tieffeldverschobenen Kohlenstoffe C-1 ($\delta_C = 72.2$ ppm), C-8 ($\delta_C = 74.2$ ppm) und C-14 ($\delta_C = 76.1$ ppm) müssen unter Berücksichtigung der Summenformel und wegen ihrer charakteristischen chemischen Verschiebungen³⁶ Hydroxyfunktionen tragen. Die Stereochemie entspricht dem typischen Muster der Aconitin-Typ-Alkaloide. Im Unterschied zu den Alkaloiden vom Lycoctonin-Typ ist hier die Methoxyfunktion an Position 6 α -ständig, was man gut an der ausgeprägten Kopplung zwischen H-5 und H-6 im HH-COSY-Spektrum erkennen kann.

Somit wurde **16** als das Alkaloid Neolin identifiziert. Dieses wurde erstmals in den 30er Jahren des letzten Jahrhunderts aus der in den USA käuflich erworbenen Wurzeldroge von *Aconitum napellus* isoliert⁶⁵, die Struktur konnte jedoch erst 1960 aufgeklärt werden.⁶⁶

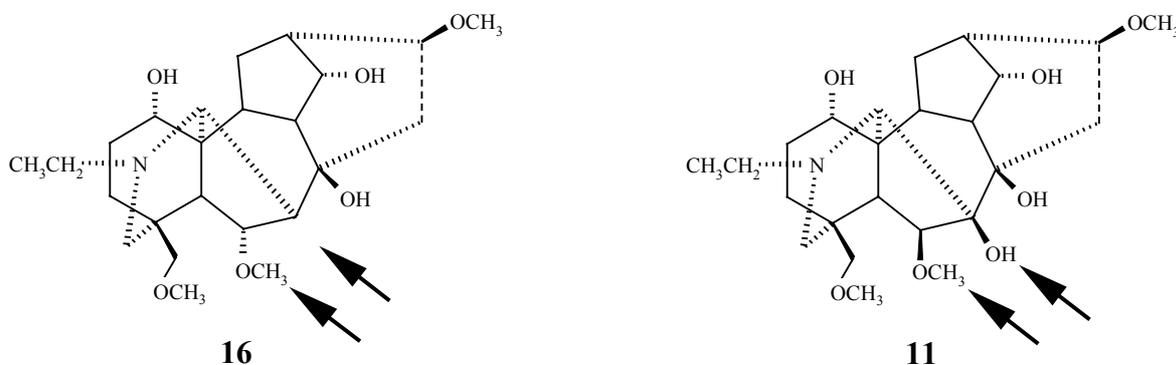


Abb. 34: Strukturen von Neolin (**16**) und Delcosin (**11**) im Vergleich

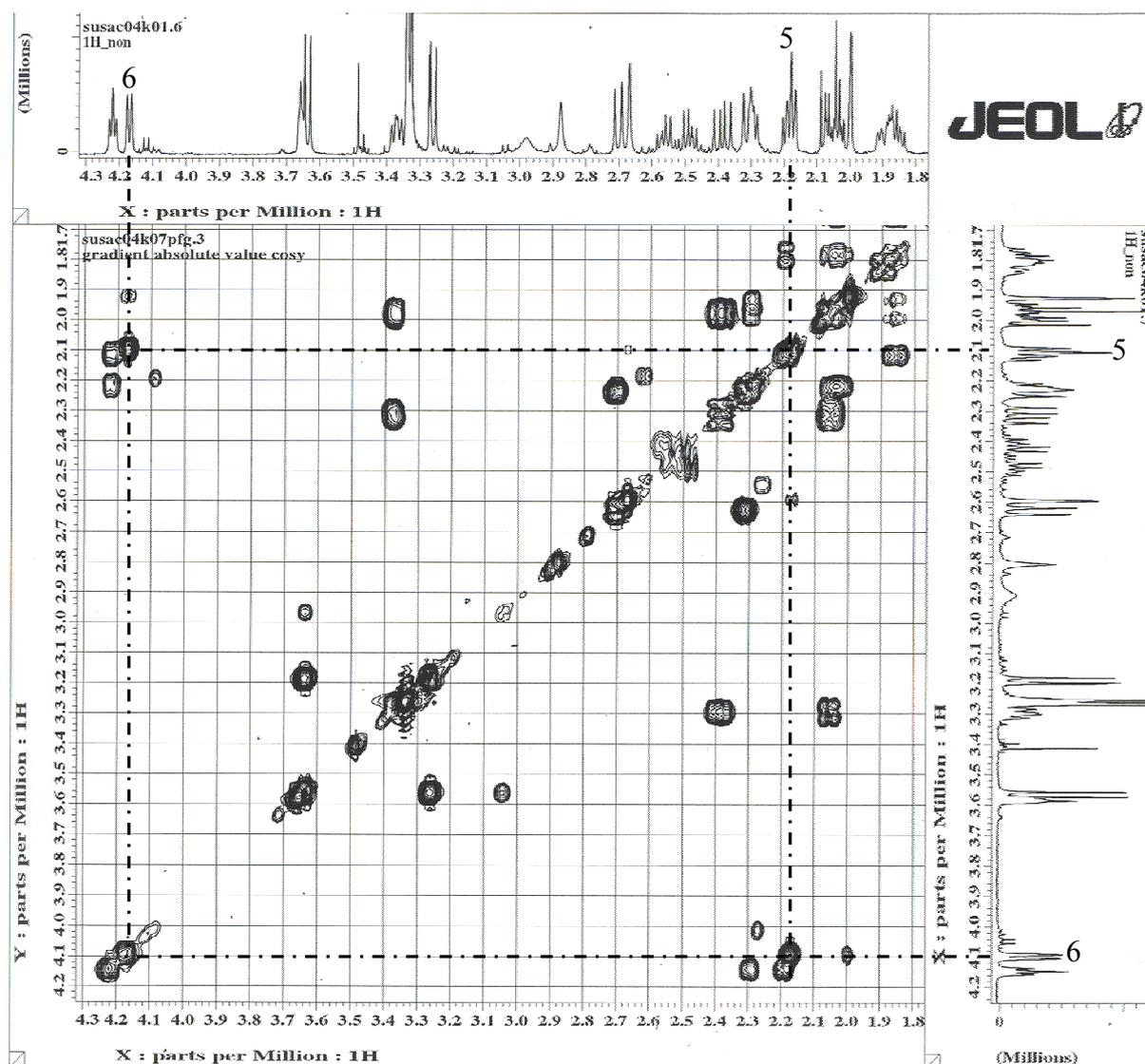


Abb. 35: Ausschnitt aus dem HH-COSY-Spektrum von 16

Delstaphisagnin (17)

Substanz 17 (Schmelzpunkt 183 °C; Lit.⁶⁷: 200 °C) hat eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +35.2^\circ$ ($c = 0.11$; CHCl_3 ; Lit.⁶⁸: $[\alpha]_D^{25} = +20^\circ$, $c = 0.85$, EtOH). Das IR-Spektrum zeigt Absorptionsbanden bei $\tilde{\nu} = 3426$ (OH), 2933, 2820 (CH), 1740 (C=O), 1242 und 1108 (CO) cm^{-1} . Im FAB-Massenspektrum erkennt man den $[\text{M}^+ + 1]$ -Peak bei $m/z = 480$, die Summenformel $\text{C}_{26}\text{H}_{41}\text{NO}_7$ konnte mit Hilfe der hochauflösenden Massenspektrometrie ermittelt werden ($m/z = 480.2971$ $[\text{M}^+ + 1]$, berechnet für $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{NO}_7$: 480.2961).

Im ^1H -NMR-Spektrum erkennt man ein Signalmuster, das dem von **16** sehr ähnelt. Neben den für ein Norditerpen-Alkaloid mit *N*-Ethylgruppe charakteristischen Signalen ($\delta_{\text{H}} = 4.85$ ppm, t, $J = 4.8$ Hz, 1 H, H-14; $\delta_{\text{H}} = 2.55$ ppm, m, 1 H, H-20b; $\delta_{\text{H}} = 2.49$ ppm, m, 1 H, H-20a; $\delta_{\text{H}} = 1.13$ ppm, t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, H-21), sieht man H-6 ($\delta_{\text{H}} = 4.10$ ppm, d, $J = 6.5$ Hz, 1 H) wie bei **16** als Dublett, was vermuten läßt, daß es sich wieder um ein Alkaloid vom Aconitin-Typ handelt. Im Vergleich mit **16** fällt außerdem auf, daß H-14 tieffeldverschoben ist, und zusätzlich ein Acetoxypotonensignal ($\delta_{\text{H}} = 2.06$ ppm, s, 3 H) vorhanden ist. Daneben erkennt man wie bei **16** drei Methoxygruppen ($\delta_{\text{H}} = 3.34, 3.33$ und 3.26 ppm, jeweils s, 3 H).

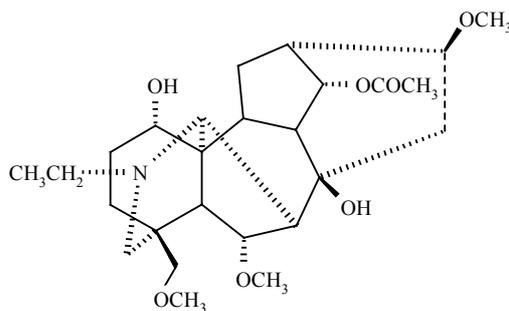
Ebenso weisen das ^{13}C -NMR- und DEPT-Spektrum einen sehr ähnlichen Signalsatz wie bei **16** auf, so daß durch Vergleich der NMR-Daten eine Zuordnung der entsprechenden Kohlenstoffe möglich ist. Allerdings sind bei **17** entsprechend der Summenformel zwei Kohlenstoffsignale mehr vorhanden, ein quartäres Signal bei $\delta_{\text{C}} = 170.3$ ppm und ein Methylsignal bei $\delta_{\text{C}} = 21.2$ ppm. Wie schon die Carbonylgruppen-Bande im IR-Spektrum und die Acetoxypotonen angedeutet haben, können diese Signale einer Acetoxypgruppe zugeordnet werden. Es blieb zu klären, an welcher Position diese gebunden ist.

Die Methoxygruppen können wegen der Fernkopplungen im HMBC-Spektrum von H-6 mit C-6-OCH₃ ($\delta_{\text{C}} = 57.9$ ppm), von H-16 ($\delta_{\text{H}} = 3.30$ ppm, m, 1 H) mit C-16-OCH₃ ($\delta_{\text{C}} = 56.0$ ppm) und von H-18a ($\delta_{\text{H}} = 3.24$ ppm, d, $J = 8.3$, 1 H) und H-18b ($\delta_{\text{H}} = 3.62$ ppm, d, $J = 8.3$ Hz, 1 H) mit C-18-OCH₃ ($\delta_{\text{C}} = 59.1$ ppm) zugeordnet werden. Weitere Sauerstoffsubstituierte, weil tieffeldverschobene Kohlenstoffe, sind wie bei **16** C-1 ($\delta_{\text{C}} = 72.0$ ppm), C-8 ($\delta_{\text{C}} = 74.7$ ppm) und C-14 ($\delta_{\text{C}} = 77.1$ ppm). Einer dieser Kohlenstoffe muß also statt einer Hydroxygruppe eine Acetoxypgruppe tragen.

Die ^{13}C -NMR-Daten von **17** stimmen mit denen von **16** sehr gut überein, es fallen lediglich leichte Veränderungen der chemischen Verschiebungen der Kohlenstoffe C-9 ($\delta_{\text{C}} = 46.2$ ppm), C-13 ($\delta_{\text{C}} = 36.6$ ppm) und C-14 um 2.0, 3.6 bzw. 1.0 ppm auf. Daraus folgt, daß C-14 statt einer Hydroxygruppe wie bei **16** eine Acetoxypgruppe trägt, was durch die Fernkopplungen des Carbonylsignals im HMBC-Spektrum mit den Acetoxypotonen bei $\delta_{\text{H}} = 2.06$ ppm (s, 3 H), die zu dem Kohlenstoffsignal bei $\delta_{\text{C}} = 21.2$ ppm gehören, und zu H-14 bestätigt werden konnte.

Somit konnte **17** als das Alkaloid Delstaphisagnin identifiziert werden. **17** wurde erstmals 1980 aus der aus China stammenden Pflanze *Aconitum nagarum* var. *lasiandrum* isoliert.⁶⁹

Die ^{13}C -NMR-Literaturdaten¹⁰¹ stimmen mit den gemessenen Werten überein.



17

Senbusin A (18)

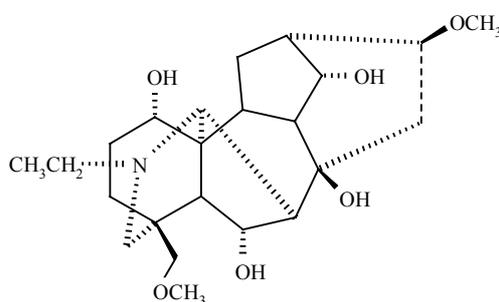
Substanz **18** hat einen Schmelzpunkt von 140 °C und eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +1.0^\circ$ ($c = 0.10$, CHCl_3 ; Lit.⁷⁰: $[\alpha]_D^{14} = +1.3^\circ$, $c = 0.24$, MeOH). Das IR-Spektrum zeigt Absorptionsbanden bei $\tilde{\nu} = 3419$ (OH), 2933, 2873, 2821 (CH), 1458, 1108 (CO) cm^{-1} . Im FAB-Massenspektrum sieht man den $[\text{M}^+ + 1]$ -Peak bei $m/z = 424$, die Summenformel lautet $\text{C}_{23}\text{H}_{37}\text{NO}_6$ ($m/z = 424.2691$ $[\text{M}^+ + 1]$, berechnet für $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{NO}_6$: 424.2699).

Das ^1H -NMR-Spektrum zeigt einen sehr ähnlichen Signalsatz wie bei **16**. Man erkennt die charakteristischen Signale, die auf ein Norditerpen-Alkaloid vom Aconitin-Typ mit *N*-Ethylgruppe hinweisen ($\delta_{\text{H}} = 4.77$ ppm, d, $J = 6.6$ Hz, 1 H, H-6; $\delta_{\text{H}} = 4.20$ ppm, t, $J = 5.0$ Hz, 1 H, H-14; $\delta_{\text{H}} = 2.57$ ppm, dq, $J = 12.4$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1 H, H-20b; $\delta_{\text{H}} = 2.52$ ppm, dq, $J = 12.4$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1 H, H-20a; $\delta_{\text{H}} = 1.14$ ppm, t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, H-21). Im Unterschied zu **16** sind statt drei nur zwei Methoxygruppen ($\delta_{\text{H}} = 3.34$, 3.33 ppm, jeweils s, 3 H) zu sehen, und das Signal von H-6 ist tieffeldverschoben ($\delta_{\text{H}} = 4.77$ ppm; zum Vergleich H-6 (**16**): $\delta_{\text{H}} = 4.17$ ppm).

Die Signale im ^{13}C -NMR- und DEPT-Spektrum lassen sich ebenfalls gut mit denen von **16** vergleichen. Dabei sieht man, wie schon zu erwarten war, nur zwei Methoxysignale. Diese lassen sich wegen der Fernkopplungen im HMBC-Spektrum von H-16 ($\delta_{\text{H}} = 3.34$ ppm, m, 1 H) mit C-16-OCH₃ ($\delta_{\text{C}} = 56.3$ ppm) und von H-18a ($\delta_{\text{H}} = 3.35$ ppm, d, $J = 8.2$ Hz, 1 H) und H-18b ($\delta_{\text{H}} = 3.72$ ppm, d, $J = 8.2$ Hz, 1 H) mit C-18-OCH₃ ($\delta_{\text{C}} = 59.2$ ppm) als Substituenten an C-16 und C-18 lokalisieren. Die übrigen Signale lassen sich durch Vergleich mit dem Spektrum von **16** dem Aconitin-Typ-Grundgerüst zuordnen. Im Bereich von $\delta_{\text{C}} = 81.8 - 72.2$ ppm, der für aliphatische Sauerstofffunktionen tragende Kohlenstoffe typisch ist, erkennt man wie bei **16** sechs Signale. Im Hinblick auf die Summenformel und das Vorhandensein von zwei Methoxysubstituenten, müssen bei **18** vier Hydroxy-substituierte Kohlenstoffe

vorliegen. Dabei handelt es sich wegen ihrer chemischen Verschiebungen um C-1 ($\delta_C = 72.2$ ppm), C-6 ($\delta_C = 73.1$ ppm), C-8 ($\delta_C = 75.2$ ppm) und C-14 ($\delta_C = 75.9$ ppm). Im Vergleich zu **16** ist also nur die Methoxyfunktion an Position 6 durch eine Hydroxyfunktion ersetzt. Daher ist das Signal von C-6 um 10.0 ppm hochfeldverschoben und die der benachbarten Kohlenstoffe C-5, C-7 und C-8 um 0.8, 3.2 bzw. 1.0 ppm tieffeldverschoben.

Somit konnte **18** als das Alkaloid Senbusin A identifiziert werden, über dessen Isolierung aus der chinesischen Pflanze *Aconitum carmichaeli* erstmals 1982 berichtet wurde.⁷¹ Die Literaturwerte⁷² stimmen mit den Meßdaten überein.

**18**

3.2.2.2 Diterpen-Alkaloide

Diterpen-Alkaloide wurden im Rahmen dieser Arbeit nur aus *Aconitum chasmanthum* isoliert, nicht aus den drei *Delphinium*-Arten. Prinzipiell können Diterpen-Alkaloide auch in *Delphinium*-Arten vorkommen, sie treten aber bevorzugt in Pflanzen der Gattung *Aconitum* auf.

Die Strukturaufklärung der Diterpen-Alkaloide gestaltet sich etwas schwieriger als die der Norditerpen-Alkaloide, was daran liegt, daß hier eine größere Variationsbreite der Grundstruktur auftritt, wie bereits in Kapitel 2 erwähnt.⁷³ Daher ist es auch kaum möglich, allgemeine Regeln für das Substitutionsmuster aufzustellen.

Im Allgemeinen tragen Diterpen-Alkaloide weniger Sauerstoffsubstituenten als dies bei den Norditerpen-Alkaloiden der Fall ist. Meist sind nur drei bis vier Kohlenstoffatome in einem Molekül mit Sauerstoff substituiert. Die Sauerstoffatome können an den Positionen C-1, C-2, C-3, C-6, C-7, C-9, C-11, C-13, C-14, C-15, C-17 oder C-19 gebunden sein.⁷³ Meist treten sie

in Form von Hydroxygruppen auf, gelegentlich als Acetoxygruppen, aber fast nie als Methoxygruppen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde jeweils ein Alkaloid des Subtyps A4 (Gomandonin **20**) und B3 (12-Epi-Napellin **19**) isoliert.

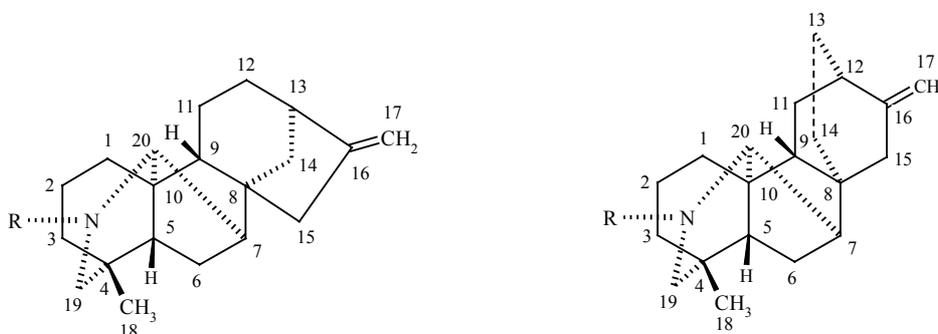


Abb. 36: Subtypen B3 (links; Kauran-Typ) und A4 (rechts; Atisan-Typ) der Diterpen-Alkaloide

12-Epi-Napellin (**19**)

Substanz **19** ist ein weißer Feststoff mit Schmelzpunkt 143 °C (Lit.: 118 - 121 °C⁷⁴, 163 - 164 °C⁷⁵) und einer spezifischen Drehung von $[\alpha]_D^{20} = -40.5^\circ$ ($c = 0.11$, CHCl_3 ; Lit.⁷⁶: $[\alpha]_D = -40.2^\circ$, CHCl_3). Das IR-Spektrum weist Absorptionsbanden bei $\tilde{\nu} = 3424$ (OH), 2929, 2875 (CH), 1653 (C=C), 1457, 1374 und 1032 (CO) cm^{-1} auf. Im FAB-Massenspektrum erkennt man den $[\text{M}^+ + 1]$ -Peak bei $m/z = 360$, die Summenformel $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{NO}_3$ konnte mit Hilfe der hochauflösenden Massenspektrometrie ermittelt werden ($m/z = 360.2565$ $[\text{M}^+ + 1]$, berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{NO}_3$: 360.2539).

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum erkennt man zwar die Signale für eine *N*-Ethylgruppe ($\delta_{\text{H}} = 2.54$ ppm, m, 1 H, H-21b; $\delta_{\text{H}} = 2.42$ ppm, m, 2 H, H-21a; $\delta_{\text{H}} = 1.05$ ppm, t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, H-22), aber ansonsten finden sich keine Signale, die für das Norditerpen-Grundgerüst charakteristisch sind, wie z. B. H-6 (Singulett bei ca. 3.80 – 4.20 ppm) und H-14 (Triplet bei ca. 3.50 - 4.00 ppm). Dagegen fallen zwei Singuletts bei $\delta_{\text{H}} = 5.32$ ppm (1 H) und $\delta_{\text{H}} = 5.12$ ppm (1 H) auf. Bei $\delta_{\text{H}} = 0.77$ ppm (s, 3 H) sieht man ein Methylprotonensignal, Signale von Methoxyprotonen sind nicht vorhanden.

Im $^{13}\text{C-NMR}$ - und DEPT-Spektrum sind Signale von vier quartären Kohlenstoffen, sieben Methinsignale, acht Methylensignale und zwei Methylensignale zu sehen. Zunächst sieht es also

bei Vergleich mit der Summenformel so aus, als ob ein Signal fehlen würde. Man kann aber im HMQC-Spektrum erkennen, daß die Signale von zwei Methinkohlenstoffen zu dem Signal bei $\delta_C = 43.9$ ppm zusammenfallen.

Im tiefen Feld sieht man das Signal eines quartären Kohlenstoffs bei $\delta_C = 155.2$ ppm und das eines Methylenkohlenstoffs bei $\delta_C = 111.4$ ppm, an den die beiden Protonen bei $\delta_H = 5.32$ und 5.12 ppm gebunden sind. Die Tieffeldverschiebung der beiden Kohlenstoffe läßt sich dadurch erklären, daß sie über eine Doppelbindung miteinander verbunden sind. Das erklärt auch, warum die Methylenprotonen keine Nachbarprotonen besitzen, mit denen sie über drei Bindungen koppeln könnten. Außerdem sieht man im HMBC-Spektrum eine Fernkopplung der beiden Methylenprotonen mit dem bereits erwähnten quartären Kohlenstoff (Abb. 37). Darüber hinaus zeigen diese Protonen Fernkopplungen mit den Methinkohlenstoffen bei $\delta_C = 77.0$ und 43.9 ppm. Der quartäre Kohlenstoff weist eine Fernkopplung mit einem Proton bei $\delta_H = 1.76$ ppm (d, $J = 12.1$ Hz) auf, das dem Methylenkohlenstoff bei $\delta_C = 32.6$ ppm (zweites Proton bei $\delta_H = 1.09$ ppm, dd, $J = 12.1$ Hz, $J = 4.1$ Hz) zuzuordnen ist. Da diese beiden Protonen im HH-COSY-Spektrum mit einem Proton bei $\delta_H = 2.80$ ppm (dd, $J = 8.7$ Hz, $J = 3.8$ Hz) koppeln, das zu einem der Methinkohlenstoffe bei $\delta_C = 43.9$ ppm gehört, war folgende Teilstruktur zu identifizieren:

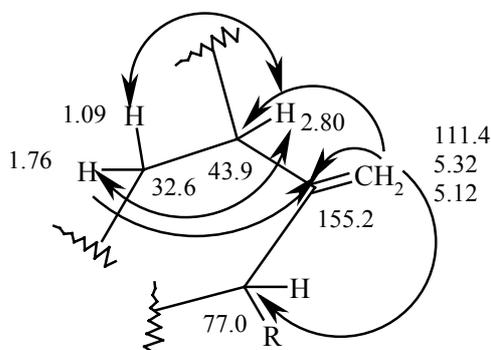


Abb. 37: Fernkopplungen (HMBC; einfache Pfeile) und Kopplungen (HH-COSY; Doppelpfeile) in der Teilstruktur von **19**

Weiterhin finden sich Kopplungen im HH-COSY-Spektrum zwischen dem Proton bei $\delta_H = 2.80$ ppm und einem Proton bei $\delta_H = 4.18$ ppm (dd, $J = 8.7$ Hz, $J = 4.8$ Hz; $\delta_C = 67.0$ ppm), das wiederum mit einem Methylenproton bei $\delta_H = 2.11$ ppm (m; $\delta_C = 29.5$ ppm, zweites Proton: $\delta_H = 1.65$ ppm) koppelt.

Der Methinkohlenstoff bei $\delta_C = 77.0$ ppm zeigt eine Fernkopplung mit dem Proton bei $\delta_H = 1.76$ ppm, während sein zugehöriges Proton bei $\delta_H = 4.21$ ppm (br. s) mit einem Methinkohlenstoff bei $\delta_C = 36.9$ ppm koppelt (Abb. 38). Dessen zugehöriges Proton ($\delta_H = 1.84$, m) koppelt mit den bereits erwähnten Methylenprotonen bei $\delta_H = 2.11$ und 1.65 ppm. Da das Proton bei $\delta_H = 4.21$ ppm weder eine Kopplung über drei Bindungen mit dem Proton bei $\delta_H = 1.84$ ppm noch mit dem bei $\delta_H = 1.76$ ppm zeigt, ist anzunehmen, daß sich zwischen dem Kohlenstoff bei $\delta_C = 77.0$ und den Kohlenstoffen bei $\delta_C = 36.9$ und 32.6 ppm noch ein quartärer Kohlenstoff befindet. Daher kann man folgende Teilstruktur ableiten:

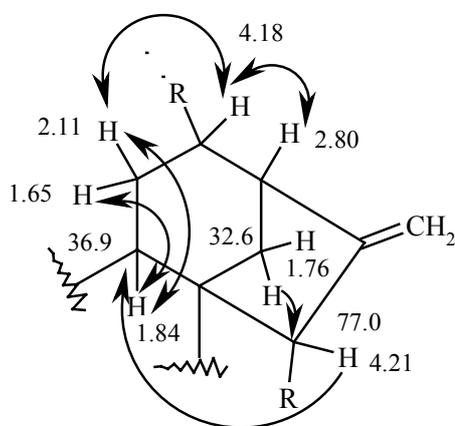


Abb. 38: Fernkopplungen (HMBC; einfache Pfeile) und Kopplungen (HH-COSY; Doppelpfeile) in Ring C und D von **19**

Damit liegt offensichtlich die Teilstruktur eines Diterpen-Alkaloids vom Kauran-Typ vor. Es blieb zu klären, ob der Subtyp B2 oder B3 vorliegt. Subtyp B1 kommt nicht in Frage, da C-14 als Methylenkohlenstoff vorliegt. B2 und B3 unterscheiden sich dadurch, daß bei B3 eine Verknüpfung zwischen C-20 und C-7 besteht, während bei B2 diese beiden Kohlenstoffe keine direkte Verbindung haben (Abb. 39). Das bedeutet, daß bei Subtyp B3 C-20 und C-7 als Methinsignale auftreten, während sie beim Subtyp B2 als Methylensignale vorliegen.

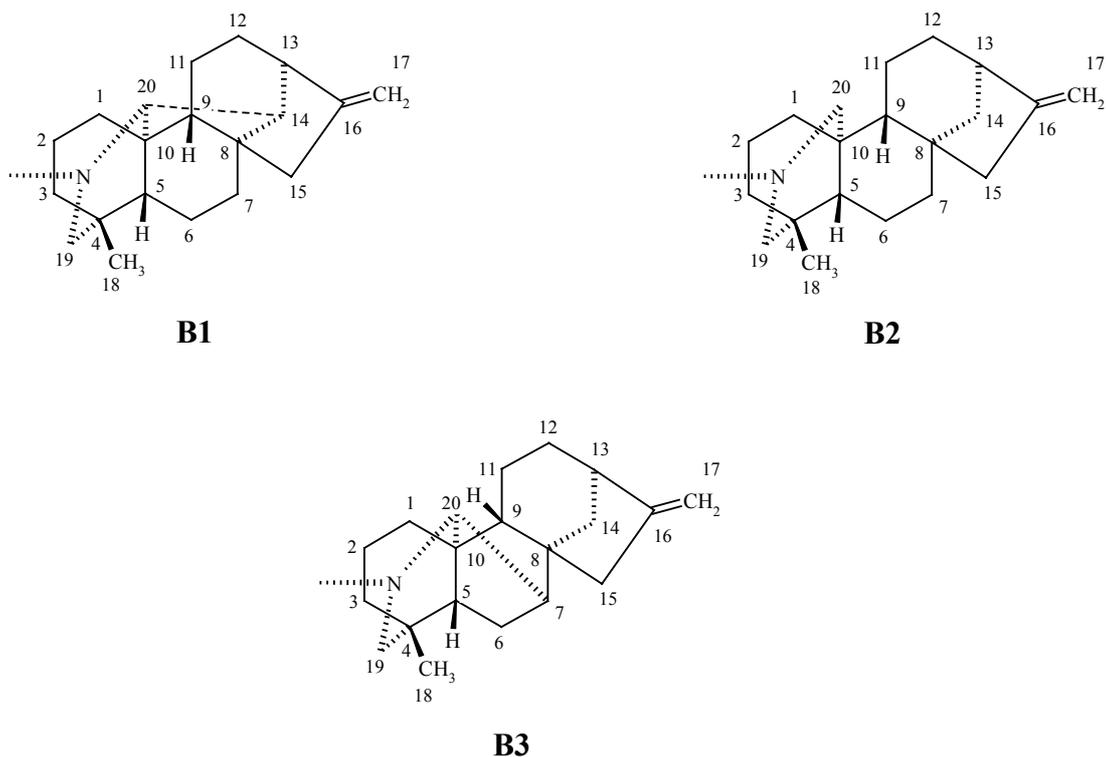


Abb. 39: Die drei Subtypen B1, B2 und B3 der Diterpen-Alkaloide vom Kauran-Typ

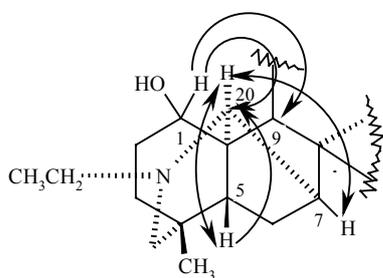
Bei der weiteren Diskussion wird die Nummerierung der Diterpen-Alkaloide verwendet.

