

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

**Strukturaufklärung, Biosynthese und Synthese
von Sekundärmetaboliten
aus Kulturen von *Malassezia furfur***

Bernhard Irlinger

aus

Berchtesgaden

2002

Erklärung

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

Ehrenwörtliche Versicherung

Diese Dissertation wurde selbständig, ohne unerlaubte Hilfe erarbeitet.

München, den 22.03.2002

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'S. Kluge', written in a cursive style.

Dissertation eingereicht am 09.04.2002

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

Mündliche Prüfung am 14.05.2002

Meinen Eltern
und
meiner Frau
gewidmet

Danksagung

Meinem verehrten Lehrer,

Herrn Professor Dr. Wolfgang Steglich,

möchte ich besonders herzlich für die Begeisterung und das große Interesse an dieser Arbeit danken. Die reizvolle Themenstellung, zahlreiche Anregungen und viele interessante Diskussionen haben mir Freude an der Naturstoffchemie geschenkt und diese Arbeit erst ermöglicht.

Herrn Professor Dr. Thomas Lindel danke ich für die Übernahme des Koreferats.

Für die ausgezeichnete Zusammenarbeit auf dem Gebiet der *Malassezia*-Hefen möchte ich mich ganz herzlich bei PD Dr. Peter Mayser und Dr. Hans-Joachim Krämer bedanken. Ihr großartiger Einsatz hat mir interessante Einblicke in die Chemie der menschlichen Haut gegeben und maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Claudia Dubler, Dr. Werner Spahl, Reinhard Seidl, Andrea Bartsch, Gertraud Gruber, Kathrin Hohnholt, Helmut Huber, Ivo Brück, Dr. Kurt Polborn, Dr. Peter Spittler, Dr. David Stephenson und Helmut Schulz bin ich für zahlreiche analytische Messungen zu Dank verpflichtet. Claudia Dubler und Dr. Veronika Hellwig danke ich für die Einführung in das Messen von NMR-Spektren. Insbesondere Claudia Dubler war mir während der ganzen Zeit eine große Hilfe bei Fragen zu Messungen und den NMR-Geräten. Für die sehr gute Zusammenarbeit und die immer wieder großzügig zur Verfügung gestellte Meßzeit möchte ich mich herzlich bedanken. Dr. Werner Spahl danke ich für die Hilfe bei der Enträtselung von kniffligen Massenspektren und die Messung vieler eiliger Proben.

Allen Mitgliedern des Arbeitskreises danke ich für das gute Arbeitsklima und die nette Atmosphäre, insbesondere Andrea Bartsch, Dr. Christian Miksch, Monika Winner, Kathrin Hohnholt, Heiner Ebel, Sabine Voß, Dr. Christoph Stark, Dr. Marc Heidl, Claudia Gräf, Dr. Gregor Wille, Dr. Bernd Sonntag, Dr. Robert Feling, Dr. Veronika Hellwig und Dr. Susanne Schumann für die angenehme Zeit im Labor.

Mein Dank gilt weiterhin:

Andrea Bartsch, Heiner Ebel, Markus Heinrich, Stefan Kroiß, Dr. Gregor Wille, Christopher Koradin, Dr. Kirsten Zeitler, Dr. Robert Feling, Dr. Marc Heidl, Monika Winner, Nadine Ermel, Andreas Kreipl, Martin Lang, Dr. Christian Peschko und Dr. Bernd Sontag für anregende Diskussionen und Hilfestellungen jeder Art.

Andrea Bartsch, Claudia Gräf und Monika Winner für ihre ansteckende Fröhlichkeit und die Wochenendgeschichten, die mir über den tristen Montagmorgen hinweg geholfen haben.

Meinen Forschungspraktikanten Sebastian Knör, Stefan Tyroller und Rainer Kraft für ihre engagierte und selbständige Mitarbeit.

Stefan Kroiß, Dr. Christian Miksch und Dr. Werner Spahl für die entspannenden Fraggs.

Dr. Werner Spahl und Stefan Kroiß für ihre Unterstützung bei unzähligen Computerproblemen.

H. Merten und Edelgard Lenz für die Hilfe bei Verwaltungsangelegenheiten.

Andrea Bartsch, Stefan Kroiß, PD Dr. Peter Mayser und Dr. Hans-Joachim Krämer für die kritische Durchsicht des Manuskripts.

John Carmack für seine hervorragende Programmierarbeit.

Ganz besonderer Dank gilt meiner Familie für die großzügige Unterstützung während meiner gesamten Ausbildung.

Die Tage vergehn...

Vorbei ist der letzte Sommer
vorbei, verflogen im Wind,
verwaht, verganga, veronna.
De Zeit vergeht so gschwind.

Was grad no war, is vergessen,
is, bist richtig schaugst bloß, vorbei.
A jeder Schritt geht ins Gestern.
Zum Herbst werd so schnell jeder Mai.

Der Herbst liegt scho in der Wiegn
wenns Jahr no jung is und grün
und laßt zwischen Knospen und Blüt
de welkn Blattln scho blühn.

De Zeit zum Pfua-Gott-Sagn is komma,
de sonnign Träume verwehn.
Vorbei is der letzte Sommer.
Es is Herbst. Und de Tage vergehn.

(Helmut Zöpfl)

Inhaltsverzeichnis

ZUSAMMENFASSUNG	7
ALLGEMEINER TEIL	11
1 Lipophile Hefen der Gattung <i>Malassezia</i>	11
1.1 Die historische Entwicklung	11
1.2 Allgemeine Betrachtung der Gattung <i>Malassezia</i>	13
1.3 Pityriasis versicolor	14
2 Die Biosynthese von L-Tryptophan (22)	17
2.1 Der Shikimatweg	17
SPEZIELLER TEIL	21
3 Neue Erkenntnisse über den Stoffwechsel der lipophilen Hefe <i>Malassezia furfur</i>	21
3.1 Stand der Forschung	21
3.2 Isolierung von Sekundärmetaboliten aus Kulturen von <i>M. furfur</i>	23
3.3 Bisherige Arbeiten	26
4 Die Gruppe der Pityriarubine	27
4.1 Pityrianhydrid (29)	27
4.1.1 Struktur von Pityrianhydrid (29)	27
4.1.2 Bisindolylmaleinimide in der Natur	29
4.1.3 Strukturbeweis durch Synthese	29
4.2 Pityrialacton (35)	31
4.2.1 Struktur von Pityrialacton (35)	31
4.2.2 Verbindungen mit 2,3-Dihydrofuran-2,3-dion-Gerüst	35
4.3 Pityriarubin A (39)	36
4.3.1 Struktur von Pityriarubin A (39)	36
4.3.2 Naturstoffe mit Cyclopentendion-Spirostruktur	41
4.3.3 Naturstoffe mit 3-Carboxy-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin-System	42
4.3.4 Synthese von Modellverbindungen	43

4.4	Pityriarubin B (56)	48
4.4.1	Struktur von Pityriarubin B (56)	48
4.4.2	Strukturbeweis durch Vergleichsverbindungen	52
4.5	Pityriarubin C (59)	53
4.5.1	Struktur von Pityriarubin C (59)	53
4.5.2	α -Oxo- γ -butyrolactone in der Natur	56
4.5.3	Synthese von Modellverbindungen	56
4.6	Biologische Aktivität	59
5	Biosynthese der Pityriarubine in <i>Malassezia furfur</i>	61
5.1	Überlegungen zur Biosynthese der Pityriarubine	61
5.2	Synthese von [1- ¹³ C]-DL-Tryptophan (83*)	63
5.3	Ergebnisse des Verfütterungsexperiments	65
6	Syntheseversuche zu 4,5-Bisindolyl-cyclopent-4-en-1,2,3-trion (70)	68
6.1	Retrosynthetische Überlegungen	68
6.2	Versuche mit Methyltriphenylphosphan (92)	69
6.3	Versuche mit 2,3-Dichlorcyclopent-2-en-1,4-dion (90)	71
6.4	Ausblick	76
7	Pityriacitrin (117) - ein neuartiger UV-Schutz	78
7.1	Struktur von Pityriacitrin (117)	78
7.2	Biologische Aktivität	81
7.3	UV-Protektoren in der Natur	84
7.4	Synthese von Pityriacitrin (117)	86
7.4.1	Retrosynthetische Überlegungen	86
7.4.2	Totalsynthese des Naturstoffs 117	86
8	Die Gruppe der Malassezindole	92
8.1	Malassezindol A (141)	92
8.1.1	Struktur von Malassezindol A (141)	92
8.1.2	Strukturbeweis durch Vergleichsverbindungen	98
8.1.3	Biologische Aktivität	99
8.2	Malassezindol B (146)	100
8.2.1	Struktur von Malassezindol B (146)	100
8.3	Syntheseversuche zu Malassezindol A (141)	104
8.3.1	Retrosynthetische Überlegungen	104

8.3.2	Syntheseversuch über die <i>Pummerer</i> -Reaktion	105
8.3.3	Syntheseversuche unter Rhodium-Katalyse	110
8.3.4	Syntheseversuche mit <i>tert</i> -Butylhypochlorit (191)	115
8.3.5	Ausblick	119
9	Malasseziacitrin (219)	122
9.1	Struktur von Malasseziacitrin (219)	122
9.2	Strukturbeweis durch Vergleichsverbindungen	129
9.3	Biosynthetische Überlegungen	130
10	Weitere Sekundärmetabolite aus Kulturen von <i>M. furfur</i>	133
10.1	D-Indolylmilchsäure (226)	133
10.1.1	Struktur von D-Indolylmilchsäure (226)	133
10.2	Malasseziamilchsäure (227)	134
10.2.1	Struktur von Malasseziamilchsäure (227)	134
10.2.2	Verbindungen mit 2,3'-Methylenbisindolyl-Struktur	137
10.3	Malasseziacarbazol A (229)	138
10.3.1	Struktur von Malasseziacarbazol A (229)	138
10.3.2	Vergleich mit 6-substituierten Indolo[3,2- <i>b</i>]carbazolen	141
10.4	Malasseziacarbazol B (232)	142
10.4.1	Struktur von Malasseziacarbazol B (232)	142
10.4.2	Naturstoffe mit Carbazol-Teilstruktur	145
11	Biosynthetische Überlegungen zu ausgewählten Sekundärmetaboliten	147
	EXPERIMENTELLER TEIL	150
12	Geräte und Materialien	150
13	Arbeitsvorschriften zu Kapitel 3	153
13.1	Kultivierung	153
13.2	Isolierung	153
14	Arbeitsvorschriften und Experimentelle Daten zu Kapitel 4	157
14.1	Pityrianhydrid (29)	157
14.2	2,3-Bis-(1 <i>H</i> -indol-3-yl)- <i>N</i> -methyleinimid (34)	158
14.3	Pityrianhydrid: 2,3-Bis-(1 <i>H</i> -indol-3-yl)maleinsäureanhydrid (29)	159

14.4	Arcyriarubin A (30)	159
14.5	Pityrialacton (35)	160
14.6	Pityriarubin A (39)	161
14.7	(3 <i>S</i>)-1,2,3,4,9-Pentahydro-pyrido[3,4- <i>b</i>]indol-3-carboxymethyl-1-spiro-2'-(1',3'-indandion) (47)	163
14.8	4,5-Bis(2,6-dimethylphenylimino)-2,3-diphenylcyclopent-2-enon (54)	164
14.9	4,5-Diphenyl-cyclopent-4-en-1,2,3-trion (51)	165
14.10	(7 <i>S</i>)-6,13-Dihydro-2,3-diphenyl-indolo[3,2- <i>i</i>]-6-aza-1,4-dioxo-spiro[4.5]deca-2,9-dien-7-carbonsäuremethylester (55)	166
14.11	Pityriarubin B (56)	167
14.12	Pityriarubin C (59)	168
14.13	4-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5 <i>H</i> -3-hydroxy-furan-2-on-5-spiro-2'-(1',3'-indandion) (64)	169
14.14	4-(1-Acetyl-1 <i>H</i> -indol-3-ylmethyl)-2-methyl-4 <i>H</i> -oxazol-5-on (67)	170
14.15	3-(1 <i>H</i> -Indol-3-yl)brenztraubensäure (68)	171
14.16	2,3-Diphenyl-8-hydroxy-9-(indol-3'-yl)-6-oxa-1,4,7-trioxo-spiro[4.4]nona-2,8-dien (69)	172
15	Arbeitsvorschriften und Experimentelle Daten zu Kapitel 5	174
15.1	<i>N</i> -Benzoyl[1- ¹³ C]glycin (86*)	174
15.2	3-(1-Acet-1 <i>H</i> -indol-3-ylmethyl)-5-phenyl[2- ¹³ C]oxazolinon (87*)	175
15.3	2-Benzamido-3-(indol-3-yl)[1- ¹³ C]acrylsäure (88*)	176
15.4	<i>N</i> -Benzoyl[1- ¹³ C]-DL-tryptophan (89*)	177
15.5	[1- ¹³ C]-DL-Tryptophan (83*)	178
15.6	Pityrialacton* (35*)	179
15.7	Pityriarubin A* (39*)	180
15.8	Pityriarubin B* (56*)	181
15.9	Pityriarubin C* (59*)	183
16	Arbeitsvorschriften zu Kapitel 6	184
16.1	4,5-Bis-(1- <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-indol-3-yl)maleinsäureanhydrid (91)	184
16.2	1,2,3,4-Tetrachlorcyclopenta-1,3-dien (97)	185
16.3	1,1,2,3,4,4-Hexachlorcyclopent-2-en (98)	186
16.4	2,3-Dichlorcyclopent-2-en-1,4-dion (90)	186
16.5	2,3-Dichlor-5-benzyliden-cyclopent-2-en-1,4-dion (104)	187
16.6	2,3-Dichlor-5-(dimethylamino-methylen)cyclopent-2-en-1,4-dion (106)	188

16.7	3-Chlor-2-(indol-3-yl)-5-(dimethylamino-methylen)cyclopent-2-en-1,4-dion (107)	188
16.8	2,3-Bis-(1 <i>H</i> -indol-3-yl)-5-(dimethylamino-methylen)cyclopent-2-en-1,4-dion (108)	190
17	Arbeitsvorschriften und Experimentelle Daten zu Kapitel 7	192
17.1	Pityriacitrin (117)	192
17.2	3-Formyl-indol-1-carbonsäure-2,2,2-trichlorethylester (130)	193
17.3	2,3,4,9-Tetrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[3,4- <i>b</i>]indol-1-on (134)	194
17.4	2,9-Dihydro-1 <i>H</i> -pyrido[3,4- <i>b</i>]indol-1-on (135)	195
17.5	1-Brom-9 <i>H</i> -pyrido[3,4- <i>b</i>]indol (136)	196
17.6	(<i>R,S</i>)-(9 <i>H</i> -Pyrido[3,4- <i>b</i>]indol-1-yl)(1'-(<i>tert</i> -butyloxycarbonyl)-1' <i>H</i> -indol-3'-yl)methanol (138)	197
17.7	1-Brom-9- <i>tert</i> -butyloxycarbonyl-pyrido[3,4- <i>b</i>]indol (139)	198
17.8	(9 <i>H</i> -Pyrido[3,4- <i>b</i>]indol-1-yl)(1'-(<i>tert</i> -butyloxycarbonyl)-1' <i>H</i> -indol-3'-yl)keton (140)	199
17.9	Pityriacitrin: (9 <i>H</i> -Pyrido[3,4- <i>b</i>]indol-1-yl)(1' <i>H</i> -indol-3'-yl)keton (117)	201
18	Arbeitsvorschriften und Experimentelle Daten zu Kapitel 8	202
18.1	Malassezindol A (141)	202
18.2	Malassezindol A* (141 *)	203
18.3	Malassezindol B (146)	204
18.4	(1- <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-indol-3-yl)essigsäuremethylester (151)	205
18.5	(<i>rac</i>)-2-Brom-(1- <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-indol-3-yl)essigsäuremethylester (157)	206
18.6	(<i>rac</i>)-2-Ethylthio-(1- <i>tert</i> -butyloxycarbonyl-indol-3-yl)essigsäuremethylester (158)	207
18.7	(2 <i>R,S</i>)- <i>N</i> -[2-Ethylthio-2-(1- <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-indol-3-yl)-acetyl]-L-tryptophanmethylester (159)	209
18.8	(2 <i>R,S</i>)- <i>N</i> -[2-Ethylsulfinyl-2-(1- <i>tert</i> -butyloxycarbonyl-indol-3-yl)acetyl]-L-tryptophanmethylester (160)	210
18.9	<i>Pummerer</i> -Umsetzung	212
18.9.1	<i>N</i> -[2-(1- <i>tert</i> -butyloxycarbonyl-indol-3-yl)-2-oxo-acetyl]-L-tryptophanmethylester (161)	212
18.9.2	<i>N</i> -[2,2-Bis-ethylthio-2-(1- <i>tert</i> -butyloxycarbonyl-indol-3-yl)acetyl]-L-tryptophanmethylester (162)	213

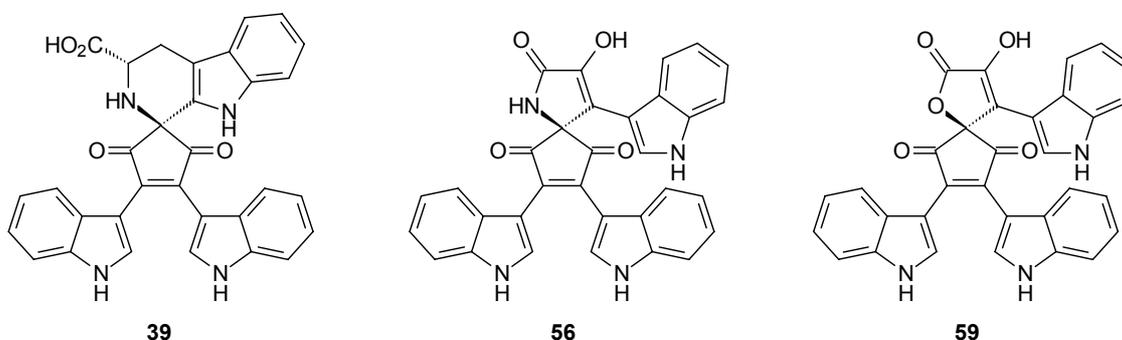
18.10	<i>N</i> -(Methylthio-acetyl)- <i>L</i> -tryptophanmethylester (171)	214
18.11	<i>N</i> -(Methylsulfinyl-acetyl)- <i>L</i> -tryptophanmethylester (172)	215
18.12	(1- <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-indol-3-yl)diazoessigsäuremethylester (178)	216
18.13	<i>N</i> -[2-(1 <i>H</i> -Indol-3-yl)-2-oxo-acetyl]- <i>L</i> -tryptophanmethylester (183)	217
18.14	<i>N</i> -[2-(1 <i>H</i> -Indol-3-yl)-2- <i>para</i> -toluolsulfonylhydrazon-acetyl]- <i>L</i> -tryptophanmethylester (184)	219
18.15	<i>N</i> -(1 <i>H</i> -Indol-3-yl-acetyl)- <i>L</i> -tryptophanmethylester (186)	220
18.16	<i>N</i> -(1- <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-indol-3-yl-acetyl)- <i>N</i> - <i>tert</i> -butyloxycarbonyl- <i>L</i> -tryptophanmethylester (187)	221
18.17	<i>tert</i> -Butylhypochlorit (191)	222
18.18	(2 <i>S</i>)-2-Dibenzylamino-3-(1 <i>H</i> -indol-3-yl)propionsäureethylester (197)	223
18.19	(2 <i>S</i>)-2-Dibenzylamino-3-(1 <i>H</i> -2-bis(methoxycarbonyl)methyl-indol-3- yl)propionsäureethylester (201)	224
18.20	2-(2,5-Dichlor-thiophen-1-yl)malonsäuredimethylester (203)	226
18.21	2-(1 <i>H</i> -Indol-3-yl)malonsäuredimethylester (204)	226
18.22	2-(1- <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-indol-3-yl)malonsäuredimethylester (205)	227
19	Experimentelle Daten zu Kapitel 9	229
19.1	Malasseziacitrin (219)	229
20	Experimentelle Daten zu Kapitel 10	231
20.1	D-Indolylmilchsäure (226)	231
20.2	Malasseziamilchsäure (227)	232
20.3	Malasseziacarbazol A (229)	233
20.4	Malasseziacarbazol B (232)	234
ANHANG		235
21	Daten zur Röntgenstrukturanalyse	235
21.1	Röntgenstrukturanalyse von 47	235
22	Abkürzungsverzeichnis	239
LITERATURVERZEICHNIS		242

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschreibt die Strukturaufklärung und die biosynthetische Untersuchung von Sekundärmetaboliten aus Kulturen der lipophilen Hefe *Malassezia furfur*, sowie die Entwicklung von Synthesekonzepten für die gefundenen Naturstoffe und deren Totalsynthese. *Malassezia furfur*, die zur residenten Hautflora des Menschen und vieler Warmblüter gehört, gilt als Erreger der Hautkrankheit Pityriasis versicolor. Das Krankheitsbild zeichnet sich durch bislang noch weitgehend ungeklärte Symptome aus, deren Aufklärung neue Einblicke in die Regulationsvorgänge des Hautorgans sowie Zugang zu neuen, pharmakologisch interessanten Wirkstoffen geben könnte.

- Die Gruppe der Pityriarubine

Neben den beiden Bisindolylen **29** und **35** wird mit den Pityriarubinen A-C (**39**, **56**, **59**) ein völlig neuer Strukturtyp entdeckt. Die Spiroverbindungen gelten als potente Inhibitoren der Proteinkinase C-Isoformen, insbesondere der Isoform β II.

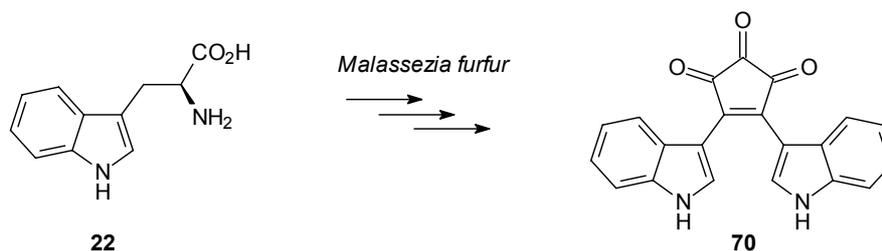


Durch Synthese geeigneter Modellverbindungen kann die Struktur und die Stereochemie der Naturstoffe aufgeklärt werden.

- Biosynthese der Pityriarubine in *Malassezia furfur*

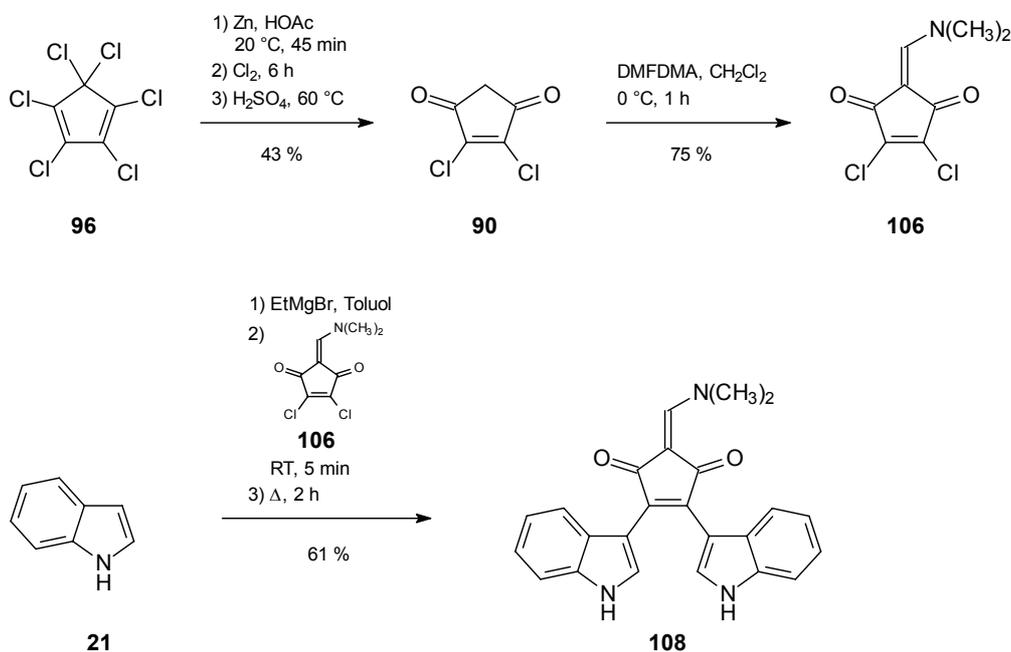
Die Herkunft des Spirokohlenstoffatoms der Pityriarubine A-C (**39**, **56**, **59**) kann auf den ersten Blick biosynthetisch nicht erklärt werden. Durch Synthese und Verfütterung von [1-¹³C]-DL-Tryptophan (**83***) an Kulturen von *M. furfur* kann die Entstehung der

Pityriarubine A-C (**39**, **56**, **59**) aus dem Triketon **70** geklärt werden, wobei eine Umpolungsreaktion den Schlüsselschritt in der Biosynthese von **70** darstellt.



- Syntheseversuche zu 4,5-Bisindolyl-cyclopent-4-en-1,2,3-trion (**70**)

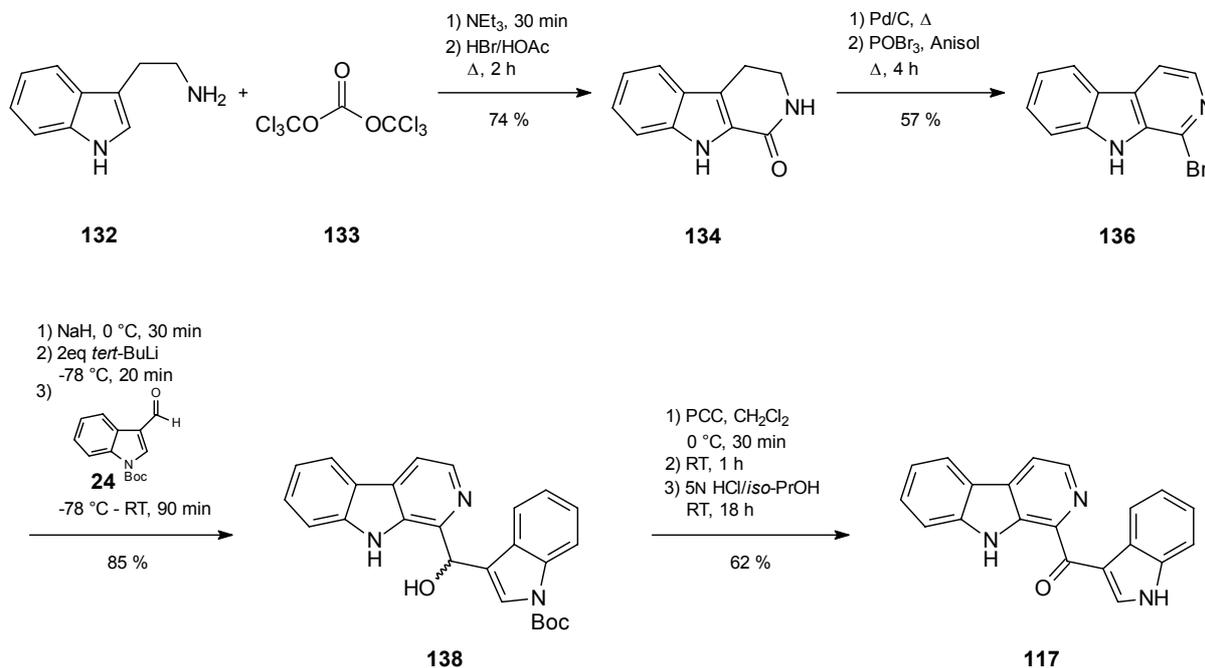
Aufgrund der neuartigen Struktur und der biologischen Wirksamkeit der Pityriarubine A-C (**39**, **56**, **59**) wird eine Synthese angestrebt. Trotz einer Vielzahl von synthetischen Varianten gelingt die Darstellung des Triketons **70**, das als zentraler Baustein in der Synthese angesehen wird, nicht. Es kann jedoch aus dem leicht zugänglichen 2,3-Dichlor-cyclopent-2-en-1,4-dion (**90**) eine interessante Vorstufe des Triketons **70** dargestellt werden.



- Pityriacitrin (**117**) - ein neuartiger UV-Schutz

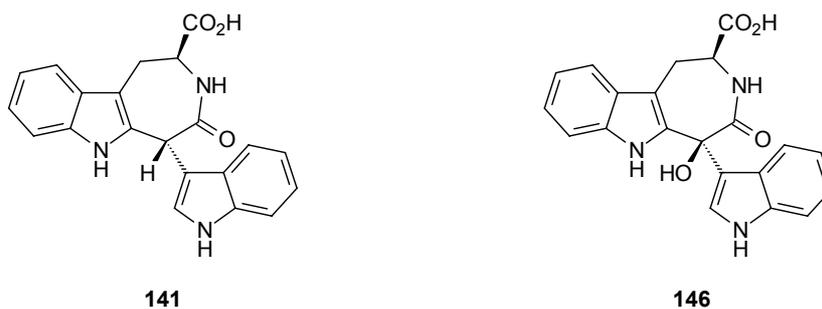
Pityriacitrin (**117**) wird als potenter UV-Filter aus *M. furfur* isoliert und die Struktur der Verbindung mit modernen analytischen Methoden aufgeklärt. Durch Totalsynthese

können größere Substanzmengen zur Verfügung gestellt und biologische Tests durchgeführt werden.



- Die Gruppe der Malassezindole

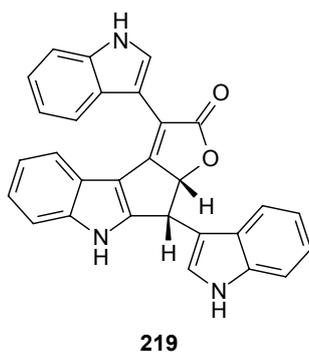
Mit den Malassezindolen A (141) und B (146) können zwei Verbindungen mit einer azepinähnlichen Teilstruktur aufgeklärt werden.



Malassezindol A (141) ist ein Inhibitor der Mushroom-Tyrosinase. Es werden verschiedene Syntheseveruche zur Darstellung unternommen und weitere Konzepte für die Synthese erstellt.

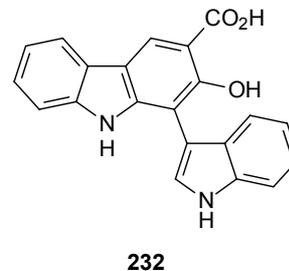
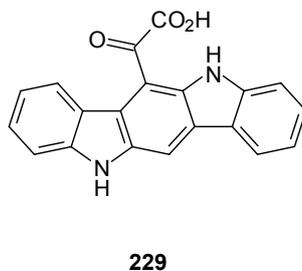
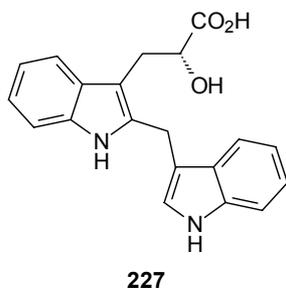
- **Malasseziacitrin (219)**

Malasseziacitrin (**219**) wird als ein weiterer Naturstoff mit neuem Strukturtyp isoliert. Die Verbindung setzt sich aus drei Einheiten L-Tryptophan (**22**) zusammen. Es wird die mögliche Biosynthese diskutiert, die anscheinend Mechanismen verwendet, die bereits von den anderen, in dieser Arbeit isolierten Naturstoffen her bekannt sind.



- Weitere Sekundärmetabolite aus Kulturen von *M. furfur*

Neben der bekannten Struktur von D-Indolylmilchsäure (**226**) können mit Malasseziamilchsäure (**227**), Malasseziacarbazol A (**229**) und Malasseziacarbazol B (**232**) drei weitere Sekundärmetabolite aus den Kulturen von *M. furfur* aufgeklärt werden.



- Biosynthetische Überlegungen zu ausgewählten Sekundärmetaboliten

In diesem Kapitel wird eine Übersicht über die möglichen biosynthetischen Zusammenhänge der in Kapitel 7, 8 und 10 besprochenen Naturstoffe gegeben.

Allgemeiner Teil

1 Lipophile Hefen der Gattung *Malassezia*

1.1 Die historische Entwicklung

Hefen der Gattung *Malassezia* (*M.*) werden meist im Zusammenhang mit der, besonders bei Jugendlichen, häufig auftretenden Hautkrankheit Pityriasis versicolor (Kleienpilzflechte) genannt. Der Name Pityriasis versicolor ist auf *Willan*^[1] zurückzuführen, der mit der kleieartigen Schuppung der betroffenen Bereiche und der wechselnden Färbung der Haut die typischen Symptome dieser Erkrankung beschrieb. 1869 wurde diese Bezeichnung international akzeptiert und in mehreren Sprachen übernommen.^[2] Zu den vermutlich ersten Beschreibungen in deutscher Sprache zählt die 1829 in Weimar herausgebrachte Übersetzung von *Batemanns* „Klassifikation der Hautkrankheiten“.^[3] Schon 1846 wurde erkannt, daß die Pityriasis versicolor durch einen Erreger verursacht wird. Mit dem Mikroskop konnte der Dermatologe und Gynäkologe *Carl Ferdinand Eichstedt* in Schuppenmaterial eines Erkrankten große Mengen Pilzfäden entdecken, gab dem von ihm entdeckten Pilz aber keinen Namen.^[4] Dies führte dazu, daß der Pilz seither acht verschiedenen Gattungen und 18 verschiedenen Spezies zugeordnet wurde.

Bezeichnung	Autor	Jahr	Bezeichnung	Autor	Jahr
<i>Microsporon furfur</i>	Robin	1853	<i>Pityrosporum cantlieni</i>	Castellani	1908
<i>Cryptococcus psoriasis</i>	Rivolta	1883	<i>Microsporon macfadyeni</i>	Castellani	1908
<i>Saccharomyces ovalis</i>	Bizzozero	1884	<i>Dermatophyton malassezi</i>	Dold	1910
<i>Saccharomyces sphericus</i>	Bizzozero	1884	<i>Pityrosporum ovale</i>	Castellani	1913
<i>Saccharomyces capillitii</i>	Oudemans	1885	<i>Malassezia tropica</i>	Panja	1927
<i>Malassezia furfur</i>	Baillon	1889	<i>Malassezia ovalis</i>	Panja	1927
„Flaschenbazillus“	Unna	1894	<i>Cryptococcus malassezi</i>	Benedek	1930
<i>Pityrosporum malassezii</i>	Sabouraud	1904	<i>Monilia furfur</i>	Vuillemin	1931
<i>Microsporon tropica</i>	Castellani	1905	<i>Pityrosporum orbiculare</i>	Gordon	1951

Tabelle 1.1 Historische Namensgebung für *Malassezia*-Hefen.^[5]

Der Biologe *Charles Robin* nannte den Pilz *Microsporon furfur*, wobei er sich auf die Dissertation von *Sluyter*^[6] berief, der unter den pflanzlichen Parasiten des Menschen den von *Eichstedt* entdeckten Pilz erwähnte. *Robin*^[7] wurde dank seiner detaillierten Diagnose zum Erstbeschreiber des Erregers. Aufgrund der mikromorphologischen Eigenschaften hielt der Botaniker *Baillon*^[8] die Einordnung in die Gattung *Microsporum* nicht für sinnvoll. Er schuf zu Ehren des Pathologen *Louis Charles Malassez* die neue Gattung *Malassezia* und ordnete den Erreger unter der Bezeichnung *Malassezia furfur* ein. *Malassez*^[9] hatte 1874 hefeähnliche, ovale Zellen in Kopfschuppen entdeckt und diese als Sporen beschrieben.

1904 bezeichnete *Sabouraud*^[10] die von *Malassez* beschriebenen Sporen als Ursache der Kopfschuppen und nannte den Erreger *Pityrosporum malassezii*. Die neue Gattung *Pityrosporum* (*P.*) bedeutet soviel wie „Spore der Schuppe“.

Allerdings hatte *Rivolta*^[11] schon 1873 den Pilz beschrieben und als Ursache einer Schuppenflechte vermutet, was die Bezeichnung *Cryptococcus psoriasis* nach sich zog. 1894 deutete *Paul Gerson Unna*^[12] den Erreger als „Flaschenbazillus“ und 1913 führten *Castellani* und *Chalmers*^[13] aufgrund des mikromorphologischen Bildes den Begriff *Pityrosporum ovale* ein, auch als Würdigung der Arbeiten von *Bizzozero*,^[14] der die Bezeichnung *Saccharomyces ovalis* geprägt hatte.

Die Kultivierungsversuche von *Pityrosporum ovale* waren seit der Namensgebung erfolglos. Die ersten, die damit Erfolg hatten, waren *Acton* und *Panja*.^[15] Mit der Bezeichnung *Malassezia ovalis* leiteten sie 1927 aus ihren Ergebnissen ab, daß *Pityrosporum* und *Malassezia* identisch sind. Sie konnten ihre Ideen aber nie durchsetzen. Die hohe Lipophilie des Erregers erkannten *Ota* und *Huang*^[16] bereits 1933 als Grund für die schwere Kultivierbarkeit. Erste Studien über den Lipidbedarf und das Wachstum von *Pityrosporum ovale* wurden 1939 veröffentlicht.^[17] Die Aussagen über *Malassezia furfur* als Erreger der Pityriasis versicolor stützten sich vor allem auf das Erscheinungsbild des Erregers in den befallenen Hautbereichen, die Kultivierung galt als unmöglich.^[10]

Obwohl mehrere Versuche unternommen wurden, um diese Aussage zu widerlegen, konnten keine reproduzierbaren Ergebnisse veröffentlicht werden. Ebenso gelang es nicht, die typischen *in vitro* Eigenschaften des Erregers (Hyphen, Sproßzellen) darzustellen.

1951 isolierte *Gordon*^[18] sowohl von gesunder Haut als auch von Pityriasis versicolor einen Pilz mit runden Sporen und bezeichnete ihn als *Pityrosporum orbiculare*. Die für *Malassezia furfur* typischen Hyphen und Filamente konnten jedoch bei *Pityrosporum orbiculare in vitro* nicht gefunden werden.

1925 konnte Weidman^[19] von der entzündeten Haut eines Rhinoceros *Pityrosporum pachydermatis* isolieren.

Beim Menschen konnten auch auf erkrankter Haut *Pityrosporum ovale* und *Pityrosporum orbiculare* häufig nebeneinander beobachtet werden. Doch es war oft nicht möglich, diese Mischkulturen mikromorphologisch zu differenzieren. Auch innerhalb der Subkulturen von *Pityrosporum orbiculare* wurden Übergänge von runden zu ovalen Formen beobachtet.^[18]

1977 konnten schließlich Dorn und Roehnert^[20] zeigen, daß *Pityrosporum orbiculare in vitro* Hyphen produzierte, die denen der Pityriasis versicolor entsprachen. Damit war bestätigt, daß *M. furfur* und *P. orbiculare* identisch sind. Im selben Jahr konnte Nazzarro-Porro^[21] auch bei der ovalen Form *P. ovale* Hyphenbildung feststellen. 1989 wurden diese Aussagen außerdem von Guého und Meyer^[22] durch Genomanalysen bestätigt.

International wurde 1986 die Bezeichnung *Malassezia* anerkannt,^[23] so daß von da an nur noch die beiden Arten *M. furfur* und *M. pachydermatitis* existierten.

Durch die rasante Entwicklung in der Forschung konnte bereits 1990 die dritte Spezies *Malassezia sympodialis* beschrieben werden.^[24] Und nur ein paar Jahre später wurden durch Genomanalysen vier weitere Spezies abgegrenzt,^[25,26] nämlich *M. globosa*, *M. obtusa*, *M. restricta* und *M. slooffiae*. Zur Zeit sind diese sieben Arten bekannt.

1.2 Allgemeine Betrachtung der Gattung *Malassezia*

Malassezia-Hefen sind allgemein verbreitet und mit Ausnahme von *M. pachydermatitis* von der Versorgung mit längerkettigen Fettsäuren abhängig.^[5,27] Sie können *in vitro* aus Schuppenmaterial oder Abstrichen gezüchtet werden, wobei ein lipidhaltiges Medium erforderlich ist. Es können mit einem Lipid überschichtete Medien oder Spezialnährböden, wie z.B. Dixon-Agar^[28], verwendet werden. Auf Dixon-Agar bilden sich cremefarbene bis gelbliche Kolonien, die einen fruchtigen und hefigen Geruch ausströmen.^[28,29] Ein Luftmyzel wird aber nicht gebildet. Die Oberflächenstruktur der Kolonie kann gelegentlich für einzelne Spezies als charakteristisch angegeben werden.^[15,25,28] Das optimale Wachstum stellt sich bei einem pH = 5.5–6.5 und einer Temperatur von 32–37 °C ein. Die Resistenz der Hefen gegenüber Cycloheximid im Bereich von 400–1000 ppm vermindert das Risiko einer Kontamination. Der Prozeß der Vermehrung erfolgt durch eine wiederholte Sprossung unter der Ausbildung einer Collarette,^[15,24,30,31] die manchmal unter dem Lichtmikroskop erkennbar ist.^[27]

Die Sproßzellen sind rund (2.5–5.0 µm Durchmesser), oval oder zylindrisch (1.5–3.0 × 2.5–8.0 µm). Hyphenbildung kann in Kultur bei einigen Spezies beobachtet werden.^[25]

Die Zellhülle zeigt einen einzigartigen Aufbau.^[30,32,33] *Malassezia*-Hefen besitzen eine 0.12 µm dicke, mehrschichtige Zellhülle mit spiralförmigen Aufbau.^[26,32] Diese besteht aus der Außenlamelle, der mehrschichtigen, multilamellös untergliederten Wand und der Plasmamembran. Charakteristisch ist ein zur Oberfläche hin vertikales Streifenmuster in den inneren Wandabschnitten, welches einer spiralförmigen Struktur entspricht. Diese Streifung ist unter dem Lichtmikroskop sichtbar.^[15]

Mit 15% weisen *Malassezia*-Spezies einen sehr hohen Lipidanteil in ihrer Zellwand auf.^[34] Dies ist wahrscheinlich ein Grund für die große Resistenz gegenüber äußeren Einflüssen.^[35]

Da die meisten *Malassezia*-Hefen, wie oben erwähnt, von der Versorgung mit Fettsäuren abhängig sind, finden sie sich besonders in den talgdrüsenreichen Körperarealen.^[36] Bei den meisten Menschen lassen sie sich im Ohrenschmalz bzw. im äußeren Gehörgang nachweisen.^[36]

Die Häufigkeit eines Befalles auf gesunder, unveränderter Haut wird mit 78–97% im Bereich des Kopfes, und mit 92–100% im Bereich des Stamms angegeben.^[37-39] Bei Männern und Frauen ist die Kolonisation weitgehend gleich, während sie von Mensch zu Mensch stark schwanken kann.^[37,40,41] Neben der Talgproduktion^[36] spielt auch die aktuelle Feuchtigkeit der Haut^[40] eine Rolle.

Die Besiedlung der Hautoberfläche steigt vor allem in der Pubertät, da in dieser Zeit eine verstärkte Talgdrüsenaktivität stattfindet. Mit zunehmenden Alter läßt sich ein Rückgang der Talgproduktion feststellen^[40] und damit verbunden ein Rückgang der Keimzahlen.

1.3 Pityriasis versicolor

Schon 1801 von *Willan*^[1] beschrieben und 1846 von *Eichstedt*^[4] als erregerbedingt erkannt, gilt die Pityriasis versicolor als eine der häufigsten Mykosen der Haut.^[42] Der als Leibarzt von König Ludwig II. bekannte *Bernhard von Gudden*^[43] verfaßte 1853 eine heute noch anerkannte Arbeit über die Pityriasis versicolor. In Hautsaugblasen von Patienten konnte er in der Blasendecke den Erreger finden und durch einzelne Schnitte die betroffenen Hautschichten genau lokalisieren.

Vermutlich tritt diese Erkrankung nur beim Menschen auf. Sie wird durch lipophile Hefen der Gattung *Malassezia* verursacht und ist weltweit verbreitet, wobei die Häufigkeit der Erkrankung mit tropischem Klima wächst.

Unterschieden wird zwischen der hyperpigmentierten Pityriasis versicolor und der hypopigmentierten Pityriasis versicolor alba.^[42,44] In der englischsprachigen Literatur findet sich auch oft die Bezeichnung Tinea versicolor.^[45]

Das Krankheitsbild besteht aus milchkaffeefarbenen, schwach kleieförmig schuppenden Flecken, die am Anfang etwa pfenniggroß sind, später aber zu großen unregelmäßigen Bereichen zusammenfließen. Etwa ein Drittel der Patienten bemerkt Juckreiz oder Brennen an den betroffenen Stellen, vor allem beim Schwitzen.^[42,45]



Abbildung 1.1 Pityriasis versicolor: bräunliche Flecken im Bereich der vorderen und hinteren Schweißrinne (links).

Pityriasis versicolor alba: depigmentierte Areale (rechts).

Besonders durch den Einfluß von UV-Strahlung wandeln sich hyperpigmentierte Regionen in hypopigmentierte um, was in dem Adjektiv „versicolor“ zum Ausdruck kommt. Bei Menschen mit dunkler Haut ist dies besonders auffällig.^[36] Es können beide Stadien nebeneinander auftreten, wobei die hyperpigmentierte Form häufiger als die Form der Pityriasis versicolor alba ist. Die Erkrankung tritt vor allem im Bereich der vorderen und hinteren Schweißrinne des Oberkörpers auf. In tropischen Klimazonen sind auch öfters Gesicht, Hals und die Beugen der großen Gelenke betroffen.^[45-48] Im Prinzip, wenn auch selten, kann jede Körperregion betroffen sein, so wie die männlichen Genitalien,^[49] Handinnenflächen und Fußsohlen,^[50-52] die frei von Talgdrüsen sind. Es wurde bis jetzt noch nie von einer Pityriasis versicolor an Schleimhäuten, Haaren und Nägeln berichtet, sehr wohl aber von einer *Malassezia*-Infektion der Haare und Nägel.^[53,54]

Die Erkrankung tritt vor allem bei Jugendlichen und Menschen in der zweiten und dritten Lebensdekade auf,^[36] während nach dem 60. Lebensjahr ein deutlicher Rückgang zu beobachten ist.^[55] Einen großen Einfluß hat das Klima. Während in tropischen Regionen jeder zweite Mensch erkrankt ist, sind es in Nord- und Mitteleuropa nur etwa 0,5–1% der Bevölkerung.

Die Ansteckungsgefahr ist sehr gering bzw. nicht gegeben.^[42,50] Das Auftreten von Epedimien oder Partnerinfektionen wird nur selten beschrieben.^[56]

Für den Ausbruch der Krankheit müssen also noch weitere Ursachen eine Rolle spielen. Zu den Prädispositionsfaktoren zählt neben einem tropisch-feuchtem Klima auch die individuelle Schweißneigung. Umstände, wie das Tragen von enger, nicht atmungsaktiver Kleidung^[42] und das Beruf- und Freizeitverhalten^[57] spielen ebenso eine Rolle wie Erkrankungen, die eine Störung des Schweißhaushaltes zur Folge haben.^[58] Aber auch Schwangerschaft, die Einnahme von oralen Kontrazeptiva,^[59] Fehlernährung^[40] und die Anwendung von lipidhaltigen Externa^[36] kann zum Ausbruch der Krankheit führen. Die Körperhygiene scheint dagegen keinen Einfluß zu haben.^[45]

Die Diagnosestellung der Pityriasis versicolor erfolgt meist klinisch, ergänzt durch eine Woodlight-Untersuchung, die gelblich-grüne Fluoreszenz zeigt. Wird mit einem Holzspatel über die betroffenen Stellen gestrichen, tritt eine kleieartige Schuppung auf, die als Hobelspanphänomen bezeichnet wird und ein weiteres typisches Indiz ist.

Die Krankheit selbst ist gut behandelbar, starke Rückfälle sind jedoch häufig. Zu den allgemeinen Maßnahmen zählen häufiges Duschen mit Syndets, Vermeidung von enger, nicht atmungsaktiver Kleidung sowie Ausschalten von Faktoren, die mit dem Ausbruch der Krankheit in Verbindung stehen.