Im Molekül sind laut Summenformel drei Sauerstoffatome vorhanden, die als Hydroxysubstituenten vorliegen, da keine Methoxysignale im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zu erkennen sind. Die Tieffeldverschiebung der Methinkohlenstoffe C-12 und C-15 läßt sich dadurch erklären, daß sie jeweils mit einer Hydroxyfunktion substituiert sind. Daraus folgt, daß im übrigen Molekülteil noch ein weiterer Kohlenstoff eine Hydroxyfunktion trägt.

Folgende Signale mußten nun noch zugeordnet werden: zwei quartäre Kohlenstoffe, vier Methinkohlenstoffe, fünf Methylenkohlenstoffe und zwei Methylkohlenstoffe. Man kann annehmen, daß es sich bei den beiden quartären Kohlenstoffen um C-4 ($\delta_{\text{C}} = 33.7$ ppm) und C-10 ($\delta_{\text{C}} = 52.5$ ppm) handelt. Anhand der Fernkopplungen der Methylprotonen bei $\delta_{\text{H}} = 0.77$ ppm (H-18) mit C-4, kann man erkennen, daß eine der Methylgruppen (C-18: $\delta_{\text{C}} = 26.3$ ppm) daran gebunden ist. Die andere Methyl- und eine Methylengruppe sind wegen der Verknüpfung der entsprechenden ^{13}C -Signale (C-21: $\delta_{\text{C}} = 50.8$ ppm; C-22: $\delta_{\text{C}} = 13.5$ ppm) mit den bereits erwähnten charakteristischen Signalen im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der *N*-Ethylgruppe zuzuschreiben.

H-18 weist außer mit C-4 noch Fernkopplungen mit dem Methylensignal bei $\delta_{\text{C}} = 36.1$ ppm (C-3), mit dem Methylensignal bei $\delta_{\text{C}} = 58.2$ ppm (C-19) und mit dem Methinsignal bei $\delta_{\text{C}} =$

48.6 ppm (C-5) auf. C-19 lässt sich identifizieren aufgrund der Tieffeldverschiebung durch den benachbarten Stickstoff und der isolierten Lage der Protonen, die daher nur untereinander koppeln ($\delta_{\text{H}} = 2.43$ ppm, d, $J = 10.8$ Hz, 1 H, H-19b; $\delta_{\text{H}} = 2.23$, d, $J = 10.8$ Hz, 1 H, H-19a). Die Methylenprotonen von C-3 ($\delta_{\text{H}} = 1.65$ ppm, m, 1 H, H-3b; $\delta_{\text{H}} = 1.37$ ppm, m, 1 H, H-3a) koppeln mit denen einer anderen Methylengruppe, nämlich C-2 ($\delta_{\text{C}} = 31.7$ ppm; $\delta_{\text{H}} = 1.98$ ppm, m, 1 H, H-2b; $\delta_{\text{H}} = 1.84$ ppm, m, 1 H, H-2a). H-2a und H-2b koppeln mit einem Proton bei $\delta_{\text{H}} = 3.92$ ppm (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 6.1$ Hz, 1 H, H-1), das zu dem Methinkohlenstoff bei $\delta_{\text{C}} = 69.9$ ppm (C-1) gehört. Dessen Tieffeldverschiebung kann man durch die Substitution mit der verbliebenen Hydroxygruppe erklären. H-1 weist eine Fernkopplung mit C-9 und mit dem Methinkohlenstoff bei $\delta_{\text{C}} = 66.2$ ppm auf (Abb. 40). Dieser zeigt eine Fernkopplung mit H-5 ($\delta_{\text{H}} = 1.37$ ppm, m, 1 H) und das zugehörige Proton ($\delta_{\text{H}} = 3.30$ ppm, br. s, 1 H, H-20) weist im HH-COSY-Spektrum Kopplungen mit H-7 ($\delta_{\text{H}} = 2.07$ ppm, br. s, 1 H) und H-5 auf, wobei die Kopplung mit letzterem Proton für den Kohlenstoff an Position 20 charakteristisch ist (sog. W-Stellung). Sie tritt bei allen bisher diskutierten Alkaloiden auf. Die Kopplung zwischen H-20 und H-7 bestätigt die Verknüpfung von C-20 und C-7. Es handelt sich also bei **19** um ein Diterpen-Alkaloid vom Typ B3.



1: $\delta_{\text{C}} = 69.9$ ppm; $\delta_{\text{H}} = 3.92$ ppm

5: $\delta_{\text{C}} = 48.6$ ppm; $\delta_{\text{H}} = 1.37$ ppm

7: $\delta_{\text{C}} = 43.9$ ppm; $\delta_{\text{H}} = 2.07$ ppm

9: $\delta_{\text{C}} = 36.9$ ppm; $\delta_{\text{H}} = 1.84$ ppm

20: $\delta_{\text{C}} = 66.2$ ppm; $\delta_{\text{H}} = 3.30$ ppm

Abb. 40: Fernkopplungen (HMBC; einfache Pfeile) und Kopplungen (HH-COSY; Doppelpfeile) in der Teilstruktur von **19**

Die Zuordnungen im Ring B kann man abschließen durch die Kopplungen zwischen H-7 und H-6a ($\delta_{\text{H}} = 1.37$ ppm, m), zwischen H-5 und H-6a im HH-COSY-Spektrum und die Fernkopplungen von C-5 ($\delta_{\text{C}} = 48.6$ ppm) mit H-6a und H-7, von C-7 ($\delta_{\text{C}} = 43.9$ ppm) mit H-6a und von C-8 mit H-6a im HMBC-Spektrum.

Somit handelt es sich um ein Alkaloid mit der Struktur des bekannten Alkaloids Napellin, wobei allerdings die Stereochemie noch zu klären ist. Die Stereochemie von Napellin kann man von Songorin ableiten, das sich von Napellin dadurch unterscheidet, daß es an Position 12 eine Carbonylfunktion trägt (Abb. 41). Die Stereochemie von Songorin wurde aufgeklärt durch eine Röntgenstrukturanalyse des daraus hergestellten *Z*-Oxims.⁷⁷ Durch Reduktion von Songorin mit Lithiumaluminiumhydrid entstehen die beiden Stereoisomere Napellin, bei dem die Hydroxyfunktion an Position 12 α -ständig ist, und 12-Epi-Napellin, das eine β -ständige Hydroxyfunktion besitzt.⁷⁶

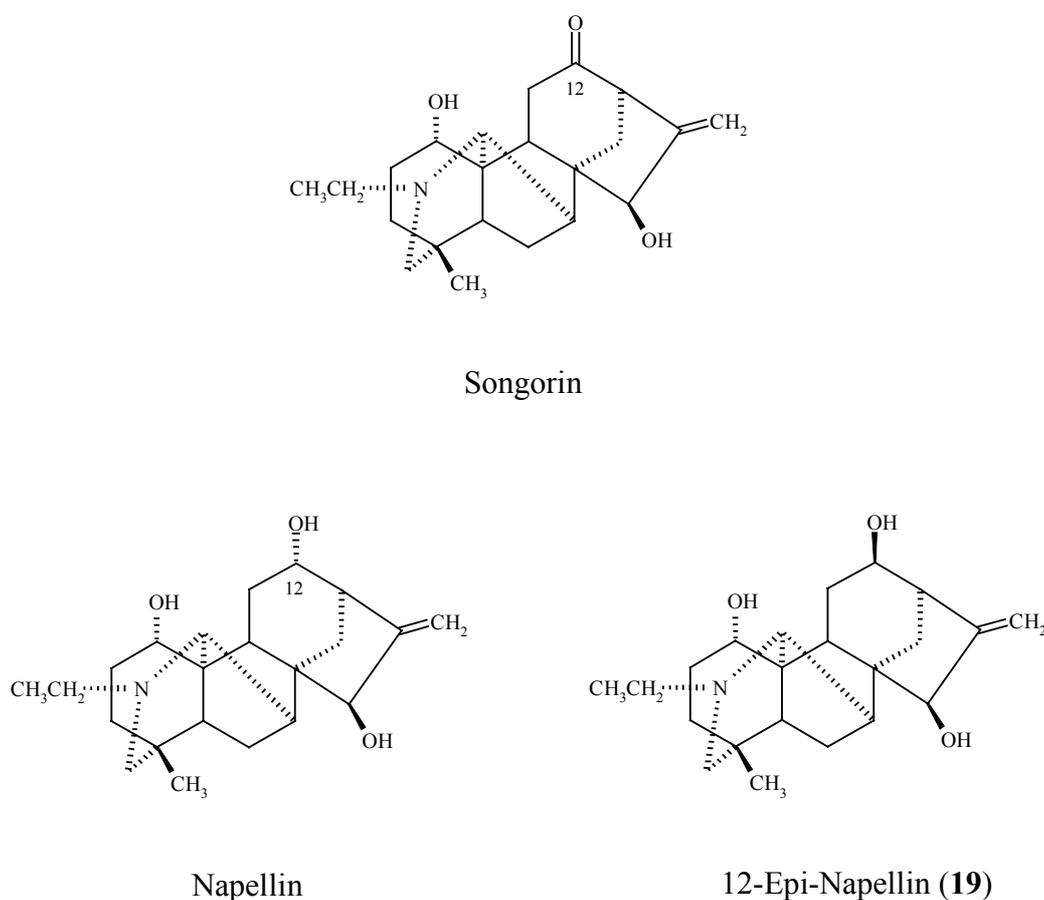


Abb. 41: Songorin, Napellin und 12-Epi-Napellin im Vergleich

Da bei **19** das Signal von H-13 ($\delta_{\text{H}} = 2.80$ ppm, dd, $J = 8.7$ Hz, $J = 4.1$ Hz) als Doppeldublett auftritt, koppelt es sowohl mit einem der Protonen an Position 14 ($\delta_{\text{H}} = 1.09$ ppm, dd, $J = 12.1$ Hz, $J = 4.1$ Hz) als auch mit H-12 ($\delta_{\text{H}} = 4.18$ ppm, dd, $J = 8.7$ Hz, $J = 4.8$ Hz). Mit Hilfe eines Molekülmodells kann man erkennen, daß diese Kopplung nur dann auftritt, wenn H-12 α -

ständig, und folglich die Hydroxyfunktion β -ständig ist. Das ist darauf zurückzuführen, daß Ring C in Boot-Konformation vorliegt.⁷⁶

Somit konnte die Struktur von 12-Epi-Napellin für **19** bestätigt werden, eine Übereinstimmung der NMR-Daten mit den Literaturwerten⁷⁶ ist gegeben. 12-Epi-Napellin wurde erstmals 1987 aus der chinesischen Pflanze *Aconitum flavum* isoliert.⁷⁶

Gomandonin (**20**)

Substanz **20** hat einen Schmelzpunkt von 255 °C (Lit.⁷⁸: 248 - 249 °C) und eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{20} = -39.2^\circ$ (c = 1.0, MeOH; Lit.¹⁰⁵: $[\alpha]_D^{12} = -42.5^\circ$, c = 1.2, MeOH). Sie weist im IR-Spektrum Absorptionen bei $\tilde{\nu} = 3417$ (OH), 2924, 2887 (CH), 1455, 1114, 1064, 1039, 1007 (CO) cm^{-1} auf. Im FAB-Massenspektrum erkennt man den $[M^+ + 1]$ -Peak bei $m/z = 362$, durch hochauflösende Massenspektrometrie wurde die Summenformel $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{NO}_4$ ermittelt ($m/z = 362.2273$ $[M^+ + 1]$, berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{NO}_4$: 362.2342).

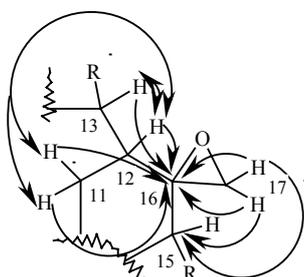
Im ^1H -NMR-Spektrum dieser Substanz sieht man wie bei **19** einen Signalsatz, der nicht dem typischen Muster der Norditerpen-Alkaloide entspricht. Da die Substanz eine positive Reaktion mit Dragendorffs Reagenz zeigt und aus einer Pflanze der Gattung *Aconitum* isoliert wurde, lag die Vermutung nahe, daß es sich bei **20** um ein Diterpen-Alkaloid handeln könnte. Der Stickstoff ist bei **20** nicht mit einer Ethylgruppe substituiert, da das charakteristische Triplettssignal bei ca. $\delta_{\text{H}} = 1.05$ ppm für H-21 (Norditerpen-Alkaloide) bzw. C-22 (Diterpen-Alkaloide) fehlt. Da auch kein Signal einer N-H Resonanz zu sehen ist, dafür aber ein tieffeldverschobenes Methylsignal ($\delta_{\text{H}} = 2.35$ ppm, s, 3 H), kann man vermuten, daß eine Methylgruppe an den Stickstoff gebunden ist. Auffällig ist, daß nicht die bei Diterpen-Alkaloiden normalerweise auftretenden Signale der exocyclischen Methylengruppe (bei ca. $\delta_{\text{H}} = 5.00$ ppm, zwei Singulets) vorhanden sind.

Darüber hinaus sieht man das Methylsignal von H-18 ($\delta_{\text{H}} = 0.72$ ppm, s 3 H). Methoxysignale sind nicht vorhanden, wie bei einem Diterpen-Alkaloid zu erwarten war.

Im ^{13}C -NMR- und DEPT-Spektrum erkennt man entsprechend der Summenformel 21 Signale, darunter vier Signale von quartären Kohlenstoffen, acht Methinsignale, sieben Methylensignale und zwei Methylsignale. Wie schon aus dem ^1H -NMR-Spektrum zu sehen war, sind die Signale der exocyclischen Methylengruppe (üblicherweise bei ca. $\delta_{\text{C}} = 105 - 115$ und $144 - 155$ ppm) nicht vorhanden.

Auffällig ist ein Signal bei $\delta_C = 45.8$ ppm, das für ein Methylenignal relativ weit tieffeldverschoben ist, so daß man eine Bindung an ein Sauerstoffatom annehmen kann. Die zugehörigen Protonen ($\delta_H = 3.06$ ppm, d, $J = 5.6$ Hz, 1 H und $\delta_H = 2.39$ ppm, d, $J = 5.6$ Hz, 1 H) haben anscheinend eine isolierte Lage, da sie nur untereinander koppeln, und zeigen im HMBC-Spektrum eine Fernkopplung mit einem quartären Kohlenstoff bei $\delta_C = 65.6$ ppm (Abb. 42). Daher kann man vermuten, daß statt der exocyclischen Methylengruppe hier ein Epoxid vorliegt, zumal diese Struktur, obwohl sie selten vorkommt, literaturbekannt ist.⁷³

Die Methylenprotonen der Epoxid-Partialstruktur weisen zusätzlich eine Fernkopplung mit einem Methinsignal bei $\delta_C = 77.2$ ppm (C-15) auf. Der quartäre Kohlenstoff (C-16) zeigt mit H-15 ($\delta_H = 4.15$ ppm, s) eine Fernkopplung, ebenso mit jeweils einem Proton bei $\delta_H = 3.92$ ppm (dd, $J = 7.9$ Hz, 4.6 Hz; $\delta_C = 69.9$ ppm), bei $\delta_H = 1.85$ ppm (m; $\delta_C = 25.4$ ppm) und bei $\delta_H = 1.44$ ppm (t, $J = 4.6$ Hz; $\delta_C = 43.6$ ppm). Man kann erkennen, daß der Kohlenstoff bei $\delta_C = 43.6$ ppm zwischen denen bei $\delta_C = 69.9$ ppm und $\delta_C = 25.4$ ppm liegt, da das zugehörige Proton mit denjenigen der beiden anderen Kohlenstoffe koppelt, so daß sich folgende Teilstruktur ergibt:



11: $\delta_C = 25.4$ ppm; $\delta_H = 1.85$ ppm (11a/b)

12: $\delta_C = 43.6$ ppm; $\delta_H = 1.44$ ppm

13: $\delta_C = 69.9$ ppm; $\delta_H = 3.92$ ppm

15: $\delta_C = 77.2$ ppm; $\delta_H = 4.15$ ppm

16: $\delta_C = 65.6$ ppm;

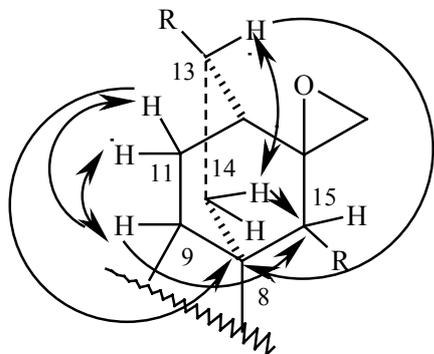
17: $\delta_C = 45.8$ ppm; $\delta_H = 3.06$ und 2.39 ppm

Abb. 42: Fernkopplungen (HMBC; einfache Pfeile) und Kopplungen (HH-COSY; Doppelpfeile) in der Teilstruktur von **20**

Der Methylenkohlenstoff bei $\delta_C = 25.4$ ppm und der Methinkohlenstoff bei $\delta_C = 43.1$ ppm sind - wie an den Kopplungen der zugehörigen Protonen zu sehen ist - direkt benachbart (Abb. 43). Das an letzteren gebundene Proton zeigt eine Fernkopplung mit dem C-16 benachbarten Kohlenstoff bei $\delta_C = 77.2$ ppm. Dieser zeigt wiederum eine Fernkopplung mit einem der Protonen ($\delta_H = 1.44$ ppm, m), die demjenigen bei $\delta_H = 3.92$ ppm benachbart sind.

Fernkopplungen zahlreicher beteiligter Protonen mit einem quartären Kohlenstoff ($\delta_C = 45.1$ ppm) und die Tatsache, daß das Proton bei $\delta_H = 4.15$ ppm als Singulett auftritt, weisen darauf

hin, daß sich dieser zwischen den Kohlenstoffen bei $\delta_C = 39.8$, 43.1 und 77.2 ppm befindet. Somit ist die Struktur eines [2.2.2]-Ringsystems erkennbar, der durch die Ringe C und D eines Diterpen-Alkaloids vom Atisan-Typ gebildet wird.



8:	$\delta_C = 45.1$ ppm
9:	$\delta_C = 43.1$ ppm; $\delta_H = 1.85$ ppm
11:	$\delta_C = 25.4$ ppm; $\delta_H = 1.85$ ppm
13:	$\delta_C = 69.9$ ppm; $\delta_H = 3.92$ ppm
14:	$\delta_C = 39.8$ ppm; $\delta_H = 2.40$ und 1.18 ppm
15:	$\delta_C = 77.2$ ppm; $\delta_H = 4.15$ ppm

Abb. 43: Ausgewählte Fernkopplungen (HMBC; einfache Pfeile) und Kopplungen (HH-COSY; Doppelpfeile) in Ring C und D von **20**

Unklar blieb noch, um welchen Subtyp es sich bei **20** handelt. Die Subtypen A1 und A2 kommen nicht in Frage, da C-14 als Methylenkohlenstoff vorliegt, dagegen sind die Subtypen A3 und A4 denkbar (Abb. 44). Diese unterscheiden sich dadurch, daß bei A4 im Gegensatz zu A3 keine Verknüpfung zwischen C-20 und C-7 besteht.

H-9 zeigt eine Fernkopplung mit einem quartären Kohlenstoff ($\delta_C = 51.9$ ppm), bei dem es sich um C-10 handeln muß und mit einem Methinkohlenstoff bei $\delta_C = 69.6$ ppm. Dieser kann als C-20 identifiziert werden, da er eine Fernkopplung mit den Protonen der Methylgruppe am Stickstoff aufweist. H-20 ($\delta_H = 3.59$ ppm, br. s, 1 H) koppelt über zwei bzw. drei Bindungen mit C-10 ($\delta_C = 51.9$ ppm), C-5 ($\delta_C = 53.3$ ppm) und C-19 ($\delta_C = 60.2$ ppm), außerdem ist im HH-COSY-Spektrum eine Kopplung mit H-7 ($\delta_H = 2.25$ ppm, d, $J = 5.4$ Hz, 1 H) zu sehen, womit bewiesen ist, daß **20** ein Alkaloid vom Subtyp A4 ist.

Die anderen Signale können durch Vergleich mit Literaturwerten⁷³ für Alkaloide dieses Typs und unter Berücksichtigung der HMBC- und HH-COSY-Kopplungen den entsprechenden Kohlenstoffen zugeordnet werden. Die drei Hydroxysubstituenten sind demnach an den Kohlenstoffen an Position 1 ($\delta_C = 71.3$ ppm), 13 ($\delta_C = 69.9$ ppm) und 15 ($\delta_C = 77.2$ ppm) wegen deren Tieffeldverschiebung lokalisiert.

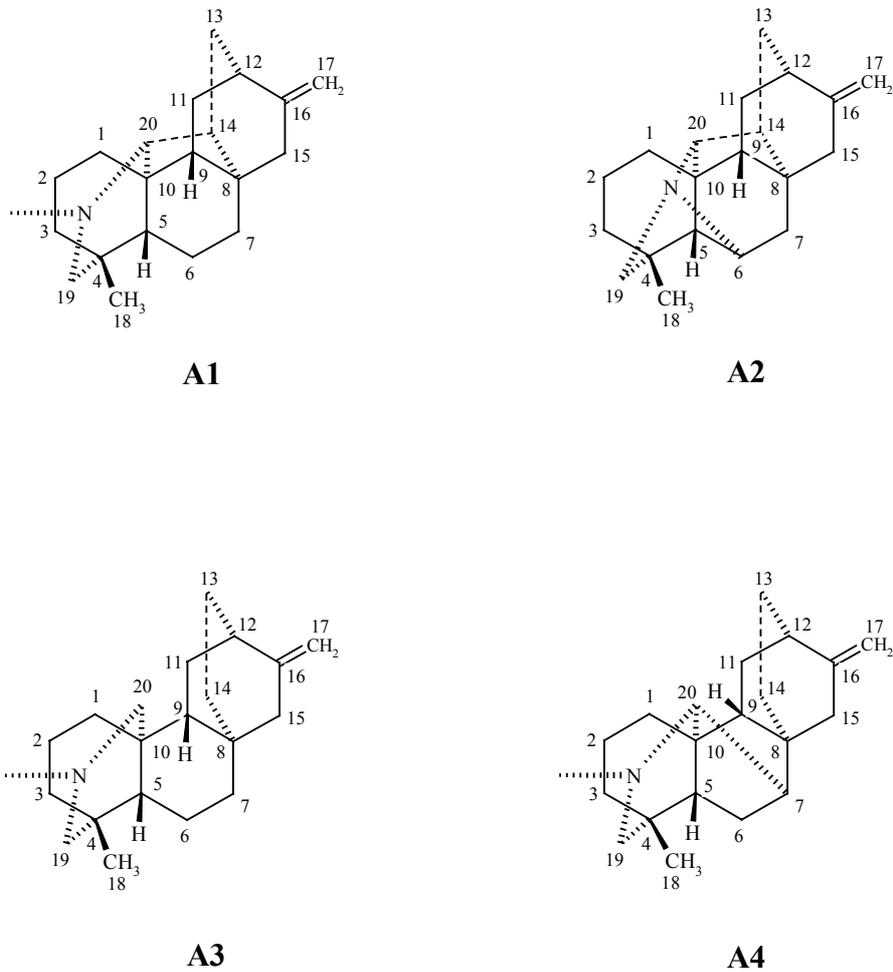
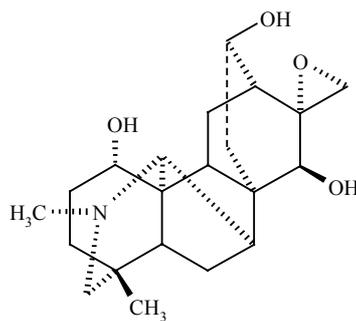


Abb. 44: Die vier Subtypen A1, A2, A3 und A4 der Diterpen-Alkaloide vom Atisan-Typ

Somit konnte **20** als das Alkaloid Gomandonin identifiziert werden. 1987 konnte bei der erstmaligen Isolierung aus der aus Japan stammenden Pflanze *Aconitum subcuneatum* die stereochemische Struktur durch eine Röntgenstrukturanalyse festgelegt werden.⁷⁸ Aufgrund der Übereinstimmung der gemessenen NMR-Daten mit den Literaturwerten⁷⁸ kann diese auch für **20** vorausgesetzt werden.⁷⁸



20

3.2.3 Diskussion

Unter Anwendung eines modifizierten Stas-Otto-Gangs und verschiedener chromatographischer Techniken wie Säulenchromatographie und präparative Dünnschichtchromatographie konnten aus *Aconitum chasmanthum* fünf Alkaloide isoliert und identifiziert werden. Zur Strukturaufklärung wurden vor allem ^1H -, ^{13}C -, DEPT-, HH-COSY-, HMQC- und HMBC-NMR-Spektren, aber auch Massen- und hochaufgelöste Massenspektren sowie UV- und IR-Spektren verwendet.

Bisher sind nur Norditerpen-Alkaloide vom Aconitin-Typ aus in Pakistan oder Indien heimischen *A. chasmanthum*-Spezies beschrieben. Im Rahmen dieser Arbeit wurden neben den drei aus dieser Art zuvor noch nicht isolierten Norditerpen-Alkaloiden vom Aconitin-Typ Delstaphisagnin (**17**), Neolin (**16**) und Senbusin A (**18**) auch zwei Diterpen-Alkaloide gefunden. 12-Epi-Napellin (**19**) gehört dem Subtyp B3 der Kauran-Reihe an, während Gomandonin (**20**) dem Subtyp A4 der Atisan-Reihe zuzuordnen ist. Gomandonin (**20**) ist bereits als Inhaltsstoff der aus Japan stammenden Pflanze *Aconitum subcuneatum* bekannt und 12-Epi-Napellin (**19**) wurde schon in der chinesischen Pflanze *Aconitum flavum* gefunden.

Wie bei den *Delphinium*-Arten ist es auch hier schwierig, allgemeingültige Aussagen bezüglich Unterschieden der Alkaloidzusammensetzung im Vergleich zu in anderen Regionen der Erde heimischen Pflanzenarten zu treffen. Man kann im Gegensatz zu den *Delphinium*-Arten bei *A. chasmanthum* nicht feststellen, daß die isolierten Alkaloide eine Tendenz dazu haben, mehr Sauerstofffunktionen zu enthalten. Allerdings ist ein Vergleich schwierig, da zum einen in dieser Arbeit neben den Norditerpen-Alkaloiden vom Aconitin-Typ Diterpen-Alkaloide isoliert wurden, die generell weniger hoch oxidiert vorliegen als die von früheren Autoren hauptsächlich aus in Pakistan heimischen Pflanzen derselben Art isolierten Norditerpen-Alkaloide. Zum anderen wurden noch nicht genug Alkaloide isoliert, um signifikante Unterschiede ermitteln zu können.

D Radioligandbindungsstudien an nikotinischen Acetylcholinrezeptoren

1 Norditerpen-Alkaloide als Liganden an nikotinischen Acetylcholinrezeptoren

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, haben zahlreiche Alkaloide aus *Delphinium*-Arten eine toxische Wirkung. Deswegen sterben in den USA häufig Rinder nachdem sie zuviel Pflanzen dieser Gattung gefressen haben. Vergiftungserscheinungen äußern sich durch Lähmungen der Skelettmuskulatur, Atemdepression und klonisch-tonische Krämpfe, wobei der Tod schließlich durch Atemlähmung und anschließende Erstickung eintritt.⁵ Diese Wirkung ist auf einen Antagonismus der enthaltenen Norditerpen-Alkaloide an nikotinischen Acetylcholinrezeptoren zurückzuführen. Dabei sind nicht nur die Muskeln betroffen, sondern auch das periphere und zentrale Nervensystem.