2 Die Biosynthese von L-Tryptophan (22)

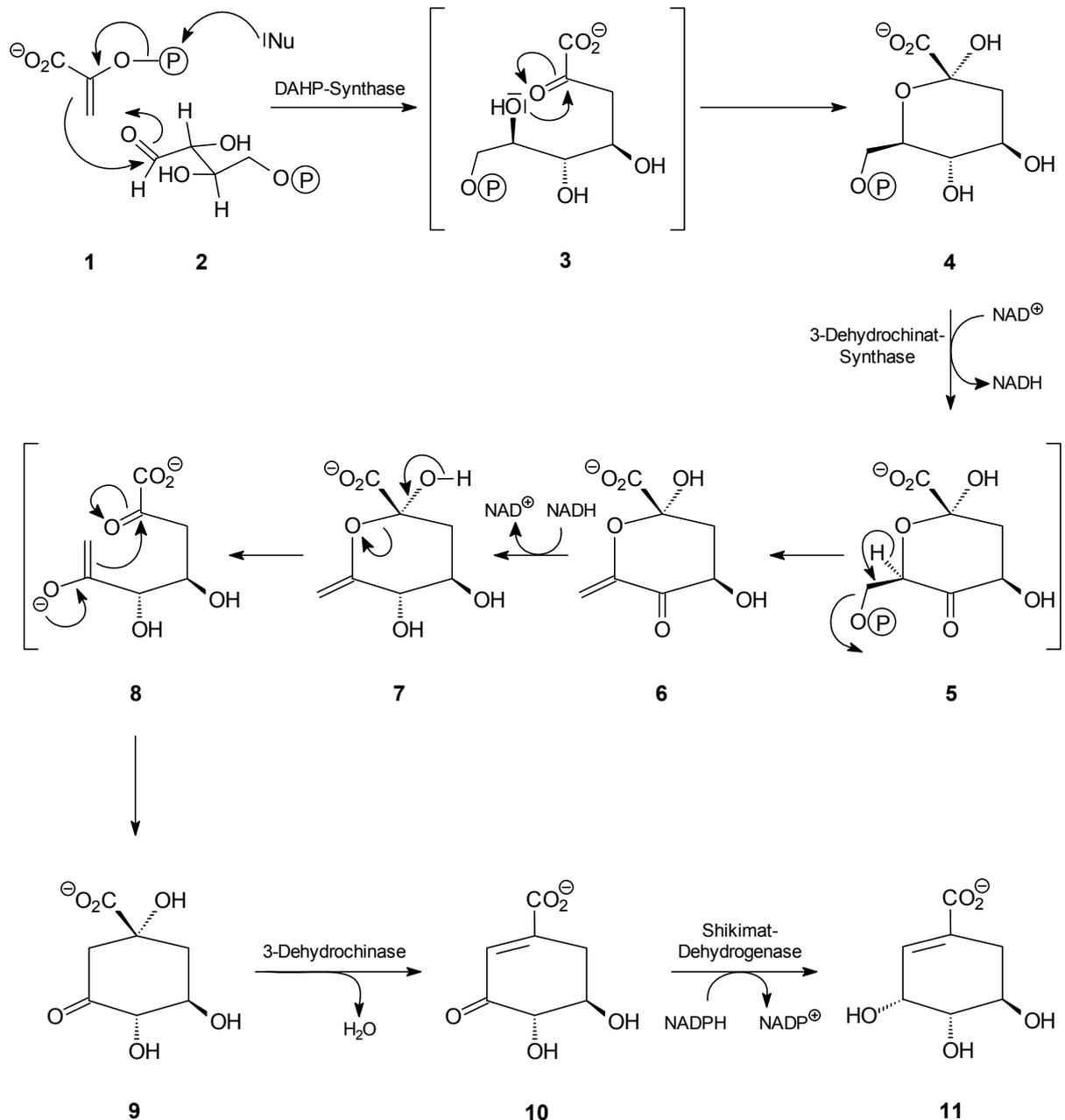
2.1 Der Shikimatweg

Da bei der Kultivierung von *M. furfur* L-Tryptophan (22) eine wichtige Rolle spielt, soll hier der Biosyntheseweg dieser Aminosäure vorgestellt werden.

In der Natur werden aromatische Aminosäuren von Zwischenprodukten des Kohlenhydratstoffwechsels ausgehend synthetisiert. Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan (22) leiten sich aus dem Shikimatweg ab.^[60,61] Dieser ist nach der Shikimisäure benannt, einem wichtigen Baustein in der mehrfach verzweigten Biosynthesekette. Die Shikimisäure wurde bereits 1885 aus *Illicium religiosum* (japanisch: shikimi-no-ki) isoliert,^[62] aber ihre Struktur und Stereochemie konnte erst in den dreißiger Jahren des 20. Jahrhunderts aufgeklärt werden.^[63-68]

Von Glucose ausgehend wird über die Glycolyse die Hexose hydrolytisch zu Triosephosphat gespalten, aus dem nach weiterer Umsetzung das Phosphoenolpyruvat (1) entsteht. Im Pentosephosphatcyclus wird durch Oxidation die Hexose in CO₂ und Pentosephosphat gespalten, das weiter zu Erythrose-4-phosphat (2) abgebaut wird.^[61] Die Verbindungen 1 und 2 stellen die Grundbausteine für den Shikimatweg dar.

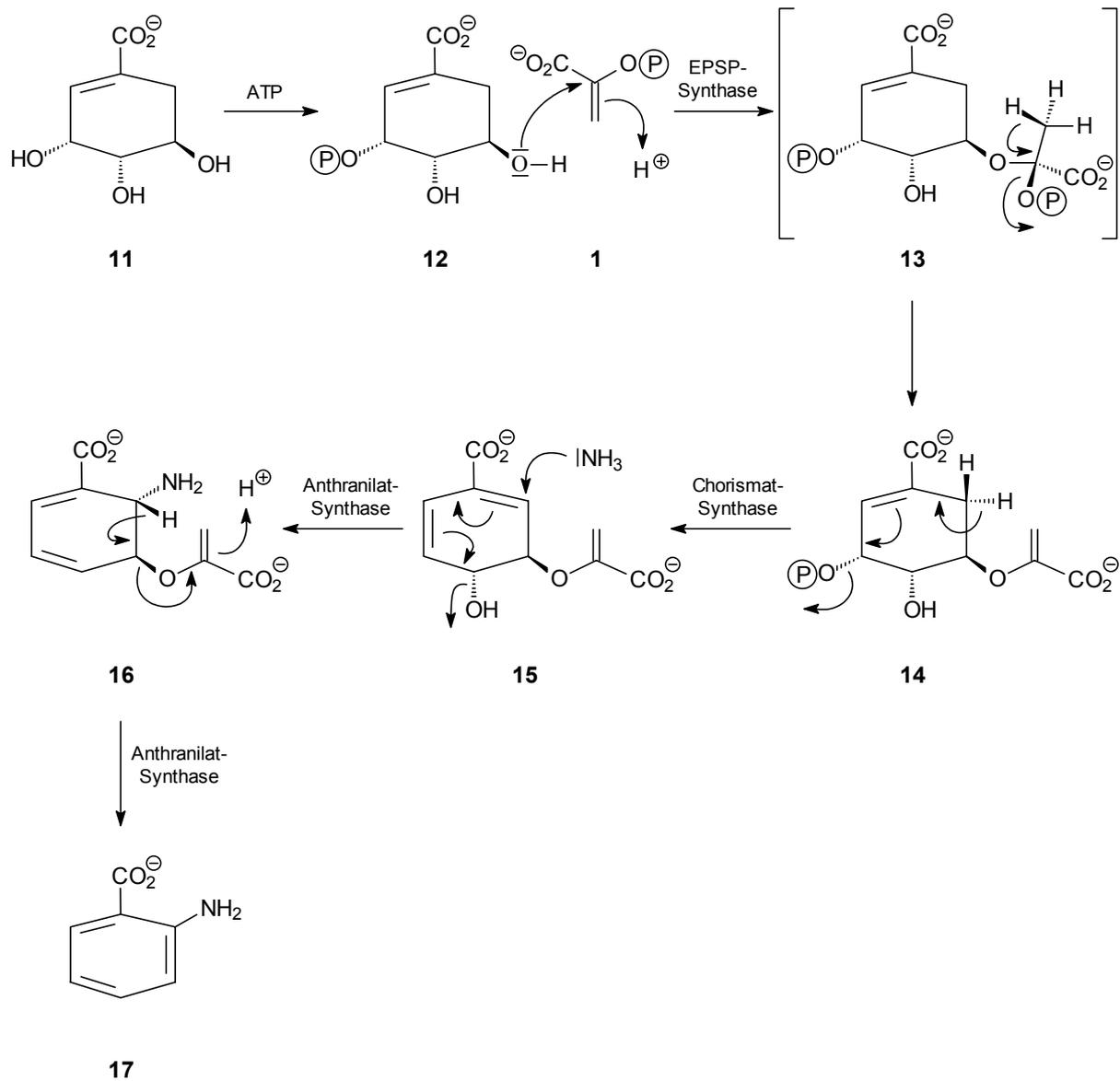
Im ersten Schritt werden Phosphoenolpyruvat (1) und Erythrose-4-phosphat (2) mit Hilfe der 3-Desoxy-D-arabino-heptulosonat-7-phosphat-Synthase (DAHP-Synthase) zu 3-Desoxy-D-arabino-heptulosonat-7-phosphat (DAHP) (4) über die Zwischenstufe 3 kondensiert.^[69] Im nächsten Schritt wird das 3-Dehydrochinat gebildet (9). Das dafür verantwortliche Enzym, die 3-Dehydrochinat-Synthase, katalysiert eine mehrstufige Sequenz. Durch Oxidation der 5-OH-Gruppe und Abspaltung des terminalen Phosphatrestes entsteht die Verbindung 6. Die Reduktion der zuvor gebildeten Ketofunktion und anschließende Ringöffnung verursachen sofort wieder einen Ringschluß zum 3-Dehydrochinat (9).^[70] Nach Eliminierung von Wasser durch die 3-Dehydrochinase^[71] und anschließender Reduktion mit Hilfe der Shikimat-Dehydrogenase entsteht das Shikimat (11). Die Shikimat-Dehydrogenase benötigt dabei als Cofaktor NADPH.^[72]



DAHP = 3-Desoxy-D-arabino-heptulosonat-7-phosphat

Abbildung 2.1 Biosynthese von Shikimat (11).

Shikimat (11) wird mit ATP an der 3-OH-Gruppe phosphoryliert^[73] und durch die 5-Enolpyruvyl-shikimat-3-phosphat-Synthase (EPSP-Synthase) in die Zwischenstufe **13** überführt. **13** zerfällt unter Abspaltung von Phosphorsäure zu 5-Enolpyruvyl-shikimat-3-phosphat (EPSP, **14**).^[74,75] Das Chorismat (**15**), das einen wichtigen Verzweigungspunkt in der Biosynthese darstellt, wird durch die Chorismat-Synthase aus **14** unter Abspaltung eines Phosphatrestes gewonnen.^[76]



EPSP = 5-Enolpyruvyl-shikimat-3-phosphat

Abbildung 2.2 Biosynthese von Anthranilat (**17**).

Aus Chorismat (**15**) kann nun das Prephenat gebildet werden und daraus schließlich die Aminosäuren L-Phenylalanin und L-Tyrosin. Diese Verzweigung wird im weiteren nicht näher besprochen.

Für die Biosynthese des Tryptophans (**22**) ist das Anthranilat (**17**) wichtig, welches durch die Übertragung von Ammoniak auf **15** und die anschließende Abspaltung des Pyruvat-Restes von **16** durch die Anthranilat-Synthase gebildet wird.^[77] Der Amidstickstoff des Glutamins liefert in Form von Ammoniak den Zugang zur Aminogruppe.^[78]

Im nächsten Schritt wird das Anthranilat (**17**) durch Katalyse des Enzyms Anthranilat-Phosphoribosyl-Transferase mit 5'-Phosphoribosyl-1-pyrophosphat zu *N*-(5'-Phosphoribosyl)anthranilat (**18**) umgesetzt.^[79,80]

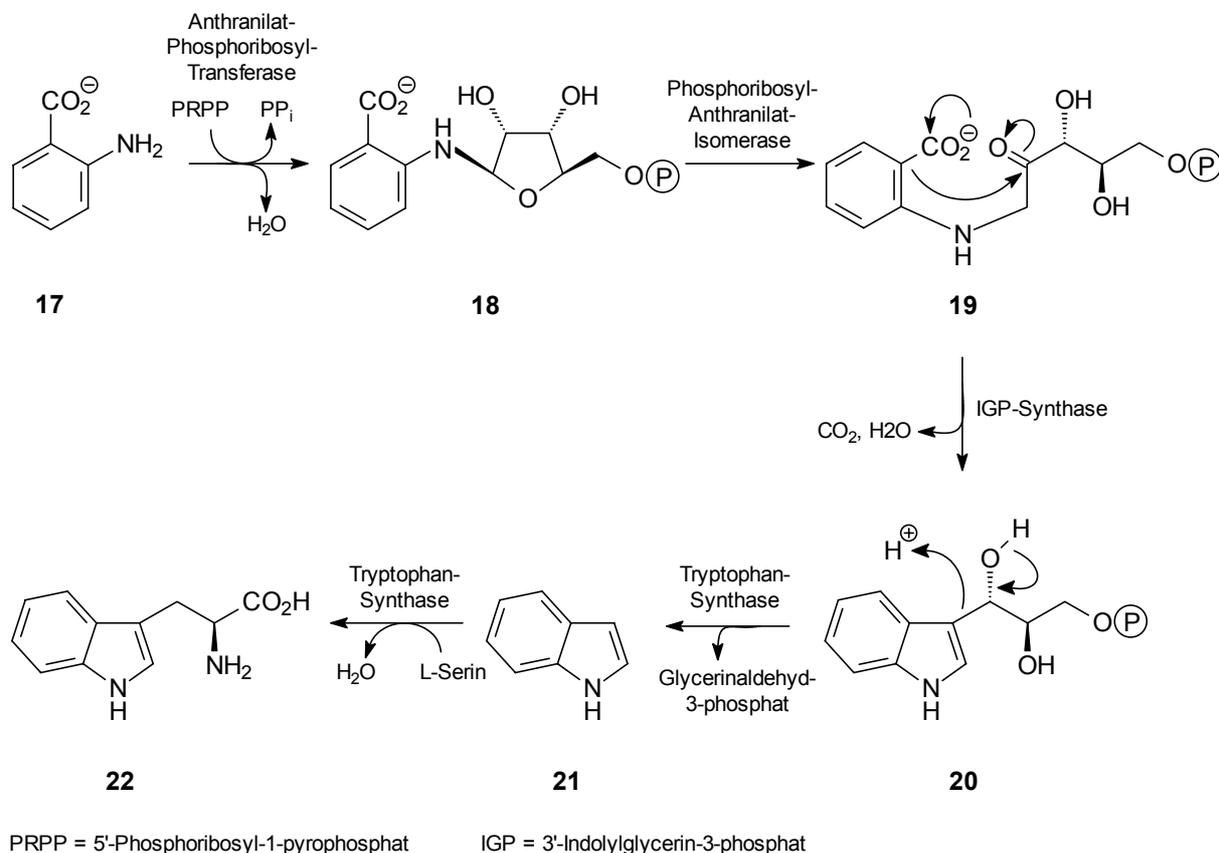


Abbildung 2.3 Biosynthese von L-Tryptophan (**22**).

Durch eine Amadori-Umlagerung entsteht aus **18** mit Hilfe der Phosphoribosyl-Anthranilat-Isomerase das 1-[2-Carboxyphenylamino]-1-desoxy-D-ribulose-5-phosphat (**19**).^[81] Im weiteren Verlauf wird **19** zu 3'-Indolylglycerin-3-phosphat (IGP, **20**) cyclisiert. Dies geschieht unter CO₂- und Wasser-Abspaltung mit der 3'-Indolylglycerin-3-phosphat-Synthase (IGP-Synthase).^[82] IGP (**20**) wird durch das Enzym Tryptophan-Synthase in Indol (**21**) und Glycerinaldehyd gespalten. Im letzten Schritt, ebenfalls von Tryptophan-Synthase katalysiert, wird Indol (**21**) mit L-Serin unter Wasserabspaltung zum L-Tryptophan (**22**) umgesetzt.^[83]

Spezieller Teil

3 Neue Erkenntnisse über den Stoffwechsel der lipophilen Hefe *Malassezia furfur*

3.1 Stand der Forschung

Hefen der Gattung *Malassezia* sind einerseits Bestandteil der residenten Hautflora des Menschen und vieler Warmblüter, andererseits aber auch mit einer Vielzahl von pathogenetisch bislang ungeklärten Erkrankungen verbunden.^[5,31] Es ist bisher auch noch nicht gelungen, neue Erkenntnisse und Modelle zur Entwicklung und Entstehung *Malassezia*-assoziiierter Krankheitsbilder abzuleiten. Vor allem die Pityriasis versicolor, eine der häufigsten erregerbedingten Erkrankungen der Haut, ist durch eine charakteristische, bislang ungeklärte Farbvarianz ihrer befallenen Bereiche gekennzeichnet.^[42] Hypothesen, die die bräunlichen Verfärbungen der betroffenen Hautstellen auf eine veränderte Melaninverteilung zurückführen,^[84] wurden widerlegt.^[85] Die zur Erklärung der Depigmentierung vorgeschlagenen Modelle sind unhaltbar oder unvollständig. Die vornehmlich publizierten Mechanismen gehen von zwei Hauptursachen aus. Die erste Theorie vermutet eine postinflammatorische Hypopigmentierung, wie sie auch bei der Syphilis vorkommt.^[13] Dieses Modell scheint aufgrund der fehlenden Entzündung unzutreffend.^[86] Die zweite Theorie geht vom Vorliegen eines Pseudoleukoderms aus, das infolge der physikalisch lichtfilternden Wirkung der Pityriasis versicolor-Schuppen gegenüber UV-Strahlung entsteht.^[87] Gegen diesen Erklärungsversuch sprechen die Beobachtungen einer Depigmentierung auch an unbelichteten Körperstellen,^[49] vollständige Depigmentierung bei dunkelhäutigen Menschen^[88] und eine stark verzögerte Repigmentierung, die auf toxische Einflüsse auf die Melaninsynthese schließen läßt. Insbesondere ultrastrukturelle Untersuchungen können eine selektiv-toxische Schädigung der Melanozyten in den Bereichen einer Pityriasis versicolor alba nachweisen,^[89] auch verbunden mit einem gestörten Pigmenttransport.^[27,90]

Mit Biopsiematerial aus den weißen Veränderungen einer Pityriasis versicolor alba läßt sich die Dopa-Tyrosinase-Reaktion nicht durchführen.^[91,92] Dies kann unmittelbare Folge der melanozytotoxischen Wirkung sein, jedoch hemmen andererseits Ether-Extrakte aus Schuppenmaterial einer Pityriasis versicolor die Dopa-Tyrosinase-Reaktion *in vitro*,^[93] was

die Anwesenheit von Inhibitoren der Tyrosinase vermuten läßt. *Nazzaro-Porro*^[94] beschreibt Tyrosinase-Inhibitoren in *M. furfur* und postuliert sie als Erklärung für die Depigmentierung. Es handelt sich um Dicarbonsäuren, insbesondere um die Azelainsäure. Folgeuntersuchungen zeigen jedoch, daß diese Substanzen in ihren angenommenen *in vivo*-Konzentrationen gesunde Melanozyten *in vivo* und *in vitro* nicht beeinflussen können.^[95,96] Zudem erbringt der aus der Tyrosinasehemmung abgeleitete therapeutische Einsatz bei Hyperpigmentierungen und in der Melanomtherapie enttäuschende Ergebnisse.^[94] Letztlich kann dieses Modell auch nicht die Farbvarietäten und die Fluoreszenz der hyperpigmentierten Bereiche erklären.

Verwunderlich ist auch, warum die außerordentlich hohe Pilzdichte in der Haut nur zu einer sehr geringen Immunantwort seitens des Patienten führt. *Gueho et al.*^[97] diskutieren die Interaktion von *M. furfur* mit dem zellulären und humoralen Immunsystem bei Patienten mit *Malassezia*-assoziierten Erkrankungen. Dabei zeigt sich, daß in den meisten Studien insbesondere Lymphozyten von Patienten mit Pityriasis versicolor geringer auf antigene Extrakte der Hefe reagieren als gesunde Kontrollpersonen.^[98] Dennoch zeigt *M. furfur* Eigenschaften eines Adjuvans bei der Verabreichung mit anderen Antigenen, scheint also sehr wohl immunstimulatorisch wirksam zu sein. Auch die humorale Immunität bei Erkrankungen durch *M. furfur* zeigt kein einheitliches Bild, Antikörper gegen *M. furfur* sind nicht mit der Erkrankung korreliert und auch bei Gesunden nachweisbar,^[99] da die Hefe zur residenten Hautflora gehört. Insgesamt existiert derzeit kein einheitliches Konzept der Interaktion des Keimes mit dem humanen Immunsystem. *Gueho et al.*^[97] bieten als Erklärung lediglich die besondere Membranzstruktur der Hefe an.

Im Rahmen von Untersuchungen zum Stoffwechselbedarf von *Malassezia*-Spezies^[100] konnte die Arbeitsgruppe um *Priv.-Doz. Dr. Peter Mayser*^[101] auf einem selektiven Agarmedium, bestehend aus der Aminosäure L-Tryptophan (**22**) und einer Lipidquelle, die Bildung eines braunen, in den Agar diffundierenden Pigments beobachten, welches im UV-Licht zudem fluoresziert. Die Pigmentbildung ist spezifisch abhängig von der Aminosäure L-Tryptophan (**22**), die Lipidquelle ist austauschbar.

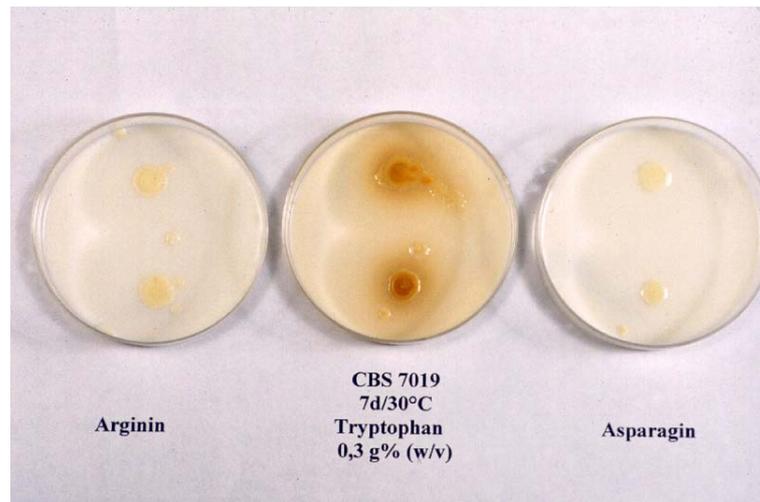


Abbildung 3.1 Bildung von bräunlich-rötlichem Pigment in Abhängigkeit von der Aminosäure.

Die Fähigkeit zur Pigmentbildung ist vornehmlich der Spezies *M. furfur* eigen und betrifft sowohl Referenz- als auch aus Krankheitsherden isolierte Wildstämme. Einige *M. pachydermatis*-Stämme zeigen auch Pigmentbildung, jedoch nach deutlich längerer Inkubationszeit und mit geringerer Ausbeute.

Da es bis heute noch nicht gelungen ist, genügend Material aus menschlichen Hautschuppen zu isolieren, um den Stoffwechsel von *M. furfur* zu untersuchen, bietet die Entdeckung der Kultivierung ganz neue Möglichkeiten. Obwohl die Pityriasis versicolor keine bedrohliche Erkrankung darstellt und im allgemeinen auch effektiv behandelt wird, ist es das Ziel, Sekundärmetabolite aus dem Stoffwechsel der Kulturen zu isolieren und zu untersuchen, ob diese zur Klärung der klinischen Phänomene beitragen können. Dies könnte außerdem neue Einblicke in Regulationsvorgänge des Hautorgans geben.

3.2 Isolierung von Sekundärmetaboliten aus Kulturen von *M. furfur*

Von den sieben bekannten Spezies der Gattung *Malassezia* wird im Rahmen dieser Arbeit nur *Malassezia furfur* bzw. deren Referenzstamm CBS 1878 behandelt. Im Verlauf unserer Kooperation übernahmen *Priv.-Doz. Dr. Peter Mayser* und *Dr. Hans-Joachim Krämer* die alleinige Bereitstellung von Naturstoffmaterial.

Die Stammhaltung erfolgt nach der Methode von *Guého et al.*^[25] auf einem modifizierten Dixon-Agar. Das Kulturmedium wird autoklaviert, abgekühlt und nach Versetzen mit

L-Tryptophan (**22**) in Petrischalen gegossen. Mit einem sterilen Tupfer wird anschließend der Referenzstamm *M. furfur* CBS 1878 auf das Medium gestrichen und das Ganze für 14 Tage bei 30 °C inkubiert.

Die Pigmente und Fluorochrome werden mit Hilfe von Essigsäureethylester extrahiert und mit Wasser ausgeschüttelt. Zur Anreicherung und Trennung der einzelnen Verbindungen des Rohextrakts wird eine Gelchromatographie an Sephadex LH-20 mit dem Laufmittel Methanol durchgeführt. Die so erhaltenen Substanzgemische werden dünn-schichtchromatographisch mit dem Laufmittel Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3 auf Kieselgelplatten weiter aufgetrennt. Zur Gewinnung größerer Mengen werden die Banden von den Dünnschichtchromatogrammen gesammelt und mit Essigsäureethylester und Wasser extrahiert.

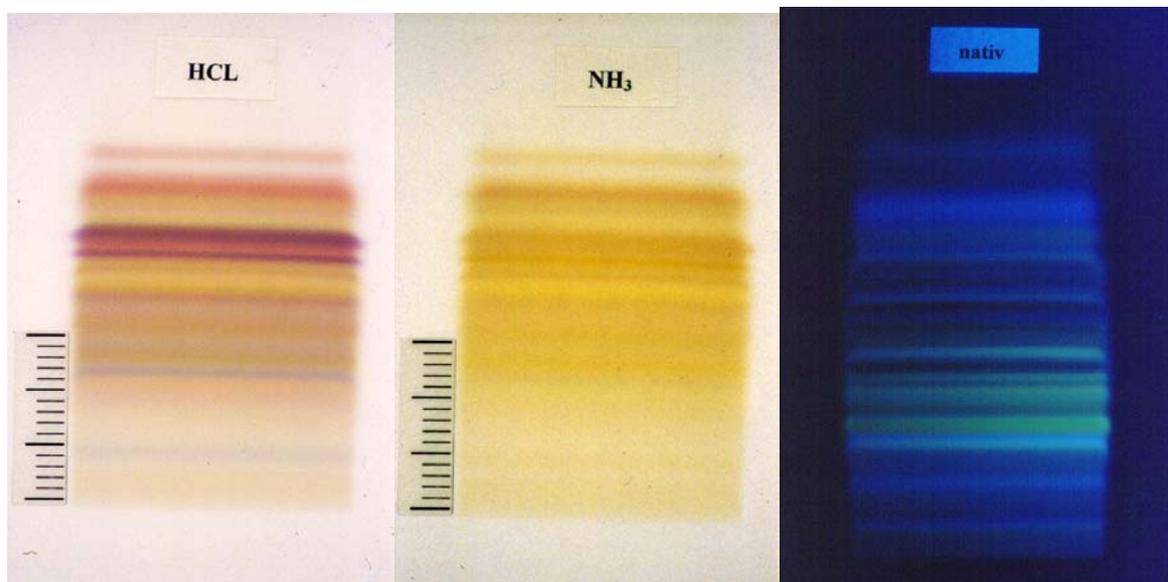


Abbildung 3.2 DC des Rohextraktes auf Kieselgel 60; Laufmittel Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3; links nach Exposition gegenüber rauchender Salzsäure, Mitte gegenüber Ammoniak und rechts im UV-Licht bei 366 nm.

Die Zusammensetzung der mittels Gelchromatographie und präparativer Dünnschichtchromatographie gewonnenen Fraktionen des Rohextraktes wird durch analytische HPLC auf RP-8 und RP-18 Material untersucht, wobei zur Eluierung Acetonitril-Wasser-Gemische verwendet werden. Bei der präparativen Isolierung der Metabolite erfolgt zunächst eine Vortrennung der gesamten Fraktion mittels eines Wasser-Acetonitril-Gradienten. Anschließend werden die gewonnenen Fraktionen lyophilisiert und erneut

mit einem zweiten Gradienten aufgetrennt. In manchen Fällen muß eine weitere Reinigung mit einem dritten Gradienten durchgeführt werden. Mit Hilfe der analytischen HPLC (RP-18) wird die Reinheit der isolierten Metabolite überprüft.

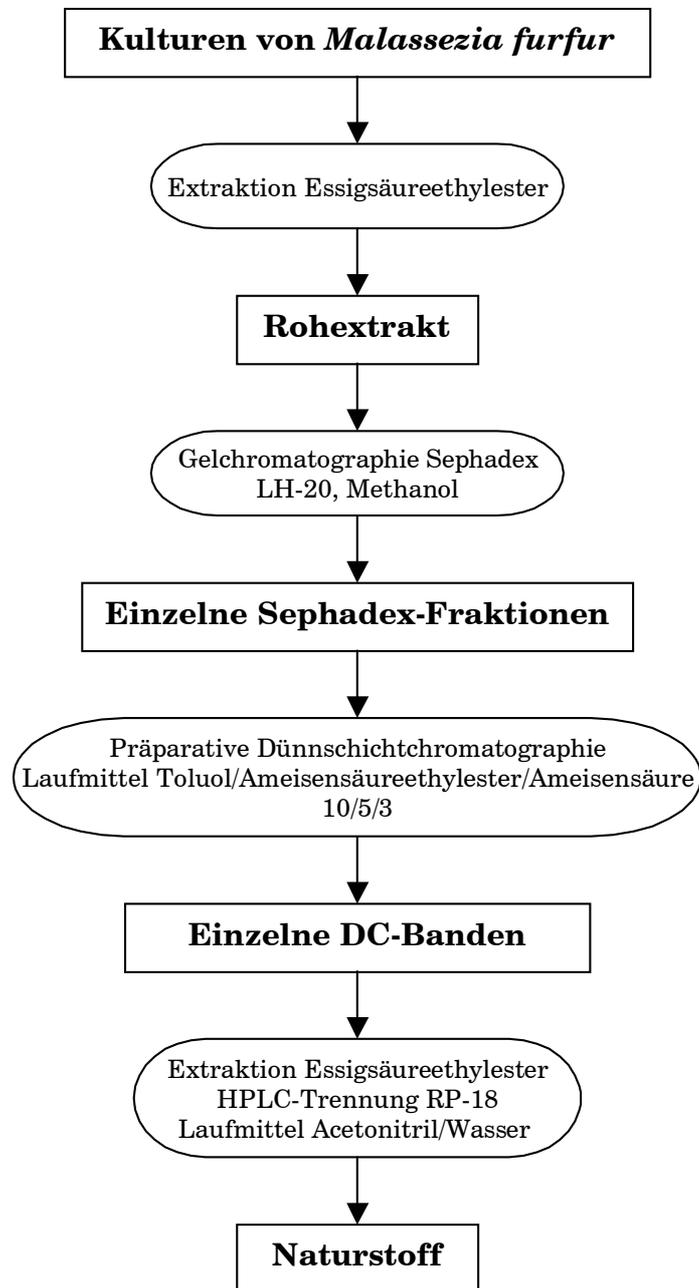


Abbildung 3.3 Isolierung der Sekundärmetabolite aus Kulturen von *M. furfur*.

3.3 Bisherige Arbeiten

Im Rahmen dieser Kooperation wurden bereits einige einfache Indol-Derivate im Rohextrakt mittels GC/MS nachgewiesen.^[101] Außerdem konnte aus weiteren Proben die Verbindung Malassezin (**27**) isoliert und ihre Struktur aufgeklärt werden. Die Synthese des Naturstoffs und die säurekatalytische Umwandlung in das stark fluoreszierende 2,3-Indolocarbazol (**28**) gelang ebenfalls.^[102]

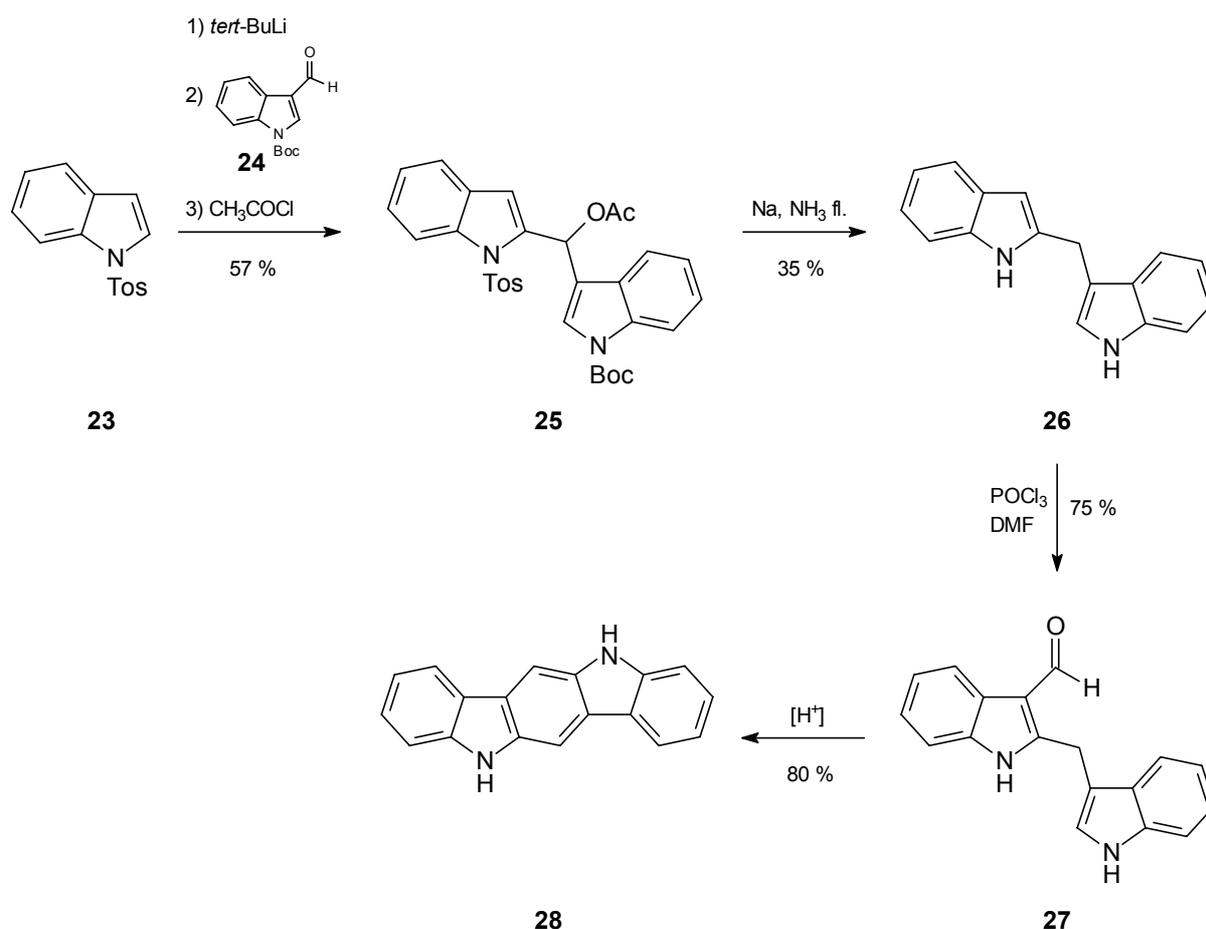


Abbildung 3.4 Synthese von Malassezin (**27**) und Cyclisierung zum Indolo[3,2-*b*]carbazol (**28**).

Dank des synthetischen Zugangs konnte etwas Material für klinische Tests aufgebracht werden. Die zuerst vermutete Inhibition der Tyrosinase konnte nicht bestätigt werden.^[103] Dafür wurde eine Wechselwirkung mit dem Aryl-Hydrocarbon-Rezeptor (AHR) festgestellt.^[103]

4 Die Gruppe der Pityriarubine

4.1 Pityrianhydrid (29)

4.1.1 Struktur von Pityrianhydrid (29)

Pityrianhydrid (**29**) fällt nach dem Lyophilisieren als oranges, flockiges Pulver an und wird nach 54 Minuten von einer analytischen RP-18-Säule eluiert. **29** ist in Chloroform, Aceton und DMSO gut löslich und sowohl in Substanz als auch in Lösung stabil.

Das hochaufgelöste EI-Massenspektrum zeigt einen $[M]^+$ -Peak bei 328.0826, welchem die Summenformel $C_{20}H_{12}N_2O_3$ zuzuordnen ist. Es ist ein Massenverlust von 44 und 28 zu erkennen. Dies deutet auf ein Anhydrid hin, bei dem zuerst CO_2 und anschließend CO abgespalten wird.

Im IR-Spektrum tritt eine intensive NH-Valenzschwingung bei 3386 cm^{-1} auf. Bei 1819 und 1748 cm^{-1} sind zwei Banden zu erkennen, die auf ein α,β -ungesättigtes, cyclisches Anhydrid hinweisen. Zu beachten ist auch die starke Schwingung bei 742 cm^{-1} , die typisch für einen 1,2-disubstituierten Aromaten ist.

Betrachtet man nun das ^1H -Spektrum von **29**, fällt auf, daß nur die Hälfte der Signale zu erkennen ist. Es muß sich also um eine symmetrische Verbindung handeln. Im olefinischen bzw. aromatischen Bereich sind vier Signale bei $\delta = 6.70$ (dd), 6.96 (d), 7.04 (dd) und 7.46 (d) zu sehen, die das typische Kopplungsmuster eines 1,2-disubstituierten Aromaten aufweisen.

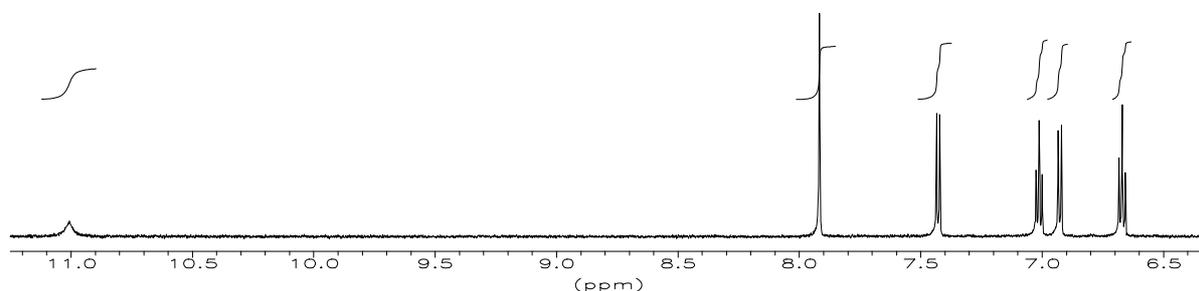


Abbildung 4.1 ^1H -NMR-Spektrum von Pityrianhydrid (**29**) (600 MHz, $[D_6]$ Aceton).

Das Signal bei $\delta = 11.04$ verschwindet bei Zugabe von D_2O . Es muß sich also um ein acides Proton handeln.

Im ^{13}C -NMR-Spektrum ist außer den aromatischen bzw. olefinischen Signalen nur noch eine Carboxylfunktion bei $\delta = 167.53$ zu sehen.

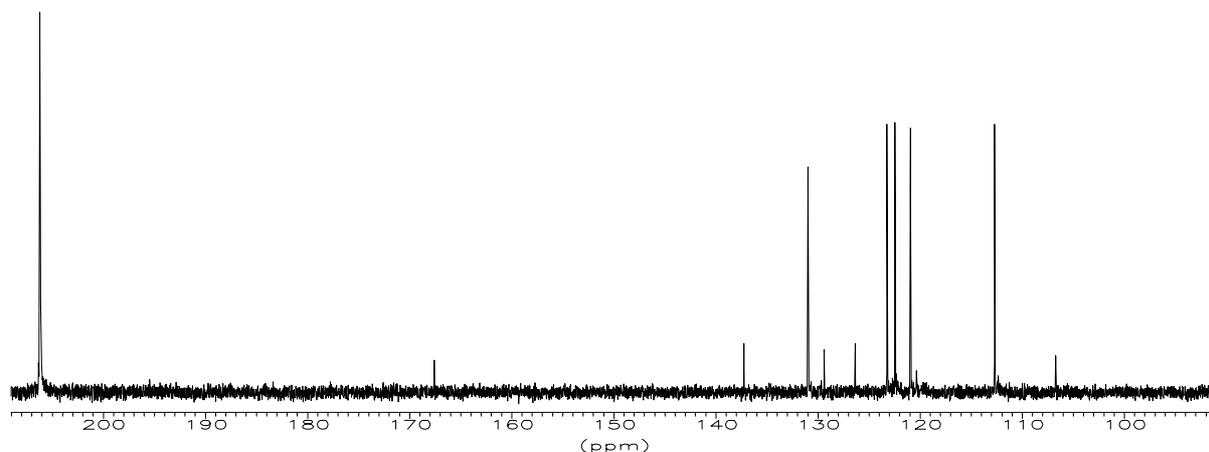


Abbildung 4.2 ^{13}C -NMR-Spektrum von Pityrianhydrid (**29**) (150.9 MHz, $[\text{D}_6]$ Aceton).

Das $^1\text{H}^1\text{H}$ -COSY-Spektrum bestätigt die Vermutung des 1,2-disubstituierten Aromatensystems. Außerdem zeigt das Signal bei $\delta = 7.95$ eine 3J -Kopplung zu dem Signal bei $\delta = 11.04$.

Mit Hilfe des HMQC- und HMBC-Spektrums können alle Signale eindeutig zugeordnet werden. Daraus lässt sich für **29** die Struktur eines Bisindolylmaleinsäureanhydrids ableiten.

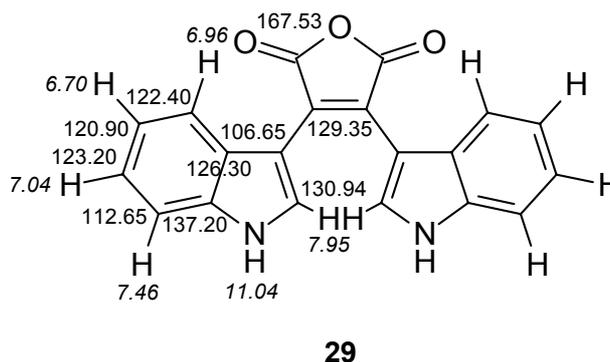
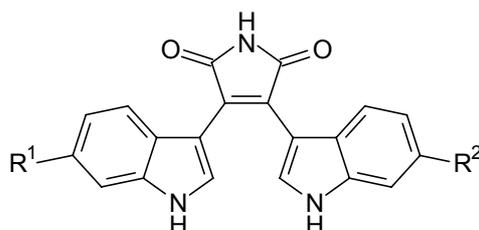


Abbildung 4.3 Struktur und NMR-Werte (600/150.9 MHz, $[\text{D}_6]$ Aceton) von Pityrianhydrid (**29**).

4.1.2 Bisindolylmaleinimide in der Natur

Das in *M. furfur* enthaltene Pityrianhydrid (**29**) wurde zuvor noch nicht in der Natur gefunden. Es gibt aber strukturell verwandte Verbindungen mit gleichem Grundgerüst. So wurden beispielsweise von *Steglich et al.*^[104] aus dem Schleimpilz *Arcyria denudata* (Klasse *Myxomycetes*) die Arcyriarubine A-C (**30-32**) isoliert.



	A (30)	B (31)	C (32)
R ¹	H	OH	OH
R ²	H	H	OH

Abbildung 4.4 Arcyriarubine A-C (**30-32**) aus *Arcyria denudata* (Klasse *Myxomycetes*).

Diese Bisindolylmaleinimide inhibieren die Proteinkinase C^[105] und sind deshalb bei der Krebstherapie^[106] und der Behandlung von Autoimmunerkrankungen von Interesse.^[107]

Während **30** gute Inhibition zeigt, ist **29** unwirksam.^[108]

4.1.3 Strukturbeweis durch Synthese

Steglich et al.^[109] gelang die Synthese von Arcyriarubin A (**30**). Dabei stellt das Pityrianhydrid (**29**) eine Zwischenstufe dar. Zum endgültigen Strukturbeweis wird der Naturstoff nach dieser Vorschrift synthetisiert.

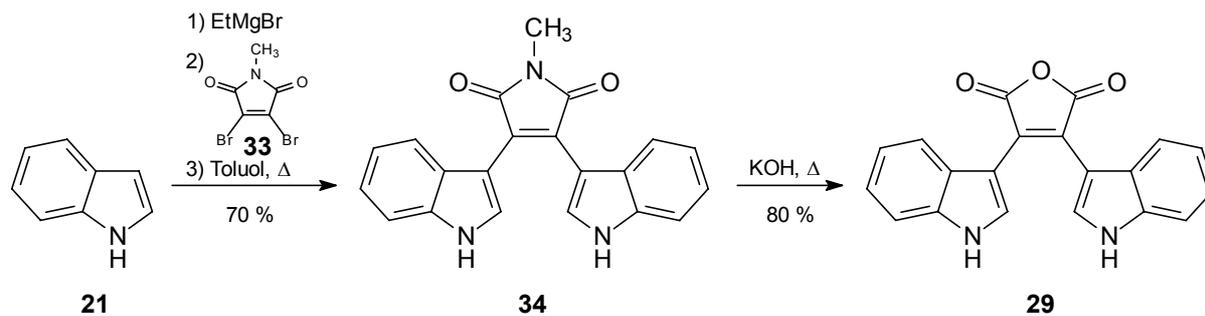


Abbildung 4.5 Synthese von Pityrianhydrid (29).

Das Syntheseprodukt ist in allen spektroskopischen Daten mit denen des Naturstoffes identisch. Ein Vergleich der beiden Verbindungen mit Hilfe der analytischen HPLC liefert dasselbe Ergebnis.

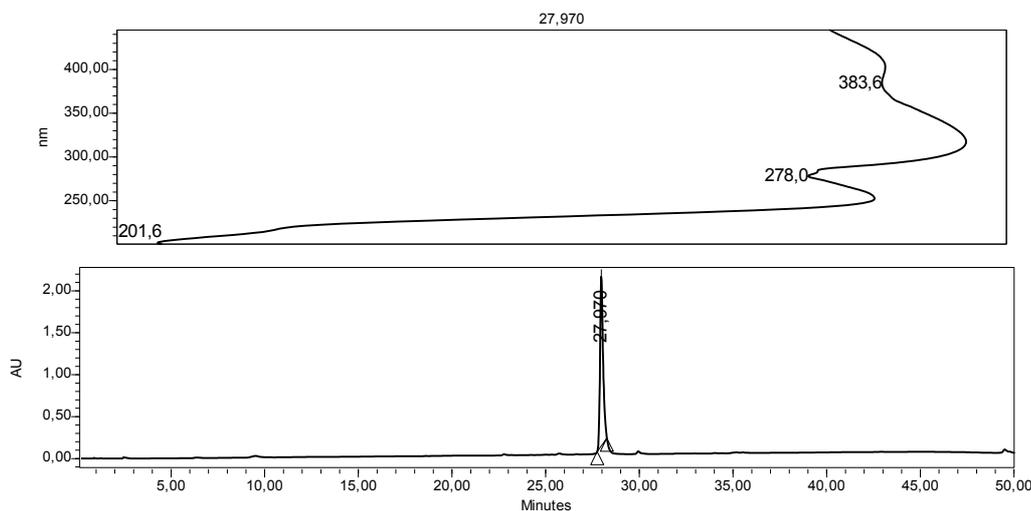


Abbildung 4.6 Coinjektion von Syntheseprodukt und Naturstoff. RP-18 Säule (4 × 250 mm), Laufmittelgradient: Acetonitril/Wasser 9/1 in 50 Minuten auf reines Acetonitril.

Da in den Kulturen von *Malassezia furfur* das Bisindolylmaleinsäureanhydrid **29** gefunden wurde, liegt die Vermutung nahe, daß von dieser Hefe auch Arcyriarubin A (**30**) produziert wird. Es wird nach der bereits erwähnten Synthese von *Steglich et al.*^[109] synthetisiert und als Referenz verwendet.

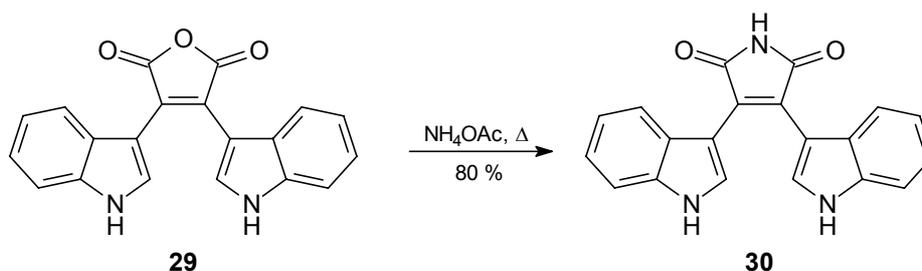


Abbildung 4.7 Synthese von Arcyriarubin A (**30**).

Bis jetzt konnte Arcyriarubin A (**30**) aus den Kulturen der lipophilen Hefe *M. furfur* weder isoliert, noch mit Hilfe der Referenz in der analytischen HPLC nachgewiesen werden.

4.2 Pityrialacton (**35**)

4.2.1 Struktur von Pityrialacton (**35**)

Pityrialacton (**35**) fällt nach dem Lyophilisieren als gelbliches, amorphes Pulver an und eluiert als breiter Peak nach 22 Minuten von der analytischen RP-18-Säule. Es zeigt im hochaufgelösten EI-Massenspektrum einen $[M]^+$ -Peak bei 328.0866, was einer Summenformel von $C_{20}H_{12}N_2O_3$ entspricht. Pityrianhydrid (**29**) und Pityrialacton (**35**) besitzen also die gleiche Summenformel. Beim Vergleich der beiden EI-Massenspektren fällt auf, daß auch bei der Verbindung **35** ein Massenverlust von 44 und 28 auftritt.

Betrachtet man nun das IR-Spektrum von **35**, so ist dort eine starke NH-Valenzschwingung bei 3402 cm^{-1} zu beobachten. Die zwei Banden, die bei **29** auf ein Anhydrid hingewiesen haben, sind hier verschwunden. Dafür deutet eine intensive Bande bei 1736 cm^{-1} auf einen Ester oder ein Lacton hin. Die typische Bande für einen 1,2-disubstituierten Aromaten ist hier ebenfalls vorhanden (744 cm^{-1}).

Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Pityrialacton (**35**) unterscheidet sich deutlich von dem des vorherigen Naturstoffes. Hier sieht man im Aromatenbereich zwei ABCD-Systeme und zwei Singulets im tiefen Feld bei $\delta = 11.24$ und 11.48 . Diese Singulets verschwinden bei Zugabe von D_2O .

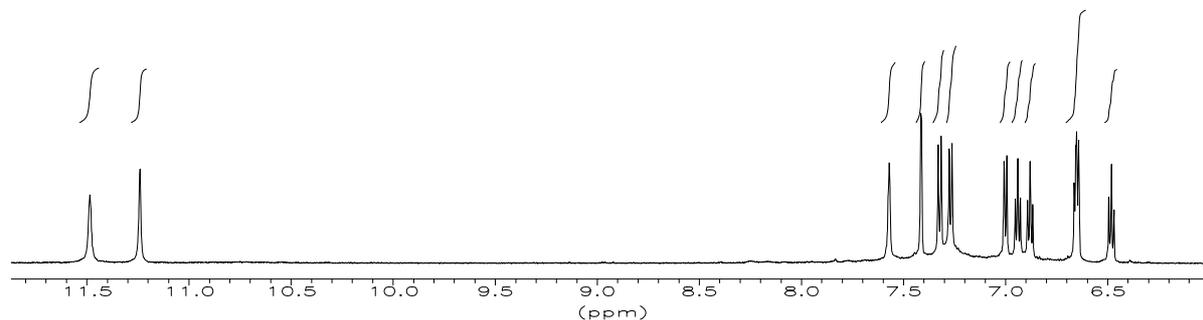


Abbildung 4.8 ^1H -NMR-Spektrum von Pityrialacton (**35**) (600 MHz, $[\text{D}_6]$ DMSO).

Die bisherigen Informationen lassen vermuten, daß bei dieser Verbindung ebenfalls zwei Indole vorhanden sind. Im Gegensatz zu Pityrianhydrid (**29**) sind sie aber nicht durch eine symmetrische Einheit verbunden.

Mit Hilfe des ^1H - ^1H -COSY-Spektrums können die Signale der beiden Spinsysteme den jeweiligen Aromaten zugeordnet werden.

Das ^{13}C -NMR-Spektrum von **35** zeigt 20 Signale und bestätigt damit die durch das Massenspektrum gefundene Summenformel. Während bei Pityrianhydrid (**29**) nur ein Signal im tiefen Feld erscheint, sind bei Pityrialacton (**35**) zwei Signale bei $\delta = 168.10$ und 172.84 zu sehen. Bei beiden handelt sich um carbonylische C-Atome.

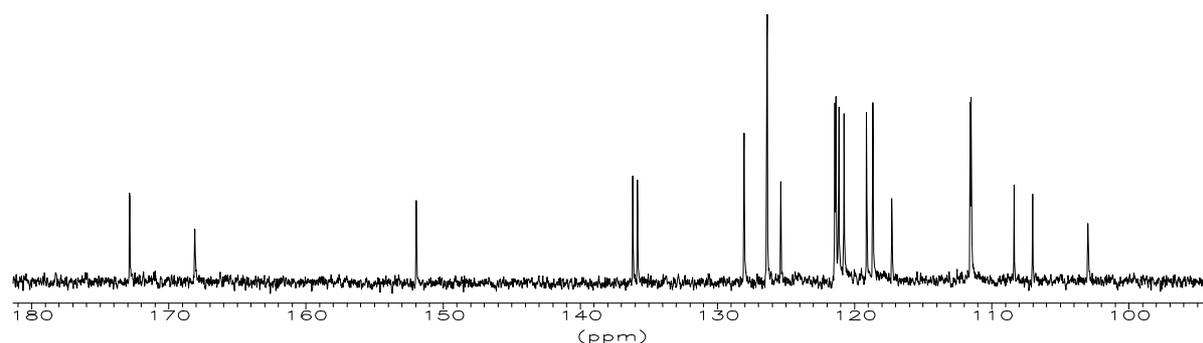


Abbildung 4.9 ^{13}C -NMR-Spektrum von Pityrialacton (**35**) (150.9 MHz, $[\text{D}_6]$ DMSO).

Durch Auswertung des HMQC- und HMBC-Spektrums können alle ^1H -NMR-Signale eindeutig den entsprechenden Kohlenstoffatomen zugeordnet werden. Es muß sich um zwei Indol-Systeme handeln, die über die 3-Position miteinander verknüpft sind. Die

verknüpfende Einheit besteht aus einem C₄O₃-System. Die Zuordnung der Signale bereitet Schwierigkeiten, da keines der ¹H-Signale im HMBC-Spektrum eine Kopplung zu einem C-Atom der verknüpfenden Einheit zeigt. Das CH-long-range-Spektrum gibt Korrelationen zwischen ¹H- und ¹³C-Atomen mit Kopplungskonstanten von ca. 7 Hz wieder, wobei es sich normalerweise um ³J-Kopplungen handelt. Da die Kopplungskonstanten aber von elektronischen und geometrischen Verhältnissen abhängen, können oft auch ²J- und ⁴J-Kopplungen gesehen werden.^[110] Im Fall des Pityrialactons (**35**) sind weder ⁴J-Kopplungen zu sehen, noch die beiden ³J-Kopplungen der Protonen bei $\delta = 7.41$ und 7.57 ppm, die die verknüpfenden C-Atome an der 3-Position zeigen sollen. Die Kopplungskonstanten dieser ³J-Kopplungen sind anscheinend zu klein.

Um nun aber auch kleinere Kopplungskonstanten im Spektrum erkennen zu können, wird die Delayzeit D₆, die für die long-range-Kopplung wichtig ist, im Pulsprogramm geändert. Normalerweise beträgt die Relaxationszeit D₆ = 70 ms. In mehreren Versuchen wird diese Zeit nun schrittweise um 35 ms geändert. Das beste Resultat wird bei einer Delayzeit von 140 ms erreicht.

Durch diese Maßnahme wird ein HMBC-Spektrum erhalten, das weitere Aufschlüsse über die verknüpfende C₄O₃-Einheit gibt. Das Proton bei $\delta = 7.41$ zeigt sehr gute ⁴J-Kopplungen zu den C-Atomen bei $\delta = 151.94$ und 172.84 . Es sind jetzt auch die ³J-Kopplungen der Protonen bei $\delta = 7.41$ und 7.57 zu erkennen.

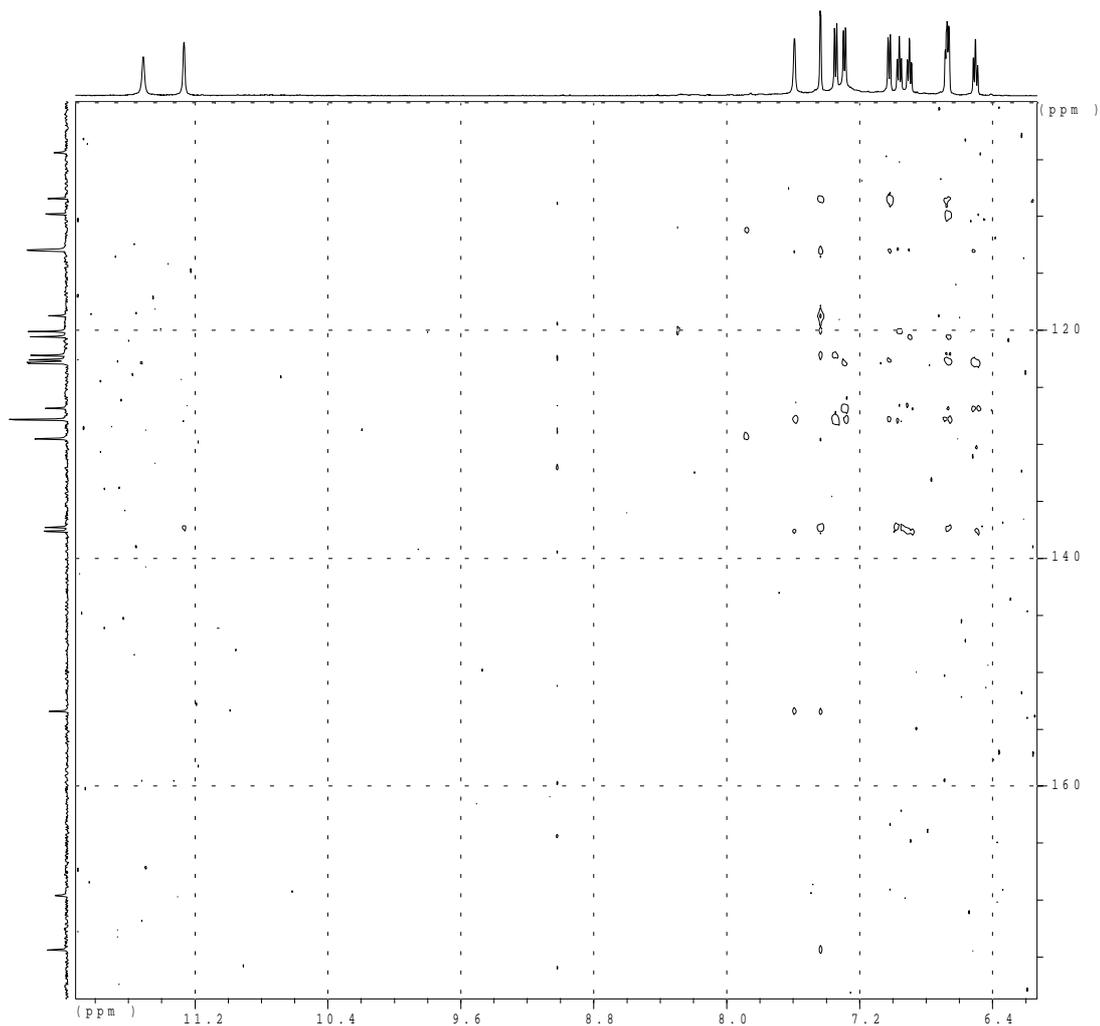


Abbildung 4.10 HMBC-Spektrum von Pityrialacton (**35**) mit veränderter Delayzeit $D_6 = 140$ ms (600/150.9 MHz, [D₆]DMSO).

Durch diese Informationen kann nun ein eindeutiger Strukturvorschlag abgeleitet werden.

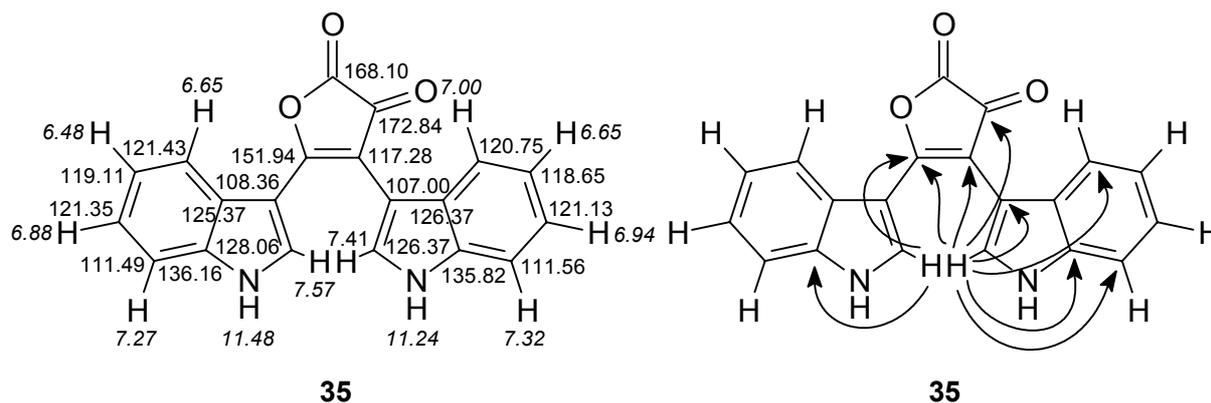


Abbildung 4.11 NMR-Werte und ausgewählte HMBC-Korrelationen von Pityrialacton (**35**) (600/150.9 MHz, $[D_6]DMSO$).

Es handelt sich um ein 2,3-Dihydrofuran-2,3-dion, das an der 4- und 5-Position jeweils durch ein Indol substituiert ist.

4.2.2 Verbindungen mit 2,3-Dihydrofuran-2,3-dion-Gerüst

Obwohl das 2,3-Dihydrofuran-2,3-dion ein recht einfaches Grundgerüst darstellt, ist bis jetzt in der Natur keine Verbindung mit diesem Strukturteil gefunden worden. Für NMR-Vergleichswerte werden daher die synthetischen Verbindungen 5-*tert*-Butyl-4-pivaloylfuran-2,3-dion (**36**),^[111] 4-Acetyl-5-methylfuran-2,3-dion (**37**) und 4-Acetyl-5-phenylfuran-2,3-dion (**38**) herangezogen.^[112]

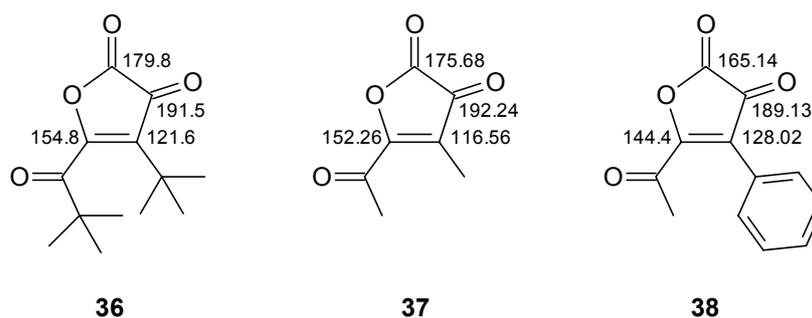


Abbildung 4.12 Ausgewählte ^{13}C -NMR-Werte von **36**, **37** ($CDCl_3$) und **38** ($[D_6]Aceton$).

Die NMR-Werte stimmen mit denen des Naturstoffs **35** relativ gut überein. Bei den Verbindungen **36** und **37** sind die Carbonyle im Vergleich zu **35** zu tieferem Feld verschoben, da dort die Konjugation mit den aromatischen Systemen nicht gegeben ist.

4.3 Pityriarubin A (39)

4.3.1 Struktur von Pityriarubin A (39)

Pityriarubin A (39) wird nach der Isolierung und dem Lyophilisieren als orangerotes, flockiges Pulver erhalten. Die Probe von Pityriarubin A (39) löst sich vollständig in Acetonitril auf. Die Proben werden nach dem Messen immer im Gefrierschrank aufbewahrt, um eine mögliche Zersetzung zu vermeiden.

Pityriarubin A (39) zeigt im UV-Spektrum ein Absorptionsmaximum bei 436 nm.

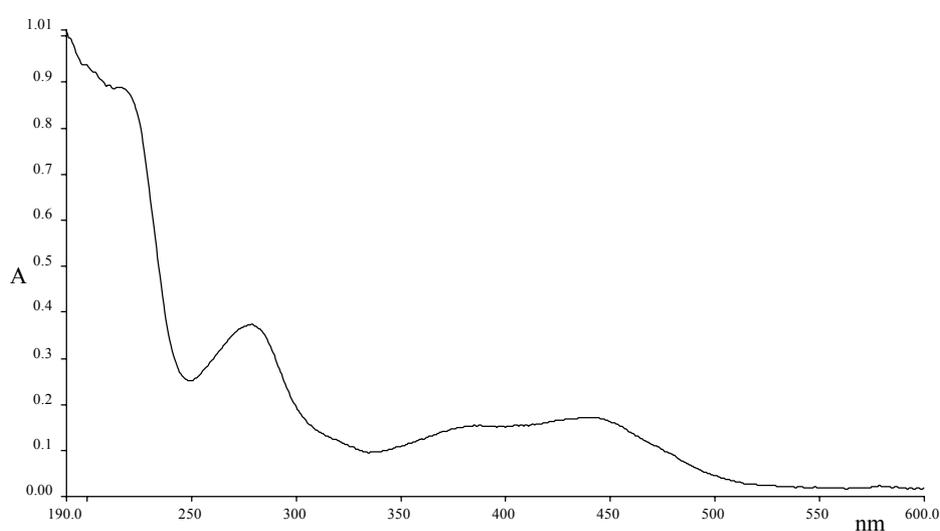


Abbildung 4.13 UV-Spektrum von 39.

Die Bestimmung der Masse gestaltet sich schwierig. Mit den gängigen Methoden (CI, EI und (\pm)-ESI) werden keine auswertbaren Massenspektren erhalten. Auch im (+)-FAB-MS kann kein aussagekräftiger Molekülpeak entdeckt werden. Erst im (-)-FAB-MS ist ein schwacher Peak bei 525 zu sehen. Das hochaufgelöste FAB-Massenspektrum liefert einen Wert von 525.1548 für den $[M-H]^-$ -Peak, was der Summenformel $C_{32}H_{22}N_4O_4$ entspricht. Wie bei den vorherigen Verbindungen erkennt man auch in diesem IR-Spektrum eine starke NH-Valenzschwingung bei 3402 cm^{-1} . Die intensive Bande bei 1683 cm^{-1} deutet auf ein α,β -ungesättigtes Keton hin. Bei 744 cm^{-1} ist die Bande für einen 1,2-disubstituierten Aromaten zu sehen.

Pityriarubin A (39) ist optisch aktiv und hat einen Drehwert $[\alpha]_D^{25} = -80$ ($c = 0.05$, Acetonitril). Im CD-Spektrum sind mehrere Cotton-Effekte zu sehen.

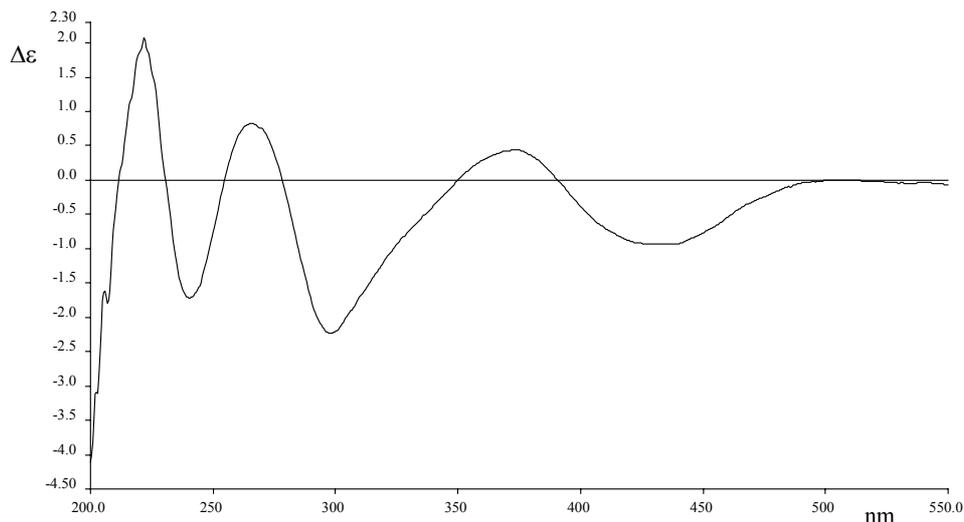


Abbildung 4.14 CD-Spektrum von Pityriarubin A (**39**) in Acetonitril.

Betrachtet man nun das ^1H -NMR-Spektrum, so sieht man drei Signale im aliphatischen Bereich, die ein ABC-Spinsystem bilden. Bei $\delta = 2.92$ und 3.26 treten zwei Signale auf, die den diastereotopen Protonen einer CH_2 -Gruppe zuzuordnen sind.

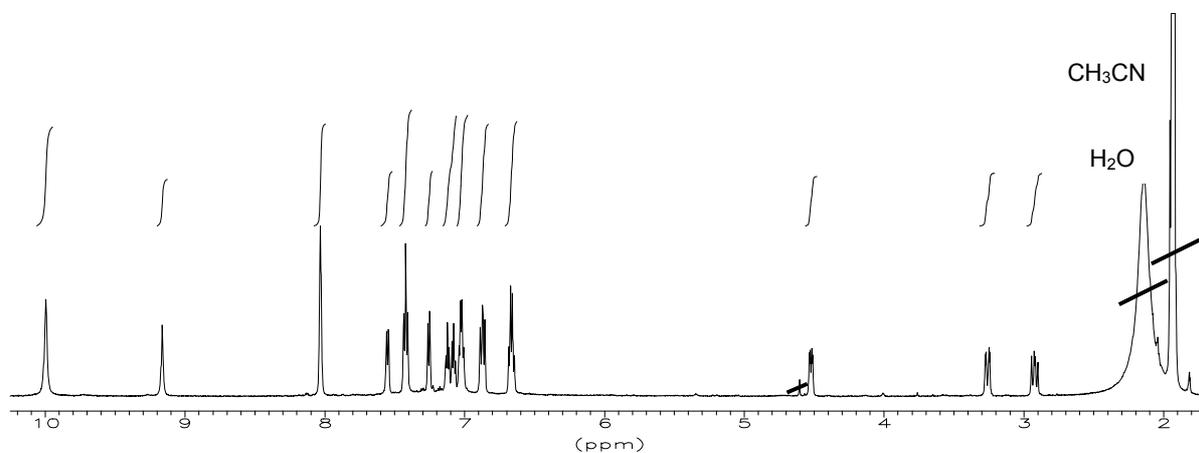


Abbildung 4.15 ^1H -NMR-Spektrum von Pityriarubin A (**39**) (600 MHz, $[\text{D}_3]$ Acetonitril).

Im Aromatenbereich sind drei unterschiedliche ABCD-Systeme zu erkennen. Bei tieferem Feld erscheinen außerdem zwei Signale, die drei NH-Protonen zugeordnet werden können. Tabelle 4.1 bildet die Korrelationen ab, die aus dem ^1H - ^1H -COSY-Spektrum ermittelt werden.

Im ^{13}C -NMR-Spektrum treten zwei Signale bei $\delta = 200.24$ und 200.74 auf, die zwei ungesättigten Keto-Funktionen zuzuordnen sind. Bei $\delta = 174.30$ ist eine Carbonsäure zu erkennen.

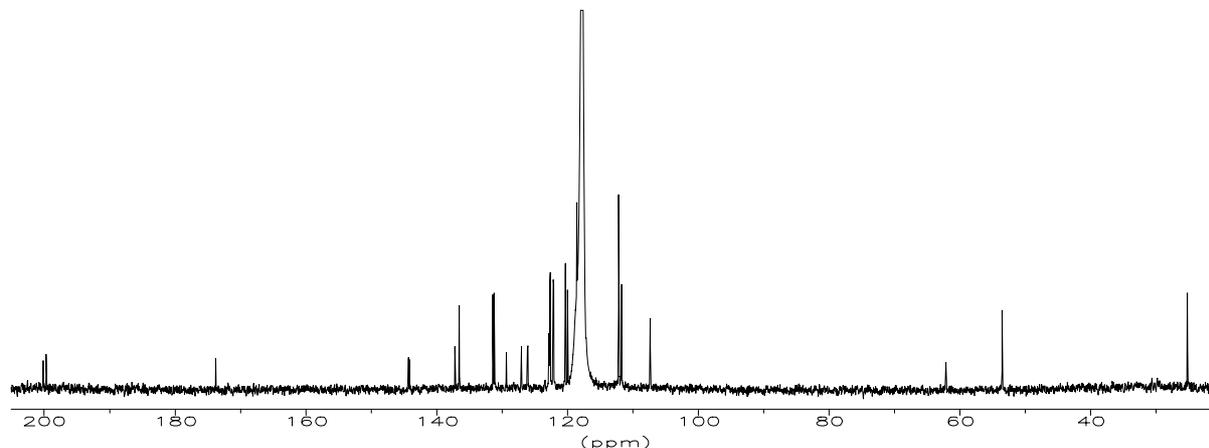


Abbildung 4.16 ^{13}C -NMR-Spektrum von Pityriarubin A (**39**) (150.9 MHz, $[\text{D}_3]$ Acetonitril).

Im aliphatischen Bereich ist bei $\delta = 25.76$ die bereits erwähnte CH_2 -Gruppe und bei $\delta = 54.09$ eine CH -Gruppe (N -substituiert) zu sehen. Bei $\delta = 62.67$ liegt das Signal eines quartären C -Atoms vor.

Aus den bisherigen Angaben läßt sich ableiten, daß drei Indole vorliegen. Zwei sind über die 3-Position mit dem Rest des Moleküls verbunden, während das dritte nur vier Protonensignale zeigt und daher sowohl an der 2- als auch an der 3-Position substituiert sein muß. Außerdem sollte eine aminosäureartige Teilstruktur vorliegen.

Weitere Informationen über die Struktur von **39** erhält man aus dem HMBC-Spektrum. Die Signale der Protonen bei $\delta = 2.92$, 3.26 und 4.52 liefern die wichtigsten Hinweise über die endgültige Struktur des Naturstoffes. So zeigen die beiden diastereotopen Protonen Korrelationen zu der Carbonsäure und zu einem der drei Indol-Systeme. Das Proton bei $\delta = 4.52$ zeigt ebenfalls Korrelation zu der Carbonsäure, aber zusätzlich noch zu dem quartären C -Atom bei $\delta = 62.67$.

Faßt man alle Erkenntnisse zusammen, kann aus den Daten die in Abbildung 4.18 angegebene Struktur abgeleitet werden.

Position	δ_C [ppm]	Art	δ_H [ppm]	m	J [Hz]	$^1H^1H$ -COSY	HMBC
1	62.67	C _q					4.52
1a	129.91	C _q					2.92, 3.26, 9.16
3	54.09	CH	4.52	dd	10.68, 4.32	2.92, 3.26	2.92, 3.26
4	25.76	CH ₂	2.92	dd	15.48, 10.68	3.26, 4.52	4.52
			3.26	dd	15.48, 4.32	2.92, 4.52	4.52
4a	112.78	C _q					2.92, 3.26, 4.52, 7.25, 7.55, 9.16
5a	127.60	C _q					3.26, 7.08, 7.25, 9.16
5	119.11	CH	7.55	d	7.98	7.08	7.12
6	120.51	CH	7.08	dd	7.98, 7.98	7.12, 7.55	7.25
7	123.37	CH	7.12	dd	7.98, 7.98	7.08, 7.25	7.25, 7.55
8	112.29	CH	7.25	d	7.98	7.12	7.08
8a	137.78	C _q					7.12, 7.55
9		NH	9.16	s			
10	200.24	C _q					
11	144.71	C _q					
12	144.87	C _q					
13	200.74	C _q					
14	174.30	C _q					2.92, 4.52
1'		NH	9.99	s		8.03	
2'	131.75	CH	8.03	d	3.00	9.99	
3'	107.89	C _q					6.86
3a'	126.62	C _q					6.66, 8.03
4'	122.68	CH	6.86	d	8.16	6.66	7.02
5'	120.89	CH	6.66	pq	8.16	6.86, 7.02	7.42
6'	123.21	CH	7.02	pq	8.16	6.66, 7.42	6.86
7'	112.72	CH	7.42	pt	8.16	7.02	6.66
7a'	137.09	C _q					6.86, 7.02, 8.03
1''		NH	9.99	s		8.03	
2''	131.94	CH	8.03	d	3.00	9.99	
3''	107.89	C _q					6.86
3a''	126.69	C _q					6.66, 8.03
4''	122.74	CH	6.86	d	8.16	6.66	7.02
5''	120.91	CH	6.66	pq	8.16	6.86, 7.02	7.42
6''	123.26	CH	7.02	pq	8.16	6.66, 7.42	6.86
7''	112.72	CH	7.42	pt	8.16	7.02	6.66
7a''	137.09	C _q					6.86, 7.02, 8.03

Tabelle 4.1 NMR-Werte von Pityriarubin A (**39**) (600/150.9, [D₃]Acetonitril).

x',x'': ähnliche Werte austauschbar

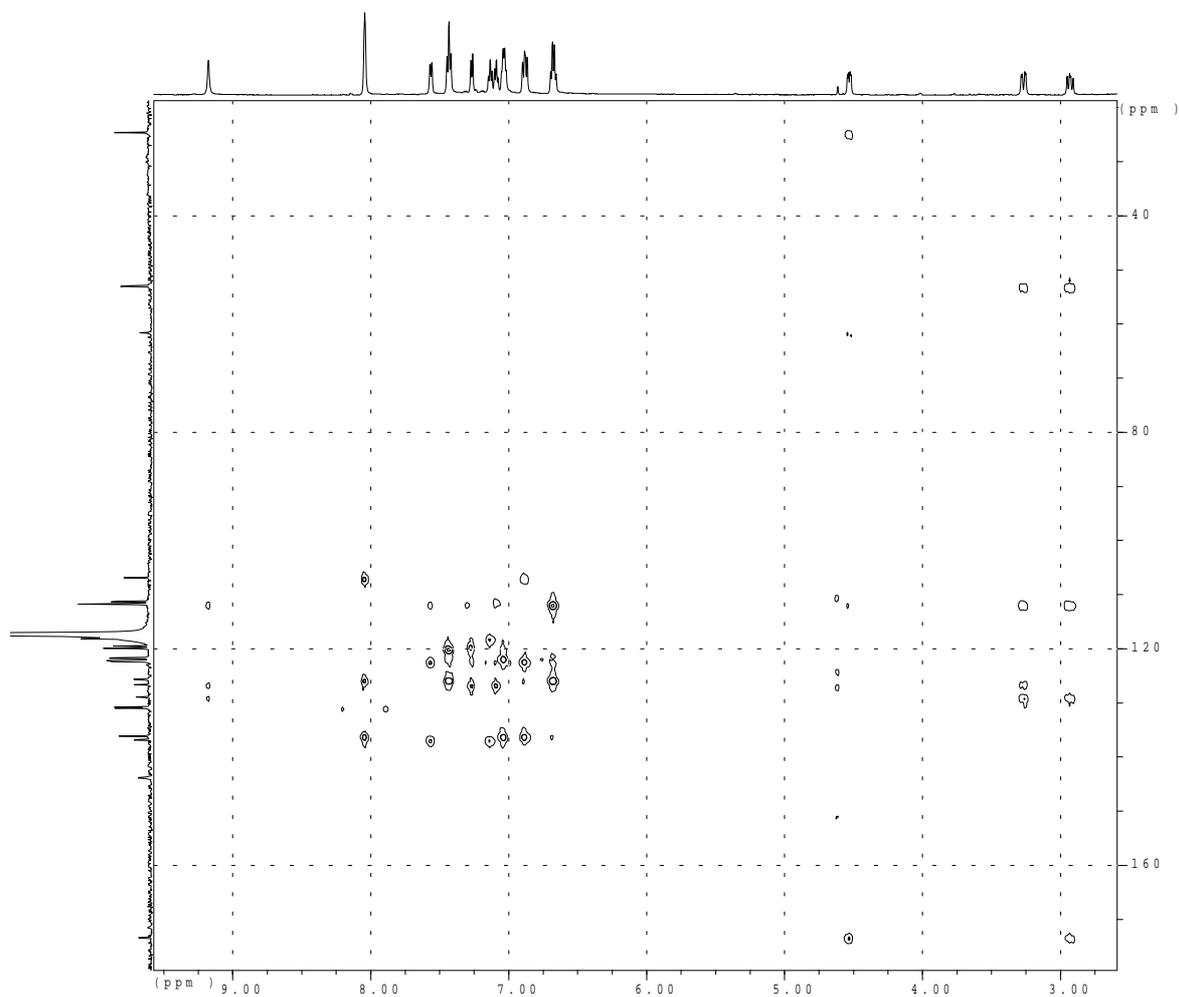
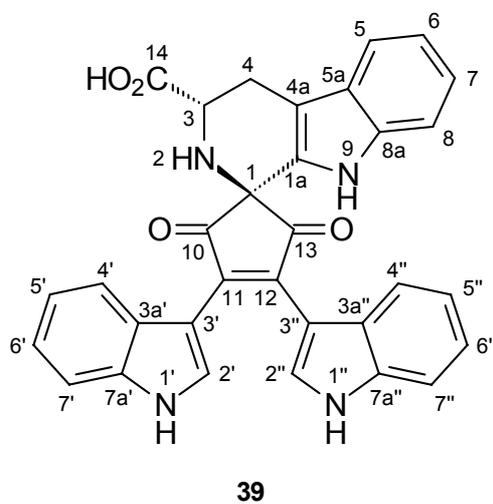


Abbildung 4.17 HMBC-Spektrum von Pityriarubin A (**39**) (600/150.9 MHz, [D₃]Acetonitril).



39

Abbildung 4.18 Struktur von Pityriarubin A (**39**).

Da in den Kulturen von *M. furfur* nur L-Tryptophan (**22**) verfüttert wird, wird auch bei dieser Verbindung von einer *S*-Konfiguration ausgegangen. In Kapitel 4.3.4 werden Vergleiche mit Modellverbindungen diese Annahme bestätigen.

Diese Struktur ist bislang in der Literatur noch nicht beschrieben worden. Die in Kapitel 4.1.2 vorgestellten Naturstoffe leiten sich alle vom Maleinimid ab. An die Stelle des Maleinimids als Grundgerüst tritt hier jedoch ein Cyclopentendion-System, das über die 1-Position eines 3-Carboxy-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin-Systems spiroartig verbunden ist.

4.3.2 Naturstoffe mit Cyclopentendion-Spirostruktur

Es sind nur wenige Naturstoffe mit diesem Teilstruktur-Typ bekannt. So kommt in dem Myrtengewächs *Myrica gale* die Verbindung **40** vor.^[113] Einen weiteren Naturstoff, das Dehydropentenomycin I (**41**), konnten *Noble et al.*^[114] 1978 aus *Streptomyces eurythermus* isolieren. **41** ist antibiotisch wirksam.^[115]

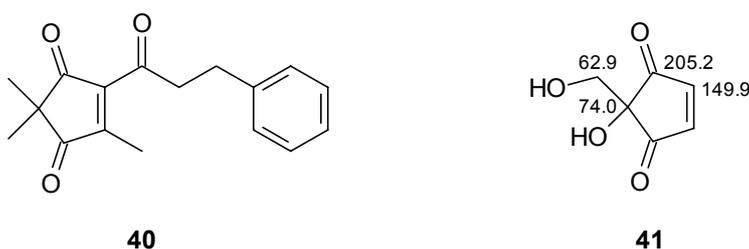
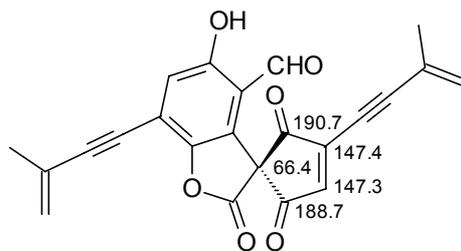


Abbildung 4.19 **40** aus *Myrica gale* und **41** aus *Streptomyces eurythermus*, ¹³C-NMR-Werte ([D₆]DMSO, 25 MHz).

Die NMR-Werte von **41** stimmen relativ gut mit denen von **39** überein, wobei dieses System gegenüber dem Teilbereich von Pityriarubin A (**39**) stark vereinfacht ist.

Strukturell entfernt verwandt ist das Ochroleucin A₁ (**42**). Es wurde von *B. Sontag* aus *Russula ochroleuca* isoliert.^[116] Auch hier lässt sich eine weitgehende Übereinstimmung der analytischen Daten feststellen.



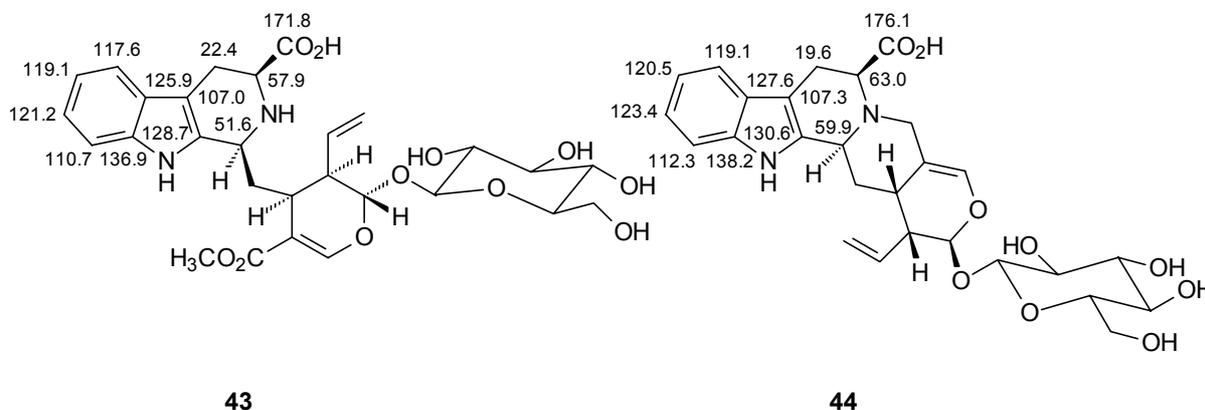
42

Abbildung 4.20 Ausgewählte ^{13}C -NMR-Werte von Ochroleucin A₁ (**42**).

Die Verbindung **42** zeigt schwache antibiotische Wirkung.^[116]

4.3.3 Naturstoffe mit 3-Carboxy-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin-System

Von *Smith et al.*^[117] konnte 1971 aus *Anthocephalus cadamba* das (5*S*)-5-Carboxystrictosidin (**43**) isoliert werden. Die spektroskopischen Daten wurden aber erst 1992 von *Aimi et al.*^[118] veröffentlicht, die diese Verbindung auch erfolgreich synthetisierten.



43

44

Abbildung 4.21 Ausgewählte ^{13}C -NMR-Werte von **43** und **44** ($[\text{D}_4]$ Methanol, 500 MHz).

Aus den in Peru beheimateten Bäumen *Sickingia tinctoria* und *Sickingia williamsii* konnten *Pizza et al.* das Sickingin (**44**) gewinnen.^[119] Die Verbindung **44** ist strukturell stark mit **43** verwandt, und beide liefern sehr gute Übereinstimmungen der NMR-Werte des 3-Carboxy-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin-Gerüsts mit denen von Pityriarubin A (**39**).

4.3.4 Synthese von Modellverbindungen

Da in der Natur nur wenige Verbindungen mit Cyclopentendion-Spirostruktur bekannt sind, werden zum weiteren Strukturbeweis synthetische Verbindungen herangezogen. Das Grundsystem wurde bereits von *Heesing et al.*^[120] synthetisiert. Dabei wurde aber nur ein racemisches Tryptophan-Derivat eingesetzt. Um nun Informationen über die Stereochemie des Naturstoffes **39** zu erhalten, wird die Synthese mit einem L-Tryptophan-Derivat **46** durchgeführt.

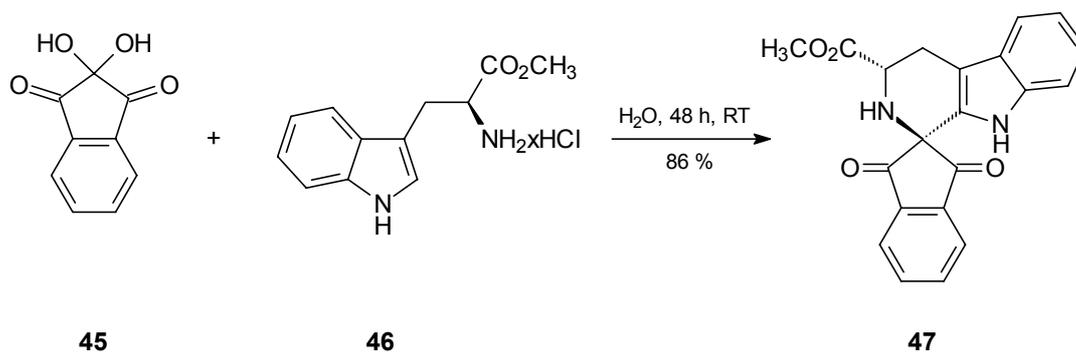


Abbildung 4.22 Synthese von **47**.

Bei dieser Reaktion wird Ninhydrin (**45**) mit L-Tryptophanmethylester-hydrochlorid (**46**) bei Raumtemperatur in Wasser für 48 Stunden stehen gelassen.

Das erhaltene Produkt **47** zeigt einen negativen Drehwert von $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -75$ ($c = 0.31$, Acetonitril) und mehrere Cotton-Effekte im CD-Spektrum.

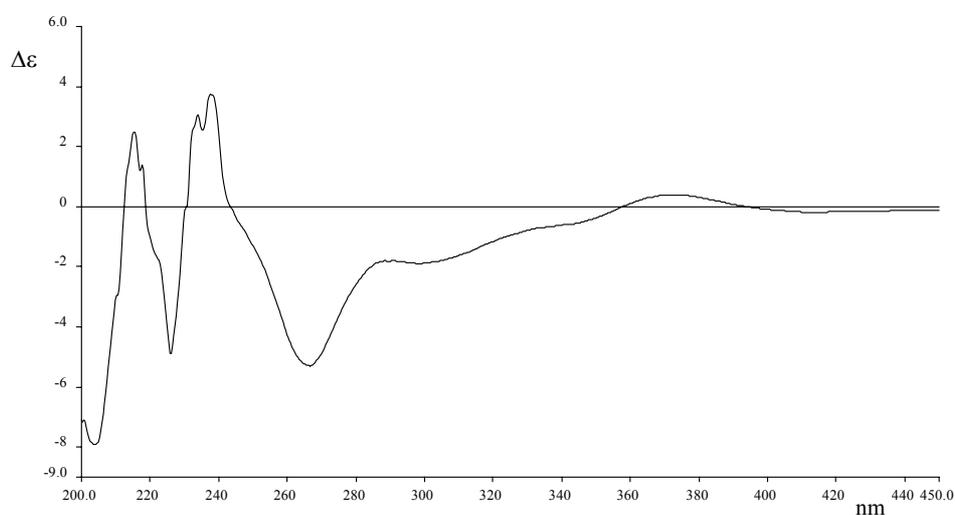


Abbildung 4.23 CD-Spektrum von **47** in Acetonitril.

Die Struktur von **47** konnte durch Einkristallröntgenstrukturanalyse bestätigt werden. Aus dem Vergleich der NMR-Werte ergibt sich weiterhin die Richtigkeit des Strukturvorschlages für Pityriarubin A (**39**).

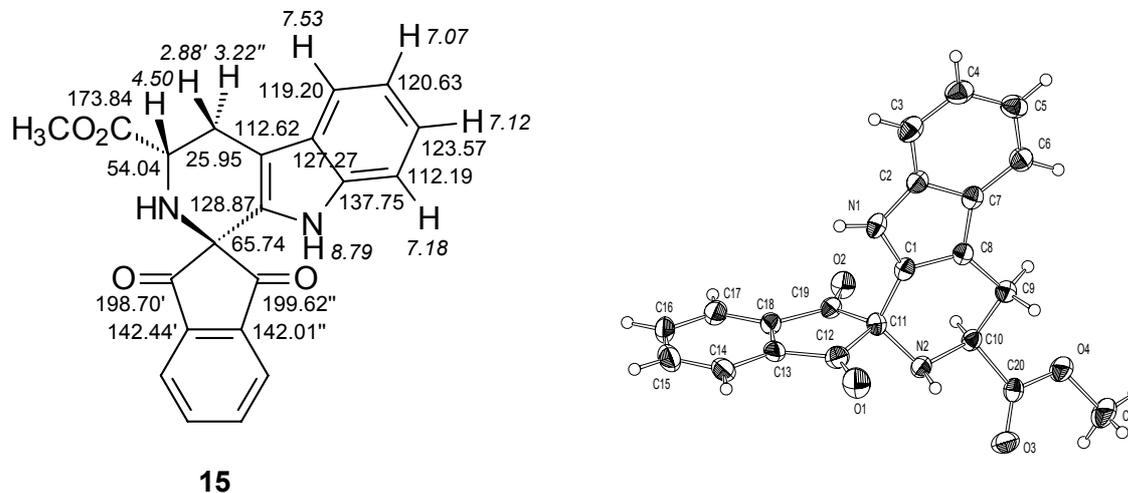


Abbildung 4.24 Vergleichsverbindung **47** mit NMR-Daten in $[D_3]$ Acetonitril.

x', x'' : ähnliche Werte austauschbar.

Die Werte für das 1,2,3,4-Tetrahydro- β -carbolin-System stimmen gut mit denen des Naturstoffes **39** überein. Etwas stärker sind die Abweichungen für die beiden Carbonyl-Funktionen und das Spiro-C-Atom. Dies ist auf die Struktur des Indandion-Systems zurückzuführen, die relativ stark von der Bisindolylstruktur des Naturstoffes **39** abweicht.

Um eine weitere Modellverbindung zu erhalten, die der Struktur von Pityriarubin A (**39**) noch näher kommt, wird in der Synthese Ninhydrin (**45**) gegen ein 4,5-Diphenylcyclopent-4-en-1,2,3-dion (**51**) ausgetauscht. Dieses Triketon **51** ist bereits in der Literatur beschrieben und kann auf zwei Wegen dargestellt werden.

Zum einen kann nach der Methode von Yamazaki *et al.*^[121] von 3,4-Diphenylcyclopent-3-enon (**48**) ausgegangen werden. **48** ist nach literaturbekannten Vorschriften^[122-124] in größeren Mengen leicht darstellbar.

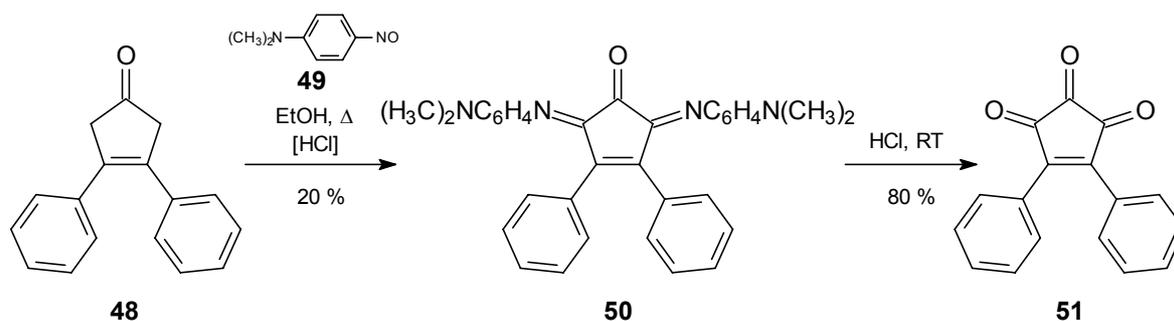


Abbildung 4.25 Synthese von 4,5-Diphenyl-cyclopent-4-en-1,2,3-dion (**51**) nach Yamazaki *et al.*^[121]

Das Edukt **48** wird mit vier Äquivalenten *N,N*-Dimethyl-4-nitrosoanilin (**49**) und katalytischen Mengen konz. HCl versetzt und in Ethanol für zwei Stunden refluxiert. Das schwarz-violette Produkt **50** wird dabei in maximalen Ausbeuten von 20% erhalten. Durch Umsetzung mit konz. HCl kann schließlich das gewünschte Endprodukt **51** gewonnen werden. **51** fällt als Hydrat an. Durch Trocknen im Hochvakuum bei 120 °C kann ein Molekül Wasser abgespalten werden, und man erhält das wasserfreie Triketon **51**.

Da bei dieser Synthese das Triketon **51** nur in sehr schlechten Ausbeuten zugänglich ist, wird in dieser Arbeit bevorzugt die Methode von *Obata* und *Takizawa*^[125] verwendet.

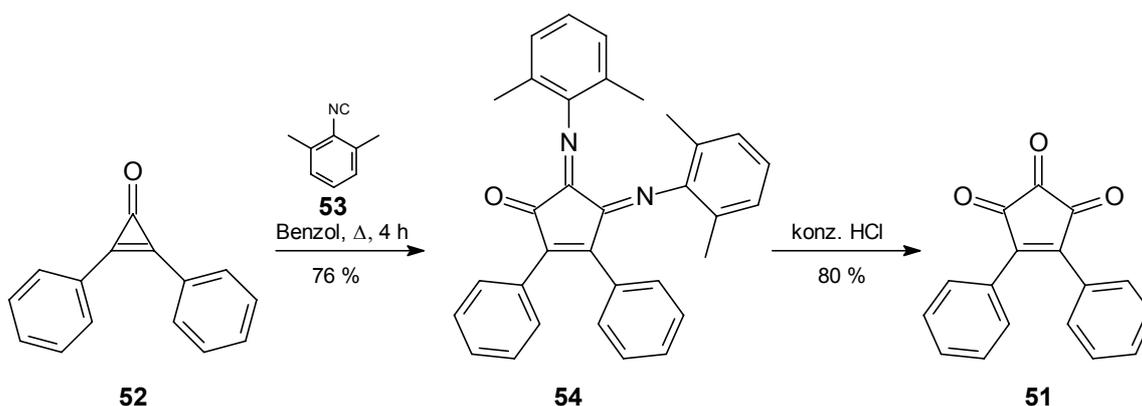


Abbildung 4.26 Synthese von 4,5-Diphenyl-cyclopent-4-en-1,2,3-dion (**51**) nach *Obata* und *Takizawa*.^[125]

Das käuflich erhältliche 2,3-Diphenyl-cyclopropenon (**52**) wird mit 2,8 Äquivalenten 2,6-Dimethylphenylisocyanid (**53**) für vier Stunden in Benzol refluxiert. Die anschließende

saure Hydrolyse von **54** liefert **51** als Hydrat. Wie oben beschrieben, kann daraus leicht das wasserfreie Triketon **51** gewonnen werden.

51 wird nun nach der oben erwähnten Methode von *Heesing et al.*^[120] mit L-Tryptophanmethylester-hydrochlorid (**46**) in Wasser umgesetzt.