Der in der Einleitung erwähnten insektiziden Wirkung der Norditerpen-Alkaloide liegt ebenfalls die Aktivität an nikotinischen Acetylcholinrezeptoren zugrunde. In Testsystemen mit Fliegen- bzw. Mottenpräparationen konnte eine Korrelation dieser Wirkung mit der Affinität der getesteten Substanzen zu nikotinischen Acetylcholinrezeptoren festgestellt werden.⁷⁹

Acetylcholinrezeptoren spielen eine wichtige Rolle bei Lernprozessen, Denk- und Gedächtnisleistungen sowie bei Gefühlen wie Angst und Schmerz. Außerdem kommt ihnen eine große Bedeutung bei der Entstehung neurodegenerativer und psychiatrischer Krankheiten wie Alzheimer, Parkinson und Schizophrenie zu.⁸⁰ Aus diesem Grund stellen sie ein interessantes Target für potentielle neue Arzneistoffe dar. In Studien konnte gezeigt werden, daß die Behandlung mit Nikotin oder nikotinischen Agonisten das Fortschreiten neurodegenerativer Krankheiten verlangsamen und die kognitive Funktion bei Patienten verbessern kann.⁸⁰ Außerdem konnte man bei Demenz-Patienten einen Verlust an nikotinischen Acetylcholinrezeptoren feststellen. Eine noch zu klärende Frage ist, ob dieser Verlust einen Nebeneffekt des neurodegenerativen Prozesses im Gehirn darstellt oder ob er bei der Pathogenese dieser Krankheiten eine aktive Rolle spielt. Auf jeden Fall konnte in Studien gezeigt werden, daß Nikotin und nikotinische Agonisten einen neuroprotektiven Effekt haben, der durch die Aktivierung verschiedener nikotinischer Acetylcholinrezeptorsubtypen u. a. der Subtypen $\alpha 7$ und $\alpha 4\beta 2$ hervorgerufen werden kann.⁸⁰

Der Acetylcholinrezeptor ist weit verbreitet im peripheren und zentralen Nervensystem. Es handelt sich dabei um einen ligandengesteuerten Ionenkanal, der aus fünf transmembranären Protein-Untereinheiten zusammengesetzt ist. Diese formen heteromere oder homomere Komplexe, die aus den bis heute bekannten Untereinheiten $\alpha 1$ - $\alpha 10$, $\beta 1$ - $\beta 4$, δ , γ und ϵ bestehen können. Dadurch entsteht eine Vielzahl von verschiedenen Rezeptorsubtypen, deren Aufklärung noch lange nicht abgeschlossen ist.

Für das in vielen *Delphinium*-Arten als Hauptalkaloid vorkommende Methyllycaconitin (**1**) wurde eine hohe Affinität und Selektivität für den Acetylcholinrezeptorsubtyp $\alpha 7$ festgestellt. Methyllycaconitin wirkt hier als reversibler, kompetitiver Antagonist.⁸¹ Daher eignen sich Methyllycaconitin und auch andere *Delphinium*-Alkaloide sehr gut, um diesen Rezeptorsubtyp von anderen Subtypen zu unterscheiden und Struktur-Wirkungsbeziehungen zu studieren. Da uns durch die Zusammenarbeit mit Frau Dr. D. Gündisch vom Pharmazeutischen Institut der Universität Bonn ein geeignetes Testsystem zur Verfügung stand, wurde die Affinität einiger im Rahmen dieser Arbeit isolierter Alkaloide zu den vier Acetylcholinrezeptorsubtypen $\alpha 4\beta 2^*$, $\alpha 7^*$, $\alpha 3\beta 4^*$ und $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$ bestimmt. Dabei repräsentieren der heteromere Subtyp $\alpha 4\beta 2^*$ und der homomere Subtyp $\alpha 7^*$ neuronale Rezeptoren, während es sich bei dem Subtyp $\alpha 3\beta 4^*$ um einen ganglionären und bei dem Subtyp $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$ um einen muskulären Rezeptor handelt.

Die Bindungsaffinitäten der isolierten Alkaloide wurden mit Hilfe von Radioligandbindungsstudien (Kompetitionsexperimente) bestimmt.

Dazu wurde für die Bestimmung der Affinität zum Rezeptorsubtyp $\alpha 4\beta 2^*$ eine Membranfraktion aus dem Vorderhirn von Ratten verwendet. Als Radioligand diente das hochaffine Alkaloid (\pm) - $[^3\text{H}]$ -Epibatidin. Die Membranfraktion wurde mit verschiedenen Konzentrationen der Testsubstanz inkubiert. Die Inkubation wurde durch Vakuumfiltration beendet und die Radioaktivität bestimmt. Somit erhält man den IC_{50} -Wert, der angibt, bei welcher Konzentration der Testsubstanz 50 % der Rezeptoren besetzt werden. Aus diesem kann man den als Testergebnis angegebenen K_i -Wert mit Hilfe folgender Gleichung berechnen:

$$\text{K}_i = \text{IC}_{50} / (1 + \text{F}/\text{K}_D)$$

F = Konzentration des Radioliganden, in diesem Fall $[^3\text{H}]$ -Epibatidin

K_D = Dissoziationskonstante (K_D wurde über Sättigungs- und Kinetikexperimente bestimmt)

Das bedeutet, je kleiner der K_i -Wert ist, desto höher ist die Affinität der Substanz zum Rezeptor.

Analog wurden die K_i -Werte der Testsubstanzen am Rezeptorsubtyp $\alpha 7^*$ bestimmt, allerdings wurde hier als Radioligand [^3H]-Methyllycaconitin verwendet.

Zur Bestimmung der Affinität zum Subtyp $\alpha 3\beta 4^*$ wurde eine Membranfraktion der Nebenniere vom Schwein und als Radioligand (\pm)-[^3H]-Epibatidin verwendet.

Die Affinität zum Rezeptorsubtyp $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$ konnte mit Hilfe einer Membranfraktion des elektrischen Organs aus dem Zitterrochen *Torpedo californica* und mit (\pm)-[^3H]-Epibatidin als Radioligand bestimmt werden.

2 Ergebnisse

Die in Tab. 9 angegebenen Testergebnisse repräsentieren Durchschnittswerte, die durch 3-10 unabhängige Experimente erhalten wurden.

Tab. 9: Affinitäten einiger isolierter Alkaloide zu vier verschiedenen Acetylcholinrezeptorsubtypen

Substanz	$\alpha 4\beta 2^*$ [³ H]EB Rattenhirn K _i (nM)	$\alpha 7^*$ [³ H]MLA Rattenhirn K _i (nM)	$\alpha 3\beta 4^*$ [³ H]EB Schweine- nebenieren K _i (nM)	($\alpha 1$) ₂ $\beta 1\gamma\delta$ [³ H]EB Torp. calif. electroplax K _i (nM)
Methyllycaconitin (gekauft)	205	1	479	> 10 000
Methyllycaconitin (1 ; isoliert)	454	6	2 127	> 10 000
10-Hydroxymethyllycaconitin (2)	440	> 99-300	-	> 10 000
Delavain A/B (4a/b)	186	11.4 ± 2.23	974	> 10 000
Delavain B freie Säure (5)	> 6 000	114 ± 15.7	> 5 000	> 10 000
Anthranoyllycoctonin (6)	> 300	57	> 3 000	> 10 000
Delphatin (9)	T	3470	T	T
Deoxylycoctonin (10)	> 50 000	268.3 ± 6.1	> 10 000	> 10 000
Delcosin (11)	> 2 000	46.15 ± 1.9	> 10 000	> 10 000
Deltatsin (12)	> 5 000	85.6 ± 27.1	> 7 100	> 10 000
6-Acetyldelphelin (13)	T	500	T	T
Neolin (16)	T	> 10 000	T	T
Delstaphisagnin (17)	T	59.1	T	T
Senbusin A (18)	T	115	T	T
12-Epi-Napellin (19)	T	> 10 000	T	T
Gomandonin (20)	T	4300	T	T

EB = Epibatidin; MLA = Methyllycaconitin; T = Testung noch nicht abgeschlossen

3 Diskussion

In der Literatur wurde darüber berichtet, daß die (2S)-(Methylsuccinimido)benzoyl-Einheit entscheidend für die hohe Affinität zum $\alpha 7$ -Subtyp (Rattenhirn) ist. Fehlt die Methylgruppe in dieser Einheit oder wurde die Esterbindung des Benzoylrestes hydrolysiert, so konnte eine deutliche Verminderung der Aktivität beobachtet werden.⁸² Ebenso zeigte in Versuchen derselben Autoren Anthranoyllycoctonin, das zwar einen Anthranoyl-Rest an Position 18 trägt, jedoch keinen Succinimidring, eine verringerte Aktivität. Daher vermuteten die Autoren, daß möglicherweise der Methylsuccinimidring essentiell ist, um den für die Rezeptorbindung passenden Abstand zwischen dem tertiären Stickstoff in Ring A/E und dem Carbonylsauerstoff der Esterfunktion zu bewahren.⁸² Dagegen wurde die mäßige Affinität zum $\alpha 4\beta 2$ -Rezeptorsubtyp (Rattenhirn) bei fehlender Methylgruppe nicht verringert. Bei Verlust der gesamten Succinimid-Einheit trat allerdings ein vergleichbarer Affinitätsverlust wie beim Subtyp $\alpha 7$ ein.⁸³

Bezüglich der Selektivität wurde die These aufgestellt, daß sie in der Norditerpen-Grundstruktur begründet ist.⁸²

Die Bindung an den $\alpha 7$ -Rezeptorsubtyp ist wahrscheinlich nicht stereospezifisch. Darauf weisen Bindungsversuche mit enantiomerenrein synthetisierten Diastereomeren eines Analogons von Methyllycaconitin hin (**Abb. 45**).⁸⁴ Die vier Diastereomere unterschieden sich zum einen in der Stereochemie der Methylgruppe des Succinimidringes und zum anderen durch unterschiedliche Stereochemie an der Anknüpfungsstelle der (2S)-(Methylsuccinimido)benzoyl-Einheit an Ring E, die in Methyllycaconitin Position 4 entsprechen würde.

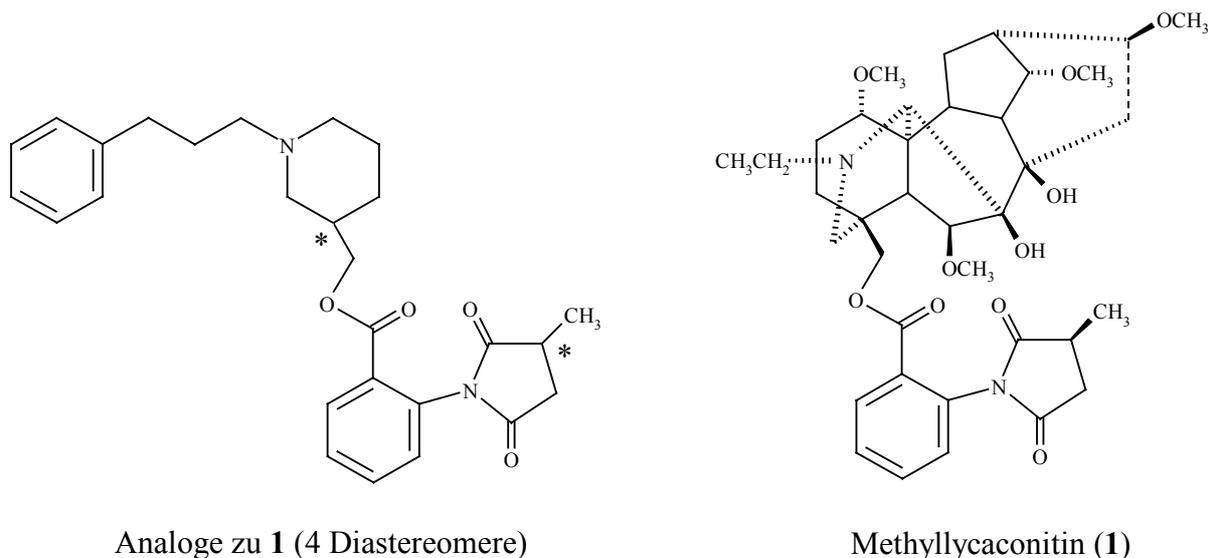


Abb. 45: Strukturen von **1** und 4 Diastereomeren eines Analogons zu **1**

Die im Rahmen dieser Arbeit isolierten Norditerpen-Alkaloide **1**, **4a/b**, **5**, **6**, **10**, **11** und **12**, deren Affinität zu vier verschiedenen Subtypen bestimmt wurde, zeigen übereinstimmend mit den Literaturangaben alle eine deutliche Selektivität für den Subtyp $\alpha 7$. Die Ergebnisse für 10-Hydroxymethyllycaconitin (**2**) sind schwer zu beurteilen, da sich diese Substanz während der Testung zersetzte und daher die Werte stark schwankten. Die hohen Affinitäten zu $\alpha 7$ der Norditerpen-Alkaloide Delstaphisagnin (**17**, K_i -Wert = 59.1 nM) und Senbusin A (**18**, K_i -Wert = 115 nM) im Gegensatz zu den Diterpen-Alkaloiden 12-Epi-Napellin (**19**, K_i -Wert > 10 000 nM) und Gomandonin (**20**, K_i -Wert = 4300 nM), deuten ebenfalls übereinstimmend mit den Literaturangaben⁸² darauf hin, daß die Selektivität für den $\alpha 7$ -Subtyp in der Norditerpen-Grundstruktur begründet ist. Abweichend davon zeigen aber die beiden Norditerpen-Alkaloide Neolin (**16**, K_i -Wert > 10 000 nM) und Delphatin (**9**, K_i -Wert = 3470 nM) keine hohe Affinität zu diesem Subtyp. Allerdings können die Werte von **9**, **16**, **17**, **18**, **19** und **20** noch nicht abschließend beurteilt werden, da noch nicht die Affinitäten dieser Substanzen zu den anderen Subtypen bekannt sind.

Die Ergebnisse der im Rahmen dieser Arbeit getesteten Alkaloide können die These, daß die (2*S*)-(Methylsuccinimido)benzoyl-Einheit essentiell für die hohe Affinität ist,⁸² nicht bestätigen. Methyllycaconitin (**1**) zeigt zwar in Übereinstimmung mit den Literaturangaben⁸² die höchste Affinität zum Subtyp $\alpha 7$, aber auch andere Alkaloide ohne diesen Rest an Position 18 wie z. B. Delstaphisagnin (**17**) oder Delcosin (**11**) zeigen eine Affinität im nanomolaren Bereich. Es scheint auch keine Rolle zu spielen, ob an Position 18 ein aromatischer Rest gebunden ist oder eine Methoxyfunktion, da die K_i -Werte (Subtyp $\alpha 7$) von

z. B. Anthranoyllycoctonin (**6**; K_i -Wert = 57 nM) und Delavain B freie Säure (**5**; K_i -Wert = 114 nM) in der gleichen Größenordnung liegen wie die von Delstaphisagnin (**17**; K_i -Wert = 59.1 nM) und Senbusin A (**18**; K_i -Wert = 115 nM).

Anhand der bis jetzt bekannten Ergebnisse ist es noch schwierig, konkrete neue Aussagen zu den Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Liganden an nikotinischen Acetylcholinrezeptoren zu treffen. Dazu sind weitere Radioligandbindungsstudien nötig, die auch zur Charakterisierung der verschiedenen Subtypen beitragen werden.

E Zusammenfassung

Aus den drei *Delphinium*-Arten *D. cheilanthum*, *D. dissectum*, *D. grandiflorum* und der *Aconitum*-Art *A. chasmanthum* konnten im Rahmen dieser Arbeit mit Hilfe von chromatographischen Methoden 21 Alkaloide isoliert werden. Diese wurden vor allem anhand ihrer ^1H -, ^{13}C -, DEPT-, HH-COSY-, HMQC- und HMBC-NMR-Spektren, aber auch anhand der Massen- und hochaufgelösten Massenspektren sowie UV- und IR-Spektren identifiziert.

Alle Verbindungen, die aus den drei *Delphinium*-Arten isoliert wurden, gehören dem Lycoctonin-Typ der Norditerpen-Alkaloide an, während aus *A. chasmanthum* neben den drei Norditerpen-Alkaloiden vom Aconitin-Typ Neolin (**16**), Delstaphisagnin (**17**) und Senbusin A (**18**) (Abb. 46) auch Diterpen-Alkaloide isoliert werden konnten: 12-Epi-Napellin (**19**), das dem Kauran-Typ zuzuordnen ist, und das Alkaloid vom Atisan-Typ Gomandonin (**20**) (Abb. 47).

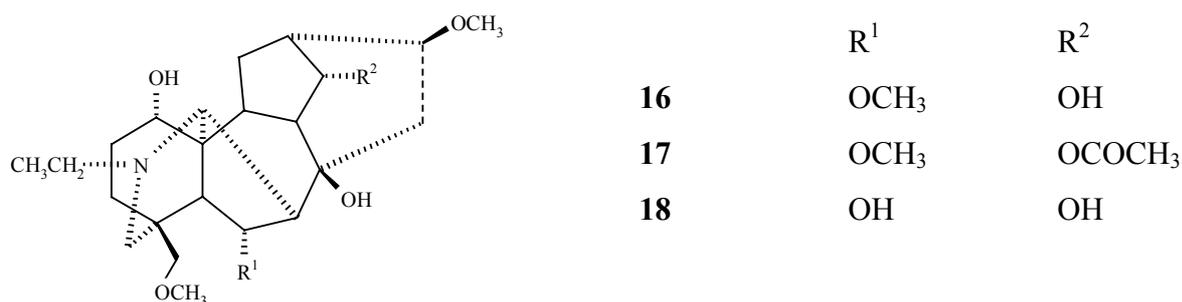


Abb. 46: Aus *A. chasmanthum* isolierte Norditerpen-Alkaloide vom Aconitin-Typ Neolin (**16**), Delstaphisagnin (**17**) und Senbusin A (**18**)

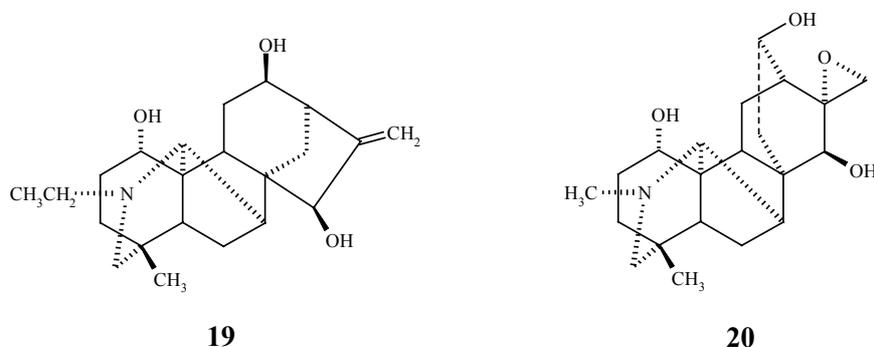


Abb. 47: Aus *A. chasmanthum* isolierte Diterpen-Alkaloide 12-Epi-Napellin (**19**) und Gomandonin (**20**)

Auffällig ist, daß nur in einer Pflanze, nämlich *D. cheilanthum* Norditerpen-Alkaloide mit einer Methylendioxybrücke zwischen C-7 und C-8 gefunden werden konnten (6-Acetyldelphinin (**13**), Deltalin (**14**), Delelatin (**15**) (Abb. 48). Daneben konnten aus dieser Pflanze die Alkaloide mit aromatischem Rest an Position 18 Methyllycaconitin (**1**) und Anhweidelphinin (**8**) (Abb. 50) isoliert werden.

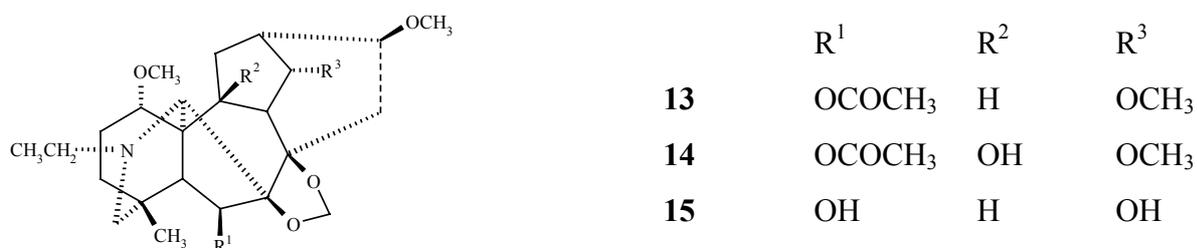


Abb. 48: Aus *D. cheilanthum* isolierte Norditerpen-Alkaloide mit Methylendioxybrücke zwischen C-7 und C-8 6-Acetyldelphinin (**13**), Deltalin (**14**) und Delelatin (**15**)

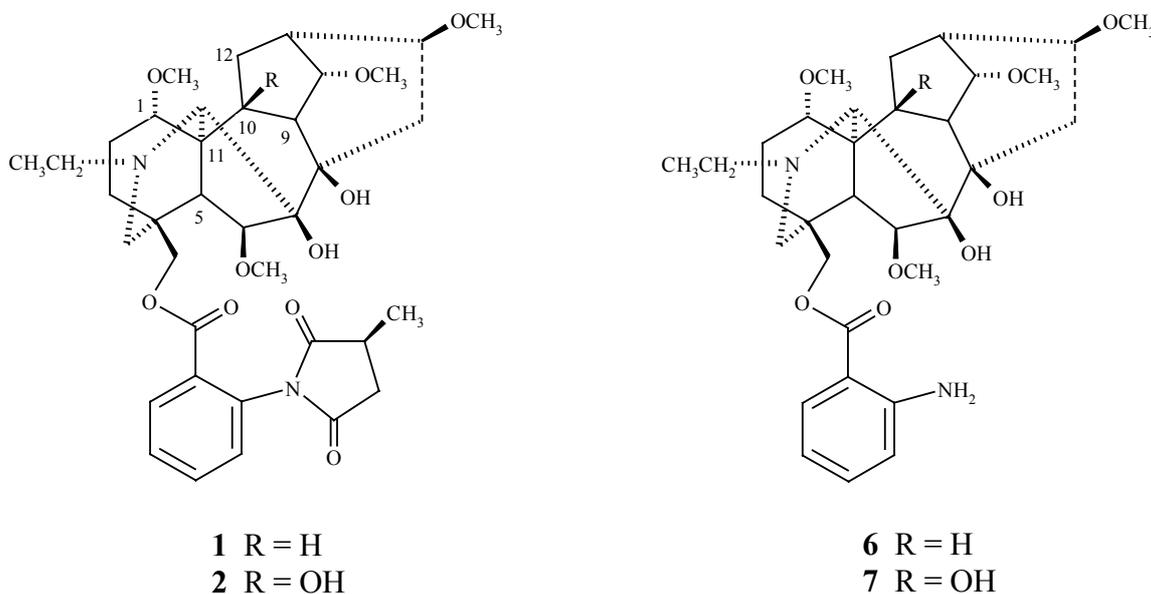


Abb. 49: Strukturen der aus *D. dissectum* isolierten neuen Alkaloide 10-Hydroxymethyllycaconitin (**2**) und 10-Hydroxyanthranoyllycoctonin (**7**) sowie der Alkaloide Methyllycaconitin (**1**) und Anthranoyllycoctonin (**6**)

Aus der phytochemisch zuvor noch nicht untersuchten Art *D. dissectum* konnten die Regioisomere Delavain A (**4a**) und B (**4b**), Delavain B freie Säure (**5**) (Abb. 50), Delphatin

(**9**) und Deoxylycoctonin (**10**) (Abb. 51) gewonnen werden. Daneben wurden die neuen Alkaloide 10-Hydroxyanthranoyllycoctonin (**7**) und 10-Hydroxymethyllycaconitin (**2**) isoliert. Diese unterscheiden sich von den aus der gleichen Pflanze isolierten bekannten Alkaloiden Methyllycaconitin (**1**) und Anthranoyllycoctonin (**6**) durch eine zusätzliche Hydroxyfunktion an Position 10 (Abb. 49). Bei der Strukturaufklärung mittels NMR-Spektroskopie fielen im Vergleich zu den jeweils bekannten Alkaloiden die Hochfeldverschiebungen der Signale von C-1 und C-5 und die Tieffeldverschiebungen der Signale von C-9, C-10, C-11 und C-12 auf. Außerdem konnte man erkennen, daß im Vergleich zu **1** bzw. **6** ein Methinkohlenstoff gegen einen quartären Kohlenstoff ausgetauscht ist. Unter Berücksichtigung der Kopplungen im HH-COSY-Spektrum und der Fernkopplungen im HMBC-Spektrum sowie mit Hilfe der durch hochauflösende Massenspektrometrie ermittelten Summenformel konnte somit die zusätzliche Hydroxyfunktion eindeutig an Position 10 lokalisiert werden.

Aus *D. grandiflorum* wurden die Alkaloide Methyllycaconitin (**1**), Grandiflorin (**3**) (Abb. 50), Delcosin (**11**) und Deltatsin (**12**) (Abb. 51) isoliert.

In Tab. 10 ist zusammenfassend dargestellt, welche Alkaloide aus welcher Pflanze isoliert werden konnten.

Tab. 10: Aus den untersuchten Pflanzen isolierte Alkaloide

<i>Aconitum chasmanthum</i>	<i>Delphinium cheilanthum</i>	<i>Delphinium dissectum</i>	<i>Delphinium grandiflorum</i>
Neolin (16)	Methyllycaconitin (1)	Methyllycaconitin (1)	Methyllycaconitin (1)
Delstaphisagnin (17)	Anhweidelphinin (8)	10-Hydroxymethyllycaconitin (2)	Grandiflorin (3)
Senbusin A (18)	6-Acetyldelphelin (13)	Delavain A (4a)	Delcosin (11)
12-Epi-Napellin (19)	Deltalin (14)	Delavain B (4b)	Deltatsin (12)
Gomandonin (20)	Delelatin (15)	Delavain B, freie Säure (5) Anthranoyllycoctonin (6) 10-Hydroxyanthranoyllycoctonin (7) Delphatin (9) Deoxylycoctonin (10)	

Die beiden neuen Naturstoffe 10-Hydroxyanthranoyllycoctonin (7) und 10-Hydroxymethyllycaconitin (2) sind wegen der Substitution mit einer zusätzlichen Hydroxygruppe an Position 10 besonders reich an Sauerstofffunktionen. 10-Hydroxymethyllycaconitin (2) wurde etwa zur gleichen Zeit von den mit uns kooperierenden Wissenschaftlern aus einer weiteren aus der Mongolei stammenden *Delphinium*-Art, *D. excelsum*, isoliert. In dieser Pflanze wurden noch zwei weitere neue Alkaloide gefunden, die in der gemeinsamen Publikation im letzten Jahr erstmals beschrieben wurden: 10-Hydroxynudicaulidin, auf das bereits bei der Diskussion der Substanz 10-Hydroxymethyllycaconitin Bezug genommen wurde, und 18-*O*-Methyldeleterin. Auch diese

beiden Alkaloide enthalten im Vergleich zu den schon bekannten Alkaloiden Nudicaulidin und Delterin zusätzliche Sauerstoffsubstituenten.

Das Ziel dieser Arbeit war es, die Alkaloid-Zusammensetzung von vier mongolischen Pflanzenarten zu untersuchen, besonders im Hinblick auf möglicherweise auftretende Unterschiede im Vergleich zu Pflanzen, die in anderen Gebieten der Erde wachsen. Dabei wurde angenommen, daß die besonderen klimatischen Bedingungen, die die Mongolei bietet, sowohl innerhalb derselben Art als auch generell bei Vergleich der Arten diese Unterschiede hervorrufen könnten. Als klimatische Besonderheiten sind zu nennen: sehr geringe Luftfeuchtigkeit, wenig Niederschläge, kurzer Sommer und ein langer harter Winter, woraus eine sehr kurze Vegetationsperiode resultiert. Es ist zur Zeit noch schwierig, definitive Aussagen zu treffen, da ein Großteil der mongolischen Flora phytochemisch noch nicht gut untersucht ist. Aber man kann anhand der Ergebnisse dieser Arbeit deutlich eine Tendenz erkennen: Die mongolischen Pflanzen scheinen sich von den in anderen Gegenden heimischen Arten dadurch zu unterscheiden, daß ihre enthaltenen Alkaloide besonders viele Sauerstoffatome enthalten, das heißt höher oxidiert vorliegen. Weitere phytochemische Untersuchungen der mongolischen Flora sind nötig, um diese Vermutungen zu bestätigen.

Methyllycaconitin und andere Alkaloide aus *Delphinium*-Arten haben eine toxische Wirkung, die auf einen Antagonismus der enthaltenen Norditerpen-Alkaloide an nikotinischen Acetylcholinrezeptoren zurückzuführen ist.⁵

Es gibt zahlreiche Subtypen von Acetylcholinrezeptoren, die sich durch die Zusammensetzung aus verschiedenen Protein-Untereinheiten unterscheiden. Für *Delphinium*-Alkaloide wird in der Literatur vor allem über eine hohe Affinität und Selektivität für den Subtyp $\alpha 7$ berichtet.⁸⁵ In Zusammenarbeit mit Frau Dr. Gündisch vom Pharmazeutischen Institut der Universität Bonn wurde mit Hilfe von Radioligandbindungsstudien die Affinität einiger im Rahmen dieser Arbeit isolierter Alkaloide zu den nikotinischen Acetylcholinrezeptorsubtypen $\alpha 4\beta 2$, $\alpha 7$, $\alpha 3\beta 4$ und $(\alpha 1)_2\beta 1\gamma\delta$ bestimmt.

Literaturberichten zufolge ist die (2*S*)-(Methylsuccinimido)benzoyl-Einheit entscheidend für die hohe Affinität zu nikotinischen Acetylcholinrezeptoren, während die Selektivität für den Subtyp $\alpha 7$ in der Norditerpen-Grundstruktur begründet ist. Bei unseren Tests zeigten zwar die meisten Norditerpen-Alkaloide eine hohe Affinität und Selektivität für den Subtyp $\alpha 7$, die Thesen zu den Struktur-Wirkungsbeziehungen konnten aber nicht bestätigt werden.