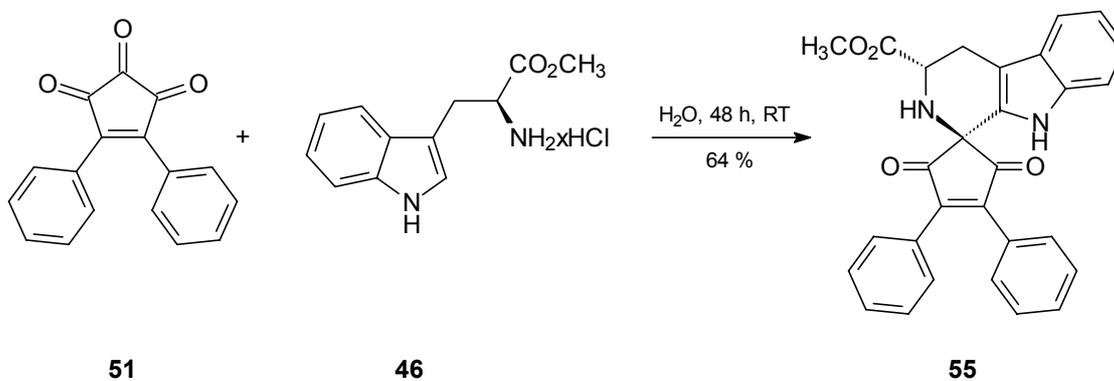


Abbildung 4.27 Synthese von **55**.

Das Produkt **55** zeigt einen Drehwert von $[\alpha]_D^{25} = -19$ ($c = 0.26$, Acetonitril) und mehrere Cotton-Effekte im CD-Spektrum.

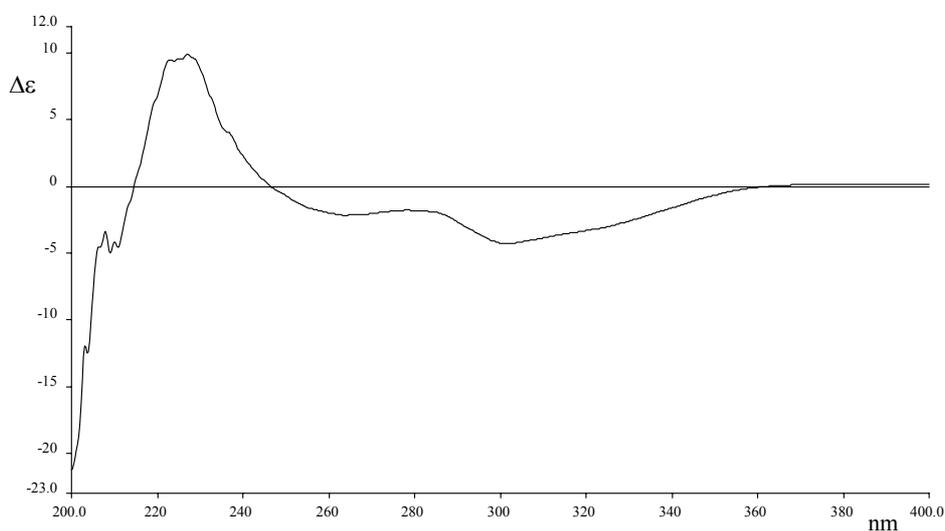


Abbildung 4.28 CD-Spektrum von **55** in Acetonitril.

Auch hier zeigt der Vergleich der NMR-Werte die gute Übereinstimmung mit den Werten von Pityriarubin A (**39**) (Tabelle 4.1).

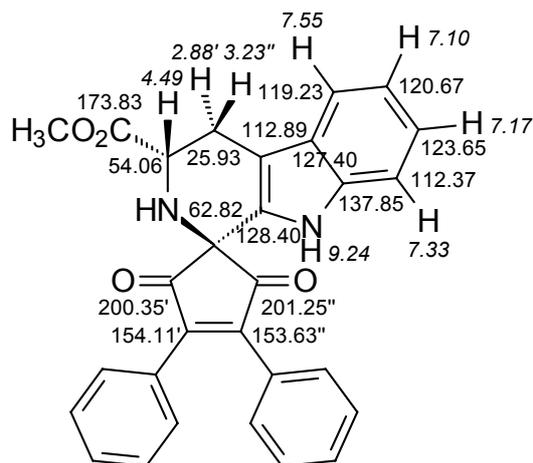
**55**

Abbildung 4.29 Vergleichsverbindung **55** mit NMR-Daten in $[D_3]$ Acetonitril.
x',x'': ähnliche Werte austauschbar.

Bei Verbindung **55** stimmen die Werte für das 1,2,3,4-Tetrahydro- β -carbolin-System sehr gut mit denen von Pityriarubin A (**39**) (Tabelle 4.1) überein. Auch die Verschiebungswerte der beiden Keto-Funktionen sind nahezu identisch.

Aufgrund der Daten dieser beiden Modellverbindungen und der guten Übereinstimmung der NMR-Werte kann die Struktur von Pityriarubin A (**39**) als sicher angesehen werden.

Da beide Modellverbindungen einen negativen Drehwert zeigen, kann von der richtigen Stereochemie am Naturstoff **39** ausgegangen werden. Ein Vergleich der CD-Spektren von **55** und **39** zeigt große Übereinstimmung, wenn man berücksichtigt, daß das Chromophor bei **55** kleiner ist und sich damit das Absorptionsmaximum bei einer kürzeren Wellenlänge befindet. Durch diesen letzten Beweis und die Ergebnisse der Biosynthese (Kapitel 5.3) kann die Stereochemie von **39** als sicher angesehen werden.

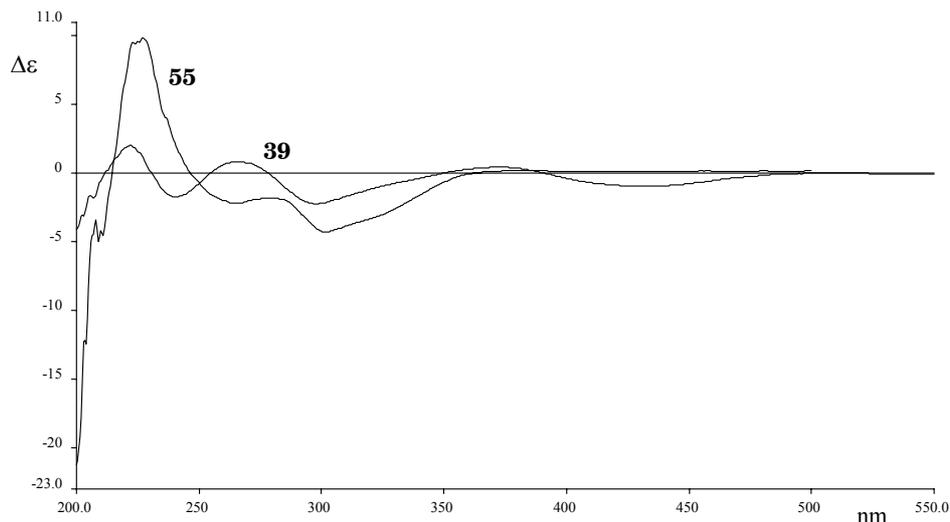


Abbildung 4.30 CD-Spektren von **39** und **55** in Acetonitril.

4.4 Pityriarubin B (**56**)

4.4.1 Struktur von Pityriarubin B (**56**)

Pityriarubin B (**56**) liegt nach dem Lyophilisieren als oranges Pulver vor. In der analytischen HPLC eluiert es nach einer Retentionszeit von 48 Minuten von einer RP-18-Säule. Wie bei Pityriarubin A (**39**) ist im IR-Spektrum eine intensive NH-Valenzschwingung bei 3401 cm^{-1} und die Bande bei 744 cm^{-1} für einen 1,2-disubstituierten Aromaten zu erkennen. Eine starke Schwingung bei 1689 cm^{-1} deutet auf ein α,β -ungesättigtes Keton hin.

Im hochaufgelösten EI-Massenspektrum findet sich bei 524.1509 ein $[M]^+$ -Peak, was einer Zusammensetzung von $C_{32}H_{20}N_4O_4$ entspricht.

Die Verbindung **56** ist im Gegensatz zu **39** nicht optisch aktiv.

Betrachtet man das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **56**, so ist es gegenüber dem von **39** wesentlich vereinfacht. Es fehlen die aliphatischen Signale und im Aromatenbereich sind nur noch zwei verschiedene Signalsätze zu sehen.

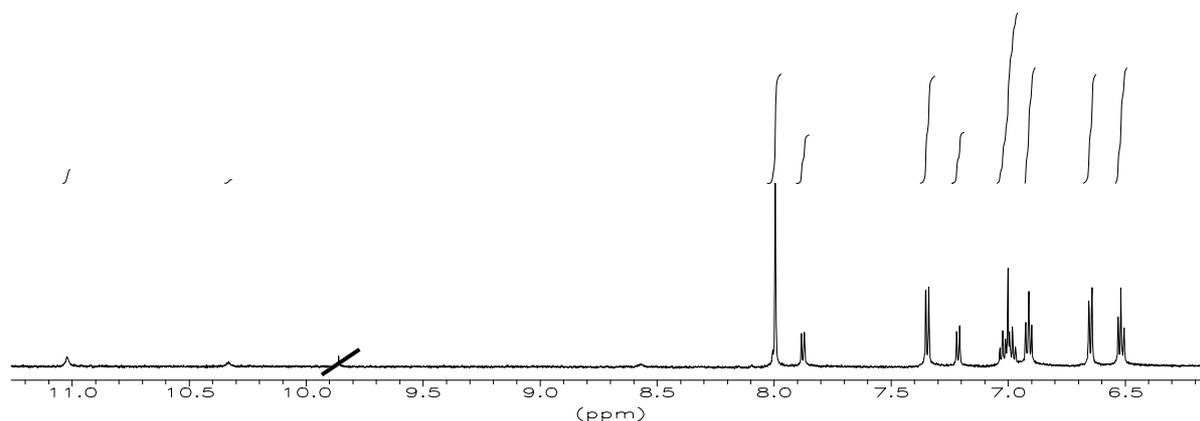


Abbildung 4.31 ^1H -NMR-Spektrum von Pityriarubin B (**56**) (600 MHz, $[\text{D}_6]$ Aceton).

Da einer der Signalsätze doppelt soviel Protonen entspricht, muß eine symmetrische Verbindung vorliegen. Bei $\delta = 10.26$ und 10.95 sind wieder die schon bekannten NH-Protonen zu sehen.

Das ^{13}C -NMR-Spektrum ist gegenüber dem von **39** etwas vereinfacht. Es sind wieder die Carbonyl-Funktionen bei $\delta = 199.03$ zu erkennen und ein Signal bei $\delta = 170.53$, was hier aber wahrscheinlich keiner Carbonsäure sondern einem Carbonsäureamid entspricht.

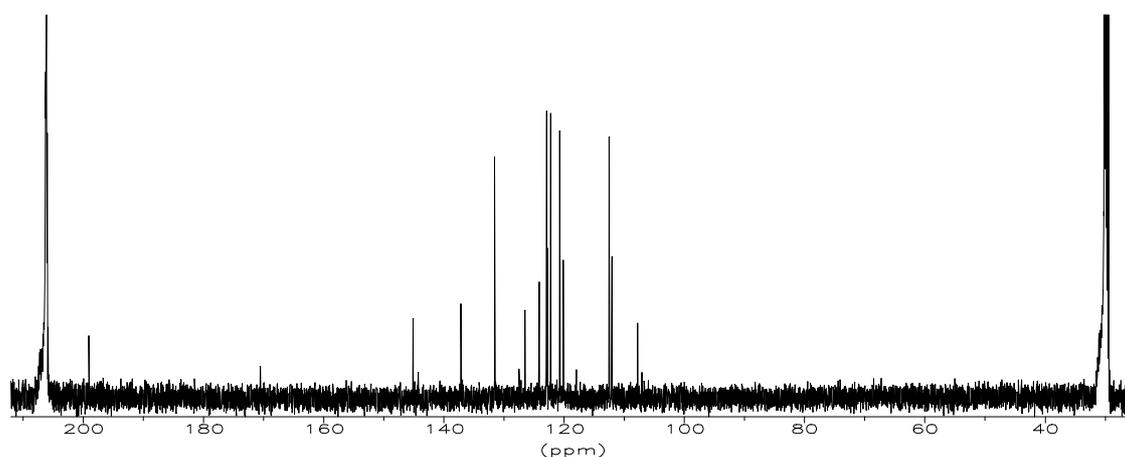


Abbildung 4.32 ^{13}C -NMR-Spektrum von Pityriarubin B (**56**) (150.9 MHz, $[\text{D}_6]$ Aceton).

Mit Hilfe des ^1H - ^1H -COSY- und HMQC-Spektrums läßt sich ableiten, daß in dieser Verbindung ebenfalls drei Indole enthalten sind, die alle über die 3-Position verknüpft sind.

Im ^{13}C -NMR-Spektrum fällt die ungenügende Anzahl an C-Atomen auf. Es sind nur 31 C-Atome erkennbar und nicht 32, wie es nach der Summenformel zu erwarten wäre.

Mit Hilfe des HMBC-Spektrums soll dieses Problem gelöst werden. Da aber dieses 2D-Spektrum auch keine Hinweise auf das fehlende C-Atom ergibt, wird hier, wie schon in Kapitel 4.2.1 beschrieben, ein HMBC-Spektrum aufgenommen, dessen Delayzeit gegenüber der normalen Messung verlängert wird. Bei den verschiedenen Messungen erweist sich $D_6 = 460$ ms als beste Delayzeit.

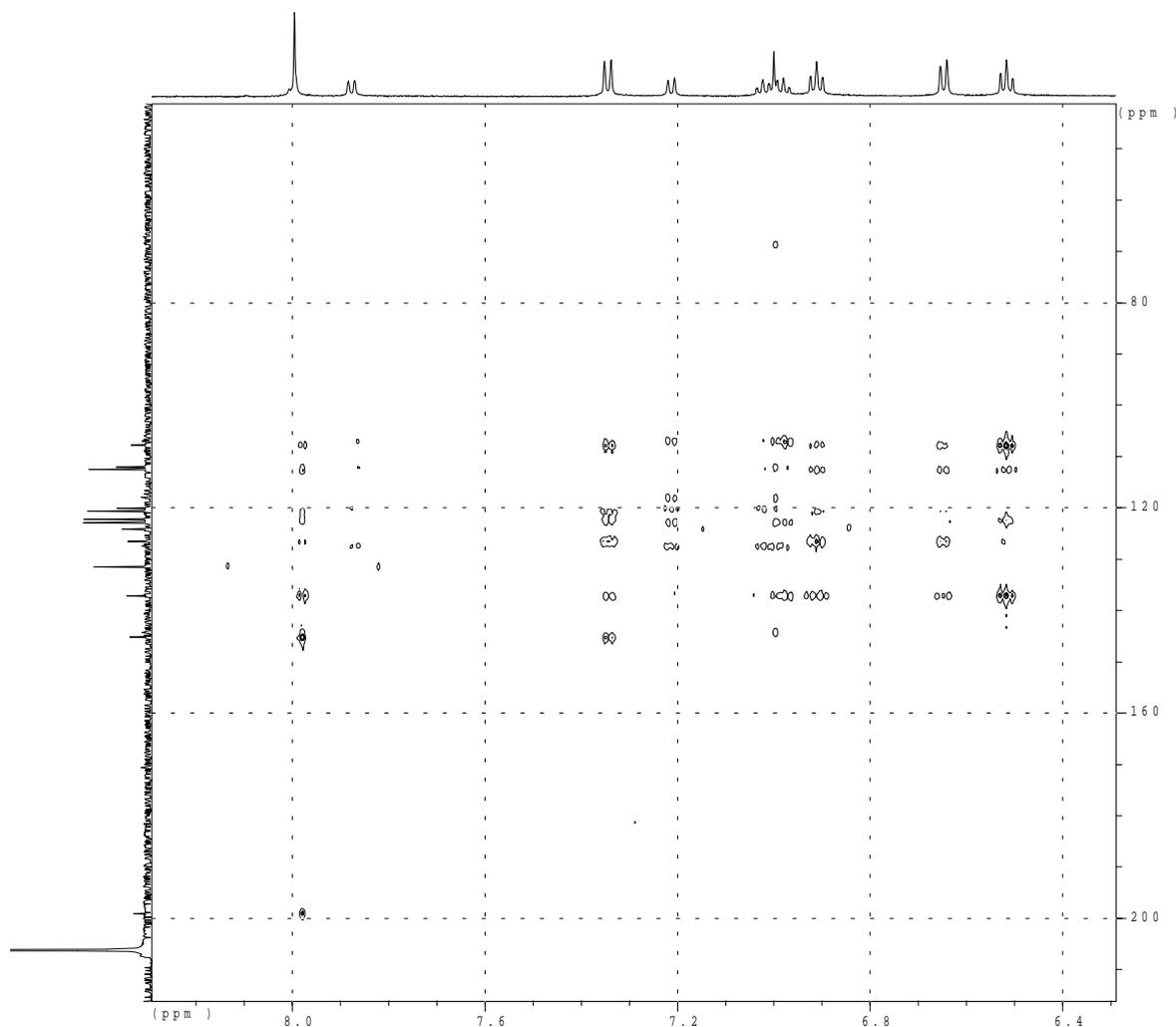


Abbildung 4.33 HMBC-Spektrum von Pityriarubin B (**56**) mit veränderter Delayzeit $D_6 = 460$ ms (600/150.9 MHz, $[D_6]$ Aceton).

Hier kann man sehr deutlich erkennen, daß das Protonen-Signal bei $\delta = 7.00$ eine Korrelation zu einem C-Atom bei $\delta = 68.47$ zeigt. Bei genauerer Betrachtung ist dieses Signal auch im ^{13}C -NMR-Spektrum (Abbildung 4.32) erkennbar.

Nun können alle Signale zugeordnet und folgender Strukturvorschlag erarbeitet werden.

Position	δ_C [ppm]	Art	δ_H [ppm]	m	J [Hz]	$^1H^1H$ - COSY	HMBC
1		NH	7.92	s			
2	170.53	C _q					7.92
3	144.23	C _q					7.92
4	117.94	C _q					7.00, 7.92
5	68.47	C _q					7.00*
6	199.03	C _q					7.92
7	145.14	C _q					7.98
8	145.14	C _q					7.98
9	199.03	C _q					7.92
1'		NH	10.26	s		7.00	
2'	124.15	CH	7.00	d	2.58	10.26	
3'	107.06	C _q					7.00, 7.88
3a'	127.47	C _q					6.98, 7.00, 7.21
4'	122.78	CH	7.88	d	7.80	6.98	7.02
5'	120.09	CH	6.98	ddd	7.80, 7.80, 1.14	7.02, 7.88	7.21
6'	122.82	CH	7.02	ddd	7.80, 7.80, 1.14	6.98, 7.21	7.88
7'	112.04	CH	7.21	d	7.80	7.02	6.98
7a'	137.14	C _q					7.00, 7.02, 7.88
1''		NH	10.95			7.98	
2''	131.54	CH	7.98	d	2.58	10.95	
3''	107.78	C _q					6.65, 7.98
3a''	126.50	C _q					6.52, 7.34, 7.98
4''	122.24	CH	6.65	d	7.80	6.52	6.91
5''	120.69	CH	6.52	ddd	7.80, 7.80, 1.14	6.65, 6.91	6.91, 7.34
6''	122.90	CH	6.91	ddd	7.80, 7.80, 1.14	6.52, 7.34	6.65
7''	112.49	CH	7.34	d	7.80	6.91	6.51, 7.98
7a''	137.17	C _q					6.65, 6.91, 7.98

Tabelle 4.2 NMR-Werte von Pityriarubin B (**56**) (600/150.9 MHz, [D₆]Aceton).

* Diese Korrelation kann nur im veränderten HMBC-Spektrum (D₆ = 460 ms) gesehen werden. Alle anderen beziehen sich auf das unveränderte HMBC-Spektrum (D₆ = 70 ms).

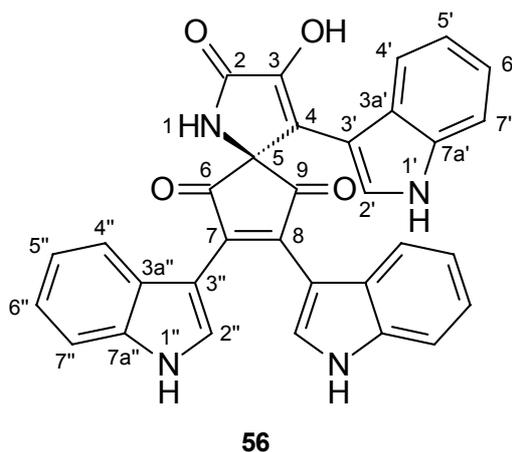


Abbildung 4.34 Pityriarubin B (**56**)

4.4.2 Strukturbeweis durch Vergleichsverbindungen

Auch bei Pityriarubin B (**56**) handelt es sich um eine Spiroverbindung. Hier findet die Verknüpfung des Cyclopentendion-Systems mit einem enolisierten Pyrrolidin-2,3-dion statt. Naturstoffe und synthetische Verbindungen mit Cyclopentendion-Struktur wurden schon in Kapitel 4.3.2 bzw. 4.3.4 vorgestellt. Ein Vergleich der NMR-Werte zeigt gute Übereinstimmung.

Pyrrolidin-2,3-dione, wie sie hier vorliegen, findet man nicht sehr häufig in der Natur. Aus Kulturen von *Penicillium* sp. FO-2047 konnte der Naturstoff Phenopyrrozin (**57**) isoliert werden.^[126] Die Verbindung ist ein natürlicher Radikalfänger und zeigt antimikrobielle Wirkung.^[126]

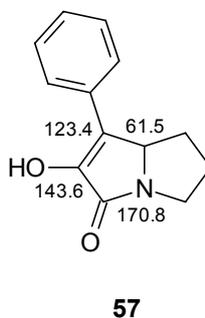
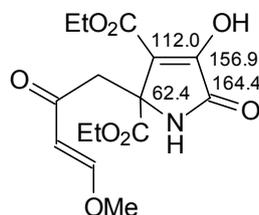


Abbildung 4.35 Ausgewählte ¹³C-NMR-Werte von Phenopyrrozin (**57**) ([D₆]DMSO) aus *Penicillium* sp. FO-2047.

Ein Vergleich der analytischen Daten mit **56** ergibt eine sehr gute Übereinstimmung für das Pyrrolidin-2,3-dion-Gerüst.

Auch auf dem synthetischen Gebiet gibt es nicht viele Verbindungen dieses Typs. *Isobe et al.*^[127] konnten die Verbindung **58** erfolgreich synthetisieren.



58

Abbildung 4.36 Ausgewählte NMR-Werte der synthetischen Verbindung **58** (25 MHz, CDCl₃).

Die Werte stimmen relativ gut mit dem Naturstoff **56** überein. Die Abweichungen sind auf die unterschiedlichen Substituenteneinflüsse zurückzuführen.

4.5 Pityriarubin C (**59**)

4.5.1 Struktur von Pityriarubin C (**59**)

Nach dem Lyophilisieren wird Pityriarubin C (**59**) als rotes, amorphes Pulver erhalten.

Das hochaufgelöste (+)-FAB-Massenspektrum zeigt einen [M+H]⁺-Peak bei 526.1382. Daraus läßt sich die Summenformel von C₃₂H₁₉N₃O₅ ableiten. Im Vergleich mit Pityriarubin B (**56**) ergibt sich eine Massendifferenz von nur einer Masseneinheit. An der Summenformel kann man erkennen, daß bei Pityriarubin C (**59**) ein Sauerstoffatom anstelle einer NH-Einheit im Pityriarubin B (**56**) vorliegt.

Im IR-Spektrum sind eine intensive NH-Valenzschwingung bei 3416 cm⁻¹ und die Bande bei 744 cm⁻¹ für einen 1,2-disubstituierten Aromaten zu erkennen. Eine starke Schwingung bei 1686 cm⁻¹ deutet wie bei **56** auf ein α,β-ungesättigtes Keton hin. Die Bande bei 1765 cm⁻¹ kann einem Fünfring-Lacton zugeordnet werden.

Das ¹H-NMR-Spektrum von **59** ähnelt dem von **56** sehr. Es sind ebenfalls nur aromatische Signale zu erkennen, und ein Signalsatz entspricht der doppelten Protonenanzahl.

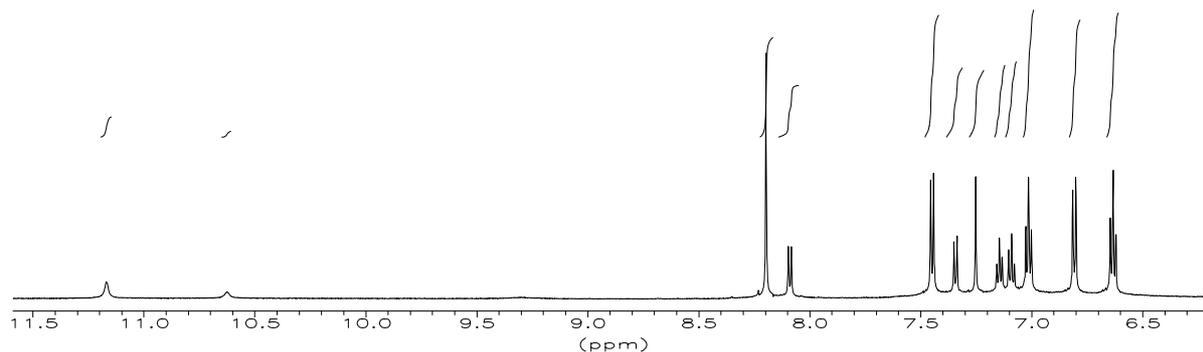


Abbildung 4.37 ^1H -NMR-Spektrum von Pityriarubin C (**59**) (600 MHz, $[\text{D}_6]$ Aceton).

Das ^{13}C -NMR-Spektrum ist ebenfalls nahezu identisch mit dem von Pityriarubin B (**56**).

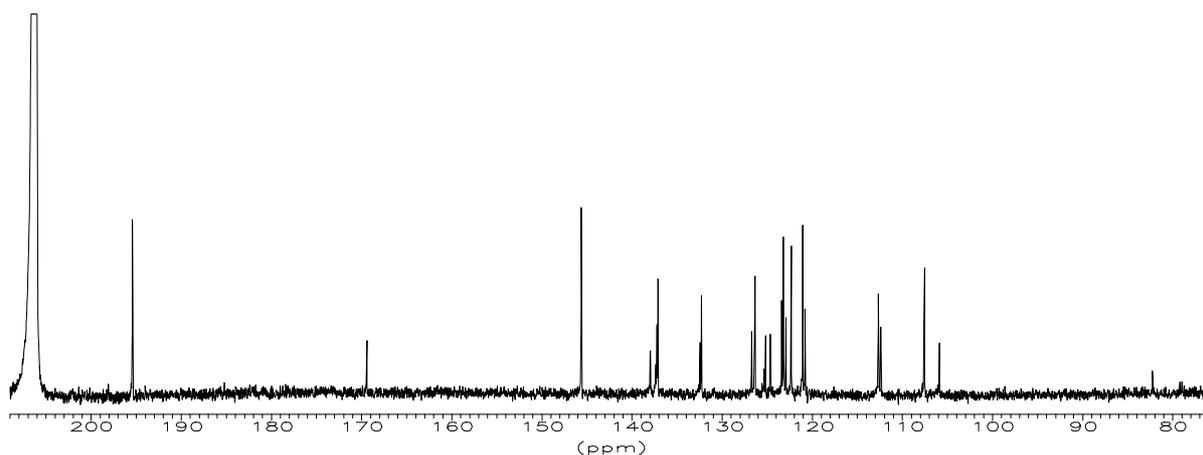


Abbildung 4.38 ^{13}C -NMR-Spektrum von Pityriarubin C (**59**) (150.9 MHz, $[\text{D}_6]$ Aceton).

Durch die große Ähnlichkeit der beiden Verbindungen und die zusätzlichen Informationen aus den 2D-Spektren kann der Strukturvorschlag für **59** abgeleitet werden. Die einzelnen zugeordneten NMR-Werte sind in Tabelle 4.3 zusammengefaßt.

Position	δ_C [ppm]	Art	δ_H [ppm]	m	J [Hz]	$^1H^1H$ -COSY	HMBC
2	169.40	C _q					
3	137.95	C _q					
4	124.64	C _q					
5	82.22	C _q					
6	195.41	C _q					
7	145.60	C _q					8.16
8	145.60	C _q					8.16
9	195.41	C _q					
1'		NH	10.59	s		7.22	
2'	125.18	CH	7.22	s		10.59	
3'	105.86	C _q					7.22, 8.06
3a'	126.70	C _q					7.06, 7.22, 7.31
4'	122.91	CH	8.06	d	8.22	7.06	7.11
5'	120.78	CH	7.06	dd	8.22, 8.22	7.11, 8.06	7.31
6'	123.37	CH	7.11	dd	8.22, 8.22	7.06, 7.31	8.06
7'	112.36	CH	7.31	d	8.22	7.11	7.06, 7.11
7a'	137.19	C _q					7.11, 7.22, 8.06
1''		NH	11.14	s		8.16	
2''	132.27	CH	8.16	s		11.14	
3''	107.53	C _q					6.77, 8.16
3a''	126.34	C _q					6.60, 7.42, 8.16
4''	122.32	CH	6.77	d	8.22	6.60	6.98
5''	121.03	CH	6.60	dd	8.22, 8.22	6.77, 6.98	7.42
6''	123.17	CH	6.98	dd	8.22, 8.22	6.60, 7.42	6.77
7''	112.63	CH	7.42	d	8.22	6.98	6.60, 6.77, 6.98
7a''	137.09	C _q					6.77, 6.98, 8.16

Tabelle 4.3 NMR-Werte von Pityriarubin C (**59**) (600/150.9 MHz, [D₆]Aceton).

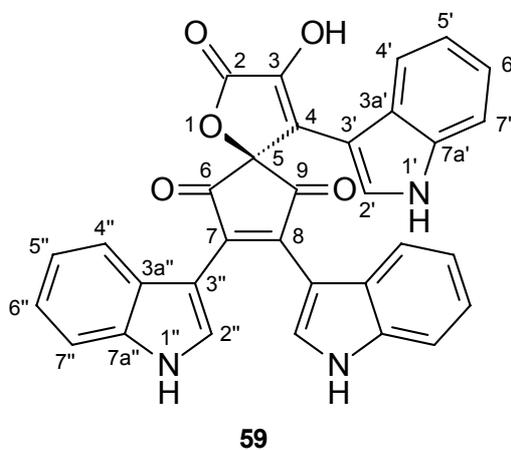


Abbildung 4.39 Struktur von Pityriarubin C (**59**).

Beim Pityriarubin C (**59**) findet die Verknüpfung des schon bekannten Cyclopentendion-Strukturtyps mit einem enolisierten α -Oxo- γ -butyrolacton statt.

4.5.2 α -Oxo- γ -butyrolactone in der Natur

Dieser Strukturtyp ist ebenfalls selten in der Natur anzutreffen. *Yamamoto et al.* konnten aus *Aspergillus terreus* IFO 8835 die Verbindung **60**^[128] und aus *Aspergillus terreus* IFO 4100 die Verbindungen **61**^[129,130] und **62**^[129,130] isolieren.

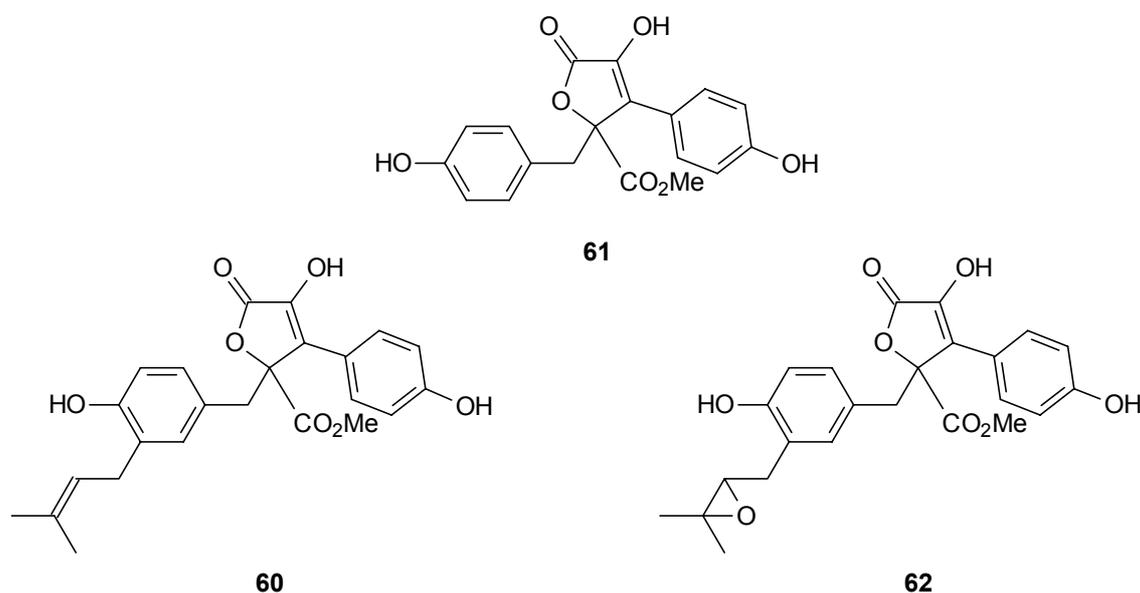


Abbildung 4.40 Verbindung **60** aus *Aspergillus terreus* IFO 8835, Verbindung **61** und **62** aus *Aspergillus terreus* IFO 4100.

4.5.3 Synthese von Modellverbindungen

Um vergleichbare NMR-Werte zu erhalten, werden Modellverbindungen synthetisiert. Das Grundgerüst wurde schon von *Kim et. al.*^[131] dargestellt. Wie bereits bei den Vergleichsverbindungen für das Pityriarubin A (**39**) ist ein Triketon Ausgangssubstanz. Am leichtesten zugänglich ist das Ninhydrin (**45**). Es wird mit einem Brenztraubensäuremethylester **63**^[132,133] in Wasser umgesetzt.

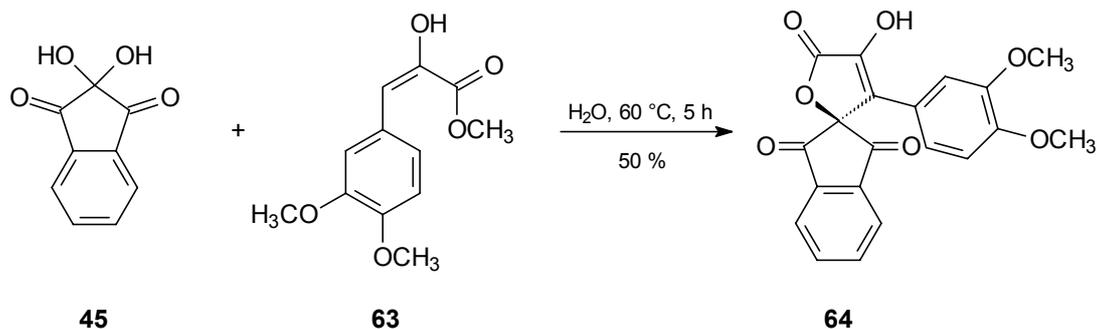


Abbildung 4.41 Synthese von **64**.

Ein Vergleich der NMR-Werte zeigt gute Übereinstimmung mit denen des Naturstoffes **59**. Die kleineren Abweichungen sind auf die unterschiedlichen Substituenten zurückzuführen.

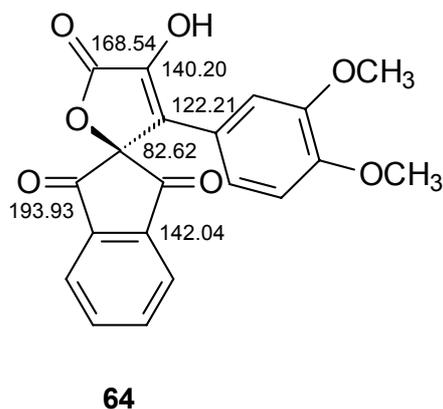


Abbildung 4.42 Verbindung **64** mit ausgewählten NMR-Daten (150.9 MHz, [D₆]Aceton).

Da diese Struktur nur Vergleichswerte für das Grundgerüst liefert, wird eine weitere Verbindung synthetisiert. Die dazu benötigte Indol-3-ylbrenztraubensäure (**68**) lässt sich leicht darstellen. Acetylglycin (**65**) wird mit Indol-3-carbaldehyd (**66**) in Essigsäureanhydrid bei 120 °C umgesetzt.^[134] Das entstandene Azlacton (**67**) kann in einem einzigen Schritt mit 10N NaOH hydrolysiert werden.^[106]

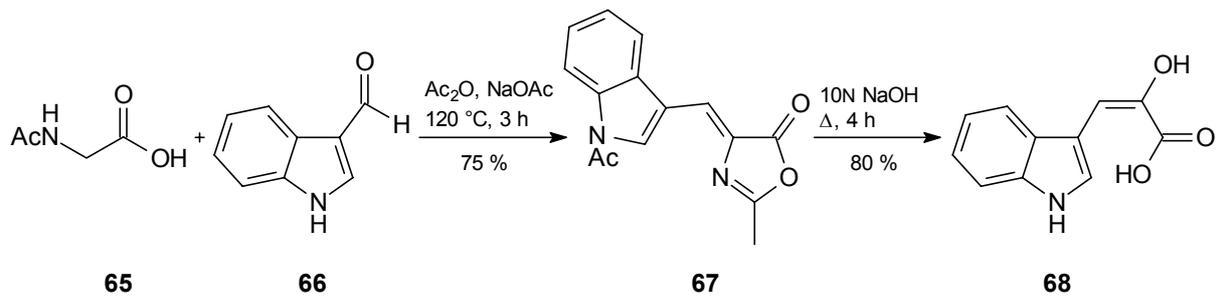


Abbildung 4.43 Darstellung von **68**.

Die Indol-3-ylbrenztraubensäure (**68**) wird nun mit 4,5-Diphenyl-cyclopent-4-en-1,2,3-dion (**51**) in Wasser nach *Kim et al.*^[131] umgesetzt.

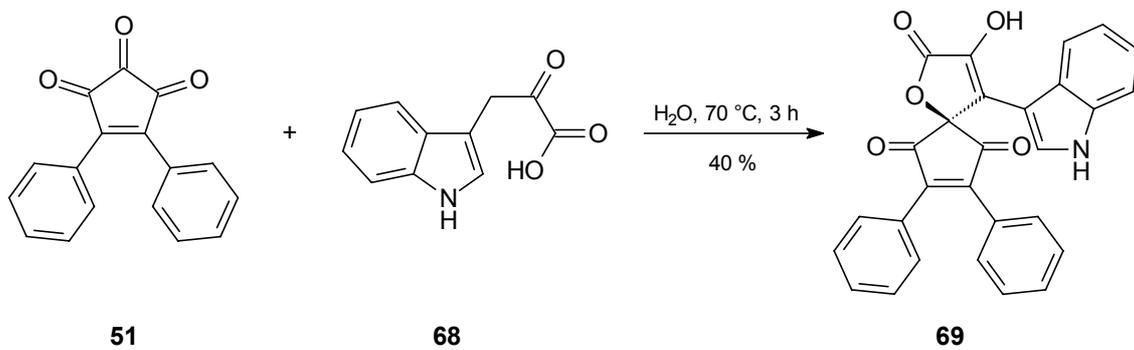
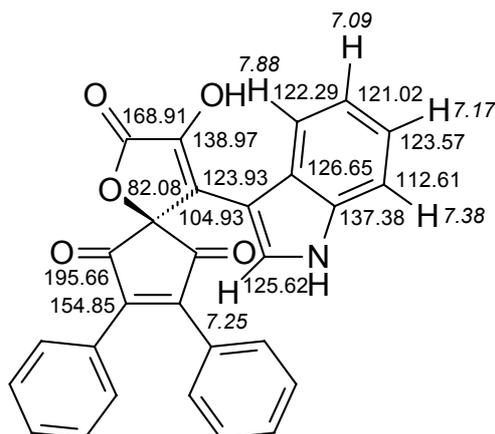


Abbildung 4.44 Synthese von **69**.

Diese Verbindung **69** liefert NMR-Werte, die mit denen des Naturstoffes **59** sehr gut übereinstimmen.



69

Abbildung 4.45 Verbindung **69** mit NMR-Daten (600/150.9 MHz, [D₆]Aceton).

Die Struktur von Pityriarubin C (**59**) kann somit als bewiesen angesehen werden.

4.6 Biologische Aktivität

Ein kürzlich erschienener Review behandelt die unklaren Verhältnisse bezüglich der immunologischen Abwehr von *Malassezia*-Hefen bei erkrankten Patienten und Hinweise auf immunsuppressive Eigenschaften des Erregers.^[135] Wie bereits in Kapitel 3.1 erwähnt, untersuchen *Gueho et al.*^[97] die Interaction von *M. furfur* mit dem zellulären und humoralen Immunsystem bei Patienten mit *Malassezia*-assoziierten Erkrankungen. *M. furfur* scheint dabei immunstimulatorisch wirksam zu sein, aber insgesamt existiert derzeit kein einheitliches Konzept der Interaktion des Keimes mit dem humanen Immunsystem. Es ist weiterhin schon lange bekannt, daß bei Pityriasis versicolor Hefezellen intraepithelial wachsen, ohne daß ausgeprägte inflammatorische Infiltrate auftreten. Zu diesem Befund paßt, daß *M. furfur* in Kokulturen mit peripheren Monozyten die Produktion pro-inflammatorischer Cytokine wie Interleukin 1 β , TNF- α und IL-6 hemmt.^[136-138] Auch die Anfälligkeit gegenüber Phagozytose scheint bei *M. furfur* reduziert zu sein. Als Ursache für diese Suppression wird bis jetzt nur die produzierte Azelainsäure,^[139] die die Produktion von Sauerstoff-Radikalen hemmt, sowie Lipidbestandteile der Zellmembran mit suppressiver Wirkung auf das retikuloendotheliale System diskutiert.^[140,141] Insgesamt aber erscheint die Interaktion ungeklärt.

Es wird derzeit untersucht, inwieweit die neu entdeckten Alkaloide diese klinischen Effekte erklären können. Erste hypothetische Annahmen auf immunmodulatorische

Eigenschaften der Pityriarubine A-C (**39**, **56**, **59**) lassen sich aus der Verwandtschaft der Spiroverbindungen mit potenten PKC-Inhibitoren vom Typ des Bisindolylmaleinimids schließen.^[104,108,142,143] Dazu passen auch Hinweise auf eine antibiotische Wirksamkeit der Pityriarubine A-C (**39**, **56**, **59**) und des Anhydrids **29** gegenüber grampositiven Bakterien, in Analogie zu den schwach antibiotisch wirkenden Bisindolylmaleinimiden.^[144,145] Dies könnte als Beeinflussung des mikrobiellen Gleichgewichts der gesunden Haut zum ökologischen Vorteil des Pilzes verstanden werden.

PKC- und Protein-Tyrosin-Kinase abhängige Prozesse stellen nach der aktuellen Literatur zentrale Stellglieder in der lymphozytären Abwehr und Antikörperproduktion dar.^[146-153] In PKC-Assays konnte gezeigt werden, dass die Pityriarubine A-C (**39**, **56**, **59**) potente und selektive Inhibitoren der menschlichen Protein-Kinase C-Isoformen, insbesondere der Isoform β II darstellen. Erste Versuche mit humanen Granulozyten ergaben eine Hemmung des granulozytären „Burst“ sowie eine Hemmung der Cytokin-Freisetzung nach LPS-Exposition

Der Ansatz, die immunsuppressiven Eigenschaften vom *M. furfur* auf ausgeschiedene Sekundärmetabolite zurückzuführen, stellt eine bislang völlig neue Erklärung der klinisch durch gering ausgeprägte Inflammation gekennzeichneten Bilder der Pityriasis versicolor dar.

Zudem werden PKC-Inhibitoren vom Bisindolylmaleinimid-Typ als mögliche therapeutisch anwendbare Immunsuppressiva z. B. bei Multipler Sklerose diskutiert.^[153] Wegen dieser möglichen Anwendung der Substanzen ist derzeit das Patentverfahren eingeleitet.^[154]

5 Biosynthese der Pityriarubine in *Malassezia furfur*

5.1 Überlegungen zur Biosynthese der Pityriarubine

Betrachtet man die Pityriarubine A-C (**39**, **56**, **59**), so läßt sich die Biosynthese auf drei Typtophan-Einheiten zurückführen. Wie bereits bei den Modellverbindungen angewandt, wird auch hier ein Triketon als Schlüsselverbindung angesehen.

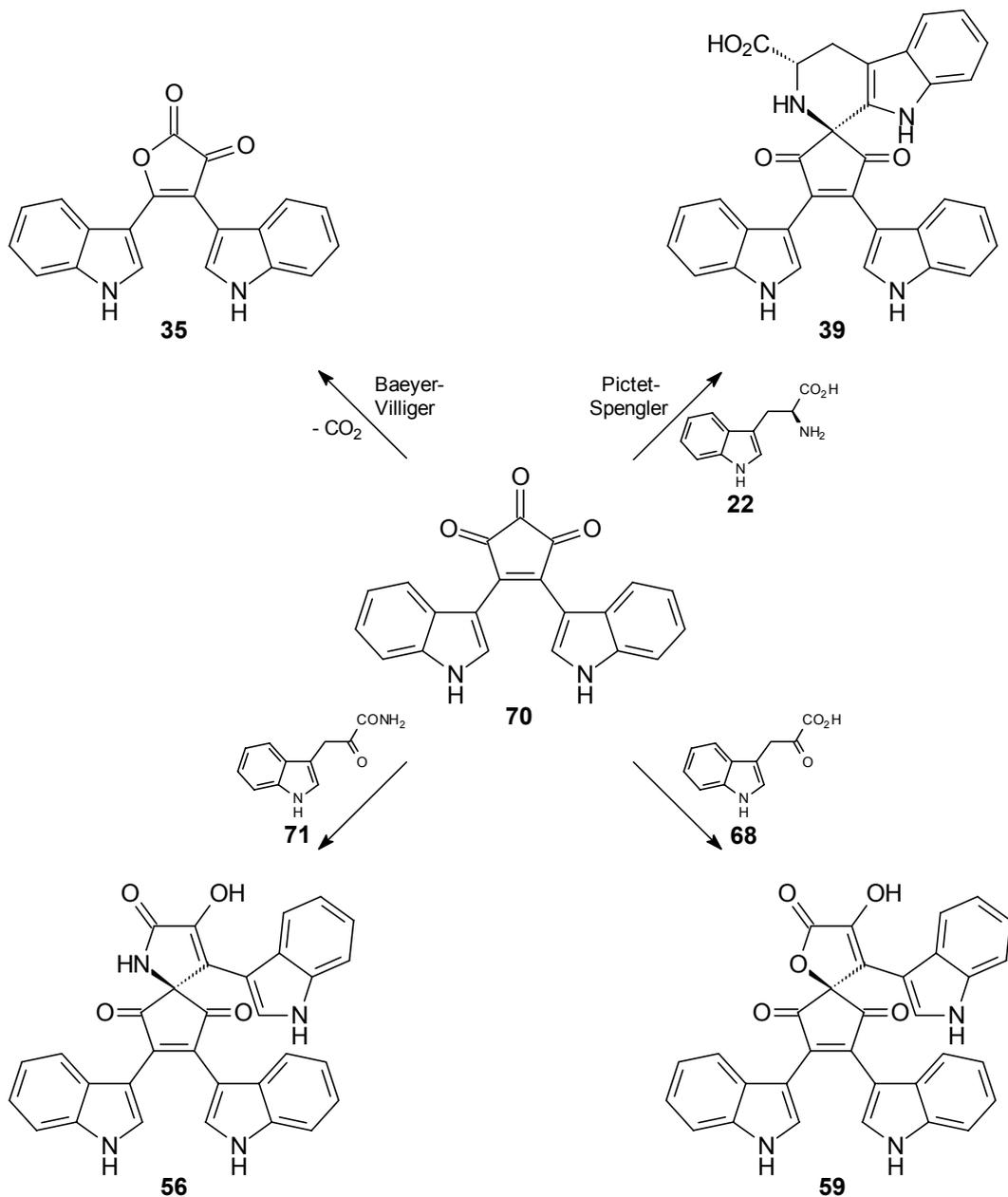


Abbildung 5.1 Biosynthesevorschlag für ausgewählte Pityria-Alkaloide.

Von 4,5-Bisindolyl-cyclopent-4-en-1,2,3-trion (**70**) ausgehend, könnte durch eine *Pictet-Spengler*-Reaktion mit L-Tryptophan (**22**) das Pityriarubin A (**39**) entstehen. Die Pityriarubine B (**56**) und C (**59**) könnten durch Reaktion des Triketons **70** mit Indol-3-ylbrenztraubensäureamid (**71**) bzw. Indol-3-ylbrenztraubensäure (**68**) gebildet werden. Auch das Pityrialacton (**35**) könnte aus dem Triketon **70** durch eine *Baeyer-Villiger*-Oxidation unter CO₂-Abspaltung entstehen.

Probleme bereitet die Biosynthese des Triketons **70**. Da **70** eine enge strukturelle Verwandtschaft mit Arcyriarubin A (**30**) zeigt, ist ein Vergleich mit dessen Biosynthese angebracht. Als biosynthetischer Vorläufer von **30** wird der aus terrestrischen Quellen stammende Pilzinhaltsstoff Lycogalsäure A (**72**)^[155-157] (aus *Lycogala epidendrum*) vermutet.^[106] Diese bildet sich wahrscheinlich durch oxidative Dimerisierung zweier Indol-3-ylbrenztraubensäuren (**68**) und Einbau des Pyrrol-Stickstoffs aus einer weiteren Stickstoffquelle.^[158] Durch anschließende oxidative Decarboxylierung würde Arcyriarubin A (**30**) entstehen.^[106]

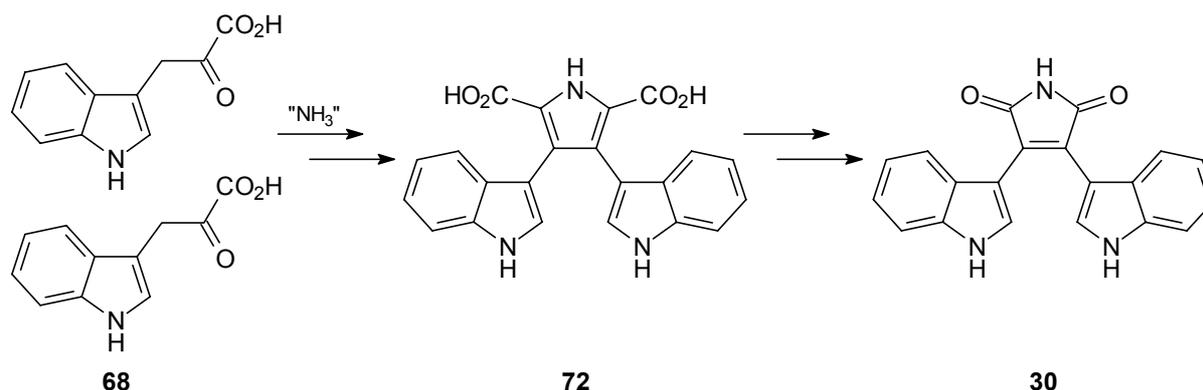


Abbildung 5.2 Postulierte Biosynthese für Arcyriarubin A (**30**).

Wendet man dieses Wissen auf die Biosynthese von **70** an, so erscheint der Weg über die Indol-3-ylbrenztraubensäure (**68**) sinnvoll. Durch oxidative Dimerisierung würde man zu der Biosynthesestufe **73** kommen. Da das spätere Spiro-Kohlenstoffatom nicht wie der Stickstoff im Pyrrolring über eine andere Quelle eingeführt werden kann, muß dieses Kohlenstoffatom aus der dimerisierten Einheit stammen. Es sind aber mit den beiden Säure- bzw. Keto-Funktionen nur elektrophile Zentren vorhanden und kein nucleophiles, das für den Ringschluß erforderlich wäre. Durch eine Umpolungsreaktion könnte nun ein reaktives Zentrum geschaffen werden und damit die Möglichkeit für einen Angriff an einem der elektrophilen Zentren. Ein Angriff von Thiaminpyrophosphat (TPP) an einer der beiden Keto-Funktionen und anschließende Decarboxylierung der benachbarten

Säurefunktion würde eine Umpolung bewirken. Dieses neugeschaffene nucleophile Kohlenstoffatom könnte nun an der gegenüberliegenden Säurefunktion angreifen, die beispielsweise durch Coenzym A aktiviert ist. Nach Abspaltung von TPP würde sich das Triketon **70** ausbilden.

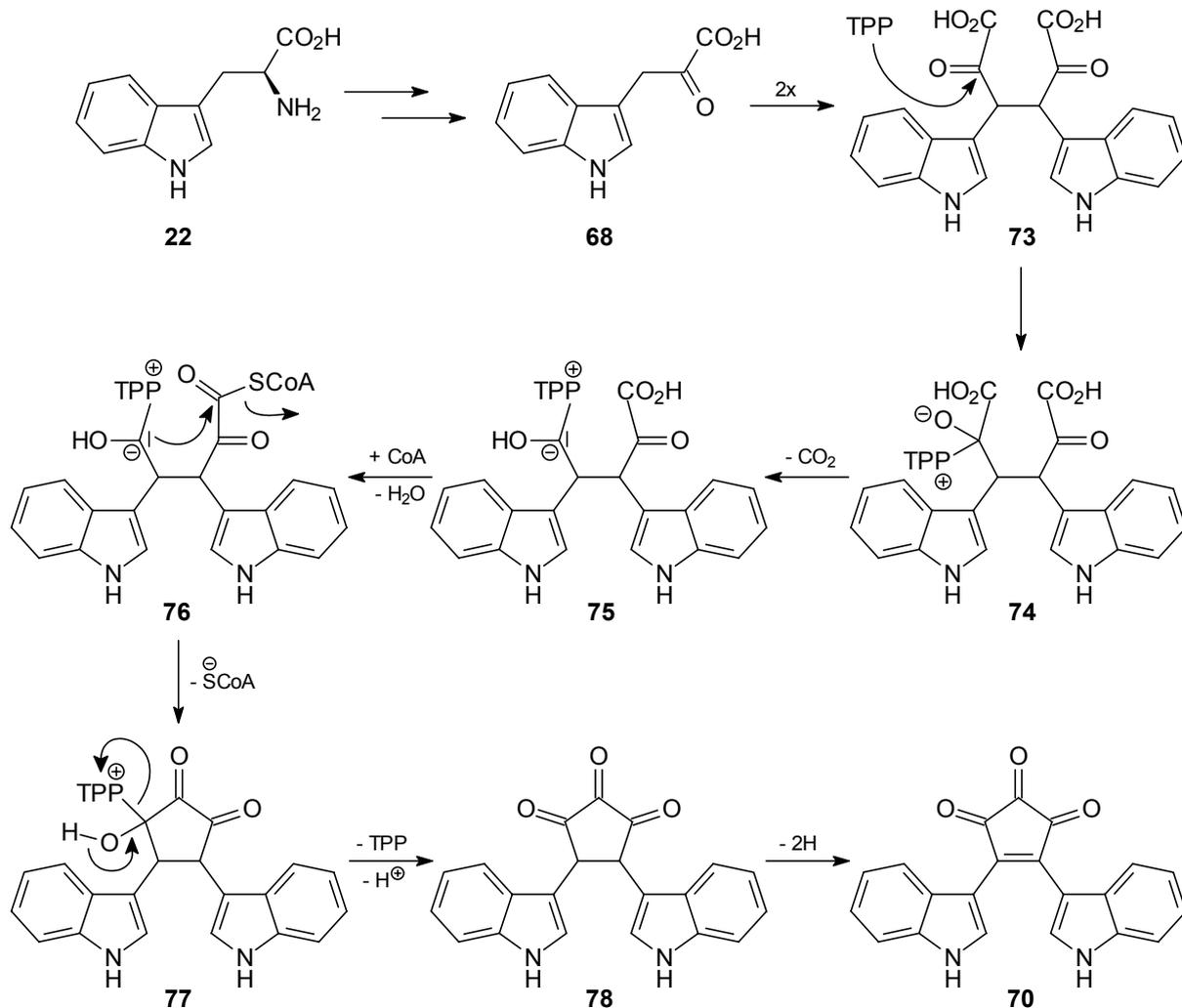


Abbildung 5.3 Biosynthesevorschlag für **70**.

5.2 Synthese von [1-¹³C]-DL-Tryptophan (**83***)

Eine Verfütterung mit [1-¹³C]-DL-Tryptophan (**83***) soll eindeutig klären, ob das Spiro-Kohlenstoffatom der Pityriarubine tatsächlich aus der Carboxylgruppe des L-Tryptophans (**22**) stammt und damit die postulierte Biosynthese bestätigen.

Die klassische Tryptophan-Synthese^[159] über Gramin erscheint nicht besonders sinnvoll, da die Markierung über den [1-¹³C]Acetamidomalonsäurediethylester (**81***)^[160-162] eingeführt werden müsste. Da aber eine der beiden Carboxylgruppen als CO₂ abgespalten wird, gehen in diesem Reaktionsschritt 50% der Markierung verloren. Man erhält am Ende ein nur zur Hälfte mit ¹³C angereichertes Molekül. Im vorliegenden Fall ist diese Synthese nicht wirtschaftlich und wird daher verworfen.

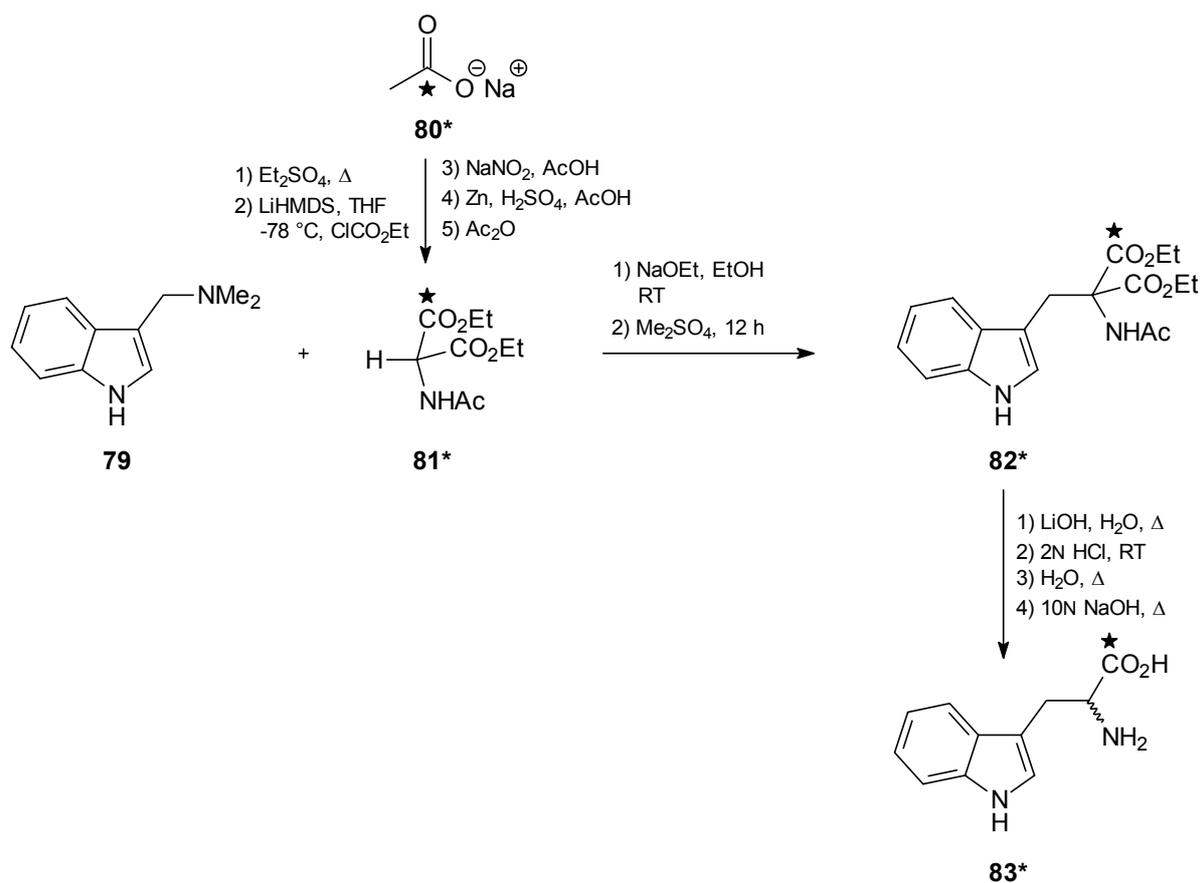


Abbildung 5.4 Mögliche Synthese von [1-¹³C]-DL-Tryptophan (**83***).

Eine andere Möglichkeit bietet die Darstellung über die *Erlenmeyer Azlactonsynthese*. Dabei kann entweder nach der Methode von *Nishiyama et al.*^[134] von [1-¹³C]Acetylglycin oder nach der Methode von *Jiang et al.*^[163] von [1-¹³C]Hippursäure (**86***) ausgegangen werden. Bei den hier benötigten größeren Mengen hat sich die Methode von *Jiang et al.*^[163] als ideal herausgestellt.

Zunächst wird [1-¹³C]Glycin (**84***) mit Benzoylchlorid (**85**) in 2N NaOH zur [1-¹³C]Hippursäure (**86***) umgesetzt.^[164] Nach der *Erlenmeyer Azlactonsynthese*-Variante von *Jiang et al.*^[163] reagiert **86*** mit Indol-3-carbaldehyd (**66**) zum Azlacton **87***. Dieses wird mit 1proz. NaOH zur Acrylsäure **88*** verseift und anschließend mit *in situ* hergestelltem

Raney-Nickel zum benzoylgeschützten Tryptophan **89*** reduziert. Die Abspaltung der Benzoylschutzgruppe gelingt am besten mit Bariumhydroxid nach einer Methode von *Hems et al.*^[165]

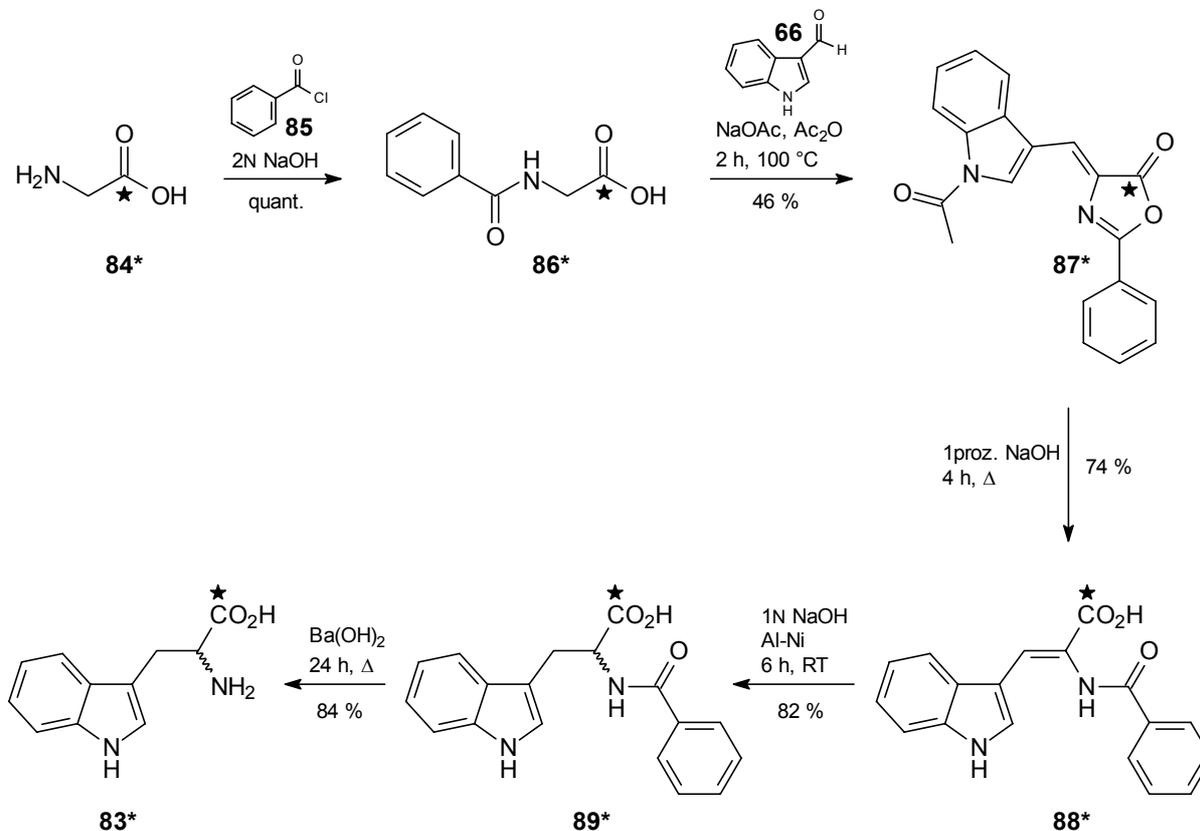


Abbildung 5.5 Synthese von [1-¹³C]-DL-Tryptophan (**83***).

5.3 Ergebnisse des Verfütterungsexperiments

Das Verfütterungsexperiment wurde von *Priv.-Doz. Dr. Peter Mayser* und *Dr. Hans-Joachim Krämer* in Gießen durchgeführt. Die Kulturen werden wie in Kapitel 13.1 beschrieben behandelt, nur daß sie diesmal mit reinem [1-¹³C]-DL-Tryptophan (**83***) versetzt werden und nicht mit L-Tryptophan (**22**). Die Aufarbeitung und Isolierung erfolgt ebenfalls nach der in Kapitel 13.2 beschriebenen Methode.

Die isolierten Substanzen werden allen üblichen spektroskopischen Methoden unterzogen. Die Einbaurrate wird nach folgender Formel bestimmt:

$$\% \text{Einbaurrate} = \frac{\text{Integralwert-}^{13}\text{C - markiert}}{\text{Integralwert-}^{13}\text{C - unmarkiert}} \times 1.1 - 1.1$$

Als erste Substanz konnte das Pityrialacton* (**35***) isoliert werden. Im ^{13}C -NMR-Spektrum ist die ^{13}C -Markierung sehr gut zu erkennen. Die Einbaurate beträgt 62.6%.

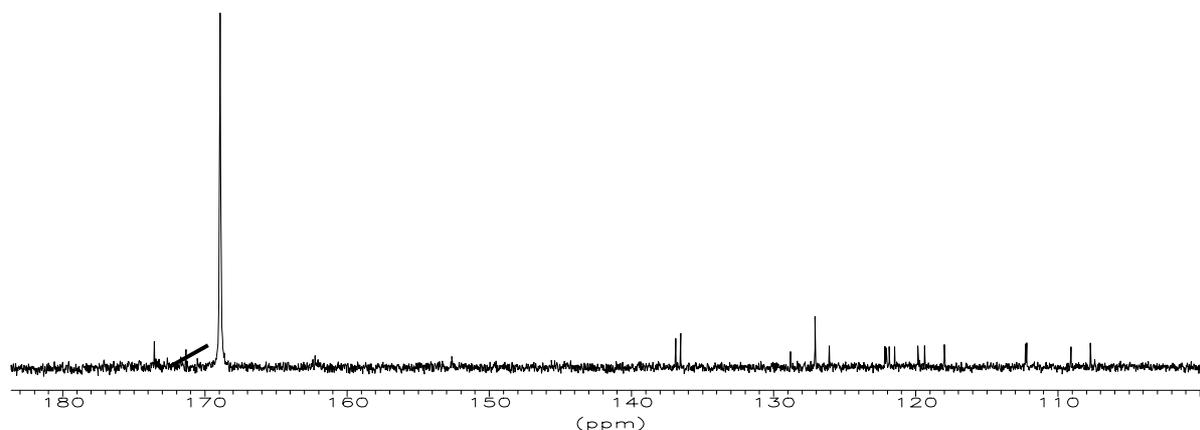


Abbildung 5.6 ^{13}C -NMR-Spektrum von Pityrialacton* (**35***).

Dies ist bereits ein Hinweis auf die Existenz des Triketons **70** entsprechend der oben vorgeschlagenen Biosynthese.

Entscheidend sind jedoch die Ergebnisse, die aus den Spiroverbindungen gewonnen werden. So konnten bei allen drei Pityriarubinen mittels ^{13}C -NMR-Spektroskopie je zwei Einbauten festgestellt werden. Zum einen findet eine Anreicherung von ^{13}C am Spiro-Kohlenstoffatom statt und zum anderen an der Carboxyl-, Amid- bzw. Ester-Funktion. Bei Pityriarubin C* (**59***) kann eine Anreicherung von ^{13}C an C-2 nachgewiesen werden, aber durch kleine Verunreinigungen in der Verbindung lässt sich nur eine qualitative und keine quantitative Aussage treffen. Die Einbauraten liegen zwischen 3.8% und 44.4%.

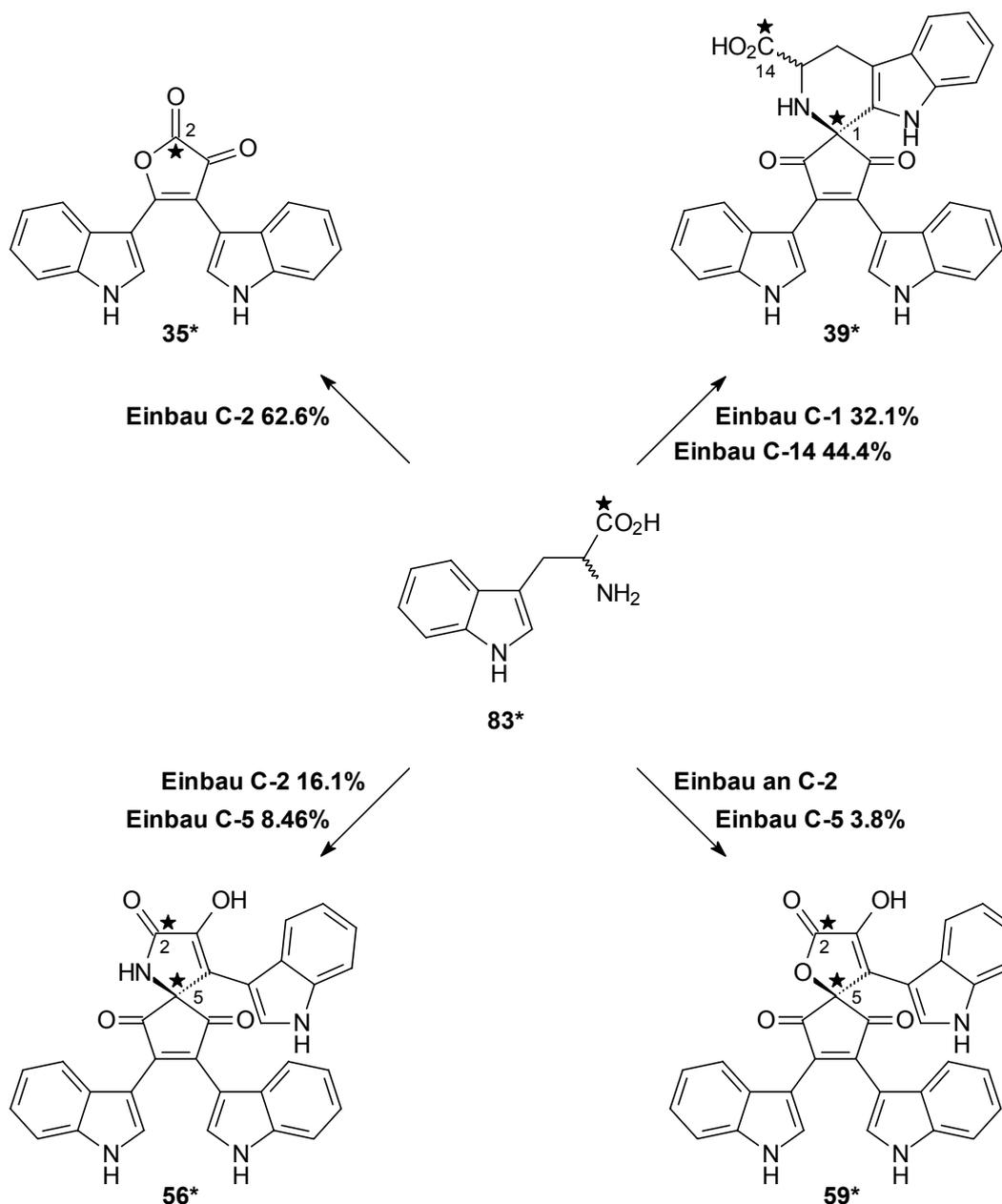


Abbildung 5.7 Ergebnisse des Verfütterungsexperiments mit Einbauraten.

Mit diesen Ergebnissen ist eindeutig bewiesen, daß das Spiro-Kohlenstoffatom aus der Carboxylgruppe des L-Tryptophans (**22**) stammt. Dies gibt einen weiteren Hinweis auf die Richtigkeit der postulierten Biosynthese.

Das Fehlen des Drehwertes bei Pityriarubin A* (**39***) bestätigt außerdem die Vermutung, daß das L-Tryptophan (**22**) am Stereozentrum unverändert in die Verbindung **39** eingebaut wird.

6.2 Versuche mit Methyltriphenylphosphan (**92**)

Für die folgenden Versuche wird **29** mit $(\text{Boc})_2\text{O}$ und DMAP in THF unter Standardbedingungen geschützt.

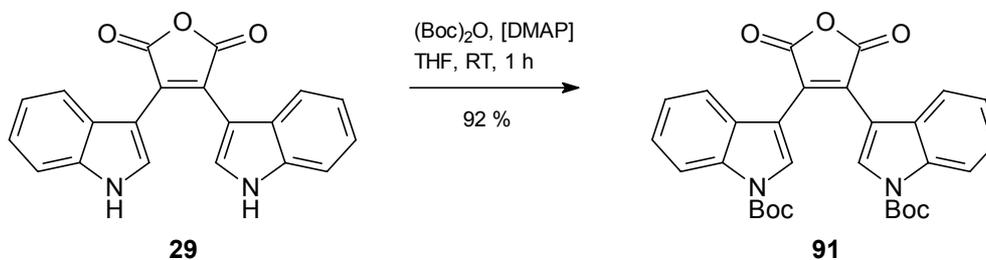


Abbildung 6.2 Schutzgruppeneinführung mit $(\text{Boc})_2\text{O}$.

Die geschützte Verbindung **91** kann nun mit Methyltriphenylphosphan (**92**) umgesetzt werden.^[167] Dabei sollte das Wittig-Reagenz **92** an einer der Carbonyl-Funktionen des cyclischen Anhydrids **91** angreifen und zur Ringöffnung führen. Ein erneuter Angriff an der gegenüberliegenden Keto-Einheit würde schließlich wieder zum Ringschluß führen und das Phosphorylid **95** bilden. Dies könnte leicht mit Ozon oder Dimethyldioxiran in das Triketon überführt werden.

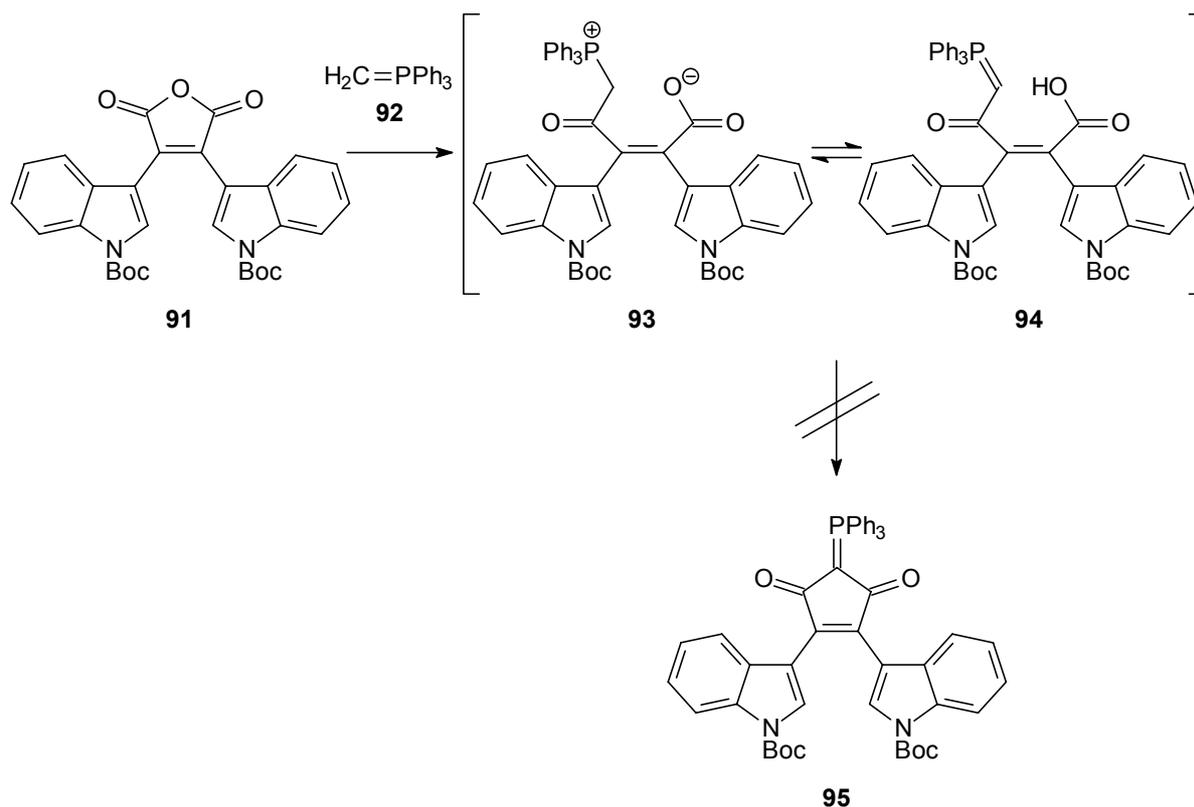


Abbildung 6.3 Reaktion von **91** mit Wittig-Reagenz **92**.

Bei dieser Umsetzung kann zwar eine Reaktion beobachtet werden, aber nach Aufarbeitung der Reaktionslösung wird nur Edukt **91** gefunden. Änderungen der Temperatur oder Verwendung von Dichlormethan anstatt THF als Lösungsmittel zeigen keine Wirkung.

Es wird vermutet, daß der zweite Angriff eine Aktivierung benötigt. Daher werden weitere Versuche unternommen. Zuerst wird die Reaktion mit katalytischen Mengen DMAP durchgeführt, anschließend unter Zugabe von DCC und DMAP. Beide Methoden führen zu keinem Ergebnis.

Um die Säure **94** in einen Ester überzuführen, wird Methyljodid bzw. Diazomethan zur Reaktionslösung gegeben. Es können aber weder das gewünschte Endprodukt **95** noch der Ester isoliert werden.

Versuche, das Edukt **91** gegen die ungeschützte Verbindung **29** zu tauschen, zeigen wie die obigen Experimente keinen Erfolg.

Daher wird nach einer weiteren Möglichkeit gesucht, das Triketon **70** zu synthetisieren.

6.3 Versuche mit 2,3-Dichlorcyclopent-2-en-1,4-dion (90)

Da die schlechte Reaktivität der Verbindung **91** mit dem Wittig-Reagenz **92** auch in dem Einfluß der beiden Indol-Substituenten begründet liegen kann, wird nun versucht, zuerst eine Keto-Funktion oder eine Vorstufe derselben in das Molekül einzuführen und anschließend die beiden Heterocyklen. Das 2,3-Dichlorcyclopent-2-en-1,4-dion (**90**) scheint die ideale Ausgangsverbindung zu sein, da die CH_2 -Gruppe zwischen den beiden Carbonylen sehr reaktiv ist.

Die Verbindung **90** läßt sich aus dem kommerziell erhältlichen Hexachlorcyclopentadien (**96**) in drei Schritten synthetisieren.^[168]

Als erstes wird das Hexachlorcyclopentadien (**96**) mit Zink in Eisessig in das 1,2,3,4-Tetrachlorcyclopenta-1,3-dien (**97**) überführt. Durch Einleiten von elementarem Chlor erhält man 1,1,2,3,4,4-Hexachlorcyclopent-2-en (**98**), das in konz. H_2SO_4 zum Endprodukt **90** umgesetzt wird.

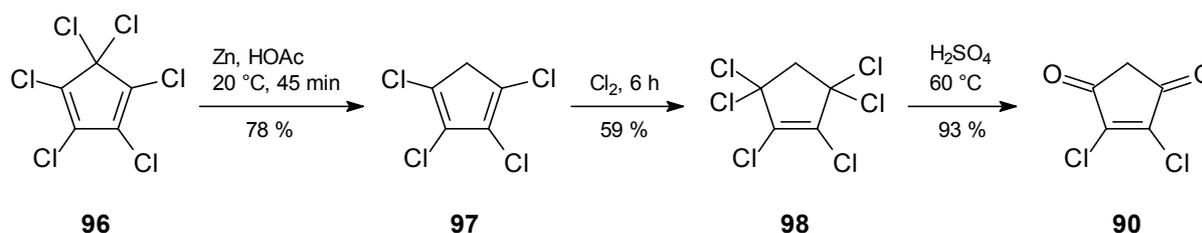


Abbildung 6.4 Synthese von **90**.

Die Synthese läßt sich leicht im größeren Maßstab durchführen.

Die Einführung der beiden Indole (**21**) soll analog der Methode von *Steglich et al.*^[109] aus Kapitel 4.1.3 geschehen. Dazu muß zuerst die sehr reaktive Methylengruppe umgesetzt werden.

Die direkte Oxidation mit SeO_2 ^[169] oder mit Singulett-Sauerstoff und Tetrabutylammoniumfluorid^[170] führt nicht zu einem isolierbaren Produkt.

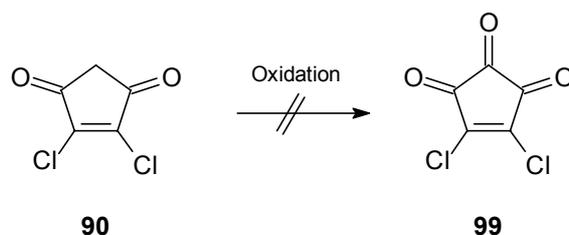


Abbildung 6.5 Versuche zur Oxidation von **90**.

Ebenso erfolglos bleiben die Einführung einer 4-(Dimethylamino)phenylimino- (**49**)^[121] oder Diazo-Gruppe, die mit Säure bzw. mit *tert*-Butylhypochlorit oder Dimethyldioxiran^[171,172] zum Triketon **99** umgesetzt werden könnten. Die Übertragung der Diazo-Gruppe von Tosylazid (**100**)^[173] erfolgt unter basischen Bedingungen. Die Verbindung **90** ist aber gegenüber Basen sehr instabil, selbst durch Zugabe von sehr schwachen Basen kommt es zu einer Braunfärbung der Reaktionslösung und Zersetzung des 2,3-Dichlorcyclopent-2-en-1,4-dions (**90**). Alle Methoden, die unter basischen Bedingungen durchgeführt werden, stehen damit nicht zur Verfügung. Die Umsetzung mit *N,N*-Dimethyl-4-nitrosoanilin (**49**) konnte deshalb nur im sauren Milieu stattfinden.

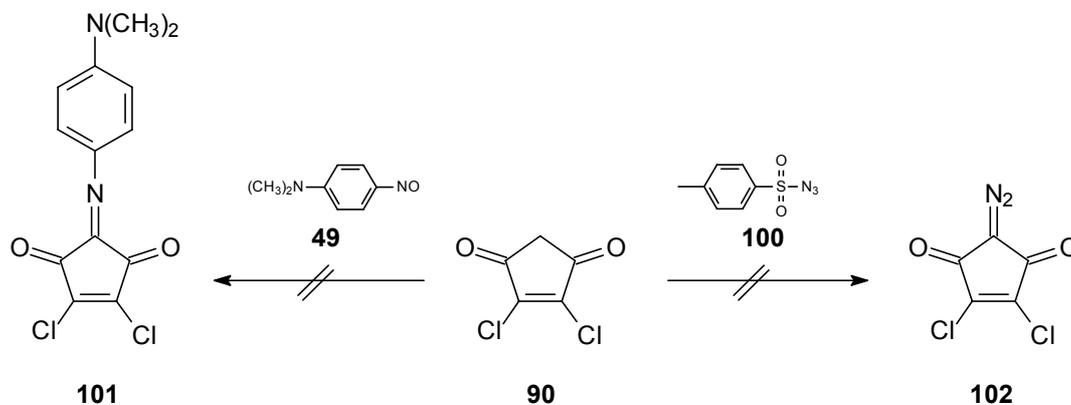


Abbildung 6.6 Umsetzungsversuche mit **90**.

Eine weitere Reaktion, die im sauren Medium erfolgt, ist die Umsetzung von **90** mit Benzaldehyd (**103**).^[174]

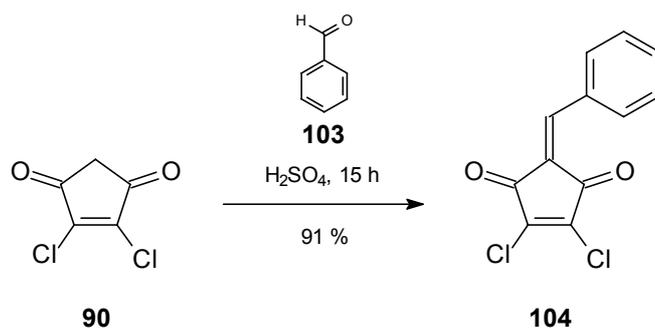


Abbildung 6.7 Synthese von 2,3-Dichlor-5-benzyliden-cyclopent-2-en-1,4-dion (**104**).

Die Verbindung **104** wird bei der Umsetzung mit Ozon zersetzt. Wahrscheinlich wird nicht nur die Benzylidenbindung gespalten, sondern auch noch die Doppelbindung im Fünfring. Die Reaktion nach *Steglich et al.*^[109] liefert nicht das gewünschte Bisindolyl **105**. Das System stellt einen so guten Michael-Akzeptor dar, daß die gewünschte Reaktion nicht mehr oder in einem verschwindend geringen Maße abläuft.

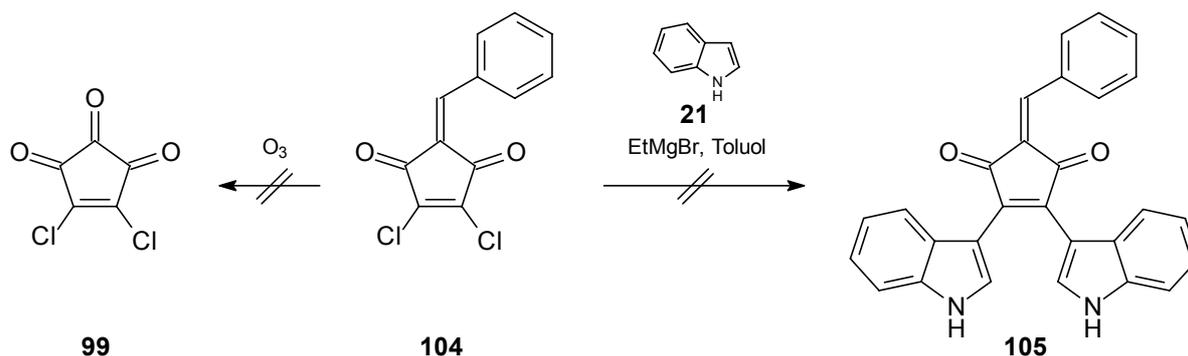


Abbildung 6.8 Syntheseveruche mit **104**.

Bredereck's Reagenz^[175] *N,N*-Dimethylformamid-dimethylacetal (DMFDMA) bietet eine weitere Möglichkeit, eine Umsetzung des 2,3-Dichlorcyclopent-2-en-1,4-dions (**90**) zu erreichen. Diese sehr schonende Methode wird bei 0 °C in Dichlormethan durchgeführt.

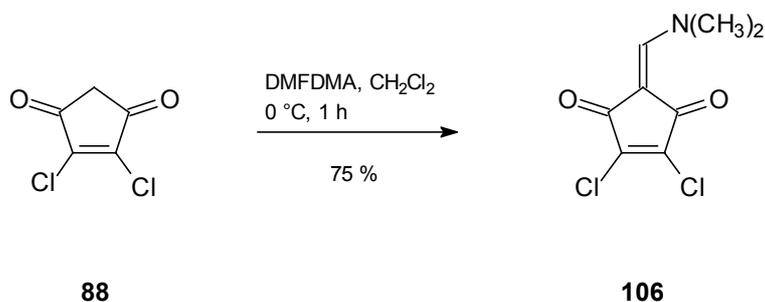


Abbildung 6.9 Synthese von **106**.

Das Produkt **106** wird ebenfalls nach der Synthese von *Steglich et al.*^[109] mit vier Äquivalenten Indol (**21**) in Toluol umgesetzt.

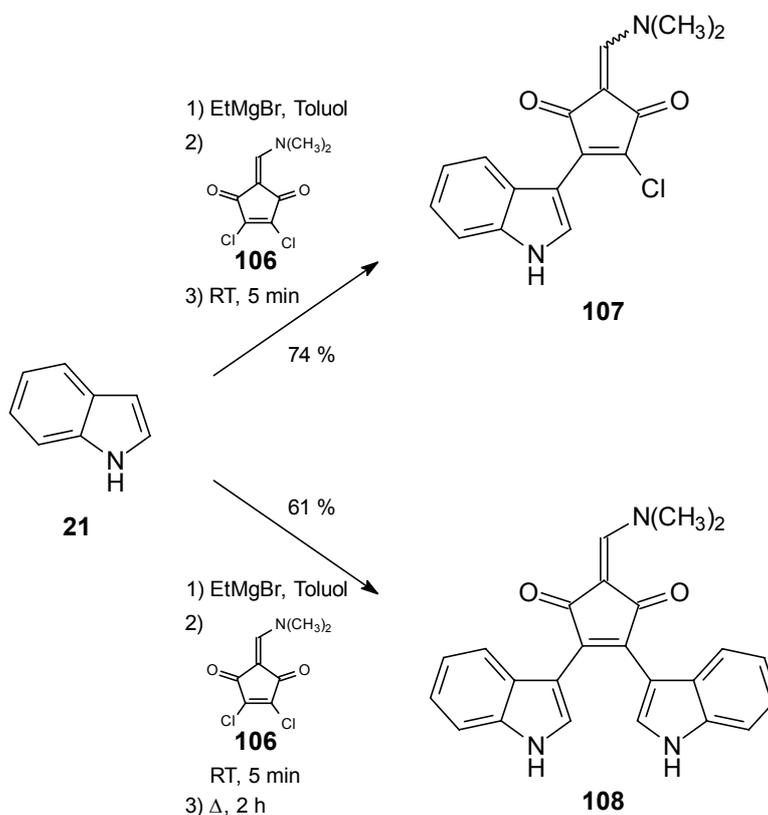


Abbildung 6.10 Reaktion von **21** mit **106** in Toluol.

Wird die Reaktion nach fünf Minuten abgebrochen, erhält man nur das monosubstituierte Produkt **107**. Zweistündiges Refluxieren führt zum vollständig substituierten Bisindolyl **108**.

Um nun das gewünschte Triketon **70** zu erhalten, muß noch die Doppelbindung gespalten werden. Dies geschieht am besten mit Ozon oder Singulett-Sauerstoff. Vor allem

Wasserman^[176-178] hat sich ausgiebig mit der Spaltung von Enaminen mit Singulett-Sauerstoff beschäftigt. Weitere Methoden sind die Spaltung mit Dimethyldioxiran^[179] oder Chromoxid in Eisessig.^[180]

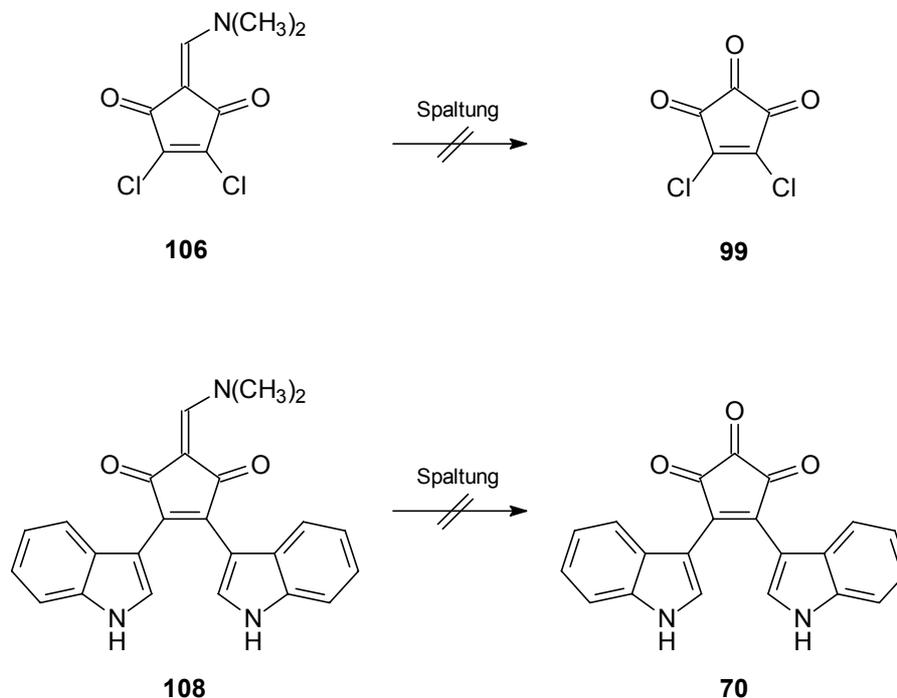


Abbildung 6.11 Spaltungsversuche der Enamine.

Alle durchgeführten Spaltungsversuche ergeben weder bei **106** noch bei **108** ein isolierbares Produkt. Es kann immer nur die Zersetzung des Eduktes festgestellt werden. Bei genauerer Betrachtung liegen die Probleme bei **108** in den beiden Heterocyclen begründet. Indole (**21**) werden bei der Ozonolyse leicht an der 2-3-Doppelbindung angegriffen und gespalten. Singulett-Sauerstoff geht bei Indolen (**21**) bevorzugt an die 3-Position, auch wenn diese bereits durch einen Substituenten besetzt ist.^[181] Bei der Verbindung **108** findet der Abbau der substituierten Heterocyclen also schneller statt als die Spaltung der Enaminbindung. Sowohl bei **106** als auch bei **108** kann auch die Doppelbindung im Fünfring gespalten werden.

Für weitere Versuche ist es zweckmäßig, die Reaktivität der Indol- und Fünfringdoppelbindung zu verringern. Eine Möglichkeit wäre, die beiden Indolsubstituenten zu cyclisieren und damit ein aromatisches System aufzubauen oder durch eine Reduktion die beiden anfälligen Doppelbindungen zu entfernen, um sie später wieder einzuführen.

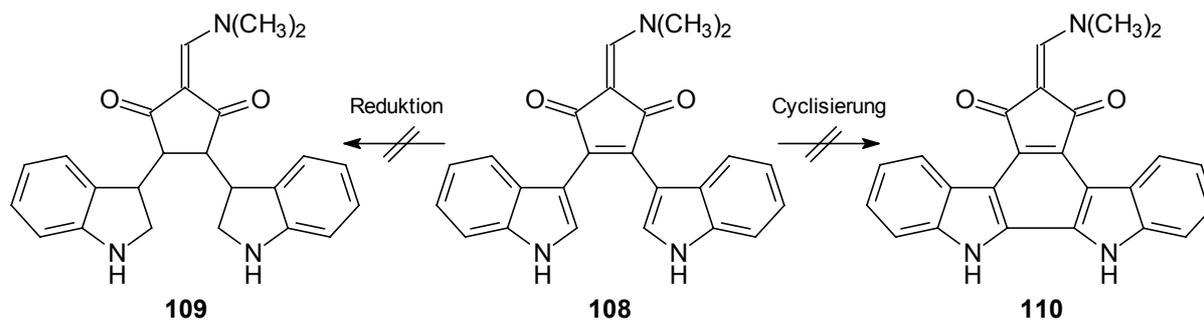


Abbildung 6.12 Versuche mit **108**.

Aber weder oxidative Cyclisierungen, wie sie bei der Synthese der Arcyriaflavine verwendet werden,^[182,183] noch Reduktion mit Platinoxid führen zu einem Ergebnis.

6.4 Ausblick

Trotz der Schwierigkeiten, das Bisindolyl **108** in die Tricarbonylverbindung **70** umzuwandeln, scheint dies der richtige Weg zu sein. In wenigen Schritten kann **108** aus kostengünstigen Ausgangssubstanzen hergestellt werden und ist in großen Mengen zugänglich. Durch Einführung von elektronenziehenden Schutzgruppen, wie Tosyl oder Boc, könnte der Einfluß des freien Elektronenpaares des Heteroatoms im Indol abgeschwächt werden. Mit diesen geschützten Verbindungen sollten die Versuche mit Ozon oder Singulett-Sauerstoff wiederholt werden.

Die recht vielversprechende Aromatisierung zum Indolocarbazol-System, die durch oxidative Cyclisierung nicht realisiert werden konnte, könnte durch die Umsetzung von **106** mit **111** nach *Saulnier*^[184] durchgeführt werden.

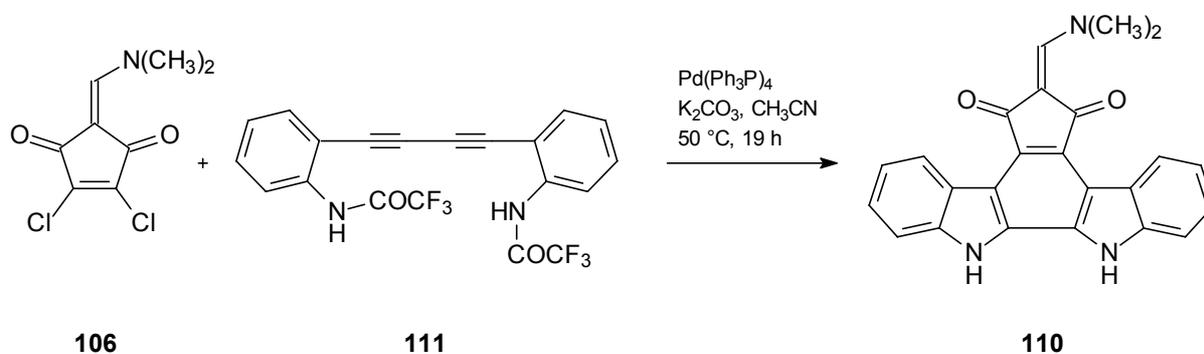


Abbildung 6.13 Synthese von **108** nach *Saulnier*.^[184]

Ein anderer Weg, das Triketon **70** zu synthetisieren, wäre nach einer Methode von *Faul et al.*^[185] Dazu würden die beiden Edukte **113** und **114** benötigt. **112** ist in der Literatur bereits beschrieben.^[186] Durch Umsetzung mit Triphenylphosphan könnte das Phosphonium-Salz **113** gewonnen werden. Als nächstes könnte **113** unter den Bedingungen von *Faul et al.*^[185] mit dem Säurechlorid **114** in einer Eintopfsynthese in das Produkt **116** überführt werden.