Eine endgültige Beurteilung der Testergebnisse ist noch nicht möglich, da bei manchen Alkaloiden bisher nur die Affinitäten zum Subtyp $\alpha 7$ bestimmt wurden. Man erkennt aber, daß nicht nur Alkaloide mit der (2*S*)-(Methylsuccinimido)benzoyl-Einheit potente Liganden

sind, sondern auch die Affinitäten von Alkaloiden mit anderen Strukturelementen an Position 18 wie z. B. Anthranoyllycoctonin (**6**) oder Delstaphisagnin (**17**) eine Affinität im nanomolaren Bereich zeigen.

Die These, daß die Selektivität auf die Norditerpen-Struktur zurückzuführen ist, wurde zwar durch die sehr geringe Affinität der beiden getesteten Diterpen-Alkaloide 12-Epi-Napellin (**19**) und Gomandonin (**20**) zum Subtyp $\alpha 7$ unterstützt. Dagegen spricht allerdings, daß die Norditerpen-Alkaloide Neolin (**16**) und Delphatin (**9**) keine bzw. sehr geringe Affinität zu diesem Subtyp zeigen.

Methyllycaconitin und andere Norditerpen-Alkaloide eignen sich sehr gut, um den nikotinischen Acetylcholinrezeptorsubtyp $\alpha 7$ von anderen Subtypen zu unterscheiden und Struktur-Wirkungsbeziehungen zu studieren. Es ist nötig, weitere strukturell unterschiedliche Substanzen zu testen, um nikotinsche Acetylcholinrezeptoren genauer charakterisieren zu können. Das Verständnis dieser Rezeptoren ist wichtig, weil sie neben ihren vielfältigen physiologischen Funktionen, z. B. bei Lernprozessen und Gedächtnisleistungen auch eine Rolle bei der Entstehung von neurodegenerativen Krankheiten wie Alzheimer und Parkinson spielen. Sie stellen daher interessante Targets für die Entwicklung neuer Arzneistoffe gegen diese Krankheiten dar. Norditerpen-Alkaloide eröffnen vielversprechende Möglichkeiten für die weitere Erforschung dieser Rezeptoren.

F Experimenteller Teil

1 Allgemeine Angaben

Es wurden handelsübliche Lösungsmittel verwendet und durch Destillation gereinigt. Für die HPLC wurde bei den Lösungsmitteln gradient grade Qualität der Firma Merck verwendet. Wasser für die HPLC wurde durch Destillation von demineralisiertem Wasser gewonnen.

Schmelzpunkte: Büchi Schmelzpunktbestimmungsapparat B-450. Die Schmelzpunkte sind in °C angegeben und nicht korrigiert.

Drehwinkel: Perkin-Elmer Polarimeter 241 MC. Die Substanzkonzentration und das verwendete Lösungsmittel werden bei den jeweiligen Substanzen angegeben.

UV-Spektren: UV/Vis-Spektrometer Jasco V-530. Als Lösungsmittel diente Methanol mit HPLC-Qualität.

IR-Spektren: Jasco FT/IR-410 Spektrometer. Feststoffe wurden als Kaliumbromid-Preßlinge vermessen, ölige Substanzen mit Hilfe eines Natriumchlorid-Fensters.

EI-Massenspektren: Hewlett Packard 5989 A Massenspektrometer bei 70 eV Anregungsenergie.

ESI-Massenspektren: Direkteinspritzung in das API 2000 ESI-MS/MS von Applied Biosystems

FAB-Massenspektren: Jeol The MStation JMS-700, Xenon, 6 keV, Matrix: 3-Nitrobenzylalkohol

Hochaufgelöste	Finnigan MAT 95 Q Massenspektrometer (bei EI/CI/ESI)
Massenspektren:	Jeol The MStation JMS-700, Xenon, 6 keV, Matrix: 3-Nitrobenzylalkohol , Referenz: PEG (bei FAB)
NMR-Spektren:	Jeol GSX 400 oder JNMR-GX 500. Das verwendete Lösungsmittel wird bei den jeweiligen Substanzen angegeben. Die angegebenen Zahlenwerte beziehen sich auf die δ -Skala mit Tetramethylsilan (TMS) als internem Standard ($\delta = 0.00$ ppm). Die chemischen Verschiebungen werden in ppm, die Kopplungskonstanten (J) in Hz angegeben.

Chromatographische Trennungen:

Dünnschichtchromatographie:

Platten:	Analytisch: Fertigfolien Polygram SIL G/UV ₂₅₄ (Schichtdicke 0.2 mm; Format 40 x 80 mm) der Firma Macherey-Nagel DC-Plastikfolien Aluminiumoxid 60 F ₂₅₄ neutral (Schichtdicke 0,2 mm, Format 20 x 20 cm) der Firma Merck Fertigfolien Alugram [®] ALOX N/UV ₂₅₄ (basisches Aluminiumoxid; Schichtdicke 0,2 mm, Format 20 x 20 cm) der Firma Macherey-Nagel Präparativ: PSC-Platten Kieselgel 60 F ₂₅₄ (Schichtdicke 1 mm, Format 20 x 20 cm) der Firma Merck PSC-Platten basisches Aluminiumoxid 60 F ₂₅₄ (Schichtdicke 1,5 mm, Format 20 x 20 cm) der Firma Merck
----------	---

Verwendete Fließmittel: Analytisch:
A: Chloroform: Methanol (80:20)
B: Toluol: Aceton: Methanol: Ammoniak (25 %) (49,5:41,5:5:4)
C: Heptan: Ethylacetat: Ethyldimethylamin (50:50:5)
D: Ethylacetat: Ethyldimethylamin (100:5)
Präparativ:
A: Chloroform: Methanol (80:20) bei Kieselgel
E: Chloroform: Methanol (95:5) bei basischem Aluminiumoxid

Detektion: UV-Licht (254 und 365 nm)
Dragendorffs Reagenz nach Munier und Macheboeuf:
0,85 g basisches Bismutnitrat werden in 10 ml Eisessig und 40 ml Wasser gelöst (Lösung A). 8 g Kaliumiodid werden in 30 ml Wasser gelöst (Lösung B). Die beiden Vorratslösungen werden im Verhältnis 1:1 gemischt.

Säulenchromatographie:

Materialien: Kieselgel 60, Korngröße 0,040-0,063 mm der Firma Merck
Aluminiumoxid aktiviert basisch Typ 5016A, Brockmann I, Korngröße 150 mesh, 58 Å, der Firma Aldrich
Aluminiumoxid 90 aktiv neutral Aktivitätsstufe I, 0,063-0,200 mm, 70-230 mesh, der Firma Merck

Fließmittel: Die Fließmittelsysteme finden sich bei der Beschreibung der Isolierungen der Alkaloide. Bei den angegebenen Mischungsverhältnissen handelt es sich um Volumenanteile.

In Tab. 11 wird angegeben, in welchen Maßstäben die Säulenchromatographie durchgeführt wurde. Dabei handelt es sich nur um ungefähre Richtwerte, die je nach Schwierigkeit der durchzuführenden Trennung variiert wurden.

Tab. 11: Säulendimensionen, Beladung und Fraktionierung

Säulendimension	Durchmesser der Säule	Kieselgel oder Aluminiumoxid	Aufgetragene Substanzmenge	Volumengröße der Fraktionen
A	10 mm	10 g	bis 40 mg	5 ml
B	20 mm	30 g	bis 100 mg	5-10 ml
C	25 mm	50 g	bis 250 mg	15-20 ml
D	30 mm	70 g	bis 400 mg	20 ml
E	35 mm	100 g	bis 600 mg	20 ml
F	45 mm	200 g	bis 1 g	40-100 ml
G	50 mm	250 – 300 g	bis 2 g	40-100 ml
H	65 mm	300 – 400 g	bis 4 g	40-100ml
I	85 mm	700 g	> 4 g	150-250 ml

HPLC:

Gerät:

Für Reversed Phase Methoden:

Merck Lachrom, Interface D-7000, Pumpe L-7100, Autosampler L-7250, Dioden Array Detektor L-7455, Lösungsmittelentgaser L-7612

Für Normalphasen (Diol) Methoden:

Merck Lachrom, Interface D-7000, Pumpe L-7110, UV-Detektor L-7400

Software:

Hitachi D-7000 HPLC Multi System Manager

Fließmittel:

Die Fließmittelsysteme finden sich bei der Beschreibung der Isolierungen der Alkaloide. Bei den angegebenen Mischungsverhältnissen handelt es sich um Volumenanteile.

- Säulen:
- Analytisch:
Merck LiChrospher[®] 100 RP-18 (5 μm), 4x250 mm
Merck LiChrospher[®] 100 Diol (10 μm), 4x250 mm
- Präparativ:
Merck LiChrospher[®] 100 RP-18 (10 μm) 10x250 mm
Merck Hibar[®], LiChrospher[®] 100 RP-18 (10 μm), 25x250 mm
Merck Hibar[®], LiChrosorb[®] Diol (7 μm) 25x250 mm
- Flußraten:
- Bei der Säulendimension 4x250 mm: 1 ml min⁻¹
Bei der Säulendimension 10x250 mm: 6 ml min⁻¹
Bei der Säulendimension 25x250 mm: 30 ml min⁻¹
- Detektion:
- RP-System: Merck LaChrom Dioden Array Detektor L-7455;
Chromatogramm meist bei 224 oder 254 nm aufgenommen
NP-System: Merck LaChrom UV-Detektor D-7400 bei 254 nm

2 Herkunft des Pflanzenmaterials, Extraktbereitung und Gewinnung der Alkaloidfraktionen

Oberirdische Pflanzenteile der vier untersuchten Arten wurden von mongolischen Wissenschaftlern in den in der Tabelle angegebenen Gebieten der Mongolei gesammelt und identifiziert. Belegexemplare befinden sich im Institut für Chemie der Mongolischen Akademie der Wissenschaften in Ulaanbaatar, Mongolei.

<i>Aconitum chasmanthum</i> Stapf.	Bumbat Berge, Nähe Darvi, Provinz Khovd, Mongolei	August 2002
<i>Delphinium cheilanthum</i> Fisch.	Bumbat Berge, Nähe Darvi, Provinz Khovd, Mongolei	August 2002
<i>Delphinium dissectum</i> Huth	Bayan-Ovoo, Provinz Bayankhongor, Mongolei	Juni 2000
<i>Delphinium grandiflorum</i> L.	Bugat, Provinz Bulgan, Mongolei	August 1997

Die Extrakte aus dem Pflanzenmaterial wurden ebenfalls am Institut für Chemie der Mongolischen Akademie der Wissenschaften in Ulaanbaatar hergestellt.

Dazu wurde das getrocknete und gepulverte Pflanzenmaterial (*Aconitum chasmanthum* 4 kg, *Delphinium cheilanthum* 2 kg, *Delphinium dissectum* 27 kg, *Delphinium grandiflorum* 7 kg) erschöpfend (5 x) durch Perkolation mit 80 % Ethanol bei Raumtemperatur extrahiert (ca. jeweils 3 Liter 80 % Ethanol auf 1 kg Pflanzenmaterial). Dann wurden die vereinigten Extrakte jeder Pflanze durch Abdampfen des Lösungsmittels aufkonzentriert, so daß ca. 400 g (*A. chasmanthum*), 220 g (*D. cheilanthum*), 2,6 kg (*D. dissectum*) und 680 g (*D. grandiflorum*) dickflüssiger Extrakt erhalten wurden.

Das anschließende Verfahren zur Gewinnung der Alkaloidfraktionen wurde jeweils dreimal wiederholt. Bei *D. grandiflorum* und *D. dissectum* wurde es vollständig in der Mongolei durchgeführt, bei *A. chasmanthum* und *D. cheilanthum* erfolgte der dritte Ausschüttelgang hier in München am Department Pharmazie (Abb. 52).

Die Extrakte wurden mit 5 %iger Schwefelsäure angesäuert (Volumenverhältnis Extrakt : Schwefelsäure ca. 1:1) und lipophile Bestandteile durch mehrmalige Extraktion (2-3 x) mit Ether (jeweils ca. 1/3 des Volumens der wäßrigen Phase) entfernt. Die Etherfraktionen wurden verworfen. Danach wurde der pH-Wert der wäßrigen Phase mit Natriumhydrogencarbonat auf 4,5 eingestellt und mit Chloroform extrahiert (ca. 6 x mit jeweils 1/3 des Volumens der wäßrigen Phase). Anschließend wurde der pH-Wert mit Natriumcarbonat auf pH 8.0 und später mit 40 %iger Natriumhydroxidlösung auf pH 10.0 erhöht, wobei wieder jeweils mit Chloroform ausgeschüttelt wurde. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels wurden auf diese Weise die drei Fraktionen A, B, und C erhalten.

Dabei wurden folgende Mengen erhalten:

Aconitum chasmanthum:

A: 12 g B: 3,8 g C: 0,7 g (ausgehend von 4 kg Droge)

Delphinium cheilanthum:

A: 7,5 g B: 1,2 g C: 0,4 g (ausgehend von 2 kg Droge)

Delphinium dissectum:

A: 30 g B: 120 g C: 14 g (ausgehend von 27 kg Droge)

Delphinium grandiflorum:

A: 17 g B: 15 g C: - (ausgehend von 7 kg Droge)

Experimenteller Teil

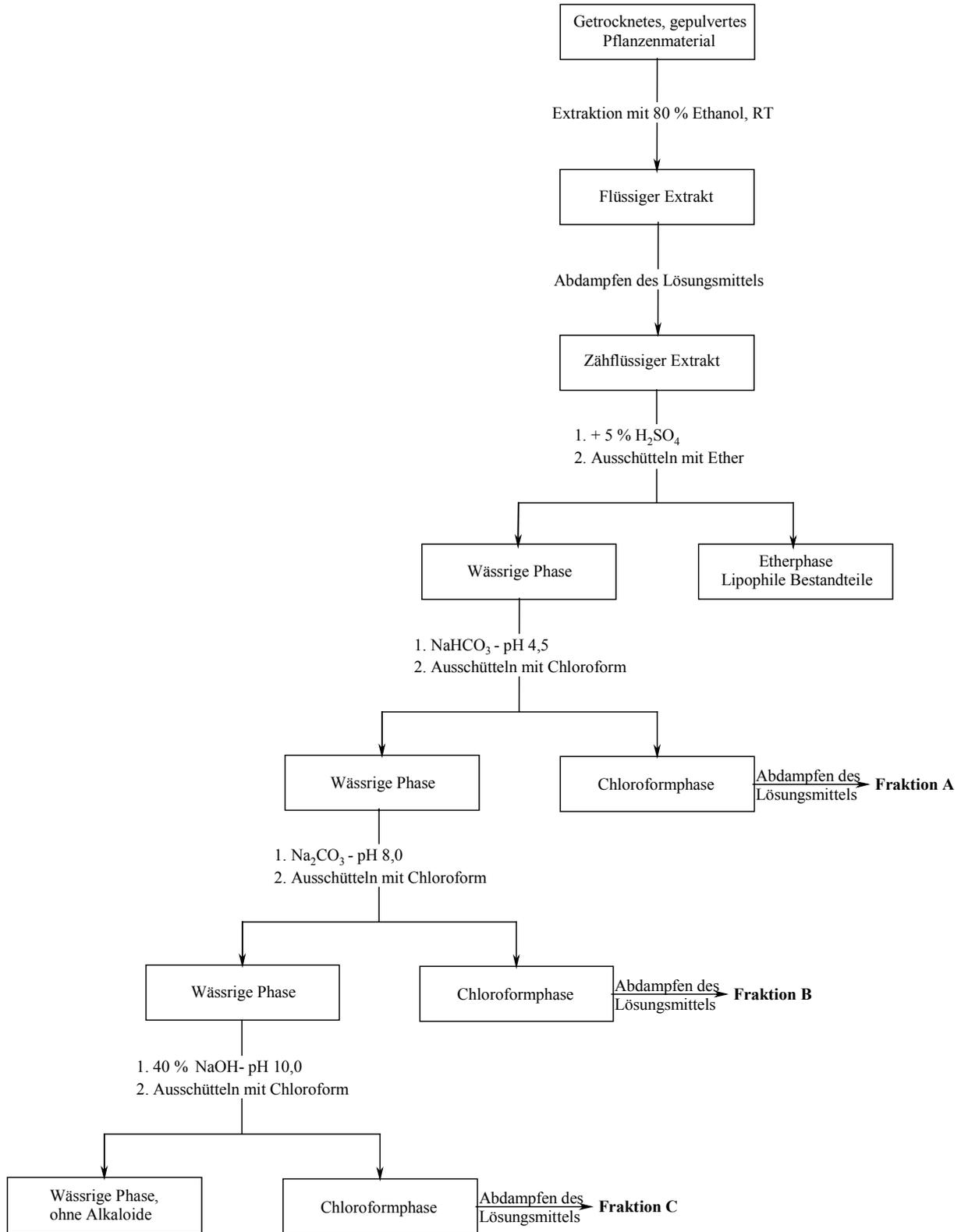


Abb. 52: Allgemeines Schema zur Gewinnung der Alkaloidfraktionen A, B und C

3 Isolierung der Alkaloide

3.1 *Aconitum chasmanthum*

Fraktion A (12 g) wurde mittels Säulenchromatographie (Säulendimension I) in Fraktionen zu 150 ml aufgetrennt (Sorbens: Kieselgel, Fließmittel: Chloroform (ca. 1 l), Chloroform-Methanol (Verhältnis 99,5:0,5, danach 99:1, 98:2, 97:3, 96:4, 90:10, dann Änderung der Zusammensetzung bis zu dem Verhältnis von 70:30 in Schritten von 5 %, jeweils 1-2 l des Fließmittels).

Fraktionen 53-56, die mit dem Fließmittel Chloroform-Methanol (96:4) erhalten wurden, wurden über eine weitere Säule mit basischem Aluminiumoxid (Säulendimension E) als Sorbens mit den Fließmitteln Chloroform (ca. 600 ml), Chloroform-Methanol (99:1; ca. 250 ml) aufgetrennt, wobei die mit der Fließmittelmischung eluierten Fraktionen 25-34 20 mg Delstaphisagnin (**17**) enthielten.

Fraktionen 59-65 der ersten Säule (Säulendimension I), die ebenfalls mit dem Fließmittel Chloroform-Methanol (96:4) erhalten wurden, konnten mittels präparativer DC (basisches Aluminiumoxid, Fließmittel E) weiter aufgereinigt werden, so daß 82 mg Neolin (**16**) gewonnen werden konnten.

Fraktionen 77-86 der ersten Säule (Säulendimension I) (Fließmittelzusammensetzung: Chloroform-Methanol (96:4)) wurden mit Hilfe einer Säule (Säulendimension F) mit basischem Aluminiumoxid weiter aufgetrennt (Fließmittelgradient: Chloroform (ca. 3 l), Chloroform-Methanol (99:1, 98:2, 97:3, 95:5; jeweils ca. 1,3 l), so daß aus den mit der letzten Fließmittelzusammensetzung erhaltenen Fraktionen 59-82 20 mg Senbusin A (**18**) isoliert werden konnten.

Fraktion B (3,8 g) wurde mittels Säulenchromatographie aufgetrennt (Säulendimension H, Sorbens: Kieselgel, Fließmittel: Chloroform, Chloroform-Methanol (99:1 bis 70:30, wobei die Zusammensetzung bis zu dem Verhältnis von 90:10 in Schritten von 2 %, danach in Schritten von 5 % gesteigert wurde); jeweils ca. 1 l Fließmittel).

Fraktionen 67-89, die mit dem Fließmittel mit einem Anteil von 10 bzw. 15 % Methanol eluiert werden konnten, wurden durch eine weitere Säule (Säulendimension F, Sorbens: basisches Aluminiumoxid, Fließmittel: Chloroform (ca. 1 l), Chloroform-Methanol (99:1), ca. 1,5 l) weiter aufgetrennt. In den Fraktionen 17-22 dieser Säule war die Substanz 12-Epi-Napellin (**19**; 75 mg) enthalten.

Fraktion C (0,7 g) wurde einer Säulenchromatographie unterzogen (Säulendimension E, Sorbens: Kieselgel; Fließmittelgradient: Chloroform, Chloroform-Methanol (99:1 bis 80:20, wobei die Zusammensetzung bis zu dem Verhältnis von 90:10 in Schritten von 2 %, danach in Schritten von 5 % gesteigert wurde, jeweils ca. 150 ml). Fraktionen 65-85, die mit dem Fließmittel Chloroform-Methanol (80:20) gewonnen wurden, lieferten das Alkaloid Gomandonin (**20**; 60 mg).

3.2 *Delphinium cheilanthum*

Fraktion A (7,5 g) wurden einer Säulenchromatographie (Säulendimension I) mit basischem Aluminiumoxid als Sorbens unterzogen, wobei als Fließmittel folgendes Gradientensystem angewendet wurde: Chloroform, Chloroform-Methanol (99:1 bis 80:20, wobei die Zusammensetzung bis zu dem Verhältnis von 90:10 in Schritten von 2 %, danach in Schritten von 5 % gesteigert wurde, jeweils ca. 1 l Fließmittel).

Fraktionen 11-13, die mit dem Fließmittel mit einem Anteil von 3 % Methanol erhalten wurden, wurden danach noch einmal mit einer Säule (Säulendimension H) mit Kieselgel als Sorbens und mit dem gleichen Fließmittelgradienten (jeweils ca. 500 ml Fließmittel) wie bei der ersten Säule (Säulendimension I), nachgereinigt. Die Fraktionen 18-26 wurden erneut über eine Säule (Säulendimension C) mit Kieselgel mit demselben Fließmittelgradienten wie bei den vorhergehenden Säulen (jeweils ca. 350 ml) chromatographiert, so daß in den Fraktionen 51-60 (Chloroform-Methanol (99:1)) 68 mg des Alkaloids 6-Acetyldelphelin (**13**) in reiner Form erhalten werden konnten.

Fraktionen 44-61 der Säule mit Dimension H, die mit einem Anteil von 3 % Methanol erhalten wurden, konnten mit Hilfe einer Säule (Säulendimension E) mit basischem Aluminiumoxid mit jeweils ca. 1,2 l des Fließmittels Chloroform-Methanol (99,5:0,5), danach Chloroform-Methanol (99:1) nachgereinigt werden, wobei Fraktion 116 15 mg Deltalin (**14**) enthielt.

Da mit der ersten Säule (Säulendimension I) ansonsten keine gute Auftrennung erzielt werden konnte, wurden die Fraktionen 14-34 vereinigt (erhalten bei Elution mit dem Fließmittel Chloroform-Methanol (97:3)) und erneut unter den gleichen Bedingungen wie bei der ersten Säule - nur mit einem noch flacheren Gradienten (Schritte von 1 %) – chromatographiert (Säulendimension G). Dabei konnte aus den Fraktionen 48-58 (Chloroform-Methanol (98:2))

das Alkaloid Methyllycaconitin (**1**; 200 mg) isoliert werden. Fraktionen 83-88 (Chloroform-Methanol (95:5)) lieferten 60 mg des Alkaloids Anhweidelphinin (**8**).

Fraktion B (1,2 g) wurde über eine Kieselgelsäule (Säulendimension F) mit einem Fließmittelgradienten aus Chloroform, Chloroform-Methanol (99:1 bis 80:20, wobei die Zusammensetzung bis zu dem Verhältnis von 90:10 in Schritten von 2 %, danach in Schritten von 5 % gesteigert wurde, jeweils ca. 500 ml Fließmittel) in Fraktionen aufgetrennt. Fraktion 25 wurde erneut einer Säulenchromatographie (Säulendimension C) mit dem gleichen System unterzogen. Dabei konnte aus den Fraktionen 19-25 (Chloroform-Methanol (97:3)) das Alkaloid Delelatin (**15**; 19 mg) gewonnen werden.

3.3 Delphinium dissectum

Fraktion C (14 g) von *D. dissectum* wurde mittels Säulenchromatographie (Säulendimension I) in Fraktionen zu 250 ml aufgetrennt, wobei als Sorbens Kieselgel und als Fließmittel folgendes Gradientensystem verwendet wurde: Chloroform, Chloroform-Methanol (99:1 bis 60:40, wobei die Zusammensetzung bis zu dem Verhältnis von 90:10 in Schritten von 2 %, danach in Schritten von 5 % gesteigert wurde, jeweils ca. 1 l Fließmittel). Die Fraktionen 51-55, die mit Chloroform-Methanol (97:3) eluiert wurden, wurden vereinigt und einer Säulenchromatographie (Säulendimension I) mit neutralem Aluminiumoxid unter Verwendung eines Gradienten von Chloroform, Chloroform-Methanol (wie oben) unterzogen. Die Fraktionen 82-89 dieser Säule, die mit Chloroform-Methanol (97:3) erhalten wurden, ergaben nach einer weiteren Aufreinigung mit dem Fließmittelgradienten Chloroform, Chloroform-Methanol (99:1), jeweils ca. 100 ml über eine Säule (Säulendimension B) mit neutralem Aluminiumoxid 10 mg Methyllycaconitin (**1**).

Die Fraktionen 57 und 58 der ersten Säule (Chloroform-Methanol (95:5)) wurden über präparative HPLC aufgereinigt (Merck Hibar[®], LiChrospher[®] 100 RP-18 (10 µm), 25x250 mm), wobei folgendes Fließmittelsystem verwendet wurde: 0-8 Minuten: 50 % Wasser (mit 2 % Ammoniumcarbonat), 25 % Methanol, 25 % Acetonitril; danach: 30 % Wasser (mit 2 % Ammoniumcarbonat), 25 % Methanol, 45 % Acetonitril. Die Substanz, die den Peak bei 14.0 Minuten lieferte, wurde aufgefangen und mit 3 x 150 ml Chloroform extrahiert. Nach

Trocknen über Natriumsulfat und Abdampfen des Lösungsmittels konnten 20 mg 10-Hydroxymethyllycaconitin (**2**) erhalten werden.

Sieben Gramm der Fraktion B wurden mittels Säulenchromatographie (Säulendimension I) in Fraktionen zu 250 ml aufgetrennt, wobei Kieselgel und ein Gradient von Chloroform-Methanol (wie oben) verwendet wurde. Eine Fraktion, die mit Chloroform-Methanol (99:1) erhalten wurde, wurde erneut über eine Säule (Säulendimension H) mit Kieselgel chromatographiert, wobei als Fließmittel ein Gradient von Ethylacetat-Methanol (99:1; 95:5; 90:10; 85:15; 80:20; jeweils ca. 1 l Fließmittel) verwendet wurde. Fraktion 2, die mit Ethylacetat-Methanol (99:1) erhalten wurde, wurde über präparative Dünnschichtchromatographie weiter aufgereinigt (Kieselgelplatte, Fließmittel A). Dabei konnten neben 40 mg Methyllycaconitin (**1**; R_f -Wert: 0.30) 4 mg Deoxylycoctonin (**10**; R_f -Wert: 0.60) erhalten werden. Eine dritte Substanz (R_f -Wert: 0.50) wurde mittels präparativer HPLC weiter aufgereinigt (Säule: Merck Hibar[®], LiChrosorb[®] Diol (7 μ m) 25x250 mm; Fließmittel: Pentan-Ethanol (90:10) mit 0,05 % Diethylamin). Der Peak bei 7.1 Minuten lieferte nach dem Abdampfen des Fließmittels 31 mg einer Mischung von Delavain A und B (**4**).

Sowohl bei der Untersuchung im analytischen Maßstab als auch bei der präparativen Trennung lieferten die beiden Regioisomere **4a** und **4b** im HPLC-Chromatogramm nur einen Peak.

Nachdem mit Hilfe der NMR-Daten erkannt wurde, daß es sich bei **4** um ein Gemisch aus zwei Substanzen handelt, wurde eine Auftrennung mit folgendem Reversed-Phase-HPLC-System versucht: Säule: Merck LiChrospher[®] 100 RP-18 (10 μ m) 10x250 mm; verschiedene Fließmittel-Gradienten aus unterschiedlichen Anteilen von wäßriger Ammoniumcarbonatlösung (2%), Methanol, Acetonitril, z. B. innerhalb von 30 Minuten von 30 % Wasser (mit 2 % Ammoniumcarbonat), 35 % Methanol, 35 % Acetonitril auf 5 % Wasser (mit 2 % Ammoniumcarbonat), 45 % Methanol, 50 % Acetonitril. Die beiden Substanzen konnten jedoch nicht voneinander getrennt werden.

Weitere acht Gramm der Fraktion B von *D. dissectum* wurden über eine Säule (Säulendimension I) mit Kieselgel in Fraktionen zu 80 ml aufgetrennt, wobei wieder das bereits oben erwähnte Fließmittelsystem aus Chloroform und Methanol verwendet wurde (jeweils ca. 2 l Fließmittel). Fraktionen 57-74 (Chloroform-Methanol (97:3)) wurden über eine Kieselgelsäule (Säulendimension F) mit folgendem Fließmittelsystem in Fraktionen zu

40 ml aufgetrennt: Heptan-Ethylacetat-Ethyldimethylamin (50:50:5), danach Heptan-Ethylacetat-Ethyldimethylamin (30:70:5), Ethylacetat-Ethyldimethylamin (100:5), Ethylacetat-Ethanol-Ethyldimethylamin (75:25:5), jeweils ca. 400 ml. Die Fraktionen 20-25 (Heptan-Ethylacetat-Ethyldimethylamin (30:70:5)) lieferten nach der Aufreinigung über eine weitere Kieselgelsäule (Säulendimension A), bei der mit dem Fließmittel Heptan-Ethylacetat-Ethyldimethylamin (30:70:5) Fraktionen zu 5 ml gewonnen wurden, in den Fraktionen 5-8 eine im UV-Licht (365 nm) blau fluoreszierende Substanz: Anthranoyllycoctonin (**6**; 18 mg). Fraktionen 165-210 der Säule mit Dimension I (Chloroform-Methanol (70:30)) wurden vereinigt und über eine zweite Kieselgelsäule (Säulendimension F) aufgetrennt, wobei das gleiche Gradientensystem verwendet wurde. Die Fraktionen 44-51, die wieder mit dem Fließmittel Chloroform-Methanol (70:30) eluiert werden konnten, enthielten 119 mg Delavain B freie Säure (**5**).