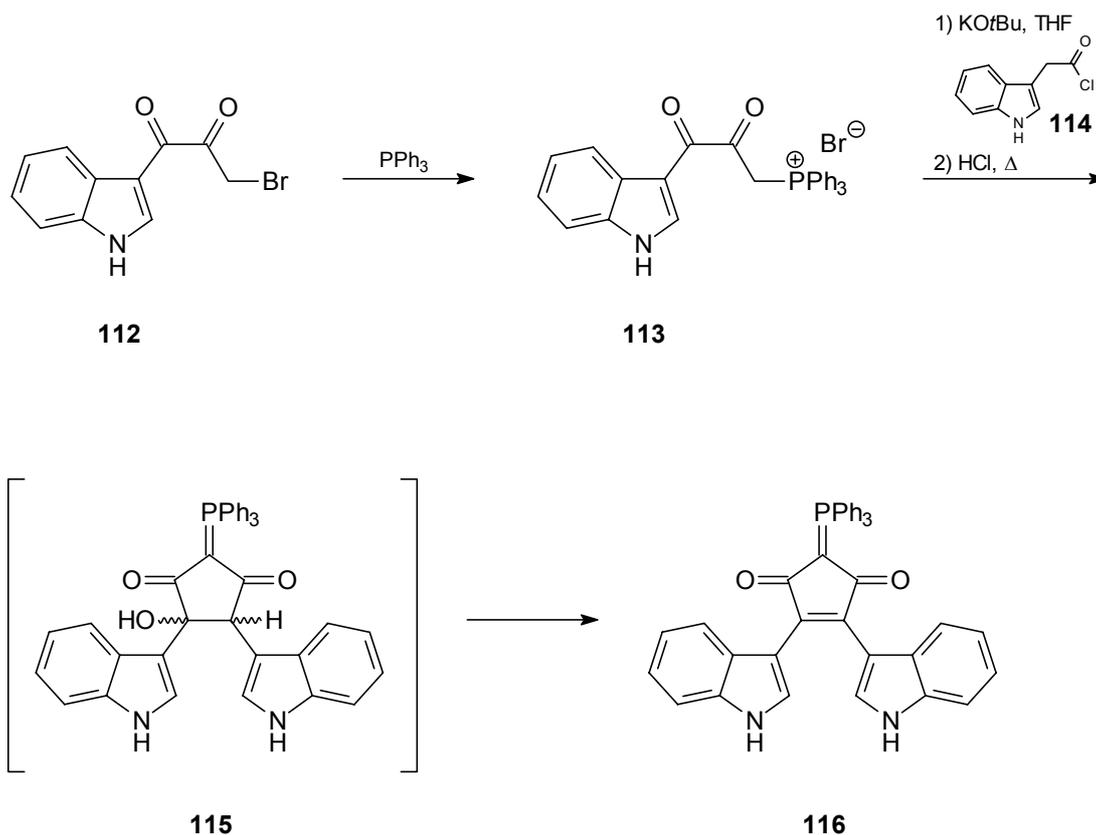


Abbildung 6.14 Mögliche Synthese von **116**.

Wie bereits oben erwähnt, könnte die Phosphor-Doppelbindung mit Ozon oder Dimethyldioxiran gespalten werden. Dabei sollte auch die Einführung geeigneter Schutzgruppen in Erwägung gezogen werden.

7 Pityriacitrin (117) - ein neuartiger UV-Schutz

7.1 Struktur von Pityriacitrin (117)

Pityriacitrin (**117**) wird als gelbes, amorphes Pulver erhalten, das erst nach 64 Minuten von einer analytischen RP-18 Säule eluiert. Es muß sich also um eine lipophile Substanz handeln.

Das EI-Massenspektrum zeigt einen Molekülpeak bei 311, was einer Summenformel von $C_{20}H_{13}N_3O$ entspricht.

Das UV-Spektrum zeigt einen sehr breiten Absorptionsbereich, was darauf schließen läßt, daß es sich um einen hochwirksamen UV-Filter handelt.

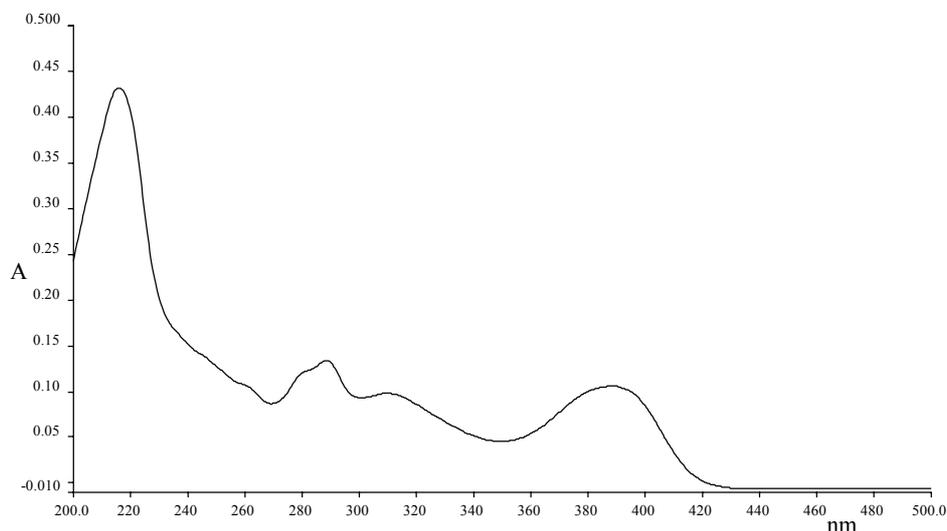


Abbildung 7.1 UV-Spektrum von **117**.

Im IR-Spektrum tritt eine intensive NH-Valenzschwingung bei 3420 cm^{-1} auf, sowie die für 1,2-disubstituierte Aromaten typische Schwingung bei 745 cm^{-1} .

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum sind zwei breite Signale bei $\delta = 10,06$ und $10,96$ zu erkennen, die zwei NH-Protonen zugeordnet werden können. Die restlichen Signale liegen alle im aromatischen Bereich. Außer den Spinsystemen für zwei Indole sind zwei weitere tieffeldverschobene Signale mit $\delta = 8,27$ und $8,58$ zu sehen. Diese Werte sind typisch für Stickstoff-Heterocyclen.

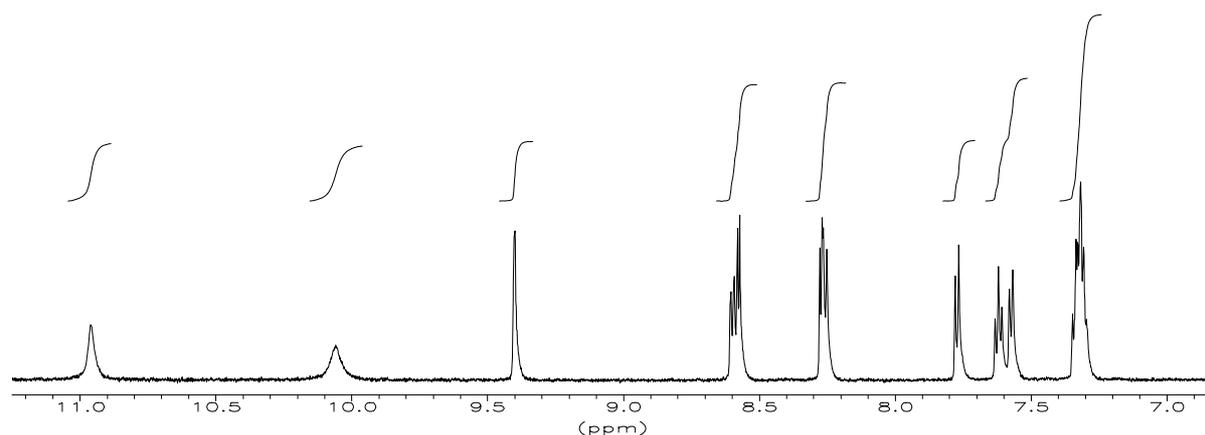


Abbildung 7.2 ^1H -NMR-Spektrum von **117** (600 MHz, $[\text{D}_3]$ Acetonitril).

Das ^{13}C -NMR-Spektrum von **117** zeigt 20 Signale und bestätigt damit die durch das Massenspektrum gefundene Summenformel. Auch hier liegen die Signale im aromatischen Bereich. Bei $\delta = 189.39$ ist ein Singulett im tiefen Feld zu sehen. Dieser Verschiebungswert ist ungewöhnlich. Für einen Ester ist der Zahlenwert etwas zu hoch und für ein Keton zu niedrig. Ebenso kann es sich nicht um einen Aldehyd handeln, da kein entsprechendes Signal im ^1H -NMR-Spektrum zu sehen ist.

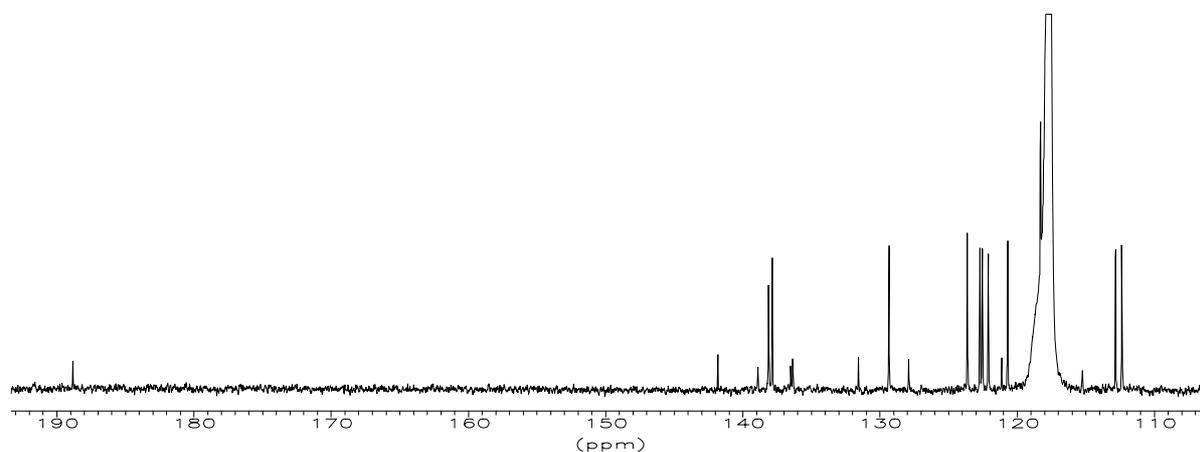
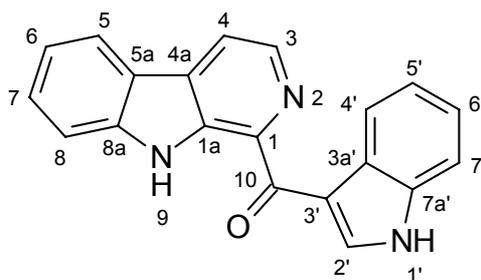


Abbildung 7.3 ^{13}C -NMR-Spektrum von **117** (150.9 MHz, $[\text{D}_3]$ Acetonitril).

Für weitere Informationen werden $^1\text{H}^1\text{H}$ -COSY-, HMQC- und HMBC-Spektren aufgenommen. Mit Hilfe dieser Ergebnisse läßt sich ein eindeutiger Strukturvorschlag ableiten.

Position	δ_C [ppm]	Art	δ_H [ppm]	m	J [Hz]	$^1H^1H$ -COSY	HMBC
1	139.48	C _q					8.58
1a	137.09	C _q					8.27, 8.58
3	138.42	CH	8.58	d	4.80	8.27	
4	118.87	CH	8.27	d	4.80	8.58	8.58
4a	132.15	C _q					8.26, 8.58
5	122.68	CH	8.26	d	7.80	7.32	7.62
5a	121.69	C _q					7.32, 8.27
6	121.27	CH	7.32	m		7.62, 8.26	7.77
7	129.92	CH	7.62	dd	7.80, 7.80	7.32, 7.77	7.77, 8.26
8	113.40	CH	7.77	d	7.80	7.62	7.32, 7.62
8a	142.40	C _q					7.62, 8.26
9		NH	10.96	s			
10	189.39	C _q					
1'		NH	10.06	s		9.40	
2'	138.69	CH	9.40	d	2.94	10.06	
3'	115.83	C _q					9.40
3a'	128.48	C _q					7.32, 7.57, 9.40
4'	123.12	CH	8.60	d	6.66	7.32	7.32
5'	123.30	CH	7.32	m		7.32, 8.60	7.57
6'	124.20	CH	7.32	m		7.32, 7.57	8.60
7'	112.94	CH	7.57	dd	6.66, 1.86	7.32	7.32
7a'	136.93	C _q					7.32, 8.60, 9.40

Tabelle 7.1 NMR-Werte von Pityriacitrin (**117**) (600/150.9 MHz, [D₃]Acetonitril).



117

Abbildung 7.4 Pityriacitrin (**117**).

Diese Verbindung besitzt ein β -Carboline-Grundgerüst. Dieser Strukturtyp ist bereits bei Pityriarubin A (**39**) (Kapitel 4.3.1) behandelt worden, allerdings in einer reduzierten Form als 1,2,3,4-Tetrahydro- β -carboline. Die Hochfeldverschiebung der Keto-Funktion im ^{13}C -NMR-Spektrum wird durch die Konjugation mit den beiden Heterocyclen hervorgerufen.

Der Naturstoff ist bereits einmal in der Literatur beschrieben. Eine japanische Arbeitsgruppe konnte aus Meeresbakterien (*Paracoccus* strain F-1547) den gleichen Naturstoff isolieren.^[187]

7.2 Biologische Aktivität

Depigmentierte Stellen zeigen bei Menschen, die an der Pityriasis versicolor erkrankt sind, keine höhere Empfindlichkeit gegenüber UV-Strahlung als die restliche Haut. Dies läßt vermuten, daß die Hefe *M. furfur*, die als Erreger der Krankheit gilt, eine eigene Substanz produziert, die das Gewebe vor der UV-Strahlung schützt. Aufgrund der breiten Absorption im UV-Spektrum wird der Naturstoff **117** genauer auf seine UV-Schutzfunktion untersucht. Auch die Produktion von Pityriacitrin in Meeresbakterien^[187] deutet auf einen potenten Filter hin, da diese auf Felsen an der Küste vorkommen, die sehr starker Sonneneinstrahlung ausgesetzt sind.

Um nun die biologische Aktivität zu testen, werden Modelle nach *Mayser* und *Pape*^[188] verwendet.

Der Dixon-Agar nach *Guého et al.*^[25] wird für den Test modifiziert. Pepton wird als Stickstoffquelle zu gleichen Teilen gegen Arginin (0.6 g% \approx 28.5 mmol) ersetzt, woraufhin keine Pigmentbildung mehr auf dem Medium erfolgen kann. Nach sechs Tagen Inkubation von CBS 1878 werden die Hefezellen entnommen, mit physiologischer

Natriumchloridlösung gewaschen und in einer Neubauer Kammer^[188] auf 10^6 CFU/ μ l (colony forming units) eingestellt. Mit Hilfe einer Eppendorf-Pipette werden pro Hälfte einer Dixon-Agarplatte drei Inokulationspunkte gesetzt, die jeweils mit 2 μ l der Hefezellen-Suspension gefüllt werden. Im Anschluß werden die drei Löcher der einen Hälfte mit 2 μ l einer 0.009 molaren Lösung (2.8 μ g/ μ l) von Pityriacitrin (**117**) in DMSO überschichtet, die anderen drei mit reinem DMSO.

Die Agarplatte wird nun Einzeldosen von UVB-Licht der Stärke 100, 500, 1000, 1500 und 2000 mJcm⁻² ausgesetzt. Nach der Belichtung wird die Platte verschlossen und bei 30 °C für fünf Tage inkubiert. Die Kolonien werden vom Agar abgekratzt und das Zellwachstum nach Trocknen bei 65 °C für 24 Stunden durch Wiegen der einzelnen Kolonien bestimmt. Die absolute Anzahl der Zellen wird nach dem Vergleich mit einer Standardkurve für Gewicht und Zellenanzahl bestimmt.^[188] Der Versuch wird insgesamt fünf Mal durchgeführt.

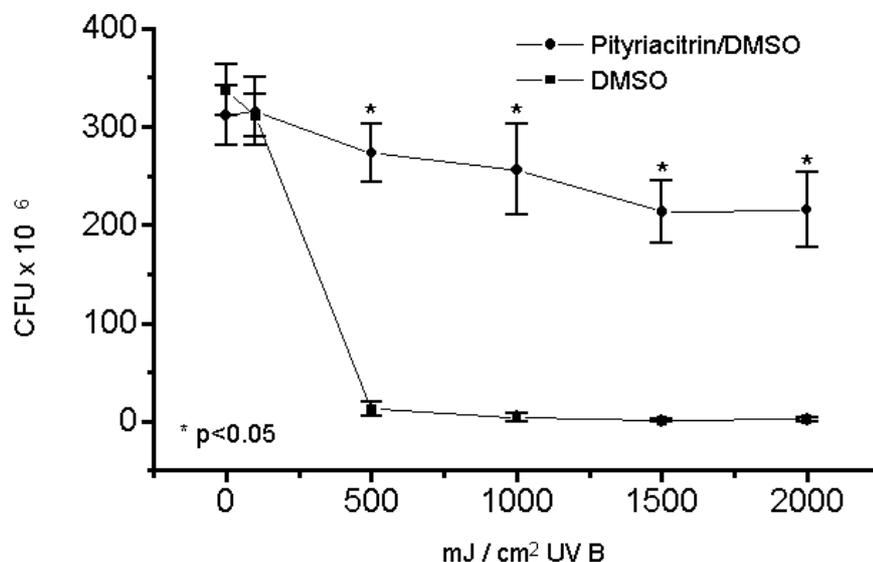


Abbildung 7.5 Einfluß von UVB-Licht auf das Wachstum von *M. furfur* (CBS 1878), bei Behandlung mit und ohne Pityriacitrin (**117**).

Die unbestrahlten Kulturen zeigen nahezu gleiches Zellwachstum, egal ob nur mit DMSO (D-Zellen) oder mit DMSO/Pityriacitrin (**117**) (P-Zellen) behandelt. Auch eine Bestrahlung mit 100 mJUVB/cm² hat keinen merklichen Einfluß. Bei einer Strahlenstärke von 500 mJUVB/cm² läßt sich ein um 96.3% vermindertes Wachstum bei den D-Zellen

feststellen, aber nur um 12.3% verringertes bei den P-Zellen. Beim Übergang zu höheren Dosen wird bei 1000 mJUVB/cm² ein Rückgang von 98.8% bei den D- und von 17.7% bei den P-Zellen festgestellt. Noch höhere Dosen von 1500 und 2000 mJUVB/cm² hemmen schließlich bei den D-Zellen das Wachstum um 99.7 bzw. 99.4% und bei den P-Zellen um 31.5 bzw. 30.9%.^[189]

Für weitere Untersuchungen werden Tests am Menschen durchgeführt. Nach DIN 67501 werden etwa 2.7% von Pityriacitrin (**117**) in einer nach dem Deutschen Arzneimittel Codex^[190] präparierten Creme eingebracht. Diese wird auf einer Fläche von ca. 20 × 20 cm auf der Speichenseite des linken Arms von *Priv.-Doz. Dr. Peter Mayser* aufgetragen. Auf der Ellenseite wird auf einer genauso großen Fläche reine Creme aufgetragen. Nach einer Einwirkzeit von fünf Minuten werden die Flächen mit UVB-Dosen von 80, 110, 140, 170 und 200 mJcm⁻² bestrahlt.

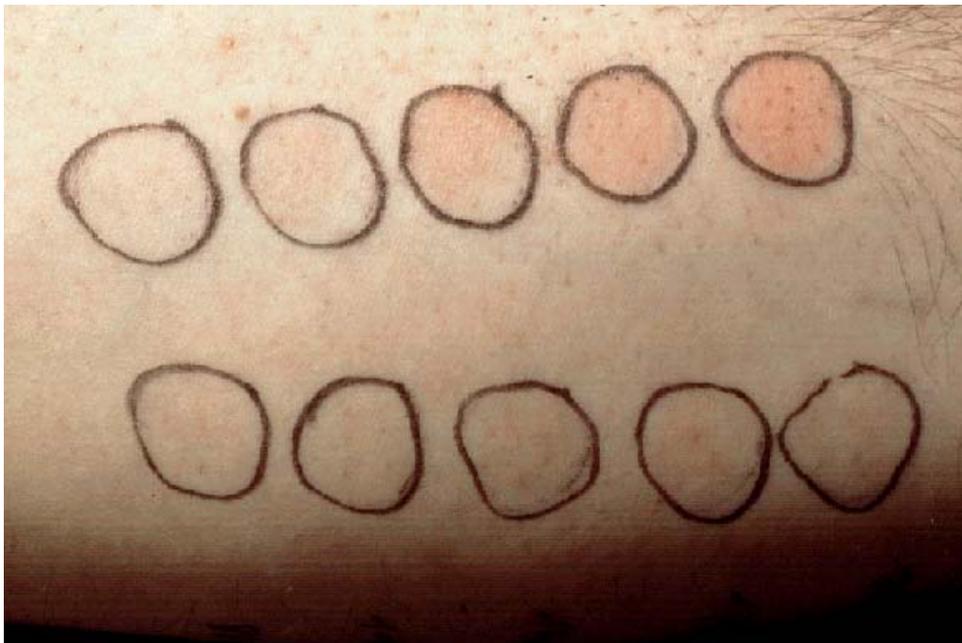


Abbildung 7.6 Aufnahmen der Belichtungsergebnisse am menschlichen Probanden (von links nach rechts: 80, 110, 140, 170, 200 mJcm⁻²).

Nach 24 Stunden konnte auf den mit Pityriacitrin (**117**) behandelten Stellen keine Veränderung festgestellt werden, während an den unbehandelten Stellen bei UVB-Dosen von 140, 170 und 200 mJcm⁻² Rötungen der Haut auftraten. Die Stärke der Rötung war von der Dosis der Bestrahlung abhängig.

Bei diesem Versuch konnte keine negative Reaktion des Körpers auf die Substanz **117** beobachtet werden.

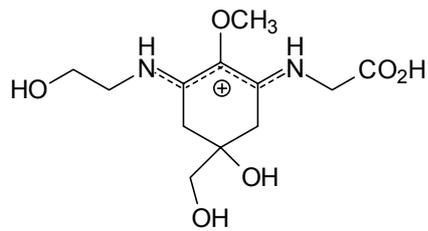
Die Ergebnisse dieser Versuche zeigen die gute UV-Absorption von **117**. Da dieser Naturstoff sowohl in Bakterien als auch in einer Hefe gefunden wurde, könnte **117** ein bis jetzt unbekannter, in Mikroorganismen weit verbreiteter UV-Schutz sein.

Für *M. furfur* scheint dieses System als Lichtschutzfaktor in der Haut bedeutend zu sein, da es bekannt ist, daß das Wachstum von *Malassezia*-Hefen durch UV-Licht gehemmt wird.^[191] Pityriacitrin (**117**) wird in Kulturen nur durch Zugabe von L-Tryptophan (**22**) gebildet. Beim Menschen kann diese Aminosäure der Hefe durch starkes Schwitzen zur Verfügung gestellt werden.^[192] Starkes Schwitzen wird zudem als auslösender Faktor für die *Malassezia*-induzierte Pityriasis versicolor angesehen.^[42]

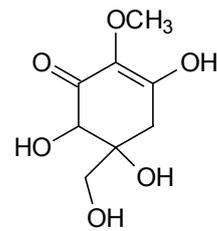
Da bei Pityriasis versicolor alba Sonnenbrände keine Begleiterscheinung sind, obwohl diese Krankheit vor allem in heißen Klimazonen auftritt, kann auch hierfür Pityriacitrin (**117**) als Erklärung herangezogen werden.

7.3 UV-Protectoren in der Natur

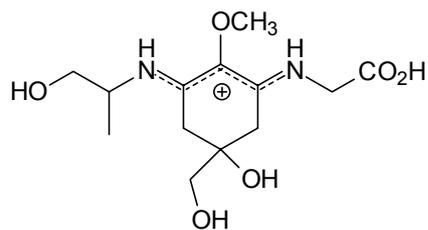
Viele Organismen in der Natur produzieren Mycosporin-ähnliche Aminosäuren (MAAs), die durch starke UV-Absorption im Bereich zwischen 310 und 360 nm auffallen. Die Arbeitsgruppe *Nakamura et al.*^[193] isolierte aus dem Seestern *Asterina pectinifera* die Verbindung *Asterina* **118** ($\lambda_{\max} = 330$ nm). Die Substanz Gadusol (**119**) ($\lambda_{\max} = 294$ nm) konnten *Thomson et al.*^[194] aus Kabeljaueiern der Gattung *Gadus morhua* gewinnen. Die japanischen Arbeitsgruppen *Takano et al.*^[195] und *Ito et al.*^[196] entdeckten strukturell verwandte Naturstoffe in dem Weichtier *Palythoa tuberculosa*, Palythinol (**120**) ($\lambda_{\max} = 332$ nm) und Mycosporin-Glycin (**121**) ($\lambda_{\max} = 310$ nm).



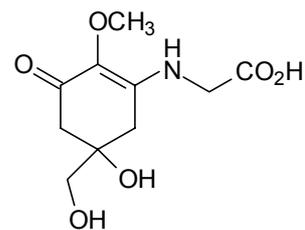
118



119



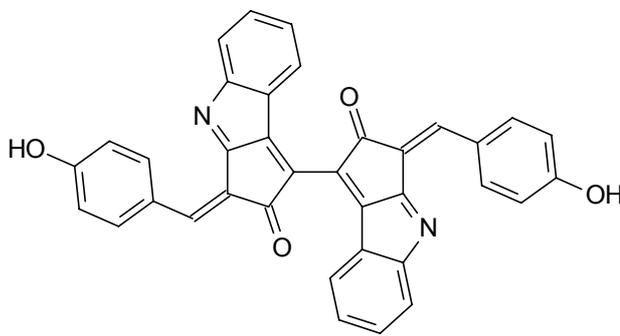
120



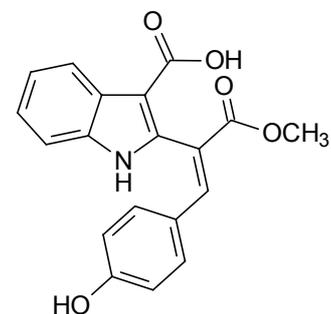
121

Abbildung 7.7 Ausgewählte UV-absorbierende Substanzen.

Komplexere Verbindungen, die strukturell vom Tryptophan abstammen, werden in Cyanobakterien gefunden. Das Scytonemin (**122**)^[197] hat einen breiten Absorptionsbereich von 325 bis 425 nm und schützt Phytoplankton vor starker Sonneneinstrahlung.^[198,199] Prenostodion (**123**) ($\lambda_{\text{max}} = 318 \text{ nm}$) wird als Biosynthesevorläufer von Scytonemin (**122**) vermutet.^[200]



122



123

Abbildung 7.8 Scytonemin (**122**) und Prenostodion (**123**).

Beim Menschen übernimmt das Melanin den UV-Schutz. Es hat eine komplexe, polymere Struktur und schützt gegen UVA- und UVB-Strahlung.

7.4 Synthese von Pityriacitrin (117)

7.4.1 Retrosynthetische Überlegungen

Die Retrosynthese sieht vor, daß das Molekül **117** aus einem β -Carbolin- **124** und einem Indol-Derivat **125** aufgebaut wird.

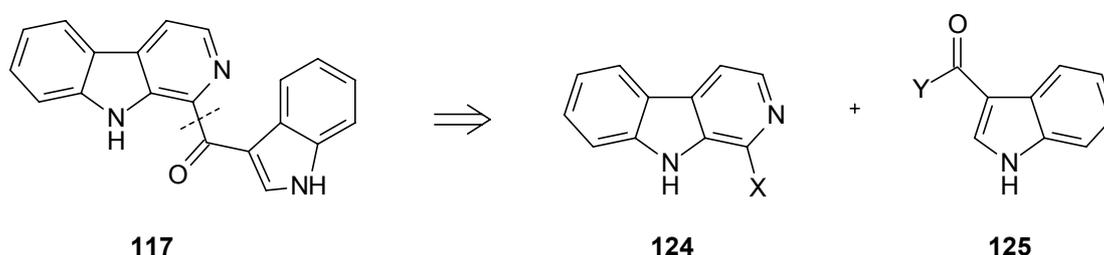


Abbildung 7.9 Retrosynthese von **117**.

7.4.2 Totalsynthese des Naturstoffs **117**

Den einfachsten Weg zum β -Carbolin **117** stellt die direkte Acylierung dar. *Bracher* und *Daab*^[201] benutzen eine Variante der *Minisci*-Reaktion,^[202-204] um mit *in situ* generierten Acetyl-Radikalen am Heterocyclen anzugreifen. Mit dieser Methode gelingt ihnen die Darstellung von 1-Acetyl-9H-pyrido[3,4-b]indol (**128**) aus Norharman (**126**) und Acetaldehyd (**127**).

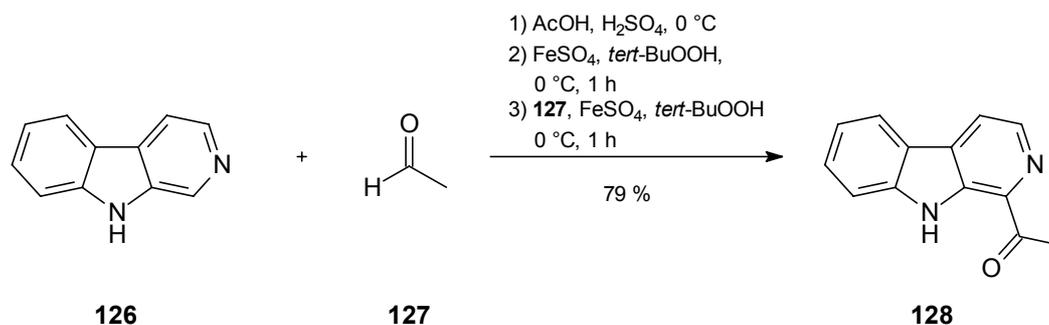


Abbildung 7.10 Synthese von **128** nach *Bracher* und *Daab*.^[201]

Dieses System wird nun auf die hier vorliegende Synthese angewandt. Norharman (**126**) ist käuflich zu erwerben und wird mit Indol-3-carbaldehyd (**66**) nach der obigen Methode umgesetzt.

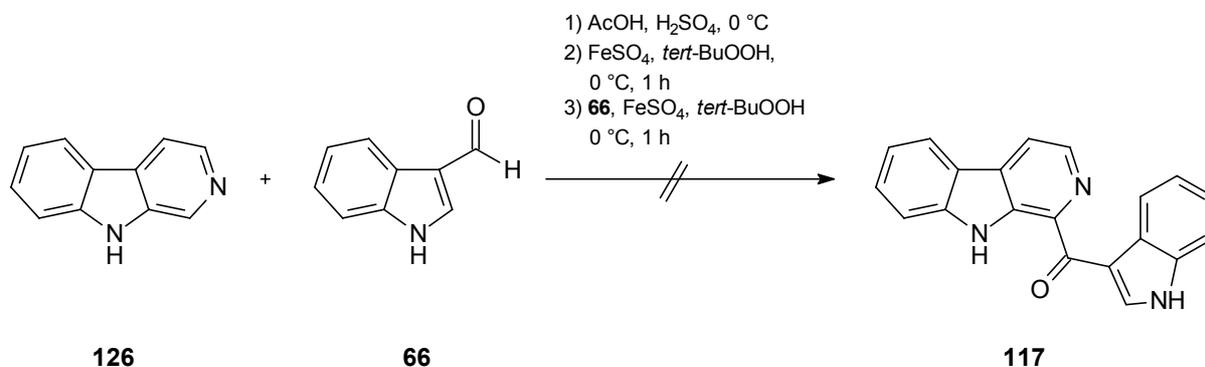


Abbildung 7.11 Syntheseversuch von **117**.

Die Reaktion liefert kein isolierbares Produkt.

Da mit Eisessig und konz. H₂SO₄ extreme Lösungsmittelbedingungen herrschen, wird ein erneuter Versuch unternommen und diesmal der Aldehyd **66** geschützt. Als Schutzgruppe für dieses saure Milieu wird die TROC-Gruppe gewählt. Der geschützte Aldehyd **130** wird durch Umsetzung von **66** mit Chlorameisensäure-2,2,2-trichlorethylester (**129**) in Chloroform in guter Ausbeute erhalten.

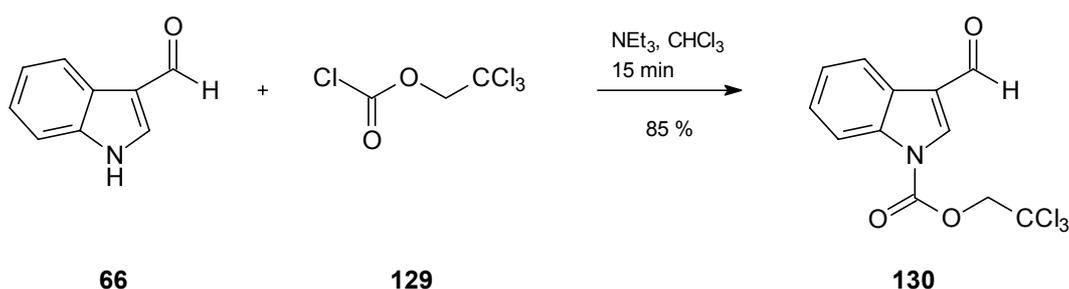


Abbildung 7.12 Darstellung von **130**.

Die obige Umsetzung wird nun mit **130** anstatt mit **66** durchgeführt.

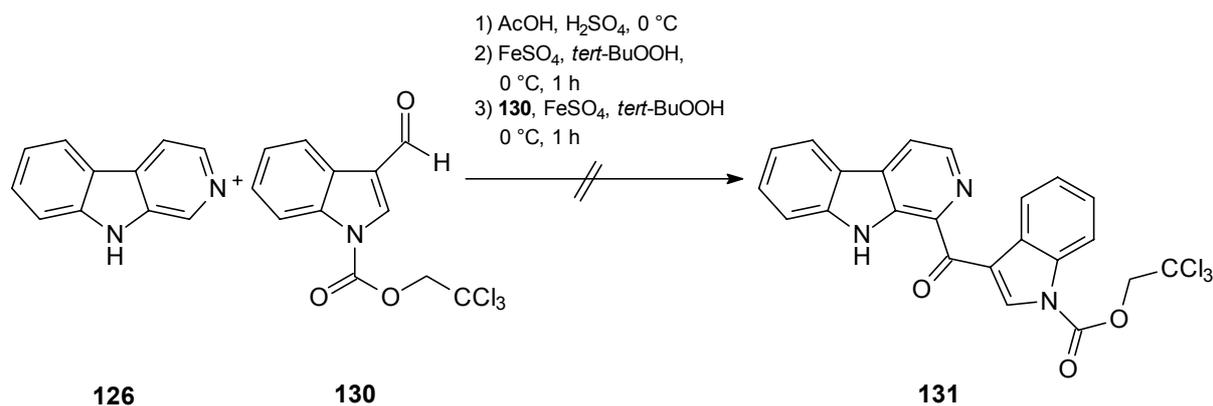


Abbildung 7.13 Syntheseversuch von **131**.

Doch auch diesmal kann kein Produkt isoliert werden. Die stark sauren Bedingungen sind für den Aldehyd **66** bzw. **131** zu extrem.

Für die weitere Synthese wird als β -Carbolin-Derivat **124** ein lithiiertes Norharman (**137**) gewählt. Dazu wird zuerst das 1-Brom-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol (**136**) aufgebaut.^[205,206]

Tryptamin (**132**) wird mit Triphosgen (**133**) in Toluol zu 2,3,4,9-Tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-1-on (**134**) umgesetzt.^[205]

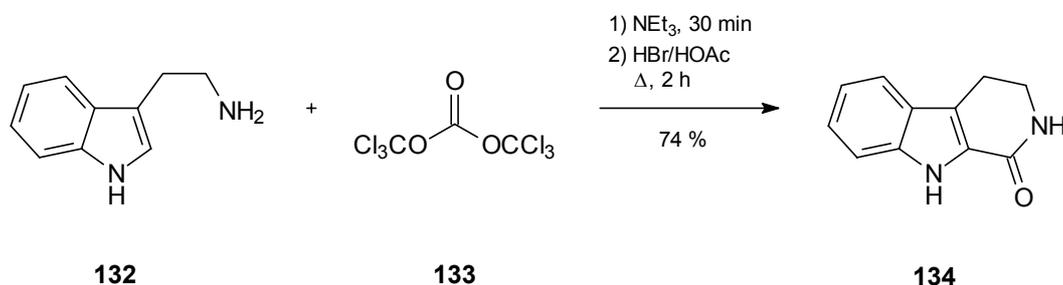


Abbildung 7.14 Synthese von **134**.

Anschließend wird **134** mit Palladium auf Aktivkohle dehydriert. Nach der Methode von *Bracher* und *Hildebrand*^[205] wird dies in Xylol durchgeführt. Trotz mehrmaliger Wiederholung und Verwendung von neuem Palladium auf Aktivkohle kann keine Reaktion festgestellt werden. Erst der Tausch von Xylol gegen Hexadecan¹ führt zum gewünschten Produkt **135**. Nach Refluxieren von **135** mit POBr₃ in Anisol wird **136** erhalten.

¹ Ich danke Herrn Andreas Puzik für die Hilfe bei der Lösung des Problems.

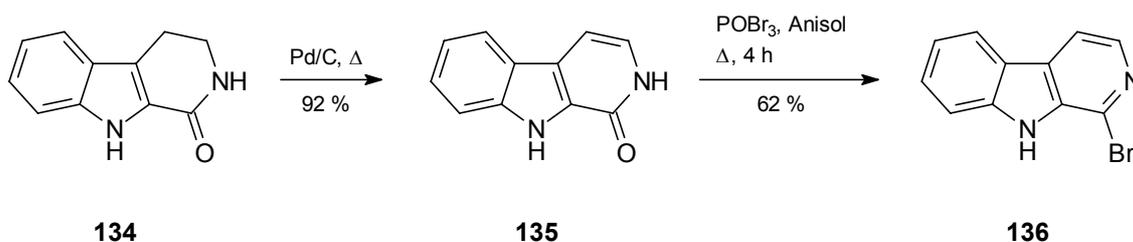


Abbildung 7.15 Synthese von **136**.

Bei der Bromverbindung **136** kann nun leicht mit *tert*-Butyllithium ein Halogen-Metall-Austausch durchgeführt werden. Diese lithiierte Verbindung **137** wird anschließend mit dem geschützten Aldehyd **24**^[103] zum Alkohol **138** nach der Methode von *Bracher* und *Hildebrand*^[206] umgesetzt.

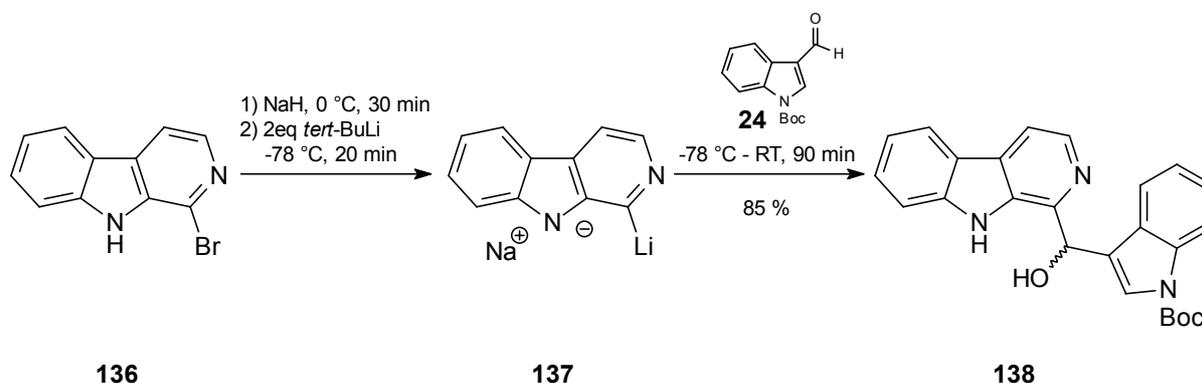


Abbildung 7.16 Darstellung von **138**.

Es wird untersucht, ob die Einführung einer Schutzgruppe an der NH-Funktion von **136** eine höhere Ausbeute bringt. Die Schutzgruppeneinführung gelingt mit $(\text{Boc})_2\text{O}$ in THF.

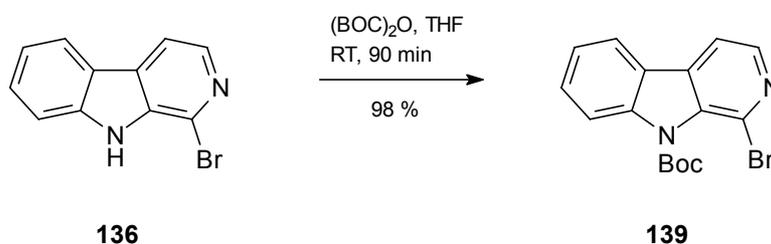


Abbildung 7.17 Darstellung von **139**.

Da bei den durchgeführten Versuchen keine Ausbeutesteigerung festgestellt werden kann, wird bei den weiteren Reaktionen auf eine Schutzgruppe verzichtet.

Der Alkohol **138** wird mit Pyridinium-chlorochromat in Dichlormethan zum Keton **140** oxidiert.

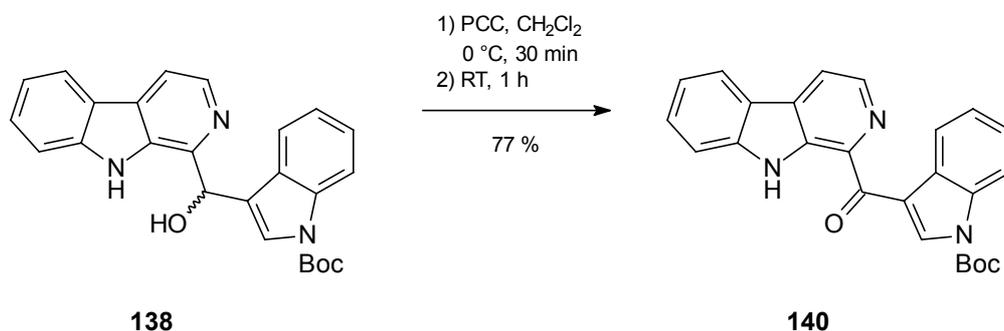


Abbildung 7.18 Synthese von **140**.

Die Abspaltung der Schutzgruppe gestaltet sich als schwierig. Unter Standardbedingungen mit HCl in Essigsäureethylester können nur mäßige Ausbeuten erreicht werden. Eine Methode von *Apelqvist* und *Wensbo*^[207] spaltet *N*-Boc-Schutzgruppen mit Kieselgel unter niedrigem Druck ab. Dies liefert ein besseres, aber immer noch unbefriedigendes Ergebnis. Erst der Einsatz von 5N HCl/*iso*-Propanol-Lösung erzeugt den Naturstoff **117** in guten Ausbeuten.

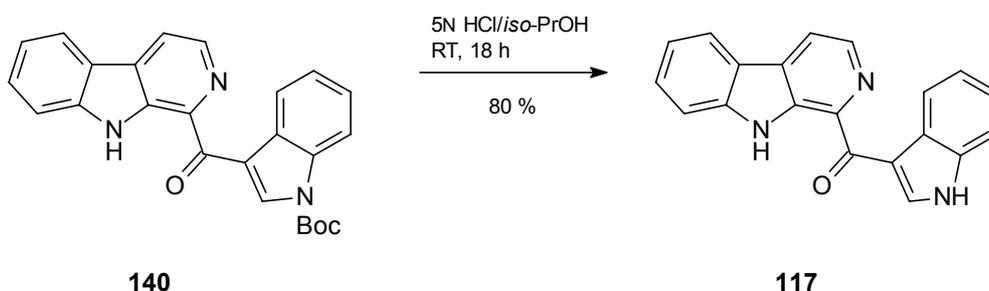


Abbildung 7.19 Synthese des Naturstoffs Pityriacitrin (**117**).

Pityriacitrin (**117**) kann somit in sechs Syntheseschritten in einer Gesamtausbeute von 22% dargestellt werden.

Ein Vergleich der analytischen Daten bestätigt den Strukturvorschlag von **117**. NMR-Spektren in [D₆]DMSO als Lösungsmittel werden aufgenommen, um die spektroskopischen Daten mit denen der japanischen Arbeitsgruppe^[187] vergleichen zu können. Auch diese Werte stimmen überein.

Als endgültiger Beweis wird noch eine Coinjektion des synthetischen Produkts mit dem Naturstoff an der analytischen HPLC durchgeführt, die das Ergebnis bestätigt.

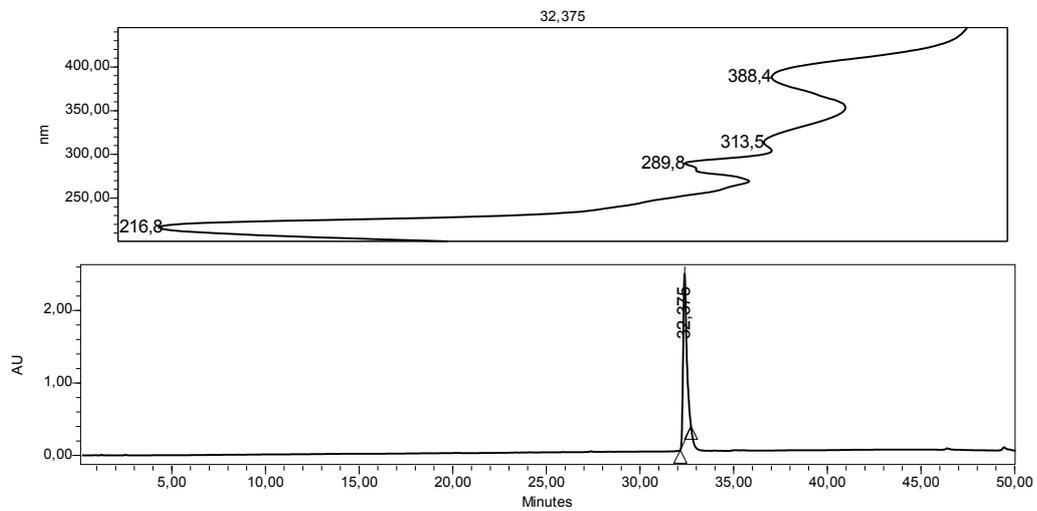


Abbildung 7.20 Coinjektion von Syntheseprodukt und Naturstoff. RP-18 Säule (4 × 250 mm), Laufmittelgradient: Acetonitril/Wasser 9/1 in 50 Minuten auf reines Acetonitril.

8 Die Gruppe der Malassezindole

8.1 Malassezindol A (141)

8.1.1 Struktur von Malassezindol A (141)

Malassezindol A (**141**) fällt nach dem Lyophilisieren als farbloser Feststoff an und eluiert nach 27 Minuten von einer analytischen RP-18-Säule als breiter Peak. **141** ist in Methanol gut löslich und sowohl in Substanz als auch in Lösung stabil.

Das hochaufgelöste (+)-ESI-Massenspektrum zeigt einen $[M+H]^+$ -Peak bei 360.1363, welchem die Summenformel $C_{21}H_{17}N_3O_3$ zuzuordnen ist.

Im IR-Spektrum tritt eine intensive NH-Valenzschwingung bei 3429 cm^{-1} auf und die für 1,2-disubstituierte Aromaten starke Schwingung bei 745 cm^{-1} . Eine weitere starke Bande bei 1621 cm^{-1} deutet auf ein Amid hin.

Malassezindol A (**141**) ist optisch aktiv und hat einen Drehwert $[\alpha]_D^{25} = -87$ ($c = 0.045$, Methanol). Im CD-Spektrum sind mehrere Cotton-Effekte zu sehen.

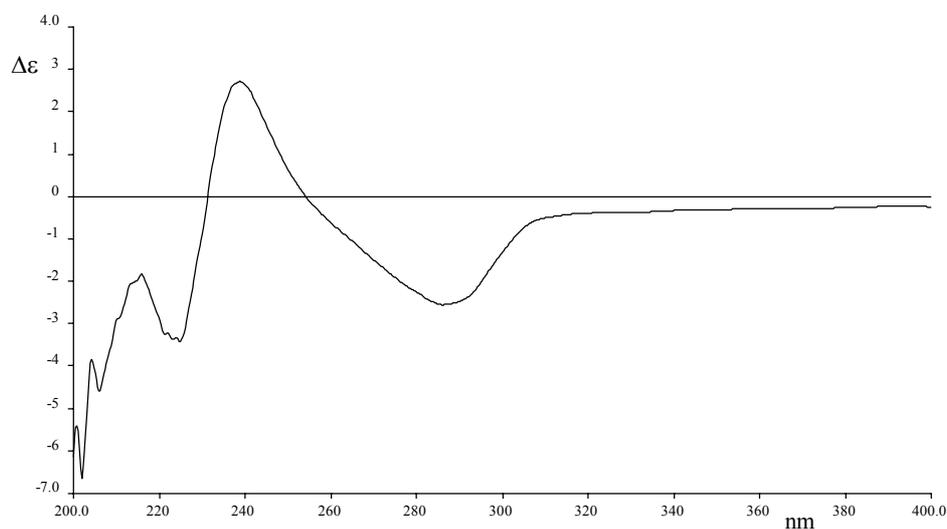


Abbildung 8.1 CD-Spektrum von Malassezindol A (**141**) in Methanol.

Betrachtet man nun das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **141**, fällt das ABC-Spinsystem im aliphatischen Bereich auf, das dem von Pityriarubin A (**39**) ähnelt. Bei $\delta = 2.95$ und 3.58 handelt es sich um zwei diastereotope Protonen einer CH_2 -Gruppe. Zusammen mit dem

Signal bei $\delta = 4.55$ entsprechen sie dem aliphatischen Seitenteil eines Tryptophans (**22**). Auffällig sind die beiden Singulets bei $\delta = 5.34$ und 6.69 .

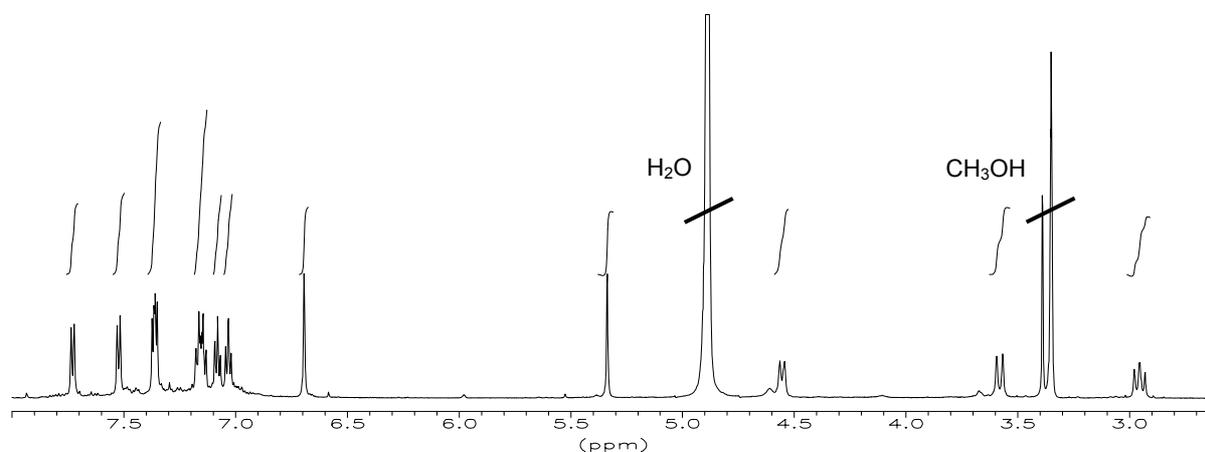


Abbildung 8.2 ^1H -NMR-Spektrum von Malassezindol A (**141**) (600 MHz, $[\text{D}_4]$ Methanol).

Im ^{13}C -NMR-Spektrum ist außer den beiden aliphatischen Signalen für die CH_2 - bzw CH -Gruppe noch ein weiteres CH -Signal bei $\delta = 48.02$ zu erkennen. Desweiteren finden sich zwei Singulets bei $\delta = 175.04$ und 177.20 , die zwei Carbonylen entsprechen.

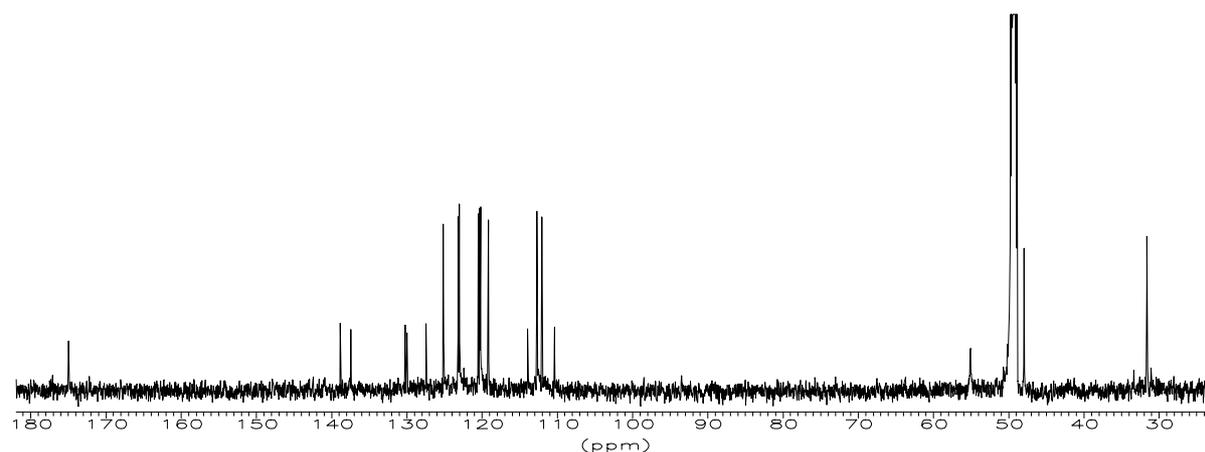


Abbildung 8.3 ^{13}C -NMR-Spektrum von Malassezindol A (**135**) (150.9 MHz, $[\text{D}_4]$ Methanol).

Das $^1\text{H}^1\text{H}$ -COSY-Spektrum zeigt das Vorhandensein von zwei Indol-Systemen sowie die Kopplungen des ABC-Spinsystems im Aliphatenbereich. Außerdem sieht man bei dem Signal bei $\delta = 5.34$ eine 4J -Kopplung zu dem Signal bei $\delta = 6.69$.

Mit Hilfe des HMQC-Spektrums können die Protonensignale den jeweiligen CH-Signalen zugeordnet werden. Aus den bisherigen Angaben läßt sich ableiten, daß zwei Indole vorliegen. Während eines über die 3-Position mit dem Rest des Moleküls verbunden ist, zeigt das andere nur vier Protonensignale und muß daher sowohl an der 2- als auch an der 3-Position substituiert sein. Außerdem sollte eine aminosäureartige Teilstruktur vorliegen. Weitere Informationen über die Struktur von **141** erhält man aus dem HMBC-Spektrum. Wichtige Erkenntnisse ergeben sich aus den Korrelationen der Signale bei $\delta = 4.55, 5.34$ und 6.69 . Das Singulett bei $\delta = 6.69$ zeigt eine schwache Kopplung zu dem CH-Signal bei $\delta = 48.02$, während das Singulett bei $\delta = 5.34$ Informationen über die NMR-Werte in den Fünfringen der beiden Indol-Systeme gibt.

Position	δ_C [ppm]	Art	δ_H [ppm]	m	J [Hz]	$^1H^1H$ -COSY	HMBC
1	48.02	CH	5.34	s		6.69	6.69
1a	130.05	C _q					2.95, 3.58, 5.34
2	175.04	C _q					5.34
4	55.17	CH	4.55	d	12.18	2.95	2.95
5	31.71	CH ₂	2.95	dd	16.14, 12.18	3.58, 4.55	
			3.58	d	16.14	2.95	
5a	110.45	C _q					2.95, 3.58, 5.34, 7.52
6	119.27	CH	7.52	d	7.74	7.08	7.16
6a	130.29	C _q					7.08, 7.36, 7.52
7	120.61*	CH	7.08	dd	7.74, 7.74	7.16, 7.52	7.36
8	123.11	CH	7.16	dd	7.74, 7.74	7.08, 7.36	7.52
9	112.13	CH	7.36	d	7.74	7.16	7.08
9a	137.53	C _q					7.16, 7.52
11	177.20	C _q					
2'	125.23	CH	6.69	s		5.34	5.34
3'	114.01	C _q					5.34, 6.69, 7.73
3a'	127.55	C _q					6.69, 7.03, 7.37, 7.73
4'	120.29*	CH	7.73	d	7.98	7.03	7.14
5'	120.41*	CH	7.03	dd	7.98, 7.98	7.14, 7.73	7.37
6'	123.26	CH	7.14	dd	7.98, 7.98	7.03, 7.37	7.73
7'	112.79	CH	7.37	d	7.98	7.14	7.03
7a'	138.94	C _q					6.69, 7.14, 7.73

Tabelle 8.1 NMR-Werte von Malassezindol A (**141**) (600/150.9 MHz, [D₄]Methanol). NH-Protonen in [D₄]Methanol nicht sichtbar.

*: Werte austauschbar.

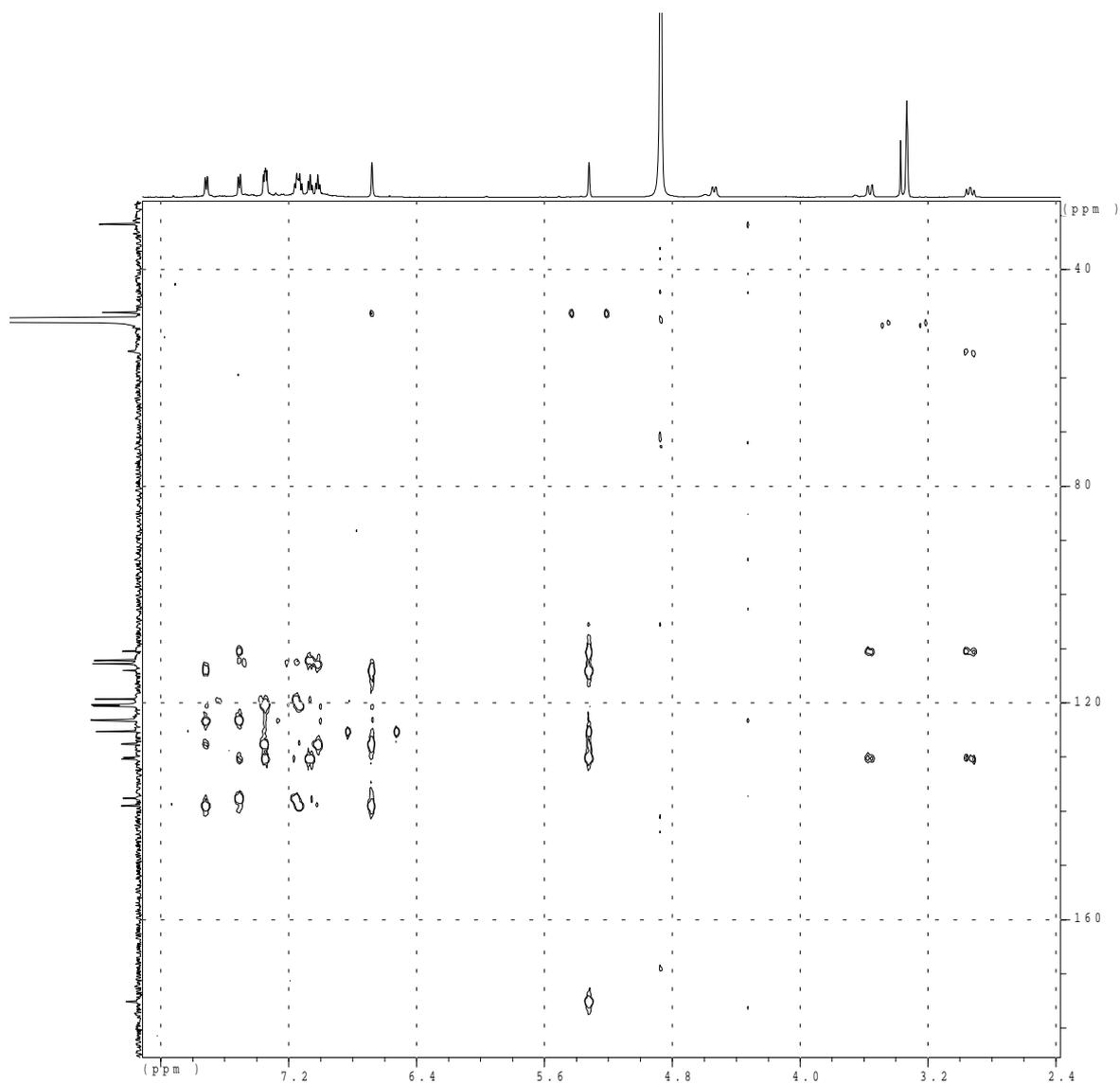


Abbildung 8.4 HMBC-Spektrum von **141** (600/150.9 MHz, [D₄]Methanol).

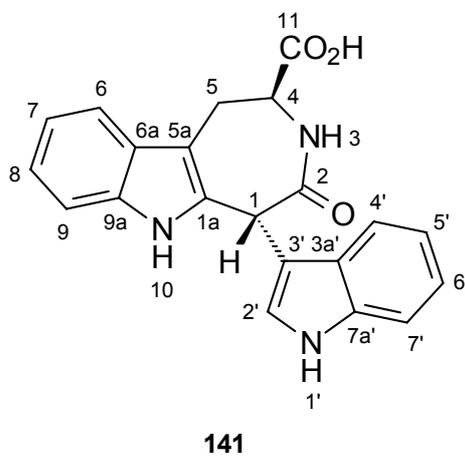


Abbildung 8.5 Struktur von Malassezindol A (**141**).

Es liegt ein 4-Oxo-1,2,3,4,5,6-hexahydro-azepino[4,5-*b*]indol-2-carbonsäure-Gerüst vor. Der überaus komplexe Heterocyclus, der ein Siebenring-Lactam beinhaltet, ist in dieser Form in der Natur unbekannt.

Da in den Kulturen nur *L*-Tryptophan (**22**) verfüttert wird, kann man davon ausgehen, daß sich die Stereochemie an der Position 4 nicht verändert hat, da das Tryptophan-Gerüst in dieser Verbindung noch chemisch unverändert vorliegt. Um die Stereochemie an der Position 1 zu klären, wird ein NOESY-Spektrum bei 240 K aufgenommen. Im Spektrum ist sehr gut eine NOE-Kopplung zwischen dem Proton bei $\delta = 4.55$ und dem bei $\delta = 6.69$ zu erkennen. Das am C-1 substituierte Indol muß in dieselbe Richtung stehen wie das Proton an Position 4. Dieses Ergebnis bestätigt die vorgeschlagene Stereochemie von **141**.

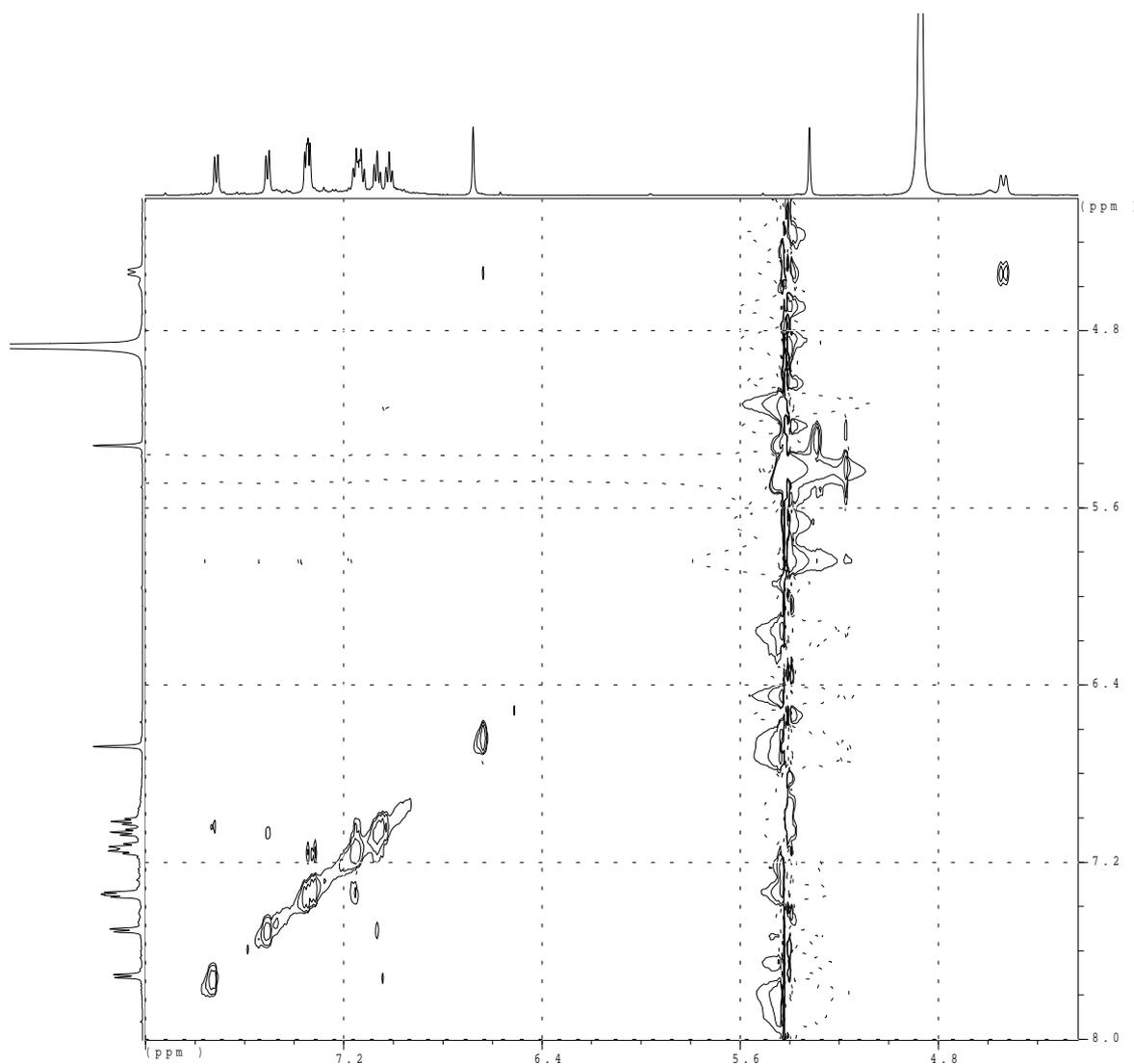


Abbildung 8.6 NOESY-Spektrum von **141** (240 K, 600 MHz, $[D_4]$ Methanol).

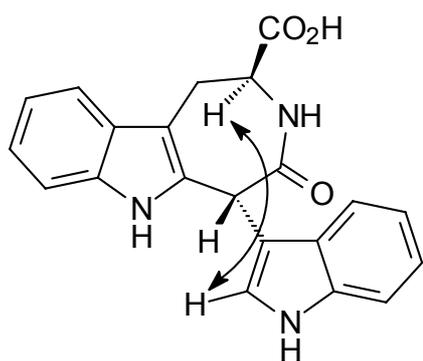
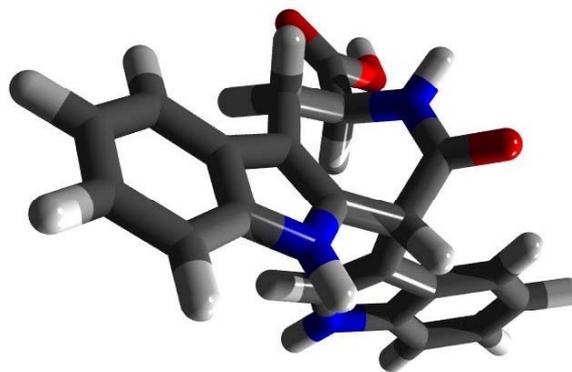
**141****141**

Abbildung 8.7 Ausgewählte NOE-Korrelation und Abbildung der energieärmsten Konformation von **141** als Ergebnis von Kraftfeldrechnungen.^[208]

Bei der in Kapitel 5.3 beschriebenen Verfütterung von [1-¹³C]-DL-Tryptophan (**83***) kann auch das Malassezindol A* (**141***) als markierte Verbindung isoliert werden. Es wird eine Markierung an der Carboxyl-Funktion gefunden. Die hohe Einbaurate von 67.1% und das Fehlen eines Drehwertes bestätigen die oben vermutete Theorie, daß das L-Tryptophan (**22**) unverändert in Malassezindol A (**141**) vorliegt.

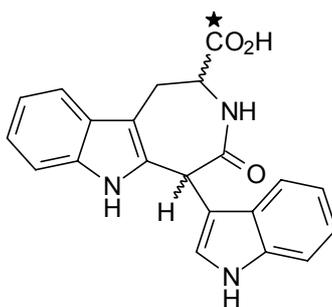
**141***

Abbildung 8.8 Malassezindol A* (**141***).

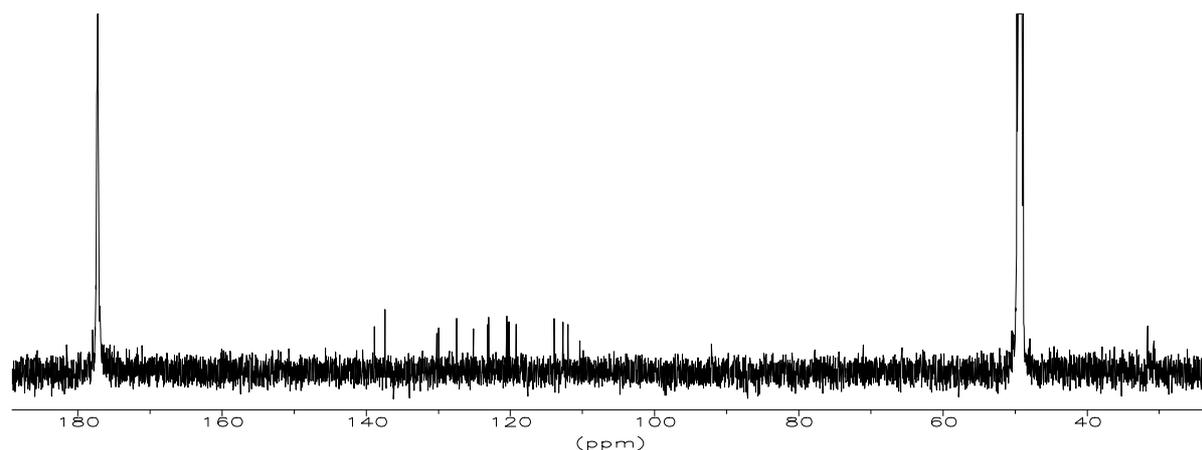


Abbildung 8.9 ^{13}C -NMR-Spektrum von Malassezindol A* (**141***).

8.1.2 Strukturbeweis durch Vergleichsverbindungen

Die Struktur von **141** ist aus der Natur noch nicht bekannt. Ein ähnlicher Naturstoff konnte vor kurzem aus der Pflanze *Tabernaemontana corymbosa* isoliert werden.^[209] Tronocarpin (**142**) beinhaltet ebenfalls ein Indol und einen siebengliedrigen Lactamring. Ein weiterer Naturstoff mit einem Siebenring ist die Clavicipitsäure (**143**), bei der der Ring nicht die 2- und 3-Position des Indols überbrückt, sondern die 3- und 4-Position.

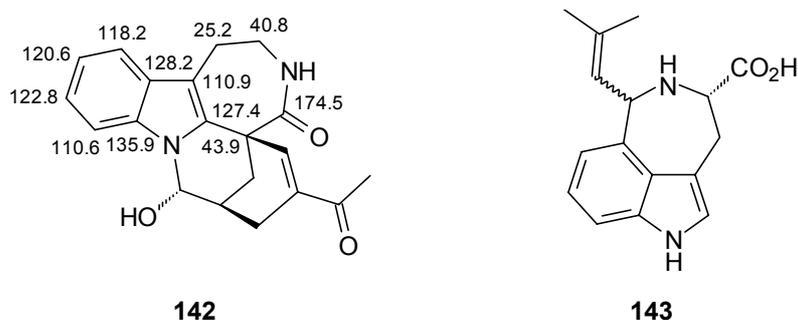


Abbildung 8.10 Ausgewählte ^{13}C -NMR-Werte von **142** (400 MHz, CDCl_3) und Struktur von **143**.

Die NMR-Werte stimmen sehr gut mit denen von **141** überein. Die einzige größere Abweichung betrifft das Kohlenstoffatom neben dem Amid-Stickstoff, und diesem fehlt in der Vergleichsverbindung die Säuregruppe, was die Verschiebung zu höherem Feld erklärt.

Synthetische Produkte mit 4-Oxo-1,2,3,4,5,6-hexahydro-azepino[4,5-*b*]indol-2-carboxy-Gerüst sind ebenfalls bekannt.

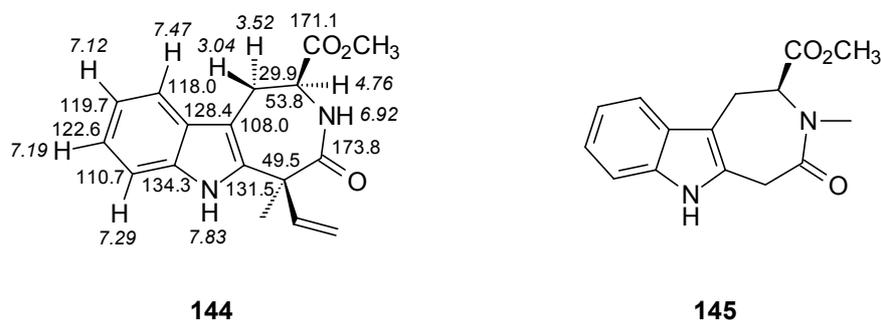


Abbildung 8.11 Ausgewählte NMR-Werte der Verbindung **144**^[210] (400/100 MHz, CDCl₃) und Struktur **145**^[211].

Der Vergleich der NMR-Werte des Naturstoffs **141** mit denen des synthetischen Produktes **144** zeigt sehr gute Übereinstimmung.

8.1.3 Biologische Aktivität

Wie bereits in Kapitel 3.1 erwähnt, haben ultrastrukturelle Untersuchungen eine selektiv-toxische Schädigung der Melanozyten im Bereich einer Pityriasis versicolor alba nachgewiesen,^[88] auch verbunden mit einem gestörten Pigmenttransport.^[27,90] Die Arbeitsgruppe um Breathnach^[89] fand ausgeprägte Veränderungen der Melanozyten bis hin zu deren Untergang. Andere histochemische und elektronenmikroskopische Studien konnten diese melanozytotoxischen Effekte nicht bestätigen,^[92,212] sie diskutieren – bei unveränderter Zahl und Zytologie der Melanozyten – eher eine Melaninbildungsstörung und eine gestörten Pigmenttransport. Die Hemmung der Dopa-Tyrosinase-Reaktion *in vitro* durch Ether-Extrakte aus dem Schuppenmaterial einer Pityriasis versicolor^[93] läßt die Anwesenheit von Tyrosinase-Inhibitoren vermuten. Die dafür von *Nazzaro-Porro* beschriebenen Dicarbonsäuren, insbesondere die Azelainsäure,^[94] konnten gesunde Melanozyten *in vivo* und *in vitro* nicht beeinflussen.^[95,96]

Malassezindol A (**141**) hat sich bei Untersuchungen zur biologischen Aktivität mit einer Ki von 1.1×10^{-3} als kompetitiver Inhibitor der Mushroom-Tyrosinase erwiesen.

Versuche mit humanen Melanozyten laufen derzeit und ergeben auch an diesem Testsystem eine Hemmung der Melaninsynthese. Erste Ergebnisse zeigen aber, daß außer Malassezindol A (**141**) noch weitere Metabolite als Inhibitoren der Melaninsynthese

angesehen werden können. Aufgrund der möglichen Anwendung der Substanzen ist das Patentverfahren eröffnet.^[154]

8.2 Malassezindol B (146)

8.2.1 Struktur von Malassezindol B (146)

Malassezindol B (**146**) wird nach dem Lyophilisieren als farbloser Feststoff erhalten. **146** ist in Methanol gut löslich und wird nach dem Messen stets im Gefrierschrank aufbewahrt.

Das (-)-ESI-Massenspektrum zeigt einen $[2M-H]^-$ -Peak bei 750, was einer Summenformel von $C_{21}H_{17}N_3O_4$ entspricht.

Im IR-Spektrum tritt eine intensive NH-Valenzschwingung bei 3429 cm^{-1} auf. Eine amidische Schwingung ist bei 1618 cm^{-1} zu erkennen und die Bande für den 1,2-disubstituierten Aromaten bei 745 cm^{-1} .

Malasseziaindol B (**146**) ist wie Malassezindol A (**141**) optisch aktiv und hat einen Drehwert $[\alpha]_D^{25} = -15$ ($c = 0.12$, Methanol). Im CD-Spektrum sind Cotton-Effekte zu sehen.

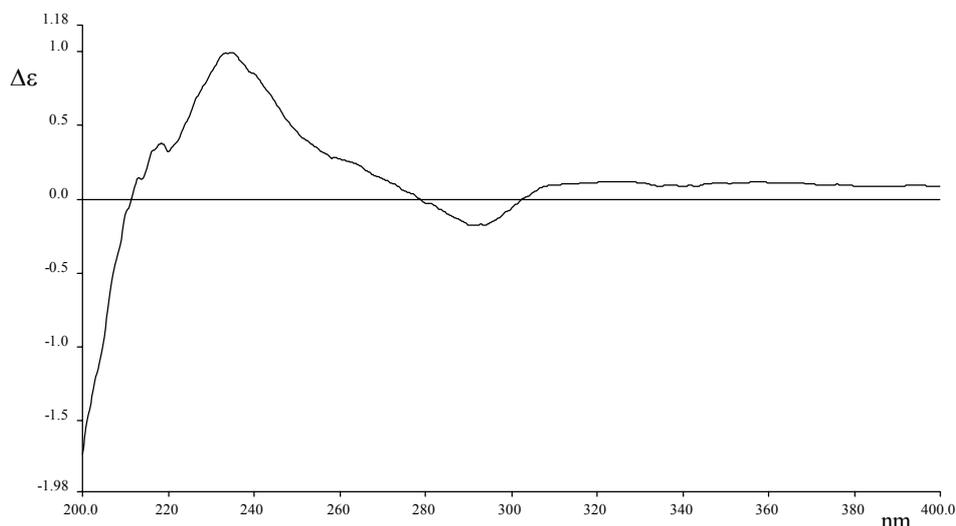


Abbildung 8.12 CD-Spektrum von Malassezindol B (**146**) in Methanol.

Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **146** ähnelt stark dem von **141**. Es ist das gleiche ABC-Spinsystem im aliphatischen Bereich zu sehen. Die beiden diastereotopen Protonen der

CH₂-Gruppe sind hier bei $\delta = 2.91$ und 3.50 und damit gegenüber denen von **141** nur minimal verschoben. Die beiden bei **141** auffälligen Singulets, sind bei **146** auf eines reduziert.

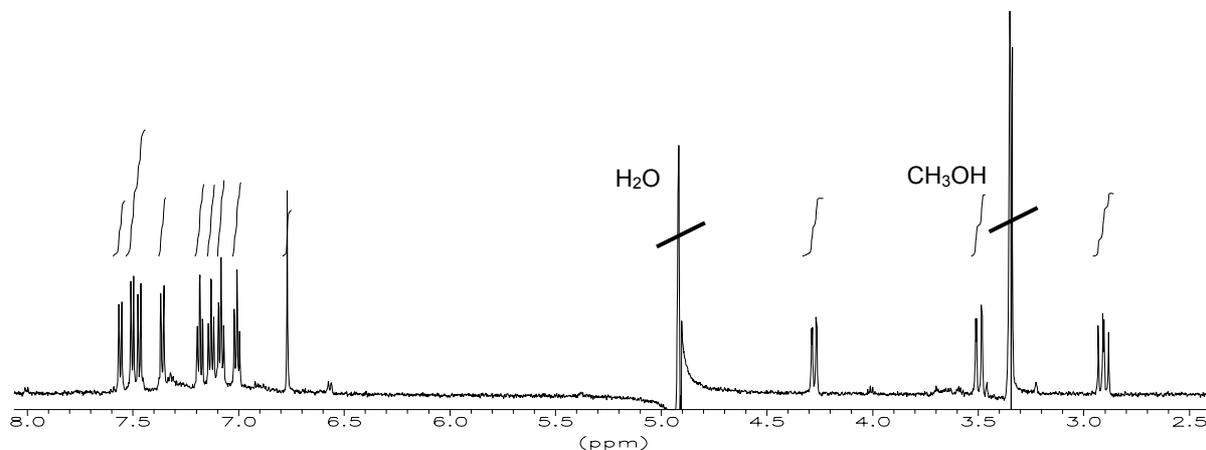


Abbildung 8.13 ¹H-NMR-Spektrum von Malassezindol B (**146**) (600 MHz, [D₄]Methanol).

Im ¹³C-NMR-Spektrum ist außer den beiden aliphatischen Signalen für die CH₂- bzw CH-Gruppe noch ein quartäres C-Signal bei $\delta = 73.48$ zu erkennen. Die beiden Carbonylfunktionen liegen bei $\delta = 175.26$ und 176.84 .

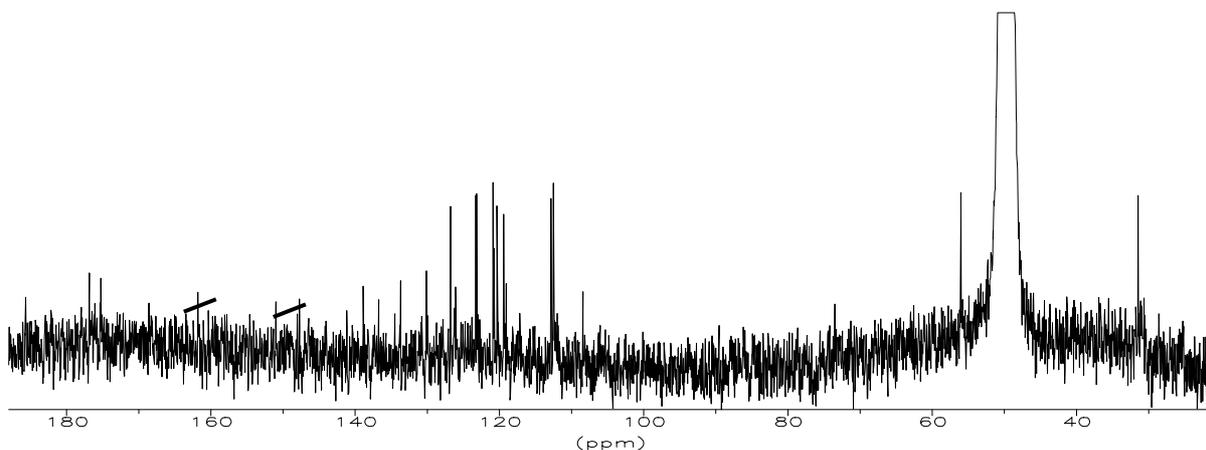


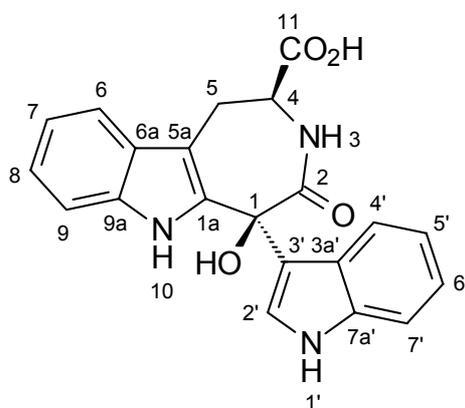
Abbildung 8.14 ¹³C-NMR-Spektrum von Malassezindol B (**146**) (150.9 MHz, [D₄]Methanol).

Mit Hilfe der ¹H-¹H-COSY, HMQC- und HMBC-Spektren lassen sich alle Protonen den jeweiligen Kohlenstoffatomen zuordnen. Durch die Information aus den 2D-Spektren und die große Ähnlichkeit zu Malassezindol A (**141**) läßt sich für **146** folgende Struktur formulieren.

Position	δ_C [ppm]	Art	δ_H [ppm]	m	J [Hz]	$^1H^1H$ -COSY	HMBC
1	73.48	C _q					
1a	133.67	C _q					2.91, 3.50
2	175.26	C _q					
4	56.00	CH	4.28	d	12.96	2.91, 3.50	2.91
5	31.43	CH ₂	2.91	dd	16.02, 12.96	3.50, 4.28	
			3.50	d	16.02	2.91, 4.28	
5a	108.41	C _q					2.91, 3.50, 7.51
6	119.39	CH	7.51	d	7.74	7.09	7.19
6a	130.12	C _q					7.09, 7.47
7	120.30	CH	7.09	dd	7.74, 7.74	7.19, 7.51	7.47
8	123.10	CH	7.19	dd	7.74, 7.74	7.09, 7.47	7.51
9	112.47	CH	7.47	d	7.74	7.19	7.09
9a	136.72	C _q					7.19, 7.51
11	176.84	C _q					2.91
2'	126.76	CH	6.77	s			
3'	119.03	C _q					6.77
3a'	126.04	C _q					6.77, 7.01, 7.36
4'	120.72*	CH	7.56	d	7.80	7.01	7.13
5'	120.83*	CH	7.01	dd	7.80, 7.80	7.13, 7.56	7.36
6'	123.23	CH	7.13	dd	7.80, 7.80	7.01, 7.36	7.56
7'	112.81	CH	7.36	d	7.80	7.13	7.01
7a'	138.86	C _q					6.77, 7.13, 7.56

Tabelle 8.2 NMR-Werte von Malassezindol B (**146**) (600/150.9 MHz, [D₄]Methanol). NH- und OH-Protonen in [D₄]Methanol nicht sichtbar.

*: Werte austauschbar.



146

Abbildung 8.15 Struktur von Malassezindol B (**146**).

Es liegt wie bei Malassezindol A (**141**) ein 4-Oxo-1,2,3,4,5,6-hexahydro-azepino[4,5-*b*]indol-2-carbonsäure-Gerüst vor.

Ein Vergleich der NMR-Werte der beiden Malassezindole zeigt große Übereinstimmung, genauso wie mit den Werten der in Kapitel 8.1.2 vorgestellten Verbindungen.

Es wird wiederum davon ausgegangen, daß sich die Stereochemie an der Position 4 nicht verändert hat. Um die Stereochemie an der Position 1 zu klären, wird versucht ein NOESY-Spektrum aufzunehmen. Aufgrund der geringen Substanzmenge können jedoch keine auswertbaren Signale entdeckt werden. Der Versuch, die Substanz in $[D_6]$ DMSO zu lösen und erneut ein NOESY-Spektrum aufzunehmen bringt keine neuen Erkenntnisse, allerdings kann im 1H -NMR-Spektrum das Signal für die OH-Gruppe gesehen werden.

Ein Vergleich der beiden CD-Spektren von **141** und **146** zeigt einen einheitlichen Verlauf. Deshalb kann von derselben Stellung der Chromophore ausgegangen werden.

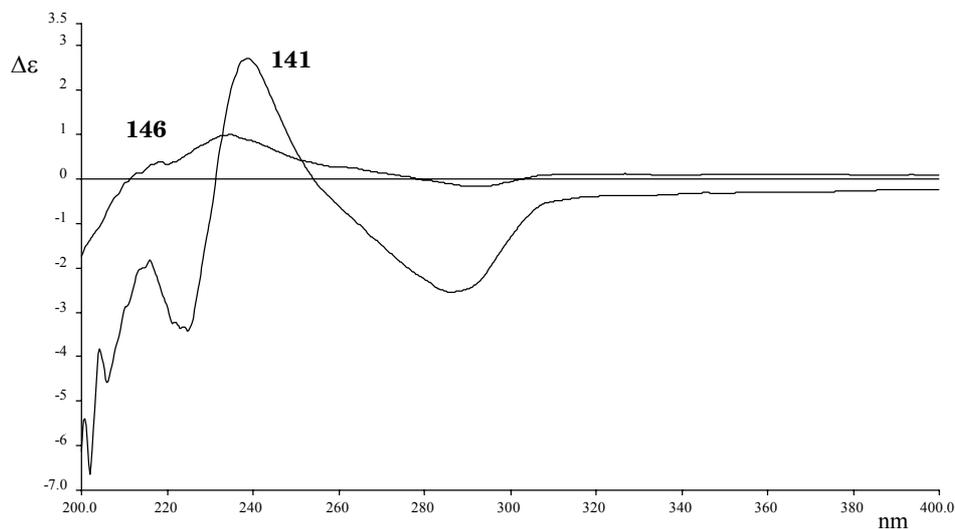


Abbildung 8.16 Vergleich der CD-Spektren von **141** und **146** in Methanol.

Da nur sehr wenig Substanz zu Verfügung steht, sind noch keine Tests über die biologische Aktivität unternommen worden. Man kann aber aufgrund der großen strukturellen Verwandtschaft von einer ähnlichen Aktivität wie bei Malassezindol A (**141**) ausgehen.

8.3 Syntheseveruche zu Malassezindol A (141)

8.3.1 Retrosynthetische Überlegungen

Bei genauerer Betrachtung erscheint es sinnvoll, die Verbindung **141** retrosynthetisch zwischen der Position 1 und 1a zu schneiden. Dadurch würde man die Verbindung **147** erhalten, die leicht aus zwei Bausteinen aufgebaut werden kann, zum einen aus dem L-Tryptophanmethylester-hydrochlorid (**46**) und zum anderen aus einem Boc-geschützten Indol-3-yllessigsäure-Derivat **148**.

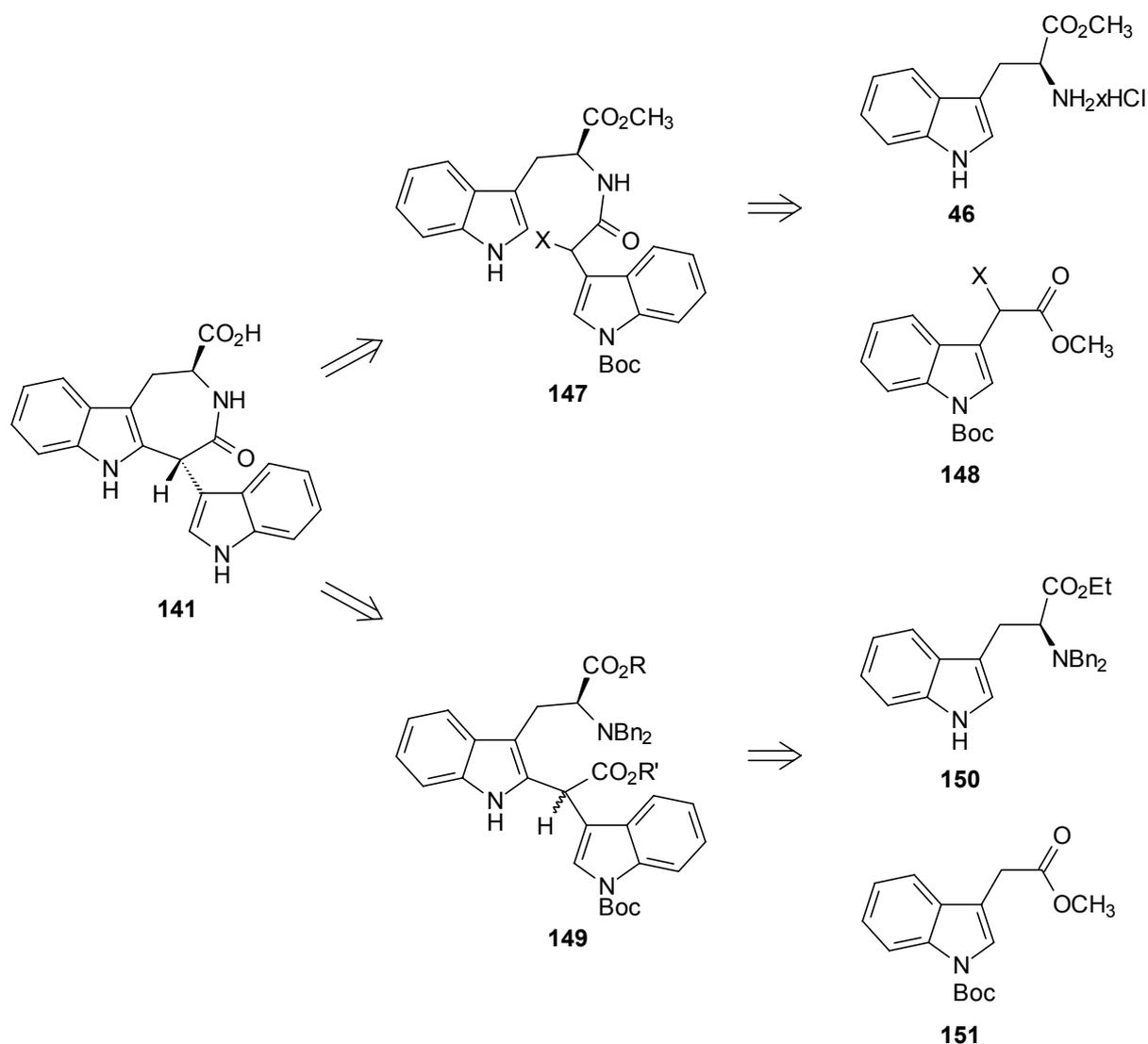


Abbildung 8.17 Retrosynthetische Überlegungen zu **141**.

Eine andere Möglichkeit wäre, die amidische Bindung zuletzt einzuführen. Ein Synthesevorläufer wäre dann das Molekül **149**, das auch aus zwei einfachen Komponenten

ten aufgebaut werden könnte, nämlich aus einem zweifach *N*-benzylgeschützten Tryptophanethylester **150** und einem Boc-geschützten Indol-3-yllessigsäuremethylester **151**.

Beide Methoden hätten den Vorteil, daß durch die L-Tryptophan-Derivate **46** und **150** bereits ein Stereozentrum vorgegeben wäre. Das gewünschte Produkt **141** könnte somit am Schluß durch Trennung von Diastereomeren erhalten werden. Alternativ wäre denkbar, daß das erste Stereozentrum beim Angriff auf das zweite für eine gewisse Vororientierung sorgt und damit ein Diastereomer im Überschuß erhalten wird.

8.3.2 Syntheseversuch über die *Pummerer*-Reaktion

Die *Pummerer*-Reaktion scheint ideal, um im letzten Schritt den Aufbau des Siebenrings zu erreichen. Die Einführung der Schwefelgruppe am Methylester **151** ist einfach und in der Literatur sind bereits Beispiele beschrieben, in denen eine *Pummerer*-Reaktion zum Ringschluß an der 2-Position eines Indols verwendet wird.

So setzen *Oikawa* und *Yonemitsu* **152** mit Trichloressigsäure in Dichlormethan zu 1-Methylthio-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol (**153**) um.^[213]

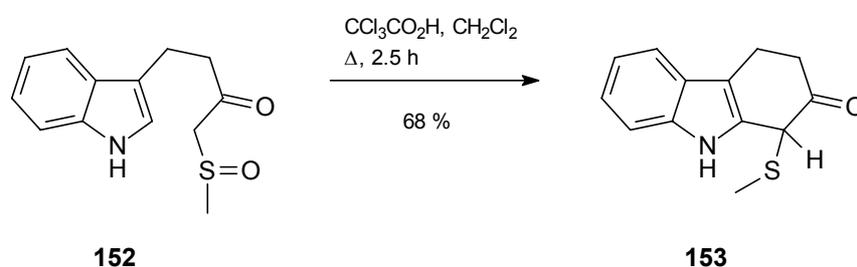


Abbildung 8.18 Umsetzung nach *Oikawa* und *Yonemitsu*.^[213]

Auch Siebenringe sind mit der *Pummerer*-Reaktion synthetisiert worden. *Ishibashi et al.* konnten **154** mit Hilfe von Trifluoressigsäureanhydrid in **155** überführen.^[214]

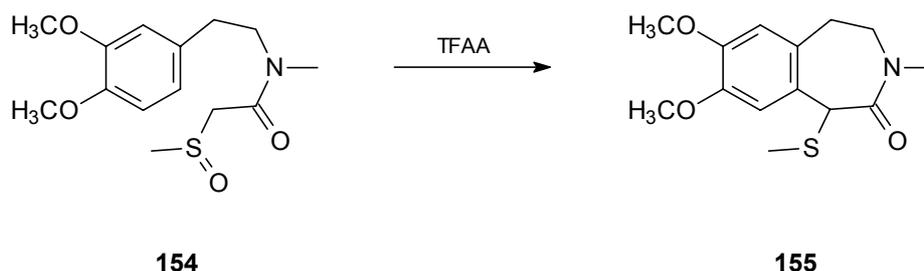
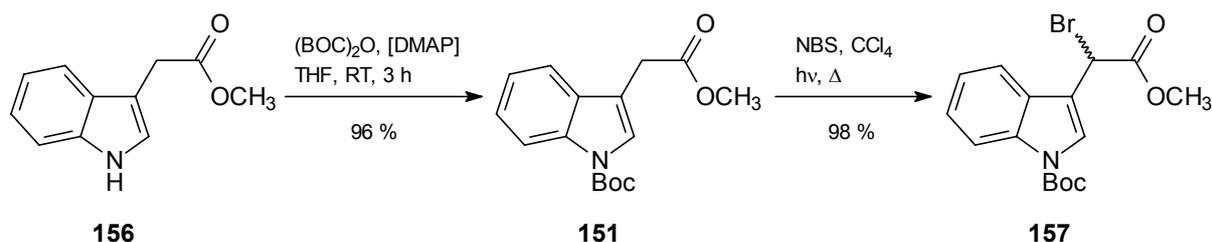
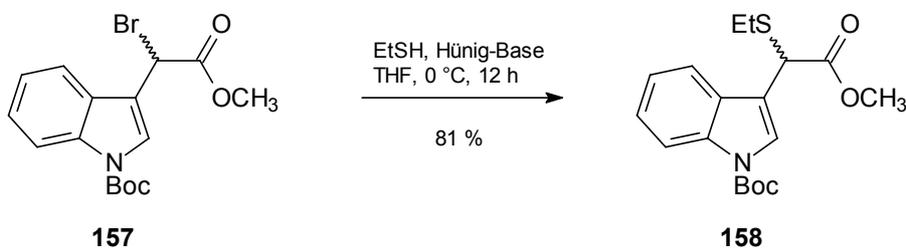


Abbildung 8.19 Reaktion nach *Ishibashi et al.*^[214]

Der Aufbau des Derivates **148** gelingt mit Standardmethoden. **156** wird mit $(\text{Boc})_2\text{O}$ in THF und einer katalytischen Menge DMAP zu **151** umgesetzt. Der geschützte Ester **151** wird in Tetrachlorkohlenstoff unter Belichtung mit NBS in die racemische Verbindung **157** überführt.