Weitere acht Gramm der Fraktion B wurden mittels einer Kieselgelsäule (Säulendimension I) in Fraktionen zu 80 ml aufgeteilt, wobei folgendes Fließmittelsystem verwendet wurde: Heptan-Ethylacetat-Ethyldimethylamin (50:50:10), anschließend Ethylacetat-Ethyldimethylamin (100:10) und Ethylacetat-Methanol-Ethyldimethylamin (30:70:10), jeweils ca. 2,5 l.

Fraktionen 13-20, die mit dem Fließmittel Heptan-Ethylacetat-Ethyldimethylamin (50:50:10) erhalten wurden, wurden mittels Säulenchromatographie (Säulendimension F) weiter aufgetrennt (Sorbens: Kieselgel; Fließmittel: Heptan-Ethylacetat-Ethyldimethylamin (70:30:10), ca. 1 l). Fraktionen 23-27 wurden nochmals aufgereinigt mit Hilfe einer Kieselgelsäule (Säulendimension C, Fließmittel: Hexan-Ethyldimethylamin (100:10), Hexan-Ethylacetat-Ethyldimethylamin (100:5:10), Hexan-Ethylacetat-Ethyldimethylamin (100:10:10), jeweils ca. 500 ml). Dabei konnten aus den Fraktionen 65-76, die mit dem letzten Fließmittel erhalten wurden, 52 mg Delphatin (**9**) gewonnen werden.

Fraktionen 43-49 der Säule mit Dimension I, die mit dem Fließmittel Heptan-Ethylacetat-Ethyldimethylamin (50:50:10) erhalten wurden, konnten weiter aufgetrennt werden mittels einer Kieselgelsäule (Säulendimension C) und dem Fließmittel Chloroform-Methanol (90:10), ca. 250 ml. Dabei wurde in den Fraktionen 29-41 eine weitere im UV-Licht (365 nm) blau fluoreszierende Substanz in reiner Form erhalten: 10-Hydroxyanthranoyllycoctonin (**7**; 7 mg).

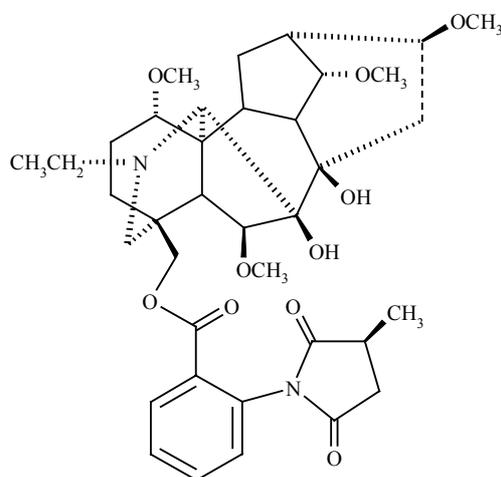
3.4 *Delphinium grandiflorum*

Drei Gramm der Fraktion A wurden mittels Säulenchromatographie (Säulendimension H) in Fraktionen zu 40 ml aufgetrennt, wobei als Sorbens neutrales Aluminiumoxid und als Fließmittel ein Gradientensystem aus Chloroform (ca. 400 ml), Chloroform-Methanol (99:1, 97:3, 95:5; jeweils ca. 400 ml) verwendet wurde. Fraktion 6, die mit Chloroform erhalten wurde, wurde mittels präparativer DC weiter aufgetrennt (Kieselgelplatten, Fließmittel A) und danach mit HPLC (Merck LiChrospher® 100 RP-18 (10 µm) 10x250 mm; Fließmittel: 0-5 Minuten: 50 % Wasser (mit 2 % Ammoniumcarbonat), 25 % Methanol, 25 % Acetonitril; danach: 30 % Wasser (mit 2 % Ammoniumcarbonat), 25 % Methanol, 45 % Acetonitril.). Der bei 9,8 Minuten eluierende Peak konnte nach dem Auffangen, Extrahieren mit 3 x 30 ml Chloroform, Trocknen über Natriumsulfat und Abdampfen des Lösungsmittels als Grandiflorin (**3**) identifiziert werden (2 mg).

Die Fraktionen 7-11, die von der Säule mit Chloroform-Methanol (99:1) erhalten wurden, wurden vereinigt und mittels präparativer DC (Kieselgelplatten, Fließmittel A) aufgetrennt. Dabei wurden 2 mg Methyllycaconitin (**1**; R_f -Wert 0,30) und 12 mg Deltatsin (**12**; R_f -Wert 0,45) erhalten. Die Fraktionen 17-28 (Chloroform-Methanol (97:3)) der Säule lieferten nach Umkristallisieren aus Aceton 190 mg Delcosin (**11**).

4 Physikalische Daten der isolierten Alkaloide

Methyllycaconitin (1)



1

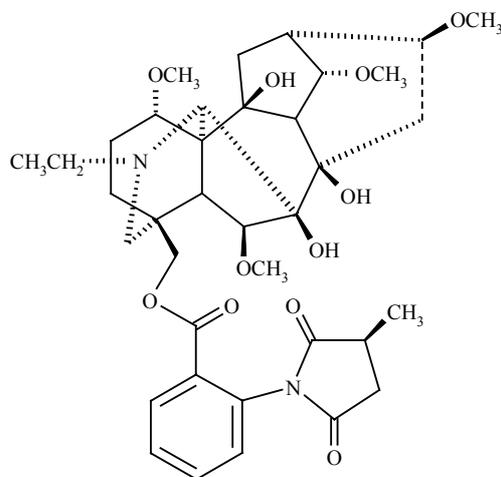
Aussehen:	weißer Feststoff
Summenformel:	$C_{37}H_{50}N_2O_{10}$
Schmelzpunkt:	137 °C (Lit. ³⁹ : 139 - 142 °C)
Drehwinkel:	$[\alpha]_D^{20} = + 45.0^\circ$ (c = 1.0, $CHCl_3$; Lit. ³⁹ : $[\alpha]_D^{22} = + 49.1^\circ$, c = 2.0, EtOH).
UV (MeOH):	λ_{max} [nm (log ϵ)] = 278 (3.39), 228 (4.12), 206 (4.42).
IR:	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3473, 2933, 1717, 1603, 1493, 1262, 1088.
EI-MS:	m/z (%) = 683 [M^+] (2), 665 (8), 466 (6), 448 (5), 248 (40), 216 (11), 151 (100).
HRMS (EI):	m/z = 682.3469 (berechnet für $C_{37}H_{50}N_2O_{10}$: 682.3465).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 8.04 (d, $J = 7.1$ Hz, 1 H, H-6'); 7.68 (t, $J = 7.7$ Hz, 1 H, H-4'); 7.54 (t, $J = 7.7$ Hz, 1 H, H-5'); 7.27 (d, $J = 7.0$ Hz, 1 H, H-3'); 4.12 (d, $J = 11.2$ Hz, 1 H, H-18b); 4.06 (d, $J = 11.2$ Hz, 1 H, H-18a); 3.87 (s, 1 H, H-6); 3.59 (t, $J = 4.7$ Hz, 1 H, H-14); 3.40 (s, 3 H, C-14-OCH₃); 3.35 (s, 3 H, C-6-OCH₃); 3.34 (s, 3 H, C-16-OCH₃); 3.25 (s, 3 H, C-1-OCH₃); 3.21 (t, $J = 7.9$ Hz, 1 H, H-16); 3.16 (m, 1 H, H-2''); 3.06 (dd, $J = 6.9$ Hz, $J = 4.7$ Hz, 1 H, H-9); 2.98 (dd, $J = 10.0$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1 H, H-1); 2.94 (m, 1 H, H-3''b); 2.93 (br. s, 1 H, H-17); 2.92 (m, 1 H, H-20b); 2.81 (m, 1 H, H-20a); 2.70 (d, $J = 11.7$ Hz, 1 H, H-19b); 2.60 (dd, $J = 15.2$ Hz, $J = 8.9$ Hz, 1 H, H-15b); 2.53 (m, 1 H, H-3''a); 2.46 (dd, $J = 14.7$ Hz, $J = 5.1$ Hz, 1 H, H-12b); 2.41 (d, $J = 11.7$ Hz, 1 H, H-19a); 2.33 (dd, $J = 7.1$ Hz, $J = 4.5$ Hz, 1 H, H-13); 2.17 (m, 1 H, H-2b); 2.08 (m, 1 H, H-2a); 1.94 (m, 1 H, H-10); 1.84 (m, 1 H, H-12a); 1.75 (m, 1 H, H-3b); 1.72 (br. s, 1 H, H-5); 1.67 (dd, $J = 15.2$ Hz, $J = 7.0$ Hz, 1 H, H-15a); 1.54 (m, 1 H, H-3a); 1.47 (m, 3 H, H-5''); 1.05 (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, H-21).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 179.8 (C-4''); 175.8 (C-1''); 164.1 (C=O); 133.6 (C-4'); 133.1 (C-2'); 131.0 (C-6')^d; 130.0 (C-3')^d; 129.4 (C-5')^d; 127.1 (C-1'); 90.8 (C-6); 88.5 (C-7); 83.9 (C-14); 83.9 (C-1); 82.5 (C-16); 77.4 (C-8); 69.5 (C-18); 64.5 (C-17); 58.2 (C-6-OCH₃)^c; 57.8 (C-14-OCH₃)^c; 56.3 (C-16-OCH₃); 55.7 (C-1-OCH₃); 52.3 (C-19); 50.9 (C-20); 50.3 (C-5)^a; 49.0 (C-11); 46.1 (C-10)^b; 43.2 (C-9)^a; 38.0 (C-13)^b; 37.6 (C-4); 37.0 (C-3''); 35.3 (C-2''); 33.6 (C-15); 32.0 (C-3); 28.7 (C-12); 26.0 (C-2); 16.4 (C-5''); 14.0 (C-21).

^a, ^b, ^c, ^d Zuordnung von Lit.³⁹ korrigiert

10-Hydroxymethyllycaconitin (2)

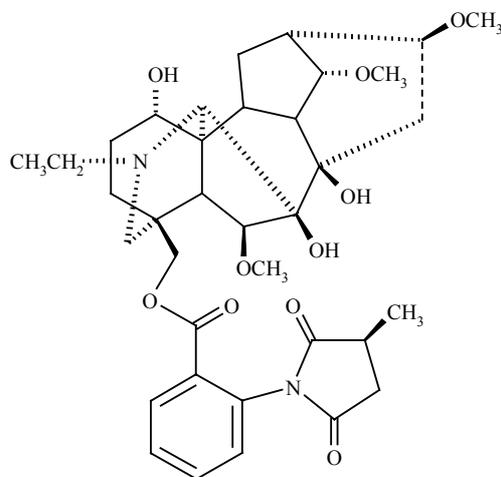


2

Aussehen:	weißer Feststoff
Summenformel:	$C_{37}H_{50}N_2O_{11}$
Schmelzpunkt:	Zersetzung ab 148 °C
Drehwinkel:	$[\alpha]_D^{20} = +51^\circ$ (c = 0.1, $CHCl_3$).
UV (MeOH):	λ_{max} [nm (log ϵ)] = 277 (3.43), 227 (4.01), 205 (4.32).
IR:	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3442, 2930, 1717, 1618, 1490, 1259, 1084.
FAB-MS:	m/z (%) = 699 [$M^+ + 1$] (100), 681 (30), 667 (32), 482 (5), 452 (8), 216 (16).
HRMS (CI):	m/z = 699.3492 (berechnet für $C_{37}H_{51}N_2O_{11}$: 699.3493).
1H -NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 8.04 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.0$ Hz, 1 H, H-6''); 7.68 (dt, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.0$ Hz, 1 H, H-4'); 7.54 (dt, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.0$ Hz, 1 H, H-5'); 7.27 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.0$ Hz, 1 H, H-3''); 4.20 (d, $J = 11.2$ Hz, 1 H, H-18b); 4.00 (d, $J = 11.2$ Hz, 1 H, H-18a); 4.12 (t, $J = 4.6$ Hz, 1 H, H-14); 3.91 (s, 1 H, H-6); 3.59 (t, $J = 7.8$ Hz, 1 H, H-1); 3.43 (s, 3 H, C-14-OCH ₃); 3.37 (s, 3 H, C-6-OCH ₃); 3.34 (s, 3 H, C-16-OCH ₃); 3.21 (s, 3 H, C-1-OCH ₃); 3.18 (t, $J = 8.0$ Hz, 1 H, H-16); 3.11 (m, 1 H, H-3''b); 3.09 (d, $J = 15.6$ Hz, 1 H, H-12b); 3.05 (m, 1 H, H-2''); 2.96 (m, 1 H, H-20b); 2.89 (d, $J = 4.6$ Hz, 1 H, H-9); 2.86 (br. s, 1 H, H-17); 2.82 (m, 1 H, H-20a); 2.70 (d, $J = 12.6$ Hz, 1 H, H-19b); 2.67 (dd, $J = 15.0$ Hz, $J = 8.0$ Hz, 1 H, H-15b); 2.53 (m, 1 H, H-3''a); 2.49 (dd, $J = 7.2$ Hz, $J = 4.8$ Hz, 1 H, H-13); 2.48 (d, $J = 12.6$ Hz, 1 H, H-19a); 2.19 (m, 1 H, H-2b); 2.12 (m, 1 H, H-2a); 1.99 (br. s, 1 H, H-5); 1.75 (m, 1 H, H-3b); 1.72 (dd, $J = 15.0$ Hz, $J = 8.0$ Hz, 1 H, H-15a); 1.70 (dd, $J = 15.6$ Hz, $J = 8.0$ Hz, 1 H, H-12a); 1.54 (m, 1 H, H-3a); 1.45 (m, 3 H, H-5''); 1.07 (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, H-21).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 180.0 (C-4''); 176.0 (C-1''); 164.2 (C=O); 133.7 (C-4'); 132.9 (C-2'); 131.1 (C-6'); 130.0 (C-3'); 129.5 (C-5'); 127.1 (C-1'); 91.4 (C-6); 87.8 (C-7); 82.4 (C-14); 82.0 (C-16); 81.2 (C-10); 77.2 (C-1); 75.8 (C-8); 69.3 (C-18); 64.8 (C-17); 58.5 (C-6-OCH₃); 57.9 (C-14-OCH₃); 56.3 (C-16-OCH₃); 55.6 (C-1-OCH₃); 54.5 (C-11); 53.5 (C-9); 52.4 (C-19); 51.0 (C-20); 46.0 (C-5); 39.7 (C-12); 38.2 (C-13); 37.3 (C-4); 37.0 (C-3''); 35.2 (C-2''); 34.8 (C-15); 31.7 (C-3); 26.0 (C-2); 16.2 (C-5''); 14.0 (C-21).

Grandiflorin (3)



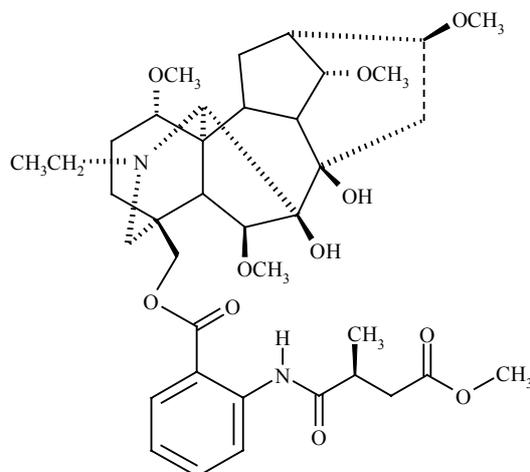
3

Aussehen:	weißer Feststoff
Summenformel:	$C_{36}H_{48}N_2O_{10}$
UV (MeOH):	λ_{\max} [nm (log ϵ)] = 276 (3.52), 227 (4.08), 205 (4.34).
EI-MS:	m/z (%) = 668 [M^+] (6), 651 (32), 635 (96), 480 (12), 450 (28), 418 (40), 278 (52), 216 (100), 188 (35).
HRMS (EI):	668.3299 (berechnet für $C_{36}H_{48}N_2O_{10}$: 668.3309).
1H -NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 8.02 (d, J = 8.5 Hz, 1 H, H-6 $'$); 7.70 (dt, J = 7.8 Hz, J = 1.5 Hz, 1 H, H-4 $'$) ^a ; 7.55 (dt, J = 7.8 Hz, 1.5 Hz, 1 H, H-5 $'$) ^a ; 7.24 (d, J = 8.5 Hz, 1 H, H-3 $'$); 4.18 (d, J = 10.4 Hz, 1 H, H-18b); 4.07 (d, J = 10.4 Hz, 1 H, H-18a); 3.99 (s, 1 H, H-6); 3.75 (br s, 1 H, H-1); 3.63 (t, J = 4.7 Hz, 1 H, H-14); 3.41 (s, 3 H, C-14-OCH ₃) ^b ; 3.37 (s, 3 H, C-16-OCH ₃) ^b ; 3.33 (m, 1 H, H-16); 3.28 (s, 3 H, C-6-OCH ₃) ^b ; 3.08 (m, 1 H, H-2 $'$); 3.00 (m, 1 H, H-20b); 2.98 (m, 1 H, H-9); 2.85 (br. s, 1 H, H-17); 2.85 (m, 1 H, H-20a); 2.62 (m, 1 H, H-15b); 2.57 (d, J = 11.2, 2 H, H-19); 2.50 (m, 2 H, H-3 $''$); 2.42 (dd, J = 6.6 Hz, J = 4.1 Hz, 1 H, H-13); 2.08 (m, 1 H, H-12b); 2.04 (m, 1 H, H-10); 2.00 (m, 1 H, H-3b); 1.91 (br. s, 1 H, H-5); 1.83 (m, 1 H, H-12a); 1.80 (m, 1 H, H-3a); 1.78 (m, 1 H, H-15a); 1.68 (m, 1 H, H-2b); 1.55 (m, 1 H, H-2a); 1.47 (m, 3 H, H-5 $''$); 1.12 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, H-21).

^{13}C -NMR (CDCl_3): δ (ppm) = 179.6 (C-4 $^{\prime}$); 175.8 (C-1 $^{\prime}$); 164.2 (C=O); 133.7 (C-4 $^{\prime}$); 133.1 (C-2 $^{\prime}$); 130.8 (C-6 $^{\prime}$)^a; 130.1 (C-3 $^{\prime}$)^a; 129.4 (C-5 $^{\prime}$)^a; 126.9 (C-1 $^{\prime}$); 90.7 (C-6); 87.8 (C-7); 84.4 (C-14); 82.8 (C-16); 78.4 (C-8); 72.4 (C-1); 68.6 (C-18); 65.8 (C-17); 57.9 (C-6-OCH₃)^b; 57.7 (C-14-OCH₃)^b; 56.9 (C-19); 56.3 (C-16-OCH₃); 50.2 (C-20); 49.5 (C-11); 45.0 (C-5); 44.0 (C-10); 43.3 (C-9); 37.6 (C-13); 36.9 (C-3 $^{\prime}$); 36.6 (C-4); 35.3 (C-2 $^{\prime}$); 33.5 (C-15); 30.4 (C-3)^c; 29.1 (C-2)^c; 26.9 (C-12)^c; 16.3 (C-5 $^{\prime}$); 13.5 (C-21).

^a, ^b, ^c Zuordnung von Lit.⁸⁶ korrigiert

Delavain A (4a)



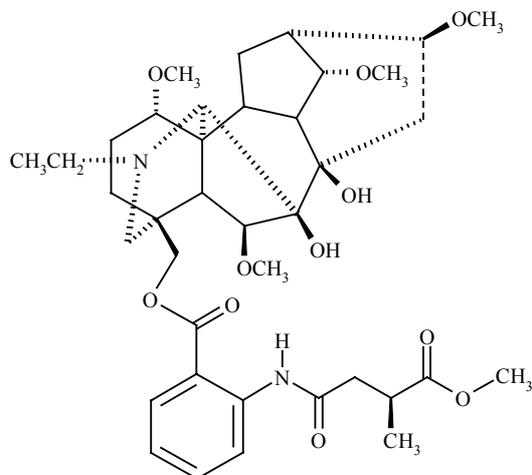
4a

Aussehen:	weißer Feststoff
Summenformel:	$C_{38}H_{54}N_2O_{11}$
Drehwinkel:	$[\alpha]_D^{20} = +25.9^\circ$ (Gemisch Delavain A/B, $c = 1.70$, $CHCl_3$; Lit. ⁴⁴ : $[\alpha]_D^{29} = +36.2^\circ$, $c = 1.7$, $CHCl_3$; Delavain A: $[\alpha]_D^{29} = +39.4^\circ$, $c = 0.8$, $CHCl_3$).
UV (MeOH):	λ_{max} [nm (log ϵ)] = 308 (3.63), 252 (4.03), 223 (4.31).
IR:	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3454, 2942, 2824, 1686, 1449, 1258, 1088.
ESI-MS:	m/z (%) = 715 [$M^+ + 1$] (100), 248 (42), 216 (82) (Gemisch Delavain A/B).
HRMS (ESI):	$m/z = 715.3848$ [$M^+ + 1$] (berechnet für $C_{38}H_{55}N_2O_{11}$: 715.3806).
1H -NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 11.20 (br. s, N-H); 8.72 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H, H-3'); 7.97 (d, $J = 7.8$ Hz, 1 H, H-6'); 7.56 (t, $J = 7.3$ Hz, 1 H, H-4'); 7.10 (t, $J = 7.3$ Hz, 1 H, H-5'); 4.18 (d, $J = 3.3$ Hz, 2 H, H-18); 3.97 (s, 1 H, H-6); 3.91 (s, OH); 3.68 (s, 3 H, C-4''-OCH ₃); 3.61 (t, $J = 4.6$ Hz, 1 H, H-14); 3.42 (s, 3 H, C-6-OCH ₃); 3.38 (s, 3 H, C-14-OCH ₃); 3.35 (s, 3 H, C-16-OCH ₃); 3.27 (s, 3 H, C-1-OCH ₃); 3.23 (t, $J = 8.0$ Hz, 1 H, H-16); 3.08 (m, 1 H, H-9); 3.04 - 2.80 (m, 5 H, H-20a/b, H-3''b, H-2'', H-1); 2.96 (br. s, 1 H, H-17); 2.75 (d, $J = 11.7$ Hz, 1 H, H-19b); 2.61 (dd, $J = 15.0$ Hz, $J = 8.9$ Hz, 1 H, H-15b); 2.45 (m, 3 H, H-19a, H-12b, H-3''a); 2.34 (dd, $J = 7.1$ Hz, $J = 4.7$ Hz, 1 H, H-13); 2.18 (m, 1 H, H-2b); 2.11 (m, 1 H, H-2a); 1.98 (m, 1 H, H-10); 1.86 (m, 1 H, H-12a); 1.79 (m, 1 H, H-3b); 1.74 (br. s, 1 H, H-5); 1.68 (dd, $J = 15.0$ Hz, $J = 6.7$ Hz, 1 H, H-15a); 1.55 (m, 1 H, H-3a); 1.33 (d, $J = 7.1$ Hz, 3 H, H-5''); 1.07 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, H-21).

^{13}C -NMR (CDCl_3): δ (ppm) = 174.0 (C-1'')^a; 172.4 (C-4'')^a; 167.9 (C=O); 141.8 (C-2'); 134.8 (C-4'); 130.2 (C-6'); 122.5 (C-5'); 120.6 (C-3'); 114.6 (C-1'); 90.9 (C-6); 88.4 (C-7); 83.8 (C-14); 83.8 (C-1); 82.4 (C-16); 77.3 (C-8); 69.6 (C-18); 64.4 (C-17); 58.0 (C-14-OCH₃); 57.8 (C-6-OCH₃); 56.2 (C-16-OCH₃); 55.8 (C-1-OCH₃); 52.3 (C-19); 51.7 (C-4''-OCH₃); 50.9 (C-20); 50.3 (C-5)^b; 49.0 (C-11); 46.0 (C-10)^c; 43.2 (C-9)^b; 39.0 (C-2''); 38.1 (C-13)^c; 37.5 (C-4); 37.5 (C-3''); 33.6 (C-15); 32.1 (C-3); 28.6 (C-12); 26.0 (C-2); 17.9 (C-5''); 14.0 (C-21).

^a, ^b, ^c Zuordnung von Lit.⁴⁴ korrigiert

Delavain B (4b)



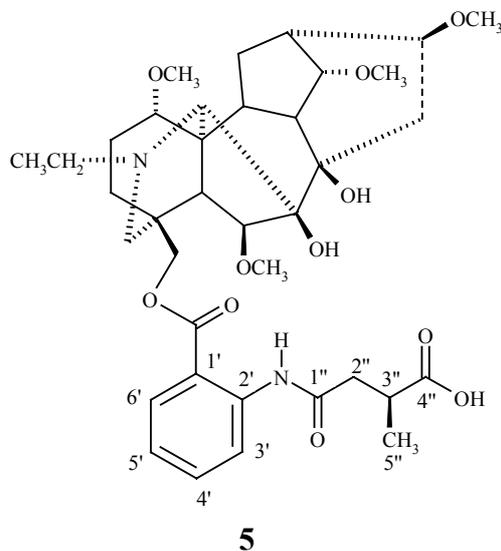
4b

Aussehen:	weißer Feststoff
Summenformel:	$C_{38}H_{54}N_2O_{11}$
Drehwinkel:	$[\alpha]_D^{20} = +25.9^\circ$ (Gemisch Delavain A/B, $c = 1.70$, $CHCl_3$; Lit. ⁴⁴ : $[\alpha]_D^{29} = +36.2^\circ$, $c = 1.7$, $CHCl_3$; Delavain B: $[\alpha]_D^{29} = +31.7^\circ$, $c = 0.8$, $CHCl_3$).
UV (MeOH):	λ_{max} [nm (log ϵ)] = 308 (3.63), 252 (4.03), 223 (4.31).
IR:	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3454, 2942, 2824, 1686, 1449, 1258, 1088.
ESI-MS:	m/z (%) = 715 [$M^+ + 1$] (100), 248 (42), 216 (82) (Gemisch Delavain A/B).
HRMS (ESI):	$m/z = 715.3848$ [$M^+ + 1$] (berechnet für $C_{38}H_{55}N_2O_{11}$: 715.3806).
1H -NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 11.07 (br. s, N-H); 8.72 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H, H-3'); 7.97 (d, $J = 7.8$ Hz, 1 H, H-6'); 7.56 (t, $J = 7.3$ Hz, 1 H, H-4'); 7.10 (t, $J = 7.3$ Hz, 1 H, H-5'); 4.18 (d, $J = 3.3$ Hz, 2 H, H-18); 3.97 (s, 1 H, H-6); 3.91 (s, OH); 3.71 (s, 3 H, C-4''-OCH ₃); 3.61 (t, $J = 4.6$ Hz, 1 H, H-14); 3.42 (s, 3 H, C-6-OCH ₃); 3.38 (s, 3 H, C-14-OCH ₃); 3.35 (s, 3 H, C-16-OCH ₃); 3.27 (s, 3 H, C-1-OCH ₃); 3.23 (t, $J = 8.0$ Hz, 1 H, H-16); 3.08 (m, 1 H, H-9); 3.04 - 2.80 (m, 5 H, H-20a/b, H-3'', H-2''b, H-1); 2.96 (br. s, 1 H, H-17); 2.75 (d, $J = 11.7$ Hz, 1 H, H-19b); 2.61 (dd, $J = 15.0$ Hz, $J = 8.9$ Hz, 1 H, H-15b); 2.54 (m, 1 H, H-2''a); 2.45 (m, 2 H, H-19a, H-12b); 2.34 (dd, $J = 7.1$ Hz, $J = 4.7$ Hz, 1 H, H-13); 2.18 (m, 1 H, H-2b); 2.11 (m, 1 H, H-2a); 1.98 (m, 1 H, H-10); 1.86 (m, 1 H, H-12a); 1.79 (m, 1 H, H-3b); 1.74 (br. s, 1 H, H-5); 1.68 (dd, $J = 15.0$ Hz, $J = 6.7$ Hz, 1 H, H-15a); 1.55 (m, 1 H, H-3a); 1.27 (d, $J = 7.1$ Hz, 3 H, H-5''); 1.07 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, H-21).

^{13}C -NMR (CDCl_3): δ (ppm) = 175.9 (C-4''); 169.9 (C-1''); 167.9 (C=O); 141.6 (C-2'); 134.8 (C-4'); 130.2 (C-6'); 122.5 (C-5'); 120.6 (C-3'); 114.5 (C-1'); 90.9 (C-6); 88.4 (C-7); 83.8 (C-14); 83.8 (C-1); 82.4 (C-16); 77.3 (C-8); 69.6 (C-18); 64.4 (C-17); 58.0 (C-14-OCH₃); 57.8 (C-6-OCH₃); 56.2 (C-16-OCH₃); 55.8 (C-1-OCH₃); 52.3 (C-19); 51.9 (C-4''-OCH₃); 50.9 (C-20); 50.3 (C-5)^a; 49.0 (C-11); 46.0 (C-10)^b; 43.2 (C-9)^a; 41.3 (C-2''); 38.1 (C-13)^b; 37.5 (C-4); 35.7 (C-3''); 33.6 (C-15); 32.1 (C-3); 28.6 (C-12); 26.0 (C-2); 17.0 (C-5''); 14.0 (C-21).

^a, ^b Zuordnung von Lit.⁴⁴ korrigiert

Delavain B freie Säure (5)

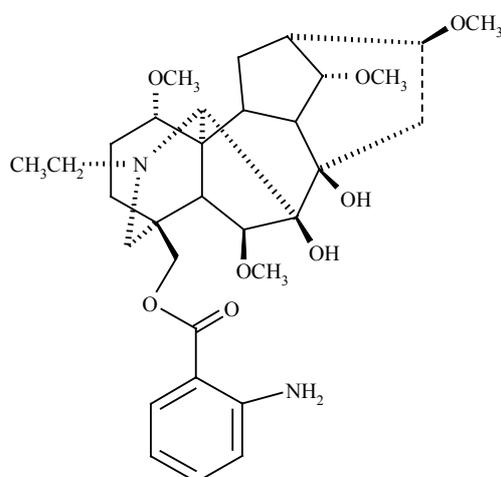


Aussehen:	weißer Feststoff
Summenformel:	$C_{37}H_{52}N_2O_{11}$
Schmelzpunkt:	78 °C
Drehwinkel:	$[\alpha]_D^{20} = +26.7^\circ$ ($c = 1.04$, $CHCl_3$).
UV (MeOH):	λ_{max} [nm (log ϵ)] = 309 (3.78), 253 (4.16), 223 (4.43).
IR:	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3457, 2938, 2817, 1686, 1588, 1525, 1448, 1253, 1087.
FAB-MS:	m/z (%) = 701 [$M^+ + 1$] (100), 683 (75), 669 (64), 636 (30).
HRMS (FAB):	$m/z = 701.3688$ [$M^+ + 1$] (berechnet für $C_{37}H_{53}N_2O_{11}$: 701.3649).
1H -NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 11.06 (br. s, N-H); 8.69 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H, H-3'); 7.96 (d, $J = 8.0$ Hz, 1 H, H-6'); 7.55 (t, $J = 7.3$ Hz, 1 H, H-4'); 7.11 (t, $J = 7.3$ Hz, 1 H, H-5'); 4.18 (d, $J = 8.1$ Hz, 2 H, H-18); 3.92 (s, 1 H, H-6); 3.61 (t, $J = 4.6$ Hz, 1 H, H-14); 3.41 (s, 3 H, C-6-OCH ₃); 3.38 (s, 3 H, C-14-OCH ₃); 3.34 (s, 3 H, C-16-OCH ₃); 3.26 (s, 3 H, C-1-OCH ₃); 3.23 (t, $J = 8.0$ Hz, 1 H, H-16); 3.08 (m, 1 H, H-9); 3.04 - 2.80 (m, 5 H, H-20a/b, H-3'', H-2''b, H-1); 2.96 (br. s, 1 H, H-17); 2.77 (d, $J = 11.7$ Hz, 1 H, H-19b); 2.61 (dd, $J = 15.0$ Hz, $J = 8.9$ Hz, 1 H, H-15b); 2.54 (m, 1 H, H-2''a); 2.48 (m, 2 H, H-19a, H-12b); 2.34 (dd, $J = 7.1$ Hz, $J = 4.7$ Hz, 1 H, H-13); 2.18 (m, 1 H, H-2b); 2.08 (m, 1 H, H-2a); 1.98 (m, 1 H, H-10); 1.86 (m, 1 H, H-12a); 1.80 (m, 1 H, H-3b); 1.73 (br. s, 1 H, H-5); 1.68 (dd, $J = 15.0$ Hz, $J = 6.7$ Hz, 1 H, H-15a); 1.54 (m, 1 H, H-3a); 1.29 (m, 3 H, H-5''); 1.07 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, H-21).

^{13}C -NMR (CDCl_3): δ (ppm) = 179.2 (C-4''); 170.3 (C-1''); 167.9 (C=O); 141.4 (C-2'); 134.8 (C-4'); 130.2 (C-6'); 122.6 (C-5'); 120.7 (C-3'); 114.7 (C-1'); 90.8 (C-6); 88.4 (C-7); 83.8 (C-14); 83.8 (C-1); 82.5 (C-16); 77.3 (C-8); 69.8 (C-18); 64.4 (C-17); 58.0 (C-14-OCH₃); 57.7 (C-6-OCH₃); 56.2 (C-16-OCH₃); 55.7 (C-1-OCH₃); 52.3 (C-19); 50.9 (C-20); 50.4 (C-5)^a; 49.0 (C-11); 46.0 (C-10)^b; 43.2 (C-9)^a; 41.3 (C-2''); 38.1 (C-13)^b; 37.5 (C-4); 35.9 (C-3''); 33.6 (C-15); 32.0 (C-3); 28.6 (C-12); 25.9 (C-2); 17.0 (C-5''); 13.9 (C-21).

^a, ^b Zuordnung von Lit.⁸⁷ korrigiert

Anthranoyllycoctonin (6)



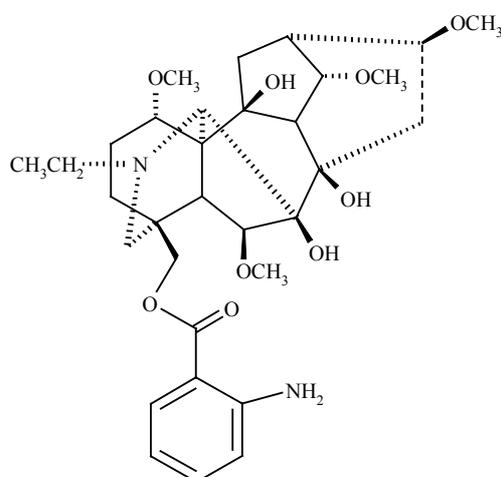
6

Aussehen:	weißer Feststoff
Summenformel:	$C_{32}H_{46}N_2O_8$
Schmelzpunkt:	128 °C (Lit. ⁸⁸ : 130 - 133 °C).
Drehwinkel:	$[\alpha]_D^{20} = + 53.5^\circ$ (c = 0.5, $CHCl_3$; Lit. ⁸⁸ : $[\alpha]_D^{24} = + 46.3^\circ$, c = 0.55, EtOH).
UV (MeOH):	λ_{max} [nm (log ϵ)] = 340 (3.62), 248 (3.81), 219 (4.27).
IR:	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3464, 2928, 2820, 1690, 1456, 1243, 1088.
FAB-MS:	m/z (%) = 587 [$M^+ + 1$] (70), 570 (50), 555 (61), 537 (6), 434 (6).
HRMS (FAB):	m/z = 587.3303 [$M^+ + 1$] (berechnet für $C_{32}H_{47}N_2O_8$: 587.3332).
1H -NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 7.80 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1 H, H-6'); 7.29 (dt, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1 H, H-4'); 6.66 (t, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 2 H, H-5', H-3'); 5.74 (br. s, N-H); 4.13 (br. s, 2 H, H-18); 4.00 (br. s, 8-OH); 3.91 (s, 1 H, H-6); 3.61 (t, $J = 4.7$ Hz, 1 H, H-14); 3.41 (s, 3 H, C-6-OCH ₃); 3.37 (s, 3 H, C-14-OCH ₃); 3.34 (s, 3 H, C-16-OCH ₃); 3.26 (s, 3 H, C-1-OCH ₃); 3.22 (t, $J = 8.0$ Hz, 1 H, H-16); 3.08 (dd, $J = 7.0$ Hz, $J = 4.7$ Hz, 1 H, H-9); 3.00 (dd, $J = 9.9$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1 H, H-1); 2.94 (br. s, 1 H, H-17); 2.93 (m, 1 H, H-20b); 2.82 (m, 1 H, H-20a); 2.73 (d, $J = 12.0$ Hz, 1 H, H-19b); 2.61 (dd, $J = 15.3$ Hz, $J = 9.1$ Hz, 1 H, H-15b); 2.45 (m, 2 H, H-19a, H-12b); 2.33 (dd, $J = 7.2$ Hz, $J = 4.7$ Hz, 1 H, H-13); 2.17 (m, 1 H, H-2b); 2.08 (m, 1 H, H-2a); 1.96 (ddd, $J = 11.7$ Hz, $J = 7.0$ Hz, $J = 5.4$ Hz, 1 H, H-10); 1.84 (ddd, $J = 14.6$ Hz, $J = 11.7$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1 H, H-12a); 1.78 (m, 1 H, H-3b); 1.76 (br. s, 1 H, H-5); 1.68 (dd, $J = 15.3$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1 H, H-15a); 1.58 (m, 1 H, H-3a); 1.06 (t, $J = 7.3$ Hz, 3 H, H-21).

^{13}C -NMR (CDCl_3): δ (ppm) = 167.8 (C=O); 150.7 (C-2'); 134.3 (C-4'); 130.7 (C-6')^d; 116.8 (C-3'); 116.3 (C-5'); 110.3 (C-1'); 90.9 (C-6); 88.5 (C-7); 84.0 (C-14); 83.9 (C-1); 82.6 (C-16); 77.5 (C-8); 68.6 (C-18); 64.5 (C-17); 58.0 (C-6-OCH₃)^c; 57.9 (C-14-OCH₃)^c; 56.3 (C-16-OCH₃); 55.8 (C-1-OCH₃); 52.5 (C-19); 51.0 (C-20); 50.4 (C-5)^a; 49.1 (C-11); 46.1 (C-10)^b; 43.2 (C-9)^a; 38.2 (C-13)^b; 37.6 (C-4); 33.6 (C-15); 32.2 (C-3); 29.0 (C-12); 26.1 (C-2); 14.0 (C-21).

^a, ^b, ^c Zuordnung von Lit.⁸⁹ korrigiert

10-Hydroxyanthranoyllycoctonin (7)

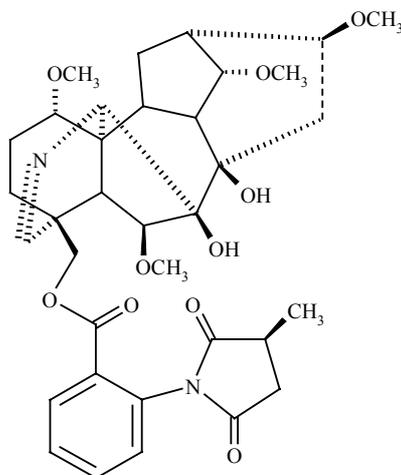


7

Aussehen:	weißer Feststoff
Summenformel:	$C_{32}H_{46}N_2O_9$
Drehwinkel:	$[\alpha]_D^{20} = +63.9^\circ$ ($c = 0.10$, $CHCl_3$).
UV (MeOH):	λ_{max} [nm (log ϵ)] = 340 (3.87), 248 (4.06), 219 (4.54).
IR:	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3461, 2927, 2823, 1688, 1455, 1243, 1088.
FAB-MS:	m/z (%) = 603 [$M^+ + 1$] (17).
HRMS (FAB):	$m/z = 603.3321$ [$M^+ + 1$] (berechnet für $C_{32}H_{47}N_2O_9$: 603.3282).
1H -NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 7.80 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1 H, H-6'); 7.29 (dt, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1 H, H-4'); 6.66 (t, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 2 H, H-5', H-3'); 5.73 (br. s, N-H); 4.12 (br. s, 2 H, H-18); 4.10 (t, $J = 4.7$ Hz, 1 H, H-14); 4.02 (br. s, 8-OH); 3.97 (br. s, 1 H, H-6); 3.61 (t, $J = 8.4$ Hz, 1 H, H-1); 3.44 (s, 3 H, C-14-OCH ₃); 3.38 (s, 3 H, C-6-OCH ₃); 3.34 (s, 3 H, C-16-OCH ₃); 3.27 (s, 3 H, C-1-OCH ₃); 3.18 (t, $J = 8.0$ Hz, 1 H, H-16); 3.13 (d, $J = 16.0$ Hz, 1 H, H-12b); 2.95 (m, 1 H, H-20b); 2.91 (d, $J = 4.7$ Hz, 1 H, H-9); 2.83 (br. s, 1 H, H-17); 2.82 (m, 1 H, H-20a); 2.75 (d, $J = 11.3$ Hz, 1 H, H-19b); 2.65 (dd, $J = 15.2$ Hz, $J = 9.2$ Hz, 1 H, H-15b); 2.53 (d, $J = 11.3$ Hz, 1 H, H-19a); 2.50 (dd, $J = 7.2$ Hz, $J = 4.7$ Hz, 1 H, H-13); 2.18 (m, 1 H, H-2b); 2.11 (m, 1 H, H-2a); 2.04 (br. s, 1 H, H-5); 1.73 (m, 3 H, H-15a, H-12a, H-3b); 1.58 (m, 1 H, H-3a); 1.07 (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, H-21).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 167.8 (C=O); 150.7 (C-2'); 134.3 (C-4'); 130.7 (C-6'); 116.8 (C-3'); 116.4 (C-5'); 110.3 (C-1'); 91.4 (C-6); 87.7 (C-7); 82.4 (C-14); 82.0 (C-16); 81.3 (C-10); 77.2 (C-1); 75.7 (C-8); 68.7 (C-18); 64.7 (C-17); 58.2 (C-6-OCH₃); 57.9 (C-14-OCH₃); 56.2 (C-16-OCH₃); 55.5 (C-1-OCH₃); 54.6 (C-11); 53.5 (C-9); 52.5 (C-19); 50.9 (C-20); 46.1 (C-5); 39.8 (C-12); 38.4 (C-13); 37.3 (C-4); 34.6 (C-15); 31.8 (C-3); 26.0 (C-2); 13.9 (C-21).

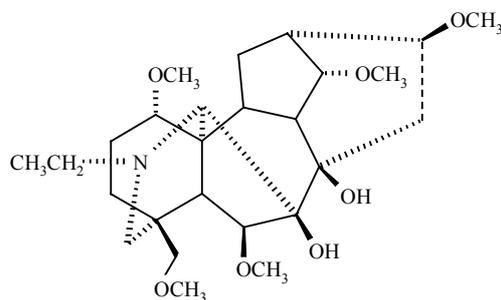
Anhweidelphinin (8)



8

Aussehen:	weißer Feststoff
Summenformel:	$C_{35}H_{44}N_2O_{10}$
Schmelzpunkt:	138 °C (Lit. ⁹⁰ : 138 – 140 °C).
Drehwinkel:	$[\alpha]_D^{20} = +11.0^\circ$ (c = 0.10, $CHCl_3$).
UV (MeOH):	λ_{max} [nm (log ϵ)] = 263 (4.15), 206 (4.41).
IR:	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3447, 2935, 2823, 1715, 1455, 1391, 1259, 1088.
FAB-MS:	m/z (%) = 653 [$M^+ + 1$] (9), 216 (13).
HRMS (FAB):	m/z = 653.3074 [$M^+ + 1$] (berechnet für $C_{35}H_{45}N_2O_{10}$: 653.3074).
1H -NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 8.05 (d, $J = 7.8$ Hz, 1 H, H-6''); 7.71 (dt, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.5$ Hz, 1 H, H-4''); 7.55 (dt, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.5$ Hz, 1 H, H-5''); 7.49 (br. s, 1 H, H-19); 7.29 (d, $J = 7.8$ Hz, 1 H, H-3''); 4.38 (br. s, 2 H, H-18); 3.88 (br. s, 1 H, H-17); 3.78 (s, 1 H, H-6); 3.67 (t, $J = 4.4$ Hz, 1 H, H-14); 3.43 (s, 3 H, C-14-OCH ₃); 3.36 (s, 3 H, C-16-OCH ₃); 3.32 (s, 3 H, C-6-OCH ₃); 3.29 (m, 1 H, H-16); 3.21 (m, 1 H, H-1); 3.18 (s, 3 H, C-1-OCH ₃); 3.10 (m, 2 H, H-3''b, H-2''); 2.87 (m, 1 H, H-15b); 2.86 (br. s, 1 H, H-9); 2.54 (m, 1 H, H-3''a); 2.05 (m, 1 H, H-12b); 2.03 (m, 1 H, H-10); 1.88 (br. s, 1 H, H-5); 1.78 (m, 1 H, H-15a); 1.55-1.75 (m, 4 H, H-2, H-3); 1.55 (m, 1 H, H-12a); 1.46 (m, 3 H, H-5'').
^{13}C -NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 179.8 (C-4''); 175.8 (C-1''); 164.0 (C=O); 163.0 (C-19); 133.9 (C-4'); 133.2 (C-2''); 130.8 (C-6'); 130.1 (C-3'); 129.4 (C-5''); 127.0 (C-1'); 91.6 (C-6); 86.5 (C-7); 84.2 (C-14); 82.2 (C-1); 81.4 (C-16); 77.3 (C-8); 66.7 (C-18); 64.5 (C-17); 58.7 (C-6-OCH ₃); 57.8 (C-14-OCH ₃); 56.4 (C-16-OCH ₃); 56.3 (C-1-OCH ₃); 50.5 (C-11); 46.9 (C-4); 45.6 (C-5); 43.5 (C-9); 43.1 (C-10); 38.4 (C-13); 37.0 (C-3''); 35.2 (C-2''); 33.1 (C-15); 30.3 (C-12); 24.7 (C-3); 21.0 (C-2); 16.3 (C-5'').

Delphatin (9)

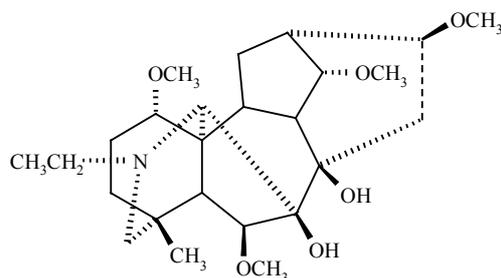


9

- Aussehen: weißer Feststoff
- Summenformel: $C_{26}H_{43}NO_7$
- Schmelzpunkt: 103 °C (Lit.⁹¹: 106 °C).
- Drehwinkel: $[\alpha]_D^{20} = + 28.8^\circ$ (0.12, $CHCl_3$; Lit.⁸⁸: $[\alpha]_D^{29} = + 38.2^\circ$, $c = 2.95$, $CHCl_3$).
- IR: $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3434, 2940, 2825, 1464, 1397, 1200, 1091.
- FAB-MS: m/z (%) = 482 [$M^+ + 1$] (62), 480 (92), 464 (89), 450 (100), 433 (13), 418 (10).
- HRMS (FAB): $m/z = 482.3145$ [$M^+ + 1$] (berechnet für $C_{26}H_{44}NO_7$: 482.3118).
- 1H -NMR ($CDCl_3$): δ (ppm) = 4.10 (br. s, 8-OH); 3.86 (s, 1 H, H-6); 3.59 (t, $J = 4.5$ Hz, 1 H, H-14); 3.41 (s, 3 H, C-14-OCH₃); 3.40 (s, 3 H, C-6-OCH₃); 3.39 (1 H, verdeckt unter OCH₃-Signalen, H-18b); 3.33 (s, 3 H, C-16-OCH₃); 3.29 (s, 3 H, C-18-OCH₃); 3.24 (s, 3 H, C-1-OCH₃); 3.21 (t, $J = 8.0$ Hz, 1 H, H-16); 3.05 (t, $J = 5.6$ Hz, 1 H, H-9); 2.95 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H, H-18a); 2.90 (m, 2 H, H-20b, H-1); 2.88 (br. s, 1 H, H-17); 2.80 (m, 1 H, H-20a); 2.61 (dd, $J = 15.5$ Hz, $J = 9.2$ Hz, 1 H, H-15b); 2.59 (d, $J = 11.7$ Hz, 1 H, H-19b); 2.43 (dd, $J = 14.0$ Hz, $J = 4.3$ Hz, 1 H, H-12b); 2.32 (dd, $J = 6.9$ Hz, $J = 4.5$ Hz, 1 H, H-13); 2.25 (d, $J = 11.7$ Hz, 1 H, H-19a); 2.13 (m, 1 H, H-2b); 2.05 (m, 1 H, H-2a); 1.86 (m, 2 H, H-12a, H-10); 1.70 (br. s, 1 H, H-5); 1.66 (dd, $J = 15.5$ Hz, $J = 6.9$ Hz, 1 H, H-15a); 1.60 (m, 1 H, H-3b); 1.56 (m, 1 H, H-3a); 1.03 (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, H-21).
- ^{13}C -NMR ($CDCl_3$): δ (ppm) = 90.6 (C-6); 88.5 (C-7); 84.4 (C-1); 84.0 (C-14); 82.6 (C-16); 78.1 (C-18); 77.5 (C-8); 64.8 (C-17); 59.0 (C-18-OCH₃); 57.8 (C-14-OCH₃); 57.3 (C-6-OCH₃); 56.3 (C-16-OCH₃); 55.7 (C-1-OCH₃); 52.8 (C-19); 51.1 (C-20); 49.8 (C-5)^a; 48.9 (C-11); 46.1 (C-10)^b; 43.3 (C-9)^a; 38.2 (C-13)^b; 38.1 (C-4); 33.5 (C-15); 32.4 (C-3); 28.8 (C-12); 26.3 (C-2); 14.1 (C-21).

^a, ^b Zuordnung von Lit.⁸⁹ korrigiert

Deoxylycoctonin (10)

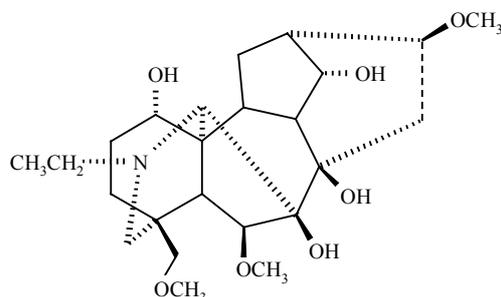


10

Aussehen:	weißer Feststoff
Summenformel:	$C_{25}H_{41}NO_6$
Schmelzpunkt:	81 °C (Lit. ⁹² : 81.5 – 84.5 °C).
Drehwinkel:	$[\alpha]_D^{20} = +28.3^\circ$ (c = 0.30, $CHCl_3$; Lit. ⁹² : $[\alpha]_D = +50^\circ$, EtOH).
IR:	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3445, 2961, 1918, 2849, 1457, 1262, 1092.
ESI-MS:	m/z (%) = 452 [$M^+ + 1$] (100), 334 (25), 285 (10).
HRMS (ESI):	m/z = 452.2984 [$M^+ + 1$] (berechnet für $C_{25}H_{42}NO_6$: 452.3012).
¹ H-NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 3.86 (s, 1 H, H-6); 3.59 (t, $J = 5.0$ Hz, 1 H, H-14); 3.41 (s, 3 H, C-14- OCH_3); 3.40 (s, 3 H, C-6- OCH_3); 3.33 (s, 3 H, C-16- OCH_3); 3.23 (s, 3 H, C-1- OCH_3); 3.22 (m, 1 H, H-16); 3.05 (m, 1 H, H-9); 2.92 (m, 2 H, H-1, H-20b); 2.86 (br. s, 1 H, H-17); 2.78 (m, 1 H, H-20a); 2.61 (m, 2 H, H-19b, H-15b); 2.45 (m, 1 H, H-12b); 2.38 (dd, $J = 11.9$ Hz, $J = 2.4$ Hz, 1 H, H-19a); 2.30 (m, 1 H, H-13); 2.14 (m, 1 H, H-2b); 1.97 (m, 1 H, H-2a); 1.84 (m, 2 H, H-10, H-12a); 1.66 (m, 1 H, H-15a); 1.61 (m, 1 H, H-3b); 1.35 (br. s, 1 H, H-5); 1.24 (m, 1 H, H-3a); 1.03 (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, H-21); 0.97 (s, 3 H, H-18).
¹³ C-NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 91.3 (C-6); 88.6 (C-7); 84.6 (C-1) ^a ; 84.0 (C-14); 82.6 (C-16) ^a ; 77.6 (C-8); 64.5 (C-17); 58.2 (C-6- OCH_3) ^b ; 57.8 (C-14- OCH_3) ^b ; 56.5 (C-19); 56.2 (C-16- OCH_3); 55.8 (C-1- OCH_3) ^b ; 55.1 (C-5); 51.0 (C-20); 49.2 (C-11); 46.1 (C-10); 43.3 (C-9); 38.2 (C-13); 37.4 (C-3); 34.0 (C-4); 33.6 (C-15); 28.8 (C-12); 26.8 (C-18); 26.7 (C-2); 14.2 (C-21).

^a, ^b Zuordnung von Lit.⁹³ korrigiert

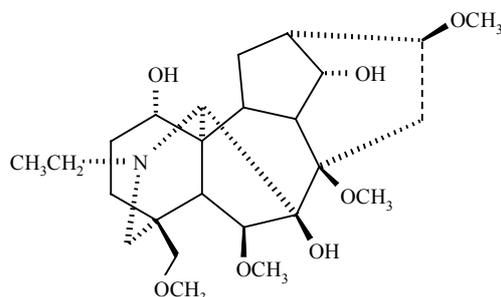
Delcosin (11)



11

Aussehen:	weiße Kristalle
Summenformel:	$C_{24}H_{39}NO_7$
Schmelzpunkt:	205 °C (Lit. ⁹⁴ : 203 - 204°C).
Drehwinkel:	$[\alpha]_D^{20} = +65.8^\circ$ ($c = 0.66$, $CHCl_3$; Lit. ⁹⁴ : $[\alpha]_D = +53.6^\circ$, $CHCl_3$).
IR:	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3517, 3472, 3353, 2948, 2864, 1110, 1082.
ESI-MS:	m/z (%) = 454 [$M^+ + 1$] (55), 246 (6).
HRMS (ESI):	$m/z = 454.2814$ [$M^+ + 1$] (berechnet für $C_{24}H_{40}NO_7$: 454.2805).
¹ H-NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 4.11 (dd, $J = 10.0$ Hz, $J = 4.7$ Hz, 1 H, H-14); 4.02 (s, 1 H, H-6); 3.96 (br. s, OH-8); 3.67 (br. s, 1 H, H-1); 3.39 (d, $J = 8.9$ Hz, 1 H, H-18b); 3.37 (m, 1 H, H-16); 3.37 (s, 3 H, C-16-OCH ₃); 3.36 (s, 3 H, C-6-OCH ₃); 3.33 (s, 3 H, C-18-OCH ₃); 3.28 (s, 7-OH); 3.01 (d, $J = 8.9$ Hz, 1 H, H-18a); 2.95 (m, 2 H, H-20b, H-9); 2.85 (br. s, 1 H, H-17); 2.83 (m, 1 H, H-20a); 2.76 (dd, $J = 16.1$ Hz, $J = 9.3$ Hz, 1 H, H-15b); 2.44 (s, 2 H, H-19); 2.36 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 4.7$ Hz, 1 H, H-13); 2.08 (ddd, $J = 14.4$ Hz, $J = 11.5$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1 H, H-12b); 1.95 (m, 2 H, H-10, H-3b); 1.88 (br. s, 1 H, H-5); 1.66 (dd, $J = 16.1$ Hz, $J = 5.2$ Hz, 1 H, H-15a); 1.62 (m, 3 H, H-12a, H-3a, H-2b); 1.48 (m, 1 H, H-2a); 1.09 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, H-21).
¹³ C-NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 90.0 (C-6); 88.0 (C-7); 82.0 (C-16); 78.0 (C-8); 77.4 (C-18); 75.8 (C-14); 72.5 (C-1); 66.2 (C-17); 59.0 (C-18-OCH ₃); 57.4 (C-6-OCH ₃); 57.2 (C-19); 56.3 (C-16-OCH ₃); 50.5 (C-20); 49.0 (C-11); 45.6 (C-9); 45.5 (C-5); 43.9 (C-10); 39.2 (C-13); 37.4 (C-4); 34.5 (C-15), 29.4 (C-12); 29.3 (C-2); 27.5 (C-3); 13.5 (C-21).

Deltatsin (12)

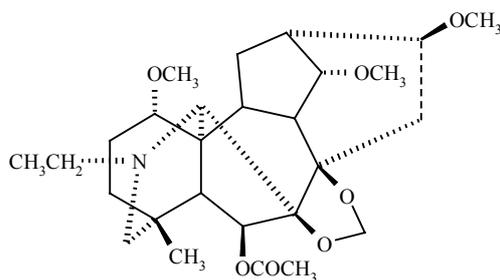


12

Aussehen:	weißer Feststoff
Summenformel:	$C_{25}H_{41}NO_7$
Drehwinkel:	$[\alpha]_D^{20} = +15.1^\circ$ ($c = 0.37$, $CHCl_3$; Lit. ⁹⁵ : $[\alpha]_D^{20} = +28.6^\circ$, $c = 2.4$, EtOH).
IR:	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3420, 2917, 1456, 1092.
EI-MS:	m/z (%) = 467 [M^+] (7), 452 (41), 436 (81), 420 (100), 404 (19), 390 (18), 264 (15).
HRMS (EI):	$m/z = 467.2857$ (berechnet für $C_{25}H_{41}NO_7$: 467.2883).
1H -NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 3.99 (t, $J = 4.5$ Hz, 1 H, H-14); 3.83 (s, 1 H, H-6); 3.65 (br. s, 1 H, H-1); 3.46 (s, 3 H, C-8-OCH ₃); 3.39 (s, 3 H, C-6-OCH ₃); 3.39 (m, 1 H, H-16); 3.38 (s, 3 H, C-16-OCH ₃); 3.36 (s, 3 H, C-18-OCH ₃); 3.30 (m, 1 H, H-9); 3.30 (d, $J = 8.9$ Hz, 1 H; H-18b); 3.16 (d, $J = 8.9$ Hz, 1 H, H-18a); 2.98 (m, 1 H, H-20b); 2.85 (m, 2 H, H-20a, H-17); 2.65 (dd, $J = 16.4$ Hz, $J = 9.0$ Hz, 1 H, H-15b); 2.51 (s, 2 H, H-19); 2.28 (m, 1 H, H-13); 2.03 (m, 2 H, H-12b, H-10); 1.89 (m, 1 H, H-3b); 1.79 (dd, $J = 16.4$ Hz, $J = 5.7$ Hz, 1 H, H-15a); 1.68 (br. s, 1 H, H-5); 1.62 (m, 3 H, H-12a, H-3a, H-2b); 1.45 (m, 1 H, H-2a); 1.09 (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, H-21).
^{13}C -NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 91.3 (C-7); 90.6 (C-6); 82.0 (C-16); 81.0 (C-8); 78.7 (C-18); 74.8 (C-14); 72.2 (C-1); 66.6 (C-17); 59.3 (C-18-OCH ₃); 59.2 (C-6-OCH ₃); 57.3 (C-19); 56.3 (C-16-OCH ₃); 51.4 (C-8-OCH ₃); 50.4 (C-20); 48.9 (C-5) ^b ; 48.5 (C-11); 45.2 (C-10); 39.8 (C-9) ^b ; 39.5 (C-13); 37.1 (C-4); 31.1 (C-15); 29.4 (C-2) ^a ; 28.0 (C-12); 27.1 (C-3) ^a ; 13.7 (C-21).

^a, ^b Zuordnung von Lit.⁹⁵ korrigiert

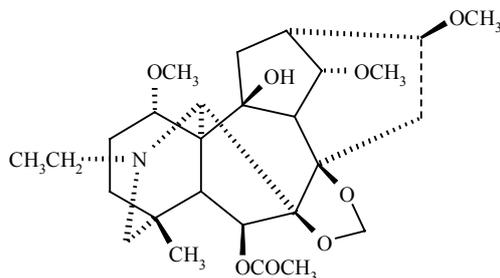
6-Acetyldelphelin (13)



13

Aussehen:	weißer Feststoff
Summenformel:	$C_{27}H_{41}NO_7$
Schmelzpunkt:	118 °C (Lit. ⁹⁶ : 120 – 122 °C).
Drehwinkel:	$[\alpha]_D^{20} = -21.9^\circ$ (c = 0.11, $CHCl_3$; Lit. ⁹⁷ : $[\alpha]_D = -32^\circ$, $CHCl_3$).
IR:	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 2933, 2820, 1739, 1455, 1365, 1244, 1084.
FAB-MS:	m/z (%) = 492 [$M^+ + 1$] (51), 490 (51), 460 (100), 432 (31).
HRMS (FAB):	m/z = 492.2966 [$M^+ + 1$] (berechnet für $C_{27}H_{42}NO_7$: 492.2961).
1H -NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 5.38 (s, 1 H, H-6); 4.90, 4.87 (jeweils s, 2 H, OCH_2O); 3.65 (t, $J = 4.7$ Hz, 1 H, H-14); 3.49 (dd, $J = 7.5$ Hz, $J = 5.6$ Hz, 1 H, H-9); 3.40 (s, 3 H, C-14- OCH_3); 3.30 (s, 3 H, C-16- OCH_3); 3.23 (s, 3 H, C-1- OCH_3); 3.22 (m, 1 H, H-16); 3.09 (br. s, 1 H, H-17); 3.00 (t, $J = 8.7$ Hz, 1 H, H-1); 2.77 (m, 1 H, H-20b); 2.70 (m, 1 H, H-20 a); 2.65 (d, $J = 12.3$ Hz, 1 H, H-19b); 2.60 (dd, $J = 14.6$ Hz, $J = 4.1$ Hz, 1 H, H-12b); 2.41 (m, 2 H, H-19a, H-15b); 2.30 (t, $J = 4.7$ Hz, 1 H, H-13); 2.16 (m, 1 H, H-2b); 2.11 (m, 1 H, H-10); 2.03 (s, 3 H, $OCOCH_3$); 2.02 (m, 1 H, H-2a); 1.75 (m, 2 H, H-15a, H-12a); 1.58 (m, 1 H, H-3b); 1.19 (s, 1 H, H-5); 1.17 (m, 1 H, H-3a); 1.02 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, H-21); 0.82 (s, 3 H, H-18).
^{13}C -NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 169.9 (C=O); 93.2 (OCH_2O); 91.8 (C-7); 83.3 (C-14); 83.3 (C-8); 82.0 (C-1); 81.5 (C-16); 78.4 (C-6); 64.1 (C-17); 57.6 (C-14- OCH_3); 56.7 (C-19); 56.1 (C-16- OCH_3); 55.8 (C-5); 55.3 (C-1- OCH_3); 50.3 (C-20); 50.2 (C-11); 48.2 (C-10); 39.8 (C-9); 38.5 (C-13); 36.7 (C-3); 33.8 (C-4); 33.7 (C-15); 27.9 (C-12); 26.9 (C-2); 25.4 (C-18); 21.6 ($OCOCH_3$); 13.8 (C-21).

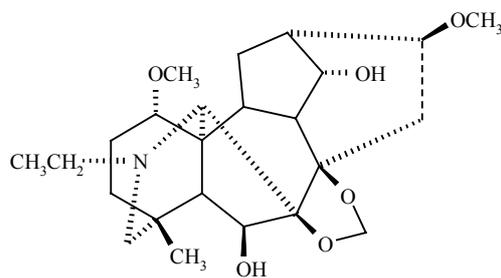
Deltalin (14)



14

- Aussehen: weißer Feststoff
- Summenformel: $C_{27}H_{41}NO_8$
- Schmelzpunkt: 181 °C (Lit.⁵⁹: 185 – 187 °C).
- Drehwinkel: $[\alpha]_D^{20} = -19.1^\circ$ ($c = 0.11$, $CHCl_3$; Lit.⁵⁹: $[\alpha]_D^{29} = -28^\circ$, MeOH).
- IR: $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3479, 2932, 2876, 2821, 1736, 1456, 1367, 1245, 1084.
- FAB-MS: m/z (%) = 508 [$M^+ + 1$] (83), 476 (95), 448 (21).
- HRMS (FAB): $m/z = 508.3002$ [$M^+ + 1$] (berechnet für $C_{27}H_{42}NO_8$: 508.2910).
- 1H -NMR ($CDCl_3$): δ (ppm) = 5.47 (s, 1 H, H-6); 4.96, 4.91 (jeweils s, 2 H, OCH_2O); 4.12 (t, $J = 4.6$ Hz, 1 H, H-14); 3.49 (dd, $J = 9.4$ Hz, $J = 7.6$ Hz, 1 H, H-1); 3.45 (s, 3 H, C-14- OCH_3); 3.33 (s, 3 H, C-16- OCH_3); 3.33 (1 H, verdeckt unter OCH_3 -Signal, H-9); 3.26 (s, 3 H, C-1- OCH_3); 3.26 (1 H, verdeckt unter OCH_3 -Signal, H-12b); 3.19 (t, $J = 8.0$, 1 H, H-16); 3.08 (br. s, 1 H, H-17); 2.81 (m, 1 H, H-20b); 2.72 (m, 1 H, H-20a); 2.70 (d, $J = 11.6$ Hz, 1 H, H-19b); 2.50 (m, 3 H, H-19a, H-15b, H-13); 2.20 (m, 1 H, H-2b); 2.10 (m, 1 H, H-2a); 2.07 (s, 3 H, $OCOCH_3$); 1.82 (dd, $J = 15.0$, $J = 7.1$ Hz, 1 H, H-15a); 1.71 (dd, $J = 15.7$ Hz, $J = 8.0$ Hz, 1 H, H-12a); 1.61 (m, 1 H, H-3b); 1.57 (br. s, 1 H, H-5); 1.21 (m, 1 H, H-3a); 1.06 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, H-21); 0.88 (s, 3 H, H-18).
- ^{13}C -NMR ($CDCl_3$): δ (ppm) = 169.8 ($OCOCH_3$); 93.8 (OCH_2O); 91.5 (C-7); 83.8 (C-10); 81.6 (C-14); 81.5 (C-8); 81.3 (C-16); 79.0 (C-6); 77.2 (C-1); 63.5 (C-17); 57.7 (C-14- OCH_3); 56.8 (C-19); 56.1 (C-16- OCH_3); 55.9 (C-11); 55.2 (C-1- OCH_3); 50.3 (C-9); 50.3 (C-5); 50.2 (C-20); 39.3 (C-12); 38.3 (C-13); 36.5 (C-3); 34.7 (C-15); 33.6 (C-4); 27.0 (C-2); 25.6 (C-18); 21.7 ($OCOCH_3$); 13.8 (C-21).

Delelatin (15)

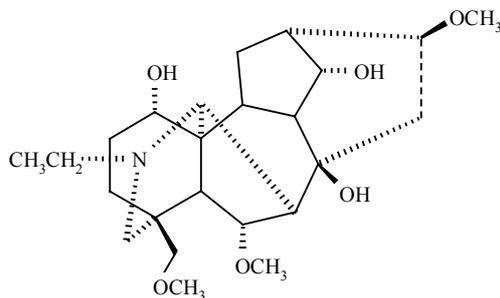


15

- Aussehen: weißer Feststoff
- Summenformel: $C_{24}H_{37}NO_6$
- Schmelzpunkt: $82\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Lit.⁹⁸: $84.5 - 86.5\text{ }^{\circ}\text{C}$).
- Drehwinkel: $[\alpha]_D^{20} = -23.5^{\circ}$ ($c = 1.0$, CHCl_3 ; Lit.⁹⁸: $[\alpha]_D^{23.5} = -27.7^{\circ}$, $c = 1.05$, CHCl_3).
- IR: $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3445, 2932, 2824, 1456, 1367, 1088.
- FAB-MS: m/z (%) = 436 [$M^+ + 1$] (66), 404 (55).
- HRMS (FAB): $m/z = 436.2730$ [$M^+ + 1$] (berechnet für $C_{24}H_{38}NO_6$: 436.2699).
- $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 5.09, 5.19 (jeweils s, 2 H, OCH_2O); 4.21 (s, 1 H, H-6); 4.11 (t, $J = 4.5$ Hz, 1 H, H-14); 3.64 (t, $J = 5.5$ Hz, 1 H, H-9); 3.48 (m, 1 H, H-16); 3.37 (s, 3 H, C-16- OCH_3); 3.29 (br. s, 1 H, H-17); 3.25 (s, 3 H, C-1- OCH_3); 3.03 (dd, $J = 10.2$ Hz, $J = 7.1$ Hz, 1 H, H-1); 2.79 (m, 1 H, H-20b); 2.66 (m, 2 H, H-19b, H-20a); 2.47 (dd, $J = 17.5$ Hz, $J = 8.7$ Hz, 1 H, H-15b); 2.43 (m, 1 H, H-13); 2.29 (m, 1 H, H-19a); 2.12 (m, 1 H, H-2b); 1.90 (m, 4 H, H-2a, H-12, H-10); 1.79 (d, $J = 17.5$, 1 H, H-15a); 1.60 (m, 1 H, H-3b); 1.28 (br. s, 1 H, H-5); 1.19 (m, 1 H, H-3a); 1.05 (t, $J = 7.0$ Hz, 3 H, H-21); 0.93 (s, 3 H, H-18).
- $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 94.1 (C-7); 93.2 (OCH_2O); 84.1 (C-1); 81.8 (C-8); 81.7 (C-16); 78.9 (C-6); 74.0 (C-14); 63.9 (C-17); 57.5 (C-19); 56.4 (C-1- OCH_3); 56.1 (C-5); 55.9 (C-16- OCH_3); 50.6 (C-20); 49.7 (C-11); 47.7 (C-10)^a; 42.8 (C-9)^a; 36.8 (C-3); 36.1 (C-13); 34.2 (C-4); 31.9 (C-15); 26.9 (C-12); 26.2 (C-2); 25.3 (C-18); 14.0 (C-21).

^a Zuordnung von Lit.⁹⁸ korrigiert

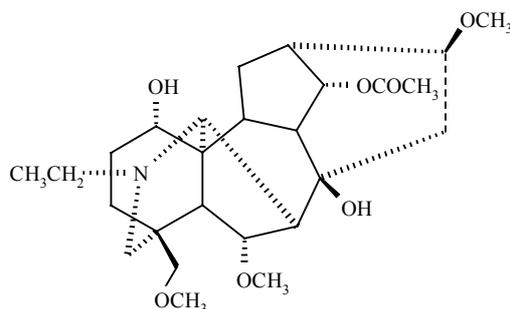
Neolin (16)



16

Aussehen:	weißer Feststoff
Summenformel:	$C_{24}H_{39}NO_6$
Schmelzpunkt:	142 °C (Lit. ⁹⁹ : 159 - 161 °C).
Drehwinkel:	$[\alpha]_D^{20} = +26.9^\circ$ (c = 0.10, $CHCl_3$; Lit. ⁹⁹ : $[\alpha]_D = +22^\circ$, EtOH).
IR:	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3290, 2968, 2933, 2869, 2813, 1455, 1112.
FAB-MS:	m/z (%) = 438 [$M^+ + 1$] (100), 420 (72), 406 (6).
HRMS (FAB):	m/z = 438.2861 [$M^+ + 1$] (berechnet für $C_{24}H_{40}NO_6$: 438.2856).
1H -NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 4.22 (t, $J = 5.1$ Hz, 1 H, H-14); 4.17 (d, $J = 6.6$ Hz, 1 H, H-6); 3.66 (br. s, 1 H, H-1); 3.64 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, H-18b); 3.37 (dd, $J = 9.1$ Hz, $J = 5.8$ Hz, 1 H, H-16); 3.42 (s, 3 H, C-16- OCH_3); 3.40 (s, 3 H, C-6- OCH_3); 3.29 (s, 3 H, C-18- OCH_3); 3.26 (d, $J = 8.2$, 1 H, H-18a); 2.70 (d, $J = 10.5$ Hz, 1 H, H-19b); 2.67 (br. s, 1 H, H-17); 2.56 (dq, $J = 12.4$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1 H, H-20b); 2.48 (dq, $J = 12.4$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1 H, H-20a); 2.39 (dd, $J = 16.0$ Hz, $J = 9.3$ Hz, 1 H, H-15b); 2.31 (d, $J = 10.5$ Hz, 1 H, H-19a); 2.28 (1 H, verdeckt unter H-19a, H-13); 2.18 (m, 2 H, H-9, H-5); 2.05 (m, 2 H, H-15a, H-12b); 1.99 (s, 1 H, H-7); 1.87 (m, 2 H, H-10, H-3b); 1.72 (dd, $J = 14.5$ Hz, $J = 5.1$ Hz, 1 H, H-12a); 1.58 (m, 2 H, H-3a, H-2b); 1.48 (m, 1 H, H-2a); 1.12 (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, H-21).
^{13}C -NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 83.1 (C-6); 81.7 (C-16); 80.2 (C-18); 76.1 (C-14); 74.2 (C-8); 72.2 (C-1); 63.8 (C-17); 59.1 (C-18- OCH_3); 57.8 (C-6- OCH_3); 57.0 (C-19); 56.2 (C-16- OCH_3); 52.1 (C-7); 49.4 (C-11); 48.3 (C-9); 48.2 (C-20); 44.9 (C-5); 44.1 (C-10); 42.8 (C-15); 40.2 (C-13); 38.1 (C-4); 29.9 (C-2); 29.3 (C-12); 29.1 (C-3); 13.0 (C-21).

Delstaphisagnin (17)

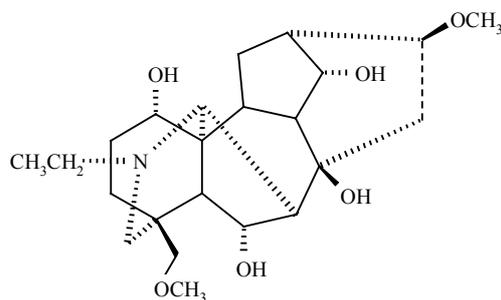


17

- Aussehen: weißer Feststoff
- Summenformel: $C_{26}H_{41}NO_7$
- Schmelzpunkt: 183 °C (Lit.⁶⁷: 200°C).
- Drehwinkel: $[\alpha]_D^{20} = +35.2^\circ$ (c = 0.11; $CHCl_3$; Lit.¹⁰⁰: $[\alpha]_D^{25} = +20^\circ$, c = 0.85, EtOH).
- IR: $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3426, 2933, 2820, 1740, 1242, 1108.
- FAB-MS: m/z (%) = 480 [$M^+ + 1$] (100), 462 (57), 448 (5).
- HRMS (FAB): m/z = 480.2971 [$M^+ + 1$] (berechnet für $C_{26}H_{42}NO_7$: 480.2961).
- ¹H-NMR ($CDCl_3$): δ (ppm) = 4.85 (t, $J = 4.8$ Hz, 1 H, H-14); 4.10 (d, $J = 6.5$ Hz, 1 H, H-6); 3.68 (br. s, 1 H, H-1); 3.62 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H, H-18b); 3.34 (s, 3 H, C-6-OCH₃); 3.33 (s, 3 H, C-18-OCH₃); 3.30 (m, 1 H, H-16); 3.26 (s, 3 H, C-16-OCH₃); 3.24 (d, $J = 8.3$, 1 H, H-18a); 2.68 (d, $J = 10.7$ Hz, 1 H, H-19b); 2.66 (br. s, 1 H, H-17); 2.62 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 4.8$ Hz, 1 H, H-13); 2.55 (m, 1 H, H-20b); 2.49 (m, 1 H, H-20a); 2.30 (m, 2 H, H-19a, H-15b); 2.24 (dd, $J = 7.1$ Hz, $J = 4.8$ Hz, 1 H, H-9); 2.19 (d, $J = 6.5$ Hz, 1 H, H-5); 2.09 (m, 1 H, H-12b); 2.06 (s, 3 H, OCOCH₃); 2.00 (s, 1 H, H-7); 1.91 (m, 4 H, H-15a, H-10, H-3a/b); 1.79 (dd, $J = 14.5$ Hz, $J = 4.9$ Hz, 1 H, H-12a); 1.59 (m, 1 H, H-2b); 1.51 (m, 1 H, H-2a); 1.13 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, H-21).
- ¹³C-NMR ($CDCl_3$): δ (ppm) = 170.3 (OCOCH₃); 83.3 (C-6); 81.9 (C-16); 80.1 (C-18); 77.1 (C-14); 74.7 (C-8); 72.0 (C-1); 63.3 (C-17); 59.1 (C-18-OCH₃); 57.9 (C-6-OCH₃); 56.9 (C-19); 56.0 (C-16-OCH₃); 52.6 (C-7); 49.6 (C-11); 48.2 (C-20); 46.2 (C-9); 44.4 (C-5); 43.3 (C-10)^a; 42.7 (C-15); 38.0 (C-4); 36.6 (C-13)^a; 29.9 (C-2)^b; 29.5 (C-3)^b; 29.3 (C-12); 21.2 (OCOCH₃); 13.0 (C-21).

^{a, b} Zuordnung von Lit.¹⁰¹ korrigiert

Senbusin A (18)

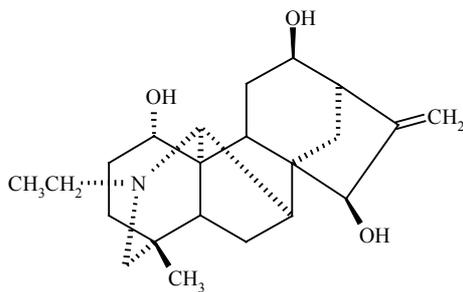


18

Aussehen:	weißer Feststoff
Summenformel:	$C_{23}H_{37}NO_6$
Schmelzpunkt:	140 °C
Drehwinkel:	$[\alpha]_D^{20} = + 1.0^\circ$ (c = 0.10, $CHCl_3$; Lit. ⁷⁰ : $[\alpha]_D^{14} = + 1.3^\circ$, c = 0.24, MeOH).
IR:	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3419, 2933, 2873, 2821, 1458, 1108.
FAB-MS:	m/z (%) = 424 [$M^+ + 1$] (52), 406 (21).
HRMS (FAB):	m/z = 424.2691 [$M^+ + 1$] (berechnet für $C_{23}H_{38}NO_6$: 424.2699).
1H -NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 4.77 (d, $J = 6.6$ Hz, 1 H, H-6); 4.20 (t, $J = 5.0$ Hz, 1 H, H-14); 3.72 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, H-18b); 3.65 (br. s, 1 H, H-1); 3.35 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, H-18a); 3.34 (m, 1 H, H-16); 3.34 (s, 3 H, C-16-OCH ₃); 3.33 (s, 3 H, C-18-OCH ₃); 2.80 (d, $J = 10.4$ Hz, 1 H, H-19b); 2.65 (s, 1 H, H-17); 2.57 (dq, $J = 12.4$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1 H, H-20b); 2.52 (dq, $J = 12.4$ Hz, $J = 7.2$ Hz, 1 H, H-20a); 2.36 (d, $J = 10.4$ Hz, 1 H, H-19a); 2.33 (m, 1 H, H-15); 2.27 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 5.0$ Hz, 1 H, H-13); 2.17 (t, $J = 5.9$ Hz, 1 H, H-9); 2.09 (d, $J = 6.6$ Hz, 1 H, H-5); 2.04 (m, 2 H, H-12b, H-15a); 1.92 (s, 1 H, H-7); 1.87 (m, 2 H, H-3b, H-10); 1.72 (dd, $J = 14.6$ Hz, $J = 5.0$ Hz; 1 H, H-12a); 1.63 (dt, $J = 14.3$ Hz, $J = 5.0$ Hz, 1 H, H-3a); 1.55 (m, 1 H, H-2b); 1.50 (m, 1 H, H-2a); 1.14 (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, H-21).
^{13}C -NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 81.8 (C-16); 80.4 (C-18); 75.9 (C-14); 75.2 (C-8); 73.1 (C-6); 72.2 (C-1); 63.8 (C-17); 59.2 (C-18-OCH ₃); 57.1 (C-19); 56.3 (C-16-OCH ₃); 55.3 (C-7); 49.9 (C-11); 48.5 (C-9) ^a ; 48.2 (C-20); 45.7 (C-5) ^a ; 44.2 (C-10) ^b ; 42.5 (C-15); 40.3 (C-13) ^b ; 37.9 (C-4); 29.8 (C-12); 29.5 (C-2); 29.3 (C-3); 13.0 (C-21).

^a, ^b Zuordnung von Lit.⁷² korrigiert

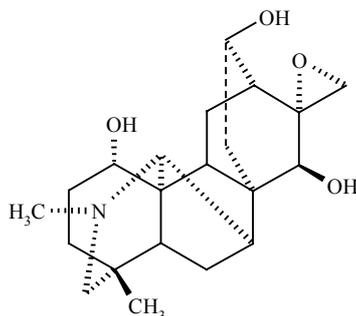
12-Epi-Napellin (19)



19

Aussehen:	weißer Feststoff
Summenformel:	$C_{22}H_{33}NO_3$
Schmelzpunkt:	143 °C (Lit.: 118 - 121 °C ¹⁰² , 163 - 164 °C ¹⁰³).
Drehwinkel:	$[\alpha]_D^{20} = -40.5^\circ$ (c = 0.11, $CHCl_3$; Lit. ¹⁰⁴ : $[\alpha]_D = -40.2^\circ$, $CHCl_3$).
IR:	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3424, 2929, 2875, 1653, 1457, 1374, 1032.
FAB-MS:	m/z (%) = 360 [$M^+ + 1$] (100), 342 (40).
HRMS (FAB):	m/z = 360.2565 [$M^+ + 1$] (berechnet für $C_{22}H_{34}NO_3$: 360.2539).
¹ H-NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 5.32 (br. s, 1 H, H-17b); 5.12 (br. s, 1 H, H-17a); 4.21 (br. s, 1 H, H-15); 4.18 (dd, $J = 8.7$ Hz, $J = 4.8$ Hz, 1 H, H-12); 3.92 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 6.1$ Hz, 1 H, H-1); 3.30 (br. s, 1 H, H-20); 2.80 (dd, $J = 8.7$ Hz, $J = 4.1$ Hz, 1 H, H-13); 2.54 (m, 1 H, H-21b); 2.43 (d, $J = 10.8$ Hz, 1 H, H-19b); 2.41 (m, 1 H, H-21a); 2.33 (m, 1 H, H-6b); 2.23 (d, $J = 10.8$ Hz, 1 H, H-19a); 2.11 (m, 1 H, H-11b); 2.07 (br. s, 1 H, H-7); 1.98 (m, 1 H, H-2b); 1.84 (m, 2 H, H-9, H-2a); 1.76 (d, $J = 12.1$ Hz, 1 H, H-14b); 1.65 (m, 2 H, H-11a, H-3b); 1.37 (m, 3 H, H-6a, H-5, H-3a); 1.09 (dd, $J = 12.1$ Hz, $J = 4.1$ Hz, 1 H, H-14a); 1.05 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, H-22); 0.77 (s, 3 H, H-18).
¹³ C-NMR ($CDCl_3$):	δ (ppm) = 155.2 (C-16); 111.4 (C-17); 77.0 (C-15); 69.9 (C-1); 67.0 (C-12); 66.2 (C-20); 58.2 (C-19); 52.5 (C-10); 51.1 (C-8); 50.8 (C-21); 48.6 (C-5); 43.9 (C-13); 43.9 (C-7); 36.9 (C-9); 36.1 (C-3); 33.7 (C-4); 32.6 (C-14); 31.7 (C-2); 29.5 (C-11); 26.3 (C-18); 23.6 (C-6); 13.5 (C-22).

Gomandonin (20)



20

- Aussehen: weißer Feststoff
- Summenformel: $C_{21}H_{31}NO_4$
- Schmelzpunkt: $255\text{ }^\circ\text{C}$ (Lit.¹⁰⁵: $248 - 249\text{ }^\circ\text{C}$).
- Drehwinkel: $[\alpha]_D^{20} = -39.2^\circ$ ($c = 1.0$, MeOH; Lit.¹⁰⁵: $[\alpha]_D^{12} = -42.5^\circ$, $c = 1.2$, MeOH).
- IR: $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3417, 2924, 2887, 1455, 1114, 1064, 1039, 1007.
- FAB-MS: m/z (%) = 362 [$M^+ + 1$] (18).
- HRMS (FAB): $m/z = 362.2273$ [$M^+ + 1$] (berechnet für $C_{21}H_{32}NO_4$: 362.2342).
- $^1\text{H-NMR}$ (MeOH- d_3): δ (ppm) = 4.15 (s, 1 H, H-15); 3.92 (dd, $J = 7.9$ Hz, 4.6 Hz, 1 H, H-13); 3.82 (dd, $J = 10.8$ Hz, 6.4 Hz; 1 H, H-1); 3.59 (br. s, 1 H, H-20); 3.06 (d, $J = 5.6$ Hz, 1 H, H-17b); 2.84 (dd, $J = 14.1$ Hz, $J = 8.0$ Hz, 1 H, H-6b); 2.51 (d, $J = 11.4$ Hz, 1 H, H-19b); 2.40 (m, 2 H, H-19a, H-14b); 2.39 (d, $J = 5.6$ Hz, 1 H, H-17a); 2.35 (s, 3 H, H-21); 2.25 (d, $J = 5.4$ Hz, 1 H, H-7); 2.24 (m, 1 H, H-2b); 1.85 (m, 3 H, H-11a/b, H-9); 1.76 (m, 1 H, H-2a); 1.58 (ddd, $J = 13.4$ Hz, $J = 4.5$ Hz, $J = 2.9$ Hz, 1 H, H-3b); 1.44 (t, $J = 4.6$ Hz, 1 H, H-12); 1.28 (m, 3 H, H-6a, H-5, H-3a); 1.18 (m, 1 H, H-14a); 0.72 (s, 3 H, H-18).
- $^{13}\text{C-NMR}$ (MeOH- d_3): δ (ppm) = 77.2 (C-15); 71.3 (C-1); 69.9 (C-13); 69.6 (C-20); 65.6 (C-16); 60.2 (C-19); 53.3 (C-5); 51.9 (C-10); 45.8 (C-17); 45.1 (C-8); 44.1 (C-21); 43.6 (C-12); 43.1 (C-9); 42.4 (C-7); 39.8 (C-14); 39.3 (C-3); 34.7 (C-4); 31.9 (C-2); 26.2 (C-18); 25.4 (C-11); 24.2 (C-6).

5 Radioligandbindungsstudien an nikotinischen Acetylcholinrezeptoren

5.1 Membranpräparationen

P2-Membranfraktion von Rattenhirn

Nach dem Auftauen der gefrorenen Rattenhirne wurden mit einem Skalpell das Kleinhirn und das Riechzentrum entfernt und die Hirne in eine Saccharose/TRIS-Lösung gegeben. Das Naßgewicht wurde bestimmt, die Hirne grob zerkleinert und nach Zugabe von 1/10 des Volumens Saccharose/TRIS-Lösung homogenisiert (10 x 10 Sek., 750 rpm). Danach wurde bei 4 °C 20 Min. bei 1000 x g zentrifugiert und der Überstand (S1) mit einer Pasteurpipette vorsichtig abgesaugt und auf Eis aufbewahrt. Das Pellet (P1) wurde erneut homogenisiert und zentrifugiert, so daß der Überstand S1' erhalten wurde. Die vereinigten Überstände S1 und S1' wurden bei 4 °C zentrifugiert (25000 x g, 20 Min.) und der Überstand (S2) abdekantiert. Das Pellet (P2) wurde mit HSS-Puffer auf das Doppelte des Naßgewichts verdünnt und anschließend bei -80 °C gelagert. Eine Stunde vor Beginn der Konkurrenzexperimente wurde die P2-Membranfraktion aufgetaut, mit dem 30-fachen Volumen an HSS-Puffer homogenisiert und zentrifugiert (4 °C, 10 Min., 35000 x g). Das gewonnene Pellet wurde in HSS-Puffer suspendiert und für die Experimente verwendet.

Membranfraktion von Schweinenebennieren

Nach dem Auftauen wurden die Schweinenebennieren mit einem Skalpell von anhaftendem Fett befreit. Das Gewebe wurde zerkleinert, mit dem 15fachen Volumen an HSS-Puffer versetzt und homogenisiert (10 x 10 Sek., 750 rpm). Die Gewebesuspension wurde zentrifugiert (10 Min., 40000 x g), der Überstand abdekantiert und das Pellet in HSS-Puffer resuspendiert. Dieser Waschschrift dient der Abtrennung des Fetts und wird fünfmal durchgeführt. Die rohe Membranfraktion wurde dann bei -80 °C gelagert. Eine Stunde vor Beginn der Konkurrenzexperimente wurde die Membranfraktion aufgetaut, mit dem fünffachen Volumen an HSS-Puffer versetzt und anschließend homogenisiert und zentrifugiert (4 °C, 20 Min., 25000 x g). Das erhaltene Pellet wurde in Wasser suspendiert und so für die Experimente verwendet.

Membranfraktion vom elektrischen Organ des Zitterrochen *Torpedo californica*

Nach dem Auftauen wurden die elektrischen Organe von *Torpedo californica* grob zerkleinert, mit dem 15fachen Volumen an HSS-Puffer versetzt, homogenisiert (10 x 10 Sek., 750 rpm) und zentrifugiert (10 Min., 40000 x g). Der Überstand wurde abdekantiert und das Pellet in HSS-Puffer resuspendiert. Anschließend wurde das Pellet durch zweimaliges Rehomogenisieren und Zentrifugieren mit HSS-Puffer gewaschen. Die Membranfraktion wurde bei -80 °C gelagert. Eine Stunde vor Beginn der Konkurrenzexperimente wurde die Membranfraktion aufgetaut, mit dem fünffachen Volumen an HSS-Puffer homogenisiert und zentrifugiert (4 °C, 20 Min., 25000 x g). Das erhaltene Pellet wurde in Wasser suspendiert und so für die Experimente verwendet.

5.2 Konkurrenzexperimente

$\alpha 4\beta 2^*$ -nAChR (Ratte)

Von den in Ethanol, Dimethylsulfoxid oder Acetonitril gelösten Testsubstanzen wurde eine Verdünnungsreihe von 6 bis 9 Konzentrationen in HSS-Puffer hergestellt. Die Konkurrenzexperimente wurden in Polypropylen-Reagenzgläsern als Doppelbestimmungen durchgeführt. Diese wurden mit 100 μ l HSS-Puffer und mit 200 μ l der jeweiligen Lösung der Verdünnungsreihe befüllt. Dazu gab man 100 μ l einer 0.5 nM (\pm)-[3 H]Epibatidin-Lösung und anschließend 100 μ l einer Suspension der P2-Membranfraktion vom Rattenhirn (60-70 μ g Protein). So enthielt jedes Reagenzglas ein Gesamtvolumen von 500 μ l. Die unspezifische Bindung wurde in Anwesenheit von 300 μ M (*S*)-Nicotin-di-D-tartrat-Lösung bestimmt. Die Proben wurden 2 h bei 4° C bzw. bei RT inkubiert. Die Inkubation wurde mittels Vakuumfiltration durch einen mit 1%iger Polyethylenimin-Lösung getränkten Glasfaserfilter beendet. Nach dem dreimaligen Waschen mit TRIS-Puffer überführte man die Glasfaserfilter in Probengefäße und versetzte sie mit 2 ml Szintillations-Cocktail. Die Radioaktivität der Probe wurde anschließend im LSC-Counter gemessen.

$\alpha 7^*$ -nAChR (Ratte)

Von den in Ethanol, Dimethylsulfoxid oder Acetonitril gelösten Testsubstanzen wurde eine Verdünnungsreihe von 6 bis 9 Konzentrationen in HSS-Puffer hergestellt. Die Konkurrenzexperimente wurden in Polypropylen-Reagenzgläsern als Doppelbestimmungen

durchgeführt. Diese wurden mit 50 µl der jeweiligen Lösung der Verdünnungsreihe befüllt. Dazu gab man 100 µl einer 1 nM (\pm)-[³H]MLA-Lösung und anschließend 100 µl einer Suspension der P2-Membranfraktion vom Rattenhirn (60-70 µg Protein). So enthielt jedes Reagenzglas ein Gesamtvolumen von 250 µl. Die unspezifische Bindung wurde in Anwesenheit von 1 µM MLA bestimmt. Die Proben wurden 3 h bei 4° C bzw. bei RT inkubiert. Die Inkubation wurde mittels Vakuumfiltration durch einen mit 1%iger Polyethylenimin-Lösung getränkten Glasfaserfilter beendet. Nach dem dreimaligen Waschen mit TRIS-Puffer überführte man die Glasfaserfilter in Probengefäße und versetzte sie mit 2 ml Szintillations-Cocktail. Die Radioaktivität der Probe wurde anschließend im LSC-Counter gemessen.

α 3 β 4*-nAChR (Schweineebennieren)

Von den in Ethanol, Dimethylsulfoxid oder Acetonitril gelösten Testsubstanzen wurde eine Verdünnungsreihe von 6 bis 9 Konzentrationen in HSS-Puffer hergestellt. Die Konkurrenzexperimente wurden in Polypropylen-Reagenzgläsern als Doppelbestimmungen durchgeführt. Diese wurden mit 100 µl HSS-Puffer und mit 200 µl der jeweiligen Lösung der Verdünnungsreihe befüllt. Dazu gab man 100 µl einer 0.5 nM (\pm)-[³H]Epibatidin-Lösung und anschließend 100 µl einer Suspension der rohen Membranfraktion vom Schweineebennieren (60-70 µg Protein). So enthielt jedes Reagenzglas ein Gesamtvolumen von 500 µl. Die unspezifische Bindung wurde in Anwesenheit von 300 µM (S)-Nicotin-di-D-tartrat-Lösung bestimmt. Die Proben wurden 90 min bei 4° C bzw. bei RT inkubiert. Die Inkubation wurde mittels Vakuumfiltration durch einen mit 1%iger Polyethylenimin-Lösung getränkten Glasfaserfilter beendet. Nach dem dreimaligen Waschen mit TRIS-Puffer überführte man die Glasfaserfilter in Probengefäße und versetzte sie mit 2 ml Szintillations-Cocktail. Die Radioaktivität der Probe wurde anschließend im LSC-Counter gemessen

(α 1)₂ β 1 γ δ -nAChR (*Torpedo californica electropax*)

Von den in Ethanol, Dimethylsulfoxid oder Acetonitril gelösten Testsubstanzen wurde eine Verdünnungsreihe von 6 bis 9 Konzentrationen in HSS-Puffer hergestellt. Die Konkurrenzexperimente wurden in Polypropylen-Reagenzgläsern als Doppelbestimmungen durchgeführt. Die Polypropylen-Teströhrchen wurden mit 100 µl HSS-Puffer und mit 200 µl der jeweiligen Lösung der Verdünnungsreihe befüllt. Dazu gab man 100 µl einer 0.5 nM (\pm)-[³H]Epibatidin-Lösung und anschließend 100 µl einer Suspension der Membranfraktion vom *Torpedo californica electropax* (60-70 µg Protein). So enthielt jedes Reagenzglas ein

Gesamtvolumen von 500 μl . Die unspezifische Bindung wurde in Anwesenheit von 300 μM (*S*)-Nicotin-di-D-tartrat-Lösung bestimmt. Die Proben wurden 90 min bei 4° C bzw. bei RT inkubiert. Die Inkubation wurde mittels Vakuumfiltration durch einen mit 1%iger Polyethylenimin-Lösung getränkten Glasfaserfilter beendet. Nach dem dreimaligen Waschen mit TRIS-Puffer überführte man die Glasfaserfilter in Probengefäße und versetzte sie mit 2 ml Szintillations-Cocktail. Die Radioaktivität der Probe wurde anschließend im LSC-Counter gemessen

G Anhang

1 Verzeichnis der Abkürzungen

bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
ca.	circa
CDCl ₃	Deuteriochloroform
CI	Chemische Ionisation
COSY	Correlated Spectroscopy
δ	chemische Verschiebung
DAD	Dioden Array Detektor
DC	Dünnschichtchromatographie
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
dest.	destilliert
EI	Elektronenstoßionisation
EtOH	Ethanol
FAB	Fast-Atom Bombardment
g	Gramm
HMBC	Heteronuclear Multiple-Bond Connectivities
HMQC	Heteronuclear Multiple-Quantum Correlation
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HSS	HEPES-Salzlösung; HEPES = 4-(2-Hydroxyethyl)piperazin-1-ethan-sulfonsäure
Hz	Hertz
IR	Infrarot-Spektroskopie
J	Kopplungskonstante
kg	Kilogramm
l	Liter
Lit.	Literatur
M	mol/l
m/z	Masse pro Ladungseinheit
MeOH-d ₃	Deuteromethanol

MeOH	Methanol
μl	Mikroliter
ml	Milliliter
Min.	Minuten
MS	Massenspektroskopie
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
R_f	Retentionsfaktor
rpm	Rounds per minute
RT	Raumtemperatur
(S)	(S)-konfiguriertes Chiralitätszentrum nach <i>Cahn, Ingold, Prelog</i>
Sek.	Sekunden
TRIS	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
UV	Ultraviolett-Spektroskopie
z. B.	zum Beispiel

2 Literaturverzeichnis

- ¹ Trease, Evans, W. C. (Ed.), *Pharmacognosy*, W. B. Saunders Harcourt Publishers Limited **2002**, 15. Auflage, 23-24
- ² Frohne, D., Jensen, U., *Systematik des Pflanzenreichs*, Gustav Fischer Verlag Stuttgart **1973**, 71-74
- ³ Wagner, H., *Pharmazeutische Biologie: Drogen und ihre Inhaltsstoffe*, Gustav Fischer Verlag Stuttgart New York **1993**, 5. Auflage
- ⁴ Hänsel, R., Keller, K., Rimpler, H., Schneider G. (Hrsg.), *Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis: Drogen A-D*, Springer Verlag Berlin Heidelberg **1992**, 5. Auflage, 65-81
- ⁵ Benn, M. H., Jacyno, J. M., The toxicology and pharmacology of diterpenoid alkaloids. In: Pelletier, S. W. (Ed.), *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*, Vol. 1. John Wiley & Sons Inc., New York **1983**, 153-210
- ⁶ Hiller, K., Melzig, M. F., *Lexikon der Arzneipflanzen und Drogen 1*, Spektrum Akademischer Verlag GmbH Heidelberg Berlin **2003**, 9
- ⁷ Hegnauer, R., *Chemotaxonomie der Pflanzen*, Band 6, Birkhäuser Verlag Basel **1973**, 40-41
- ⁸ Ligaa, U., *Medicinal plants of Mongolia used in Mongolian Traditional Medicine*, KCA Press, Seoul **1996**
- ⁹ Benn, M. H., *Methods in plant biochemistry* **1993**, 8, 451-472
- ¹⁰ Waller, G. R., Burström, H., *Nature* **1969**, 222, 526-578
- ¹¹ Waller, G. R., Nowacki, E., K., *Alkaloid biology and metabolism in plants*. Plenum Press New York **1978**
- ¹² Grina, J. A., Schroeder, D. R., Wydallis, E. T., Stermitz F. R., Melman, J., Capinera, J. L., *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 390-394
- ¹³ Hoppe, H. A., *Drogenkunde Band 1 Angiospermen*, Walter de Gruyter & Co. Berlin **1975**, 8. Auflage, 18
- ¹⁴ <http://flora.huh.harvard.edu:8080/flora/index.jsp>
- ¹⁵ Parvez, M., Gul, W., Anwar, S., *Acta Crystallographica, Section C: Crystal Structure Communications* **1998**, 54, 790-792
- ¹⁶ Achmatowicz, O. Jr., Marion, L., *Can. J. Chem.* **1964**, 42, 154-159

- ¹⁷ Pelletier, S. W., De Camp, W. H., Djarmati, Z., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1976**, 253-254
- ¹⁸ Parvez, M., Gul, W., Anwar, S., *Acta Crystallographica, Section C: Crystal Structure Communications* **1998**, 54, 125-126
- ¹⁹ Miana, G. A., Ikram, M., Khan, M. I., Sultana, F., *Phytochemistry* **1971**, 10, 3320-3321
- ²⁰ Achmatowicz, O., Jr., Marion, L., *Can. J. Chem.* **1965**, 43, 1093-1095
- ²¹ Aitzetmueller, K., Tsevegsuerer, N., Werner, G., *Plant systematics and evolution* **1999**, 215, 37-47
- ²² Batsuren, D., Tunsag, J., Batbayar, N., Mericli, A. M., Mericli, F., Teng, Q., Desai, H. K., Joshi, B. S., Pelletier, S. W., *Heterocycles* **1998**, 49, 327-340
- ²³ Strzelecka, H., Ocioszynska, I., *Acta Poloniae Pharmaceutica* **1974**, 2, 22-23; Chem. Abstr. 82:70287
- ²⁴ Li, C., Chen, D., *Huaxue Xuebao* **1993**, 51, 915-918; Chem. Abstr. 120:73352
- ²⁵ Deng, Y., Chen, D., Song, W., *Huaxue Xuebao* **1992**, 50, 822-826; Chem. Abstr. 118:35890
- ²⁶ Li, C., Chen, D., *Zhiwu Xuebao* **1993**, 35, 80-83; Chem. Abstr. 119:156226
- ²⁷ Al-Sofany, R. H., *Bulletin of the Faculty of Pharmacy (Cairo University)* **2001**, 39, 135-137; Chem. Abstr. 136:66916
- ²⁸ Deng, Y. P., *Fitoterapia* **1993**, 64, 283
- ²⁹ Li, C., Chen, D., *Zhiwu Xuebao* **1992**, 34, 466-469; Chem. Abstr. 118:143418
- ³⁰ Davis, E. M., Croteau, R., Cyclization Enzymes in the Biosynthesis of Monoterpenes, Sesquiterpenes and Diterpenes. In: Leeper, F. J. (Ed.), Vederas, J. C. (Ed.), *Biosynthesis: Aromatic Polyketides, Isoprenoids, Alkaloids*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg **2000**, 86-87
- ³¹ Steinegger, E., Hänsel, R., *Lehrbuch der Pharmakognosie und Phytopharmazie*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg **1988**, 4. Auflage, 182
- ³² Nishanov, A. A., Tashkhodzhaev, B., Sultankhodzhaev, M. N., Ibragimov, B. T., Yunusov, M. S., *Khim. Prir. Soedin.* **1989**, 39-44; Chem. Abstr. 111:93882
- ³³ Whalley, W. B., *Tetrahedron* **1962**, 18, 43-54
- ³⁴ Pelletier, S. W., Joshi, B. S., Carbon-13 and proton NMR shift assignments and physical constants of norditerpenoid alkaloids. In: Pelletier, S. W. (Ed.), *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*, Vol. 7. Springer Verlag New York Inc. **1991**, 297-564

- ³⁵ Pelletier, S. W., Mody, N. V., Varughese, K. I., Maddry, J. A., Desai, H. K., *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 6536-6538
- ³⁶ Pelletier, S. W., Mody, N. V., Joshi, B. S., Schramm, L. C., ¹³C and proton NMR shift assignments and physical constants of C₁₉-diterpenoid alkaloids. In: Pelletier, S. W. (Ed.), *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*, Vol. 2. John Wiley & Sons Inc., New York **1984**, 205-462
- ³⁷ Coates, P. A., Blagbrough, I. S., Hardick, D. J., Rowan, M. G., Wonnacott, S., Potter, B. V. L., *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 8701-8704
- ³⁸ Goodson, J. A., *J. Chem. Soc.* **1943**, 139-141
- ³⁹ Pelletier, S. W., Dailey, O. D., Jr., Mody, N. V., *J. Org. Chem.* **1981**, 46, 3284-3293
- ⁴⁰ Pelletier, S. W., Joshi, B. S., Carbon-13 and Proton NMR Shift Assignments and Physical Constants of Norditerpenoid Alkaloids. In: Pelletier (Ed.), *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives* Vol. 7, Springer-Verlag New York Inc. **1991**, 297-564
- ⁴¹ De La Fuente, G., Ruiz-Mesia, L, *Phytochemistry* **1994**, 37, 271-274
- ⁴² Batbayar, N., Enkhzaya, S., Tunsag, J., Batsuren, D., Rycroft, D. S., Sproll, S., Bracher, F., *Phytochemistry* **2003**, 62, 543-550
- ⁴³ Li, C., Chen, D., *Zhiwu Xuebao* **1993**, 35, 80-83; Chem. Abstr. 119:156226
- ⁴⁴ Pelletier, S. W., Harraz, F. M., Badawi, M. M., Tantiraksachai, S., Wang, F.-P., Chen, S.-Y., *Heterocycles* **1986**, 24, 1853-1865
- ⁴⁵ Shen, X., Chen, D., Jian, X., Wang, F., *Huaxi Yaoxue Zazh* **2001**, 16, 4-7; Chem. Abstr. 135:43481
- ⁴⁶ Zhang, S., Zhao, G., Lin, G., *Phytochemistry* **1999**, 51, 333-336
- ⁴⁷ Schulze, H.; Bierling, E., *Arch. Pharm.* **1913**, 48-49; Chem. Abstr. 7:18225
- ⁴⁸ Jin, J., Zhong, M., *Zhongchaoyao* **1986**, 1-3; Chem. Abstr. 105:3523
- ⁴⁹ Sun, F., Bai, Y., Benn, M., *Heterocycles* **1991**, 32, 1137-1141
- ⁵⁰ Yunusov, S.; Abubakirov, N. K., *Zhurnal Obshchei Khimii* **1949**, 19, 869-876; Chem. Abstr. 44:5557
- ⁵¹ Yunusov, M. S.; Yunusov, S. Yu., *Doklady Akademii Nauk SSSR*, **1969**, 188, 1077-1078; Chem. Abstr. 72:32091
- ⁵² Edwards, O. E., Marion, L., *Can. J. Chem.* **1952**, 30, 627
- ⁵³ Narzullaev, A. S., Yunusov, M. S., Matveev, V. M., Sabirov, S. S., *Khim. Prir. Soedin.* **1989**, 48-50; Chem. Abstr. 111:93883

- ⁵⁴ Markwood, L. N., *J. Am. Pharm. Assoc.* **1924**, 13, 696
- ⁵⁵ Desai, H. K., Cartwright, B. T., Pelletier, S. W., *J. Nat. Prod.* **1994**, 57, 677-682
- ⁵⁶ Joshi, B. S., Glinski, J. A., Chokshi, H. P., Chen, S.-Y., Srivastava, S. K., Pelletier, S. W., *Heterocycles* **1984**, 22, 2037-2042
- ⁵⁷ Cookson, R. C., Trevett, M. E., *J. Chem. Soc.* **1956**, 2689-2695
- ⁵⁸ Bando, H., Wada, K., Tanaka, J., Kimura, S., Hasegawa, E., Amiya, T., *Heterocycles* **1989**, 29, 1293
- ⁵⁹ Pelletier, S. W., Srivastava, S. K., Joshi, B. S., *Heterocycles* **1985**, 23, 331-338
- ⁶⁰ Couch, J. F., *J. Am. Chem. Soc.* **1936**, 58, 684-685
- ⁶¹ Desai, H. K., Pelletier, S. W., *J. Nat. Prod.* **1993**, 56, 1140-1147
- ⁶² Jones, A. J., Benn, M. H., *Tetrahedron Lett.* **1972**, 4351-4354
- ⁶³ Joshi, B. S., Pelletier, S. W., Recent developments in the chemistry of norditerpenoid and diterpenoid alkaloids. In: Pelletier, S. W. (Ed.), *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*, Vol. 13, Elsevier Science Ltd. Oxford **1999**, 289-370
- ⁶⁴ Pelletier, S. W., Djarmati, Z., Lajsic, S., De Camp, W. H., *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 2617
- ⁶⁵ Freudenberg, W., Rogers, E. F., *J. Amer. Chem. Soc.* **1937**, 59, 2572
- ⁶⁶ Wiesner, K., Brewer, H. W., Simmons, D. L., Babin, D. R., Bickelhaupt, F., Kallos, J., Bogri, T., *Tetrahedron Lett.* **1960**, 17-24
- ⁶⁷ Chu, J.-H., Fang, S.-D., Huang, W.-G., *Acta Chimica Sinica* **1964**, 30, 139
- ⁶⁸ Pelletier, S. W., Badawi, M. M., *Heterocycles* **1985**, 23, 2873
- ⁶⁹ Wang, H.-C., Zhu, D.-Z., Zhao, Z.-Y., Zhu, R.-H., *Huaxue Xuebao* **1980**, 38, 475-480; Chem. Abstr. 94:109168
- ⁷⁰ Sakai, S.-I., Yamamoto, K., Hotoda, K., Yamaguchi, K., Aimi, N., Yamanaka, E., Haginiwa, J., Okamoto, T., *Yakugaku Zasshi* **1984**, 104, 222; Chem. Abstr. 101:69329
- ⁷¹ Konno, C., Shirasaka, M., Hikino, H., *J. Nat. Prod.* **1982**, 45, 128
- ⁷² Ross, S. A., Pelletier, S. W., *J. Nat. Prod.* **1988**, 51, 572
- ⁷³ Joshi, B. S., Pelletier, S. W., Carbon-13 and proton NMR shift assignments and physical constants of diterpenoid alkaloids. In: Pelletier, S. W. (Ed.): *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*, Vol. 15. Elsevier Science Ltd. Oxford **2001**, 1-413
- ⁷⁴ Sultankhodzhaev, M. N., Yunusov, M. S., *Khim. Prir. Soedin.* **1987**, 386; Chem. Abstr. 107:214822

- ⁷⁵ Zhapova, J., Semenov, A. A., *Khim. Prir. Soedin.* **1993**, 888; Chem. Abstr. 123:280874
- ⁷⁶ Chen, Z. G., Lao, A. N., Wang, H. C., Hong, S. H., *Heterocycles* **1987**, 26, 1455
- ⁷⁷ Bagryanskaya, I. Y., Gatilov, Y. V., Ganbaatar, J., Osadchii, S. A., Shakirov, M. M., Shults, E. E., Tolstikov, G. A., *Russian Chemical Bulletin* **2001**, 50, 2092-2094
- ⁷⁸ Sakai, S.-I., Okazaki, T., Yamaguchi, K., Takayama, H., Aimi, N., *Chem. Pharm. Bull.* (Japan) **1987**, 35, 2615
- ⁷⁹ Jennings, K. R., Starratt, A. N., Penaranda, P., Loughton, B. G., *Special Publication-Royal Society of Chemistry* **1999**, 232 (*Progress in Neuropharmacology and Neurotoxicology of Pesticides and Drugs*), 163-174
- ⁸⁰ Picciotto, M. R., Zoli, M., *Neurobiol.* **2002**, 53, 641-655
- ⁸¹ Davies, A. R. L., Hardick, D. J., Blagbrough, I. S., Potter, B. V. L., Wolstenholme, A. J., Wonnacott, S., *Neuropharmacology* **1999**, 38, 679-690
- ⁸² Hardick, D. J., Blagbrough I. S., Cooper, G., Potter, B. V. L., Critchley, T., Wonnacott S., *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 4860-4866
- ⁸³ Jacyno, J. M., Lin, N.-H., Holladay, M. W., Sullivan J. P., *Phytochemicals and Health*, Gustine, D. L., Flores, H. E. (Eds), American Society of Plant Physiologists **1995**, 294-296
- ⁸⁴ Ismail, K. A., Bergmeier, S. C., *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, 37, 469-474
- ⁸⁵ Davies, A. R. L., Hardick, D. J., Blagbrough, I. S., Potter, B. V. L., Wolstenholme, A. J., Wonnacott, S., *Neuropharmacology* **1999**, 38, 679-690
- ⁸⁶ Manners, G. D., Panter, K. E., Pfister, J. A., Ralphs, M. H., James, L. F., *J. Nat. Prod.* **1998**, 61, 1086-1089
- ⁸⁷ Zhang, C. Y., Sung, W. L., Chen, D. H., *Fitoterapia* **1993**, 64, 188-189
- ⁸⁸ Pelletier, S. W., Sawhney, R. S., Desai, H. K., Mody, N. V., *J. Nat. Prod.* **1980**, 43, 395-406
- ⁸⁹ Pelletier, S. W., Mody, N. V., Sawhney, R. S., Bhattacharyya, J., *Heterocycles* **1977**, 7, 327-339
- ⁹⁰ Jin, J. S., Zhong, M. C., *Zhongcaoyao* **1986**, 17, 1-3; Chem. Abstr. 105:3523
- ⁹¹ Yunusov, M. S., Yunusov, S. Yu., *Khim. Prir. Soedin.* **1970**, 334; Chem. Abstr. 73:77443
- ⁹² Edwards, O. E., Marion, L., *Can. J. Chem.* **1952**, 30, 627-645
- ⁹³ Jones, A. J., Benn, M. H., *Can. J. Chem.* **1973**, 51, 486-499
- ⁹⁴ Pelletier, S. W., Mody, N. V., *Tetrahedron Lett.* **1981**, 22, 207-210

- ⁹⁵ Joshi, B. S., Glinski, J. A., Chokshi, H. P., Chen, S.-Y., Srivastava, S. K., Pelletier, S. W., *Heterocycles* **1984**, 22, 2037 - 2042
- ⁹⁶ Kulanthaivel, P., Pelletier, S. W., Olsen, J. D., *Heterocycles* **1988**, 27, 339-342
- ⁹⁷ Cookson, R. C., Trevett, M. E., *J. Chem. Soc.* **1956**, 2689-2695
- ⁹⁸ Ross, S. A., Desai, H. K., Joshi, B. S., Srivastava, S. K., Glinski, J. A., Chen, S. Y., Pelletier, S. W., *Phytochemistry* **1988**, 27, 3719-3721
- ⁹⁹ Pelletier, S. W., Djarmati, Z., Lajsic, S., De Camp, W. H., *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 2617-2625
- ¹⁰⁰ Pelletier, S. W., Badawi, M. M., *Heterocycles* **1985**, 23, 2873-2883
- ¹⁰¹ Bando, H., Wada, K., Amiya, T., Fujimoto, Y., Kobayashi, K., *Heterocycles* **1988**, 27, 2167-2174
- ¹⁰² Sultankhodzhaev, M. N., Yunusov, M. S., *Khim. Prir. Soedin.* **1987**, 386; Chem. Abstr. 107:214822
- ¹⁰³ Zhapova, J., Semenov, A. A., *Khim. Prir. Soedin.* **1993**, 888; Chem. Abstr. 123:280874
- ¹⁰⁴ Chen, Z. G., Lao, A. N., Wang, H. C., Hong, S. H., *Heterocycles* **1987**, 26, 1455-1460
- ¹⁰⁵ Sakai, S.-I., Okazaki, T., Yamaguchi, K., Takayama, H., Aimi, N., *Chem. Pharm. Bull.* (Japan) **1987**, 35, 2615-2617

Teilergebnisse aus dieser Arbeit wurden in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

Publikation:

Batbayar, N., Enkhzaya, S., Tunsag, J., Batsuren, D., Rycroft, D. S., Sproll, S., Bracher, F.,
Phytochemistry **2003**, 62, 543-550

Posterpräsentationen:

The Second International Conference on Chemical Investigation and Utilization of Natural
Resources, Ulaanbaatar, Mongolei, 12.-15.08.2003

N. Batbayar, J. Tunsag, D. Batsuren, D. S. Rycroft, F. Bracher, S. Sproll: Norditerpenoid
Alkaloids from *Delphinium* Species

Jahrestagung der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft, Würzburg, 8.-11.10.2003

Sproll, S., Bracher, F., Batbayar, N., Batsuren, D., Gündisch, D.: Norditerpenoid alkaloids
from mongolian *Delphinium* species as ligands for nicotinic acetylcholine receptors

Lebenslauf

Name: Susanne Sproll

Geburtsdatum: 17.05.1974

Geburtsort: München

Staatsangehörigkeit: deutsch

Familienstand: ledig

09/80 - 07/84 Grundschule am Gernerplatz, Puchheim

09/84 - 07/93 Gymnasium Puchheim; Abschluß: Abitur

09/93 - 06/94 Au-pair-Aufenthalt in Dublin, Irland

10/94 - 05/99 Pharmaziestudium an der LMU München

09/96 1. Staatsexamen

05/99 2. Staatsexamen

05/99 - 11/99 Praktikum bei der Firma Hexal AG, Holzkirchen

11/99 - 05/00 Praktikum in der Mariahilf-Apotheke, München

07/00 3. Staatsexamen; Approbation als Apothekerin

seit 08/00 Anfertigung einer Dissertation unter Anleitung von Prof. Dr. F. Bracher am Department Pharmazie – Zentrum für Pharmaforschung der LMU München