**Abbildung 8.20** Synthese von **157**.

Da **157** licht- und wärmeempfindlich ist, wird es sofort weiter mit Ethanthiol zur Verbindung **158** umgesetzt.

**Abbildung 8.21** Darstellung von **158**.

Zum weiteren Aufbau der vorgeschlagenen Vorstufe **147** wird **158** zuerst in einer THF-Wasser-Mischung mit Kaliumhydroxid verseift. Die Säure wird ohne Isolierung mit L-Tryptophanmethylester-hydrochlorid (**46**) in Acetonitril mit TBTU zu **159** gekuppelt.

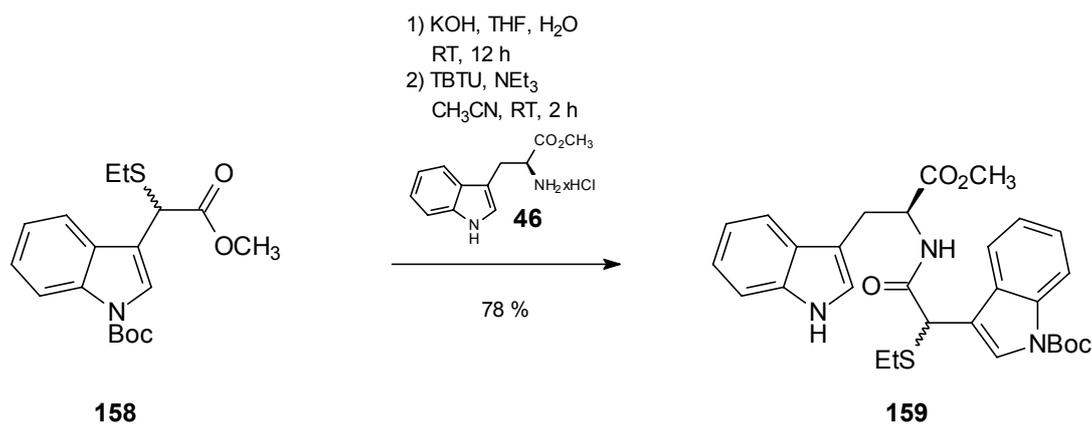


Abbildung 8.22 Synthese von **159**.

Zur Durchführung der *Pummerer*-Reaktion fehlt nun nur noch die Oxidation des Schwefels. Dazu wird **159** mit Natriumperiodat in Methanol nach *Sano et al.*^[215] umgesetzt. Man erhält die gewünschte Verbindung **160** in sehr guten Ausbeuten als Diastereomerengemisch.

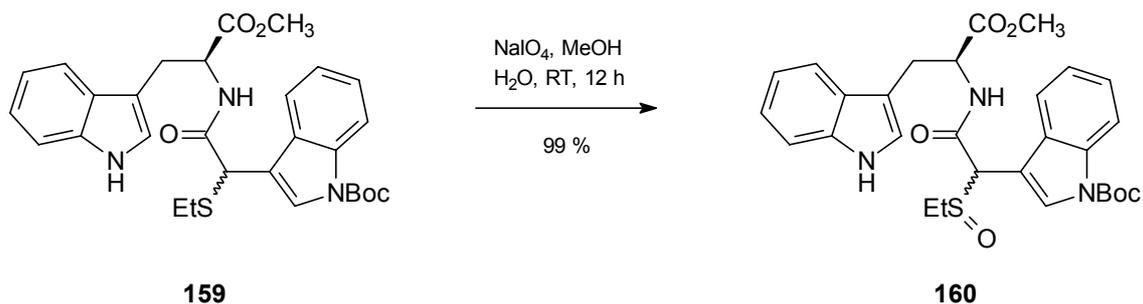


Abbildung 8.23 Oxidation von **159**.

Die *Pummerer*-Reaktion kann mit verschiedenen Reagentien erfolgen. Zuerst werden Versuche mit Trifluoressigsäure-, Trichloressigsäure- und Essigsäureanhydrid durchgeführt. Bei den ersten beiden Reagentien kann nur Zersetzung festgestellt werden, wohingegen bei Essigsäureanhydrid auch nach Erwärmen keine Reaktion eintritt. Selbst nach mehrstündigem Erwärmen kann in großen Mengen unversehrtes Edukt isoliert werden.

Als Alternative werden nicht die Anhydride, sondern die Säuren verwendet. Mit Essigsäure kann keine Reaktion festgestellt werden, mit Trifluoressigsäure tritt wieder Zersetzung auf. Bei Verwendung von Trichloressigsäure können schließlich zwei Produkte gewonnen werden.

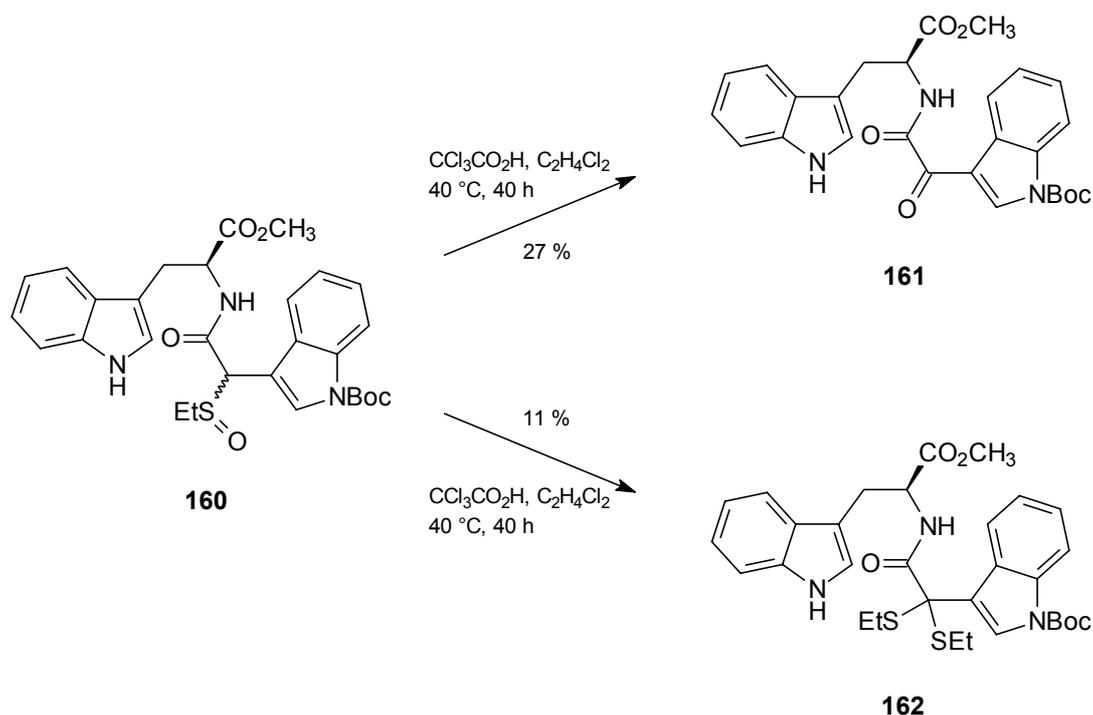


Abbildung 8.24 Ergebnisse der *Pummerer*-Reaktion.

Änderungen der Reaktionsbedingungen führen bei längerer Reaktionszeit oder höherer Temperatur zur Zersetzung der Produkte.

Die Bildung des Produktes **162** ist ungewöhnlich. Eine mögliche Erklärung bietet die Entstehung von **161** und die damit verbundene Bildung eines nucleophilen Ethanthiols in der Reaktionslösung.

Zuerst verläuft die Umsetzung analog der klassischen *Pummerer*-Reaktion. Die mesomeriestabilisierte Verbindung **168** sollte von der 2-Position des tryptophanischen Indols angegriffen werden. Anscheinend ist die Nucleophilie des Indols nicht groß genug, und es erfolgt der Angriff des vorher abgespaltenen Wassermoleküls. Bei der Ausbildung des Endprodukts **161** wird noch ein Molekül Ethanthiol abgespalten. Dieses Ethanthiol ist nun auch in der Lage, nucleophil an **168** anzugreifen. Dadurch würde **162** entstehen.

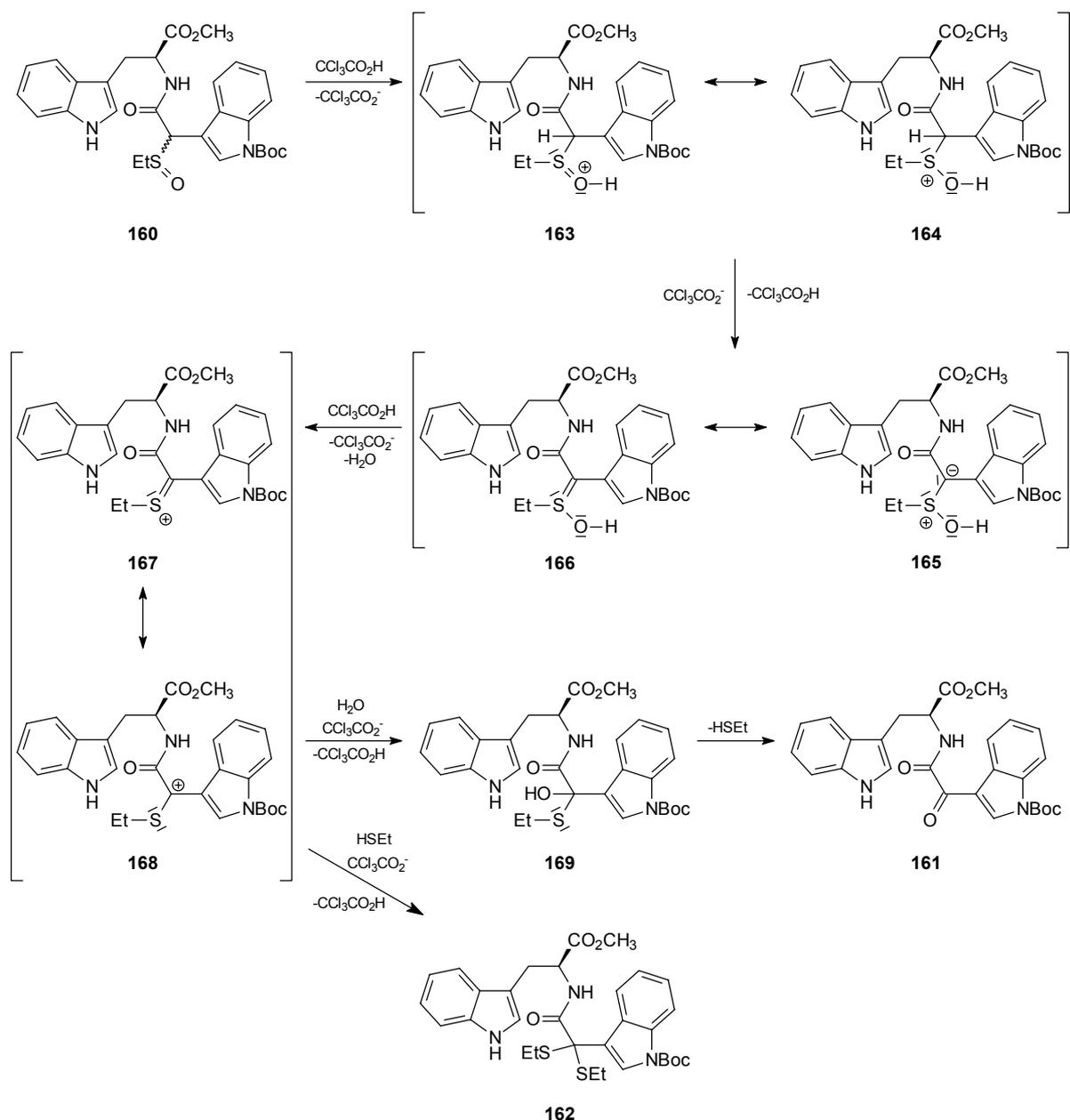


Abbildung 8.25 Mögliche Bildung von **161** und **162**.

Weitere Versuche, wie beispielsweise die Zugabe von Molsieb oder die Einführung von Schutzgruppen am Tryptophan, führen zu keinem Ergebnis. Die *Pummerer*-Reaktion kann trotz genauer Untersuchungen der Reaktion und Änderungen der Reaktionsbedingungen nicht zum Ringschluß verwendet werden.

Die Frage, ob sich der Ringschluß ohne die Anwesenheit eines zweiten Indolrings durchführen läßt, wird anhand der Verbindung **172** erörtert.

172 läßt sich durch Oxidation^[215] von **171**, das durch eine Peptidkupplung von **46** und **170** gewonnen wird, einfach darstellen.

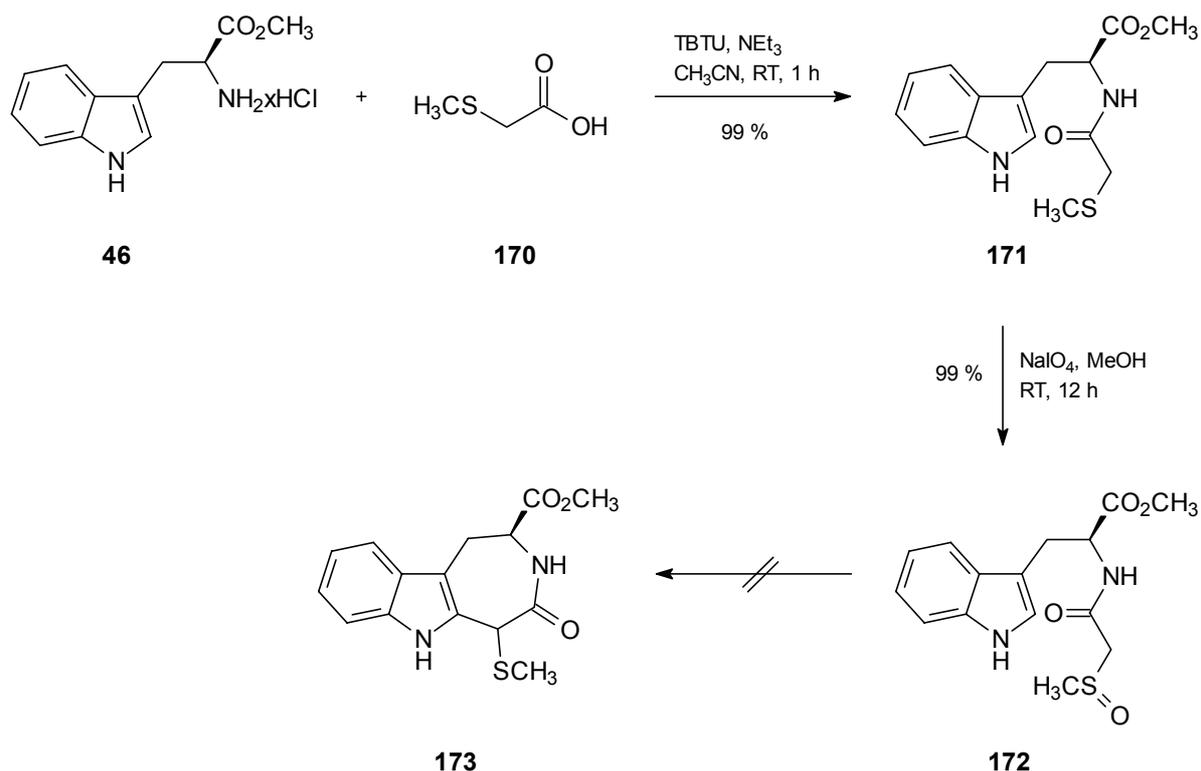


Abbildung 8.26 Versuch zur Darstellung des Siebenring-Lactams **173**.

Die Versuchsbedingungen für die *Pummerer*-Reaktion werden von den vorhergegangenen Versuchen übernommen, in diesem Fall läßt sich jedoch kein isolierbares Produkt gewinnen.

8.3.3 Syntheseversuche unter Rhodium-Katalyse

Da die Versuche, mit der *Pummerer*-Reaktion ein elektrophiles Zentrum zu schaffen, vergeblich waren, wird eine neue Strategie überlegt. Es könnte ein Carben anstelle des Carbenium-Ions bei der *Pummerer*-Reaktion als elektrophile Spezies geschaffen werden, wozu sich Diazo-Verbindungen eignen. Durch Katalyse mit Rhodium(II)-Salzen können diese Moleküle in reaktive Carbene überführt werden. Ein Beispiel dafür ist die Umsetzung von Pyrrol-Derivat **174** mit Diazomalonsäuredimethylester (**175**) zum Pyrrol-2-malonsäuredimethylester (**177**).

Durch den Einsatz von nur 0.5 mol% $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ kann das Regioisomer **177** in nahezu zehnfachem Überschuß erhalten werden.^[216]

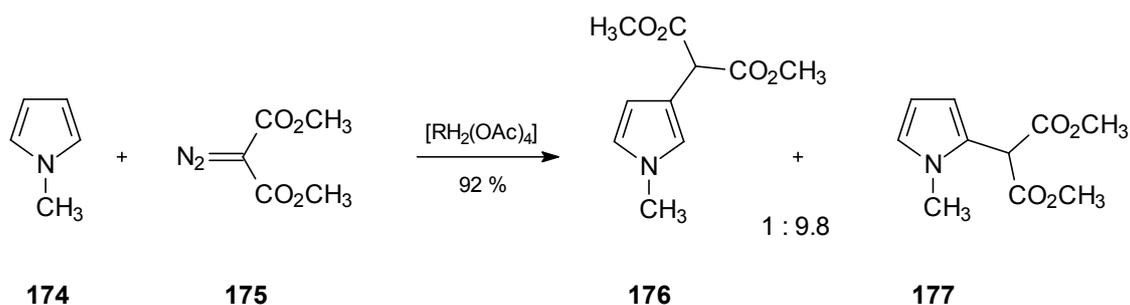


Abbildung 8.27 Synthese unter Rhodium-Katalyse nach *Maryanoff*.^[216]

Diese Methode könnte auf das hier zu synthetisierende System übertragen werden. Der Aufbau des Moleküls entspricht dem Weg der *Pummerer*-Reaktion, nur daß hier anstatt des Schwefels eine Diazo-Gruppe eingesetzt wird.

Das Einführen der Diazo-Gruppe gelingt leicht durch Umsetzung mit Tosylazid (**100**). Dazu wird die Verbindung **151** in Acetonitril mit **100** und DBU umgesetzt.

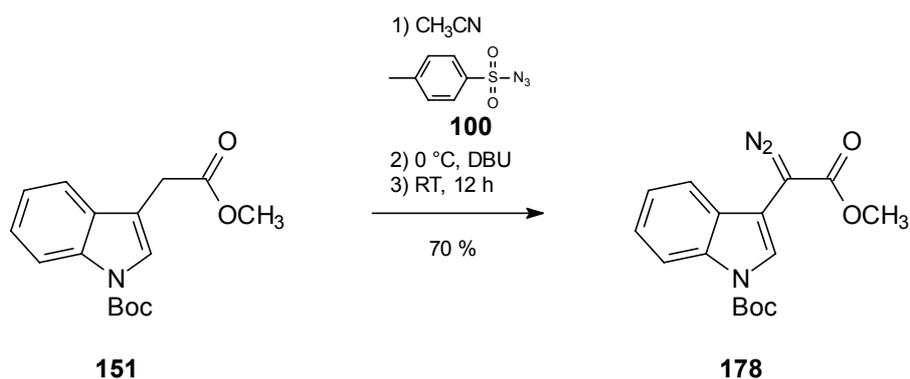


Abbildung 8.28 Synthese von **178**.

178 wird als roter Feststoff erhalten, der stabil ist, sich in Lösung aber langsam zersetzt.

Die weitere Reaktion mit dem Tryptophanester **46** erfordert eine Verseifung von **178** und eine anschließende Peptidkopplung. Diese Reaktion kann nicht durchgeführt werden, da die Verbindung **178** sich bei der Verseifung zersetzt. Mehrere Versuche mit verschiedenen Basen zeigen immer nur die Zerstörung des Eduktes **178**.

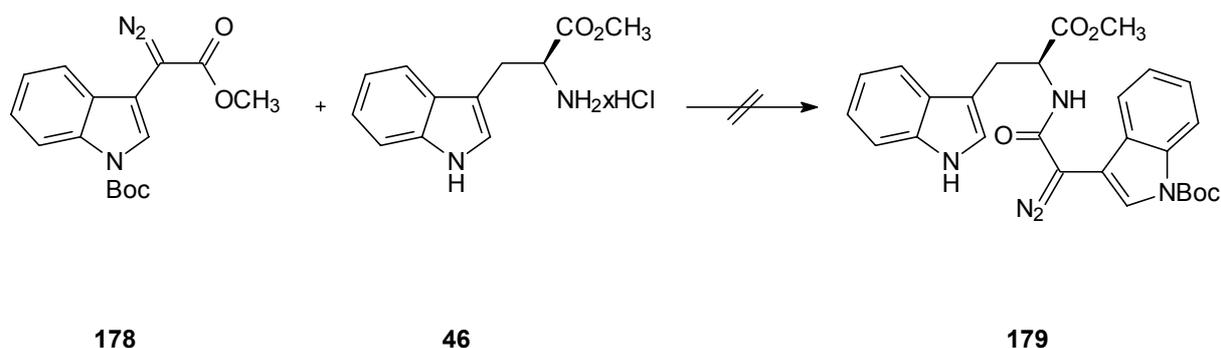


Abbildung 8.29 Syntheseversuch von **179**.

Deshalb soll zuerst die Rhodium-katalysierte Reaktion erfolgen und danach der Ringschluß versucht werden. Als Kupplungspartner dient der Boc-geschützte L-Tryptophanester **180**. Bereits bei Raumtemperatur kann eine Reaktion beobachtet werden.

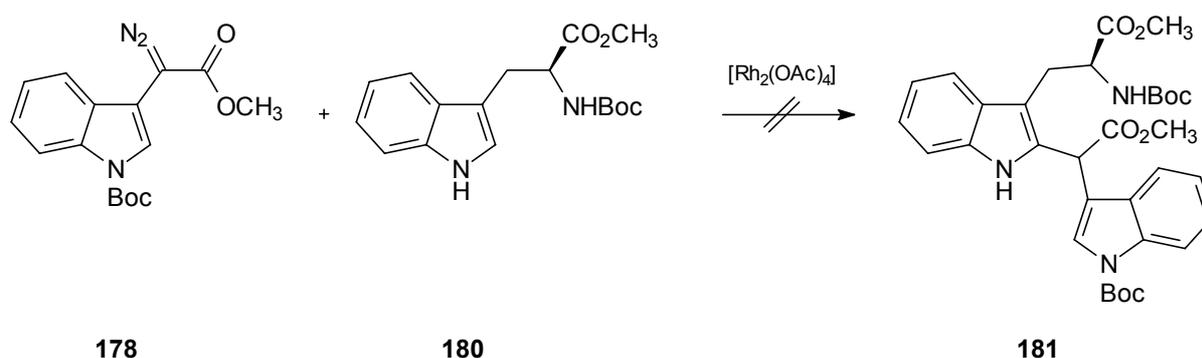


Abbildung 8.30 Umsetzung von **178** mit **180** unter Rhodium-Katalyse.

Es lassen sich Produkte isolieren, die aber nicht identifiziert werden können. Man erhält Moleküle, die von der Masse größer sein müssen als das gewünschte Produkt. Wahrscheinlich reagiert das Produkt **181** sofort wieder mit einer Diazo-Verbindung **178** und diese Stufe evtl. wieder. So könnten Oligomere entstehen, die nicht mehr aufgetrennt werden können.

Da diese Wege bis hier zu keinem Ergebnis geführt haben, wird über die Einführung der Diazo-Gruppe nach der Peptidkupplung nachgedacht. Von *Michowski* wird eine Methode beschrieben, mit der man aus Tosylhydrazonen mit basischem Aluminiumoxid Diazo-Verbindungen darstellt.^[217]

In zwei kurzen Syntheseschritten gelangt man zu dem gewünschten Tosylhydrazon **184**.

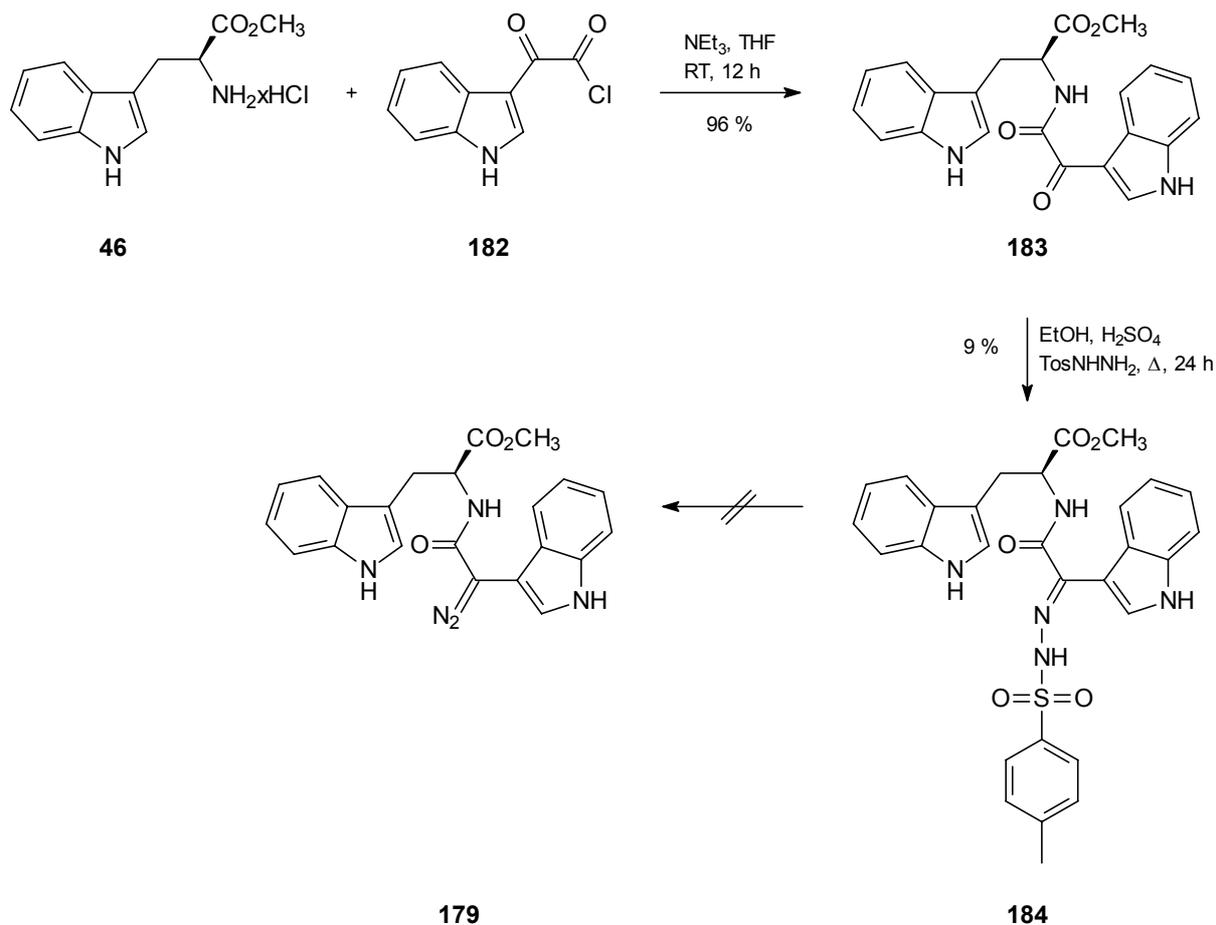


Abbildung 8.31 Darstellungsversuch von **179**.

Die Umsetzung mit Tosylhydrazin gelingt nur in sehr schlechten Ausbeuten. Die Keto-Funktion ist durch die Konjugation mit dem Indolring abgeschwächt und reagiert daher nur noch sehr langsam. Die Reaktion mit basischem Aluminiumoxid zeigt keinen Erfolg. Auch nach Erwärmen der Reaktionsmischung kann keine Änderung festgestellt werden. Stärkere Basen bringen keine anderen Ergebnisse.

Schließlich wird der Versuch unternommen, die Diazo-Gruppe mit Tosylazid (**100**) einzuführen.

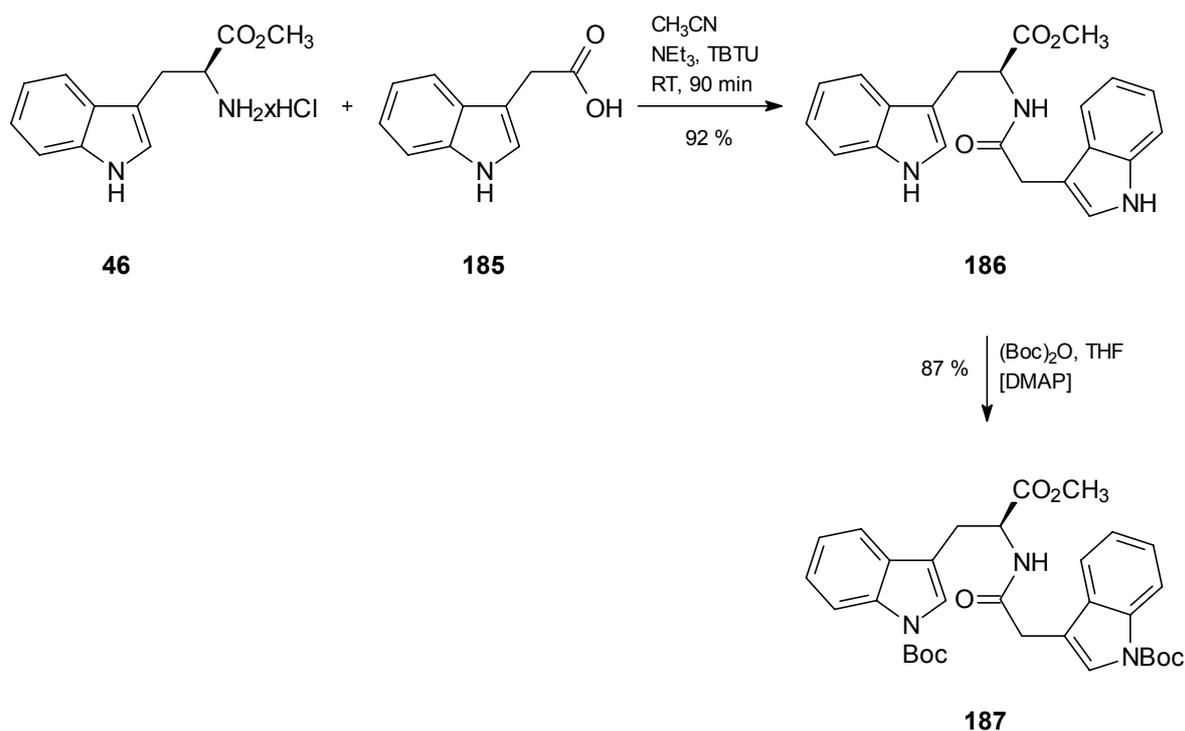


Abbildung 8.32 Synthese von **187**.

Durch Kupplung des Esters **46** mit Indol-3-ylacessigsäure (**185**) in Acetonitril wird **186** erhalten. Mit Hilfe von DMAP und $(\text{Boc})_2\text{O}$ in THF können beide Indol-Stickstoffe geschützt werden. Der geschützte Ester **187** wird dann mit Tosylazid (**100**) umgesetzt. Doch sowohl die geschützte Verbindung **187** als auch die ungeschützte Verbindung **186** zeigt keine Reaktion mit **100**.

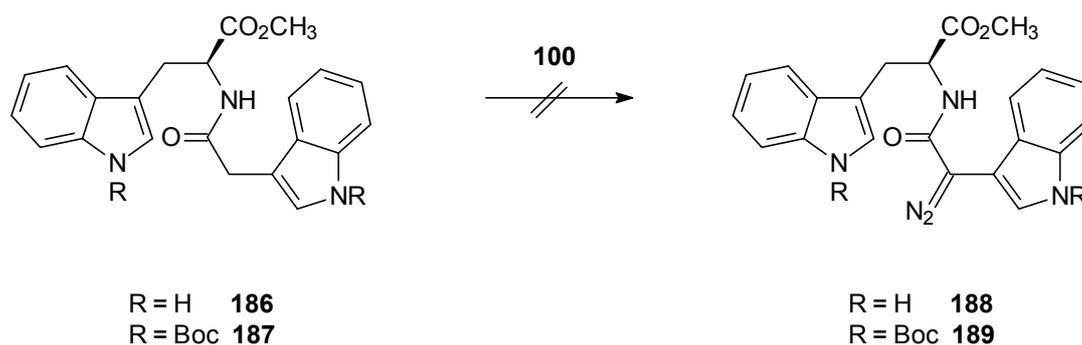


Abbildung 8.33 Versuche zur Einführung einer Diazo-Gruppe.

Diese Reaktionen können auch nicht den Ring zwischen der Position 1 und 1a schließen. Es wird eine andere Synthesestrategie herangezogen und versucht, zuerst die Positionen 1

und **1a** zu verknüpfen, um anschließend den Ringschluß über eine Peptidkupplung durchzuführen.

8.3.4 Syntheseveruche mit *tert*-Butylhypochlorit (**191**)^[218,219]

Danishefsky et al.^[220] und *Kuehne et al.*^[221] berichten über eine Methode für einen nucleophilen Angriff an der 2-Position von 3-substituierten Indolen. Beide Arbeitsgruppen gehen von einer doppelt geschützten α -Aminogruppe des Tryptophans aus.

Danishefsky et al.^[220] setzen den (2*S*)-2-Dibenzylamino-3-(1*H*-indol-3-yl)propionsäuremethylester (**190**) bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ mit *tert*-Butylhypochlorit (**191**)^[218,219] um. Die dabei entstehende Verbindung **192** kann von einem Nucleophil angegriffen werden, und es entsteht das 2,3-disubstituierte Produkt **194**.

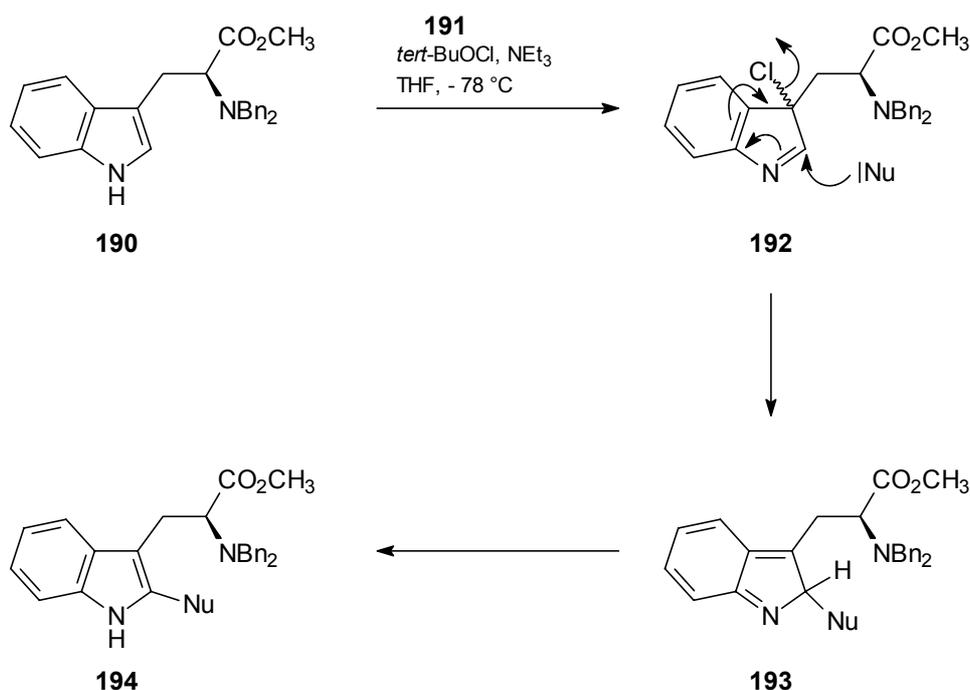


Abbildung 8.34 Synthese von 2,3-disubstituierten Indolen nach *Danishefsky et al.*^[220]

Als Nucleophile werden verschiedene Reagentien eingesetzt, unter anderem Indol (**21**) und Lithium-phenylacetylid.

Kuehne et al.^[221] schützen ihren Tryptophanester mit Boc- und Benzylschutzgruppe. Als Nucleophil verwenden sie Lithium-malonsäuredimethylester (**200**).

Diese einfache Methode zur Einführung eines Substituenten an der 2-Position wird auf die Synthese von Malassezindol A (**141**) übertragen. Zuerst wird das L-Tryptophanethyl-

ester-hydrochlorid (**195**) mit Benzylbromid (**196**) in Dichlormethan in das geschützte Derivat **197** überführt.

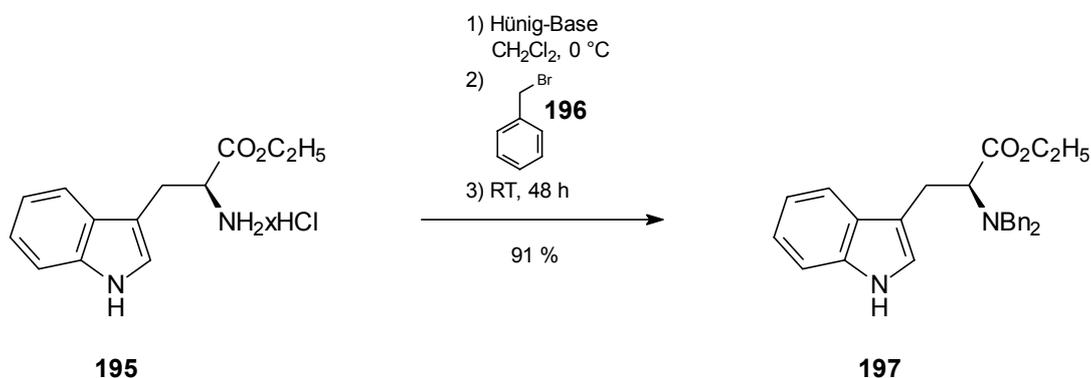


Abbildung 8.35 Synthese von **197** nach *Danishefsky et al.*^[220]

Zur weiteren Synthese wird **197** nach der obigen Methode mit *tert*-Butylhypochlorit (**191**)^[218,219] umgesetzt und zur Reaktionslösung Lithium-indol-3-ylacrylsäuremethylester (**198**) gegeben.

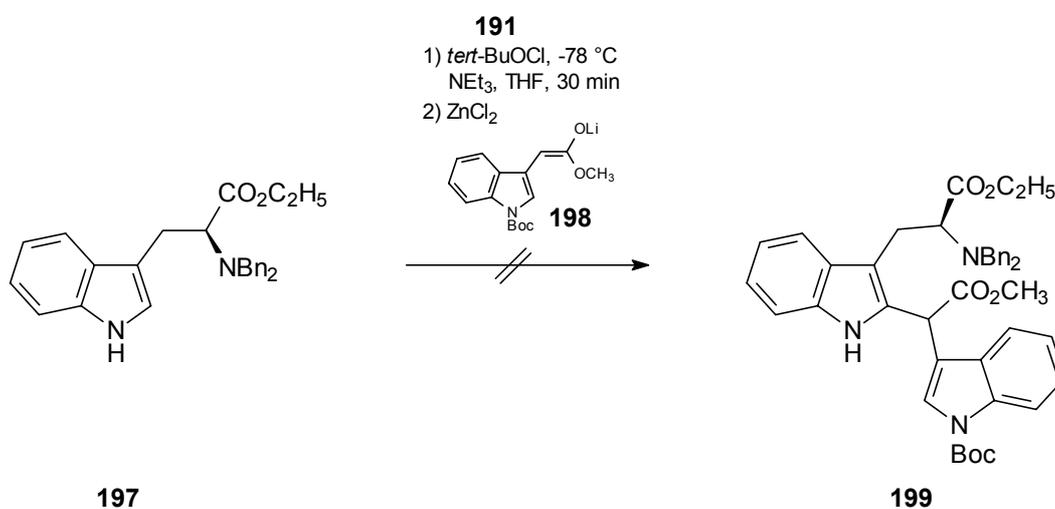


Abbildung 8.36 Versuch zur Synthese von **199**.

Das gewünschte Produkt **199** kann nicht isoliert werden. Der Austausch der Base BuLi gegen NaH hat ebensowenig Auswirkung wie die Verwendung der Benzyl- anstatt der Boc-Schutzgruppe. Zur weiteren Untersuchung dieser Reaktion wird derselbe Versuch mit Lithium-phenylacrylsäuremethylester durchgeführt. Auch hier kann kein Produkt isoliert werden.

Wird aber Lithium-malonsäuredimethylester (**200**) wie bei *Kuehne et al.*^[221] verwendet, bekommt man die Verbindung **201** in hoher Ausbeute.

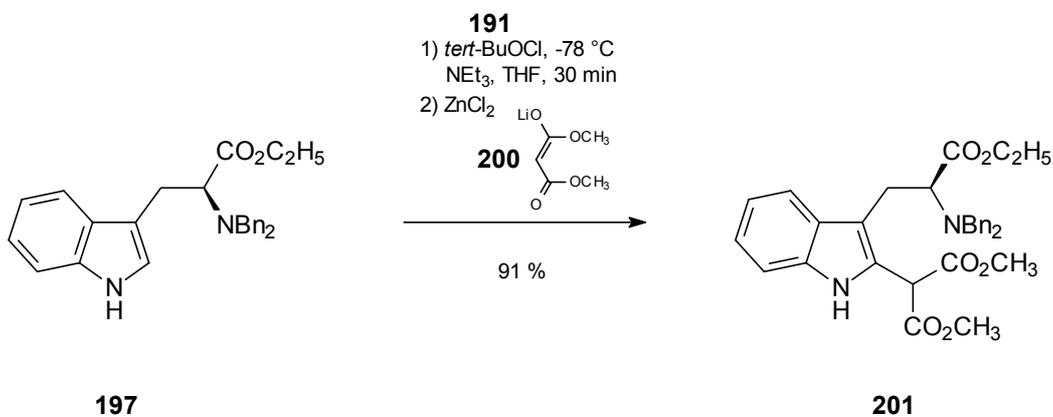


Abbildung 8.37 Synthese von **201**.

Als nächstes wird versucht, die CH-Acidität des Nucleophils zu erhöhen und deshalb 2-(1-*tert*-Butyloxycarbonyl-indol-3-yl)malonsäuredimethylester (**204**) eingesetzt.

Diazomalonsäuredimethylester (**175**)^[222] wird mit 2,4-Dichlorthiophen (**202**) unter Rhodium(II)-Katalyse zu **203** nach *Porter et al.*^[223] umgesetzt. Das entstandene Ylid **203** wird mit Indol (**21**) und Kupfer(II)bisacetylacetonat in refluxierendem Toluol in **204** überführt.^[224] Mit katalytischen Mengen DMAP und (Boc)₂O in Acetonitril wird der indolische Stickstoff geschützt.

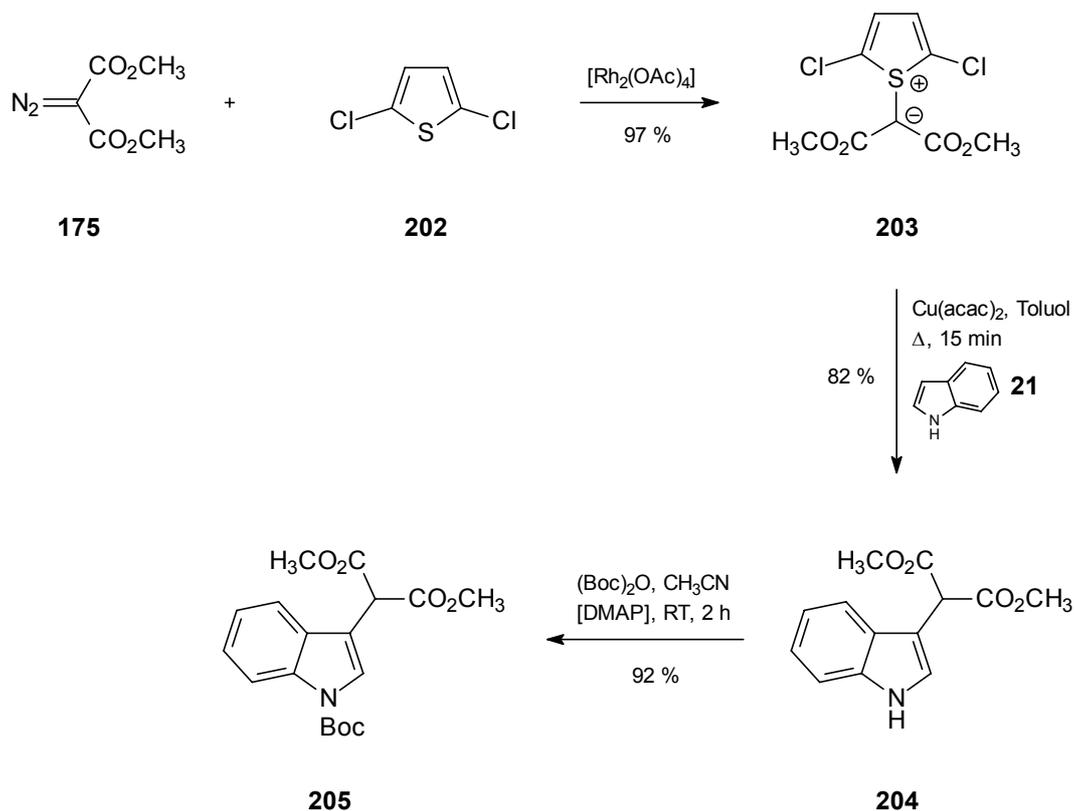


Abbildung 8.38 Darstellung von **205**.

Die so erhaltene Verbindung **205** wird nach dem bekannten Verfahren mit **197** umgesetzt.

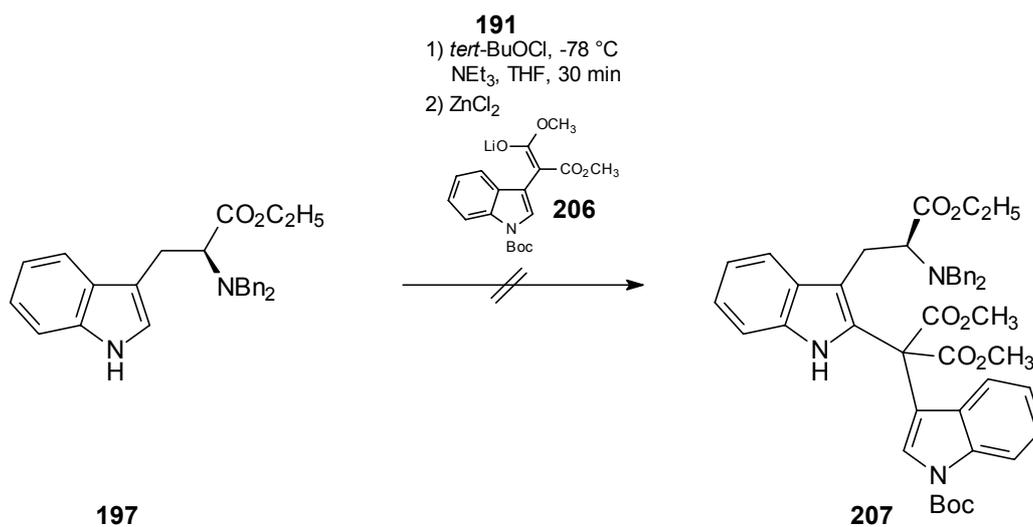


Abbildung 8.39 Versuch zur Darstellung von **207**.

Auch hier läßt sich kein Produkt isolieren. Die guten Ausbeuten der Methode mit **201**, lassen vermuten, daß bei den anderen Umsetzungen sterische Gründe eine positive Reaktion verhindern.

8.3.5 Ausblick

Eine weitere Möglichkeit, die Malassezindole A und B (**141**, **146**) zu synthetisieren, wäre nach einer patentierten Methode der Firma *Boehringer*.^[225]

Es werden zwei Äquivalente Benzylcarbammat (**208**) mit einem Äquivalent Glyoxylsäuremonohydrat (**209**) und katalytischen Mengen Toluolsulfonsäure unter azeotroper Wasserabscheidung in Chloroform refluxiert. Das Produkt **210** wird unter Standardbedingungen mit **46** zu **211** gekuppelt. Die anschließende Cyclisierung wird in einem Gemisch aus Trifluoressigsäure und Trifluoressigsäureanhydrid bei 120 °C durchgeführt.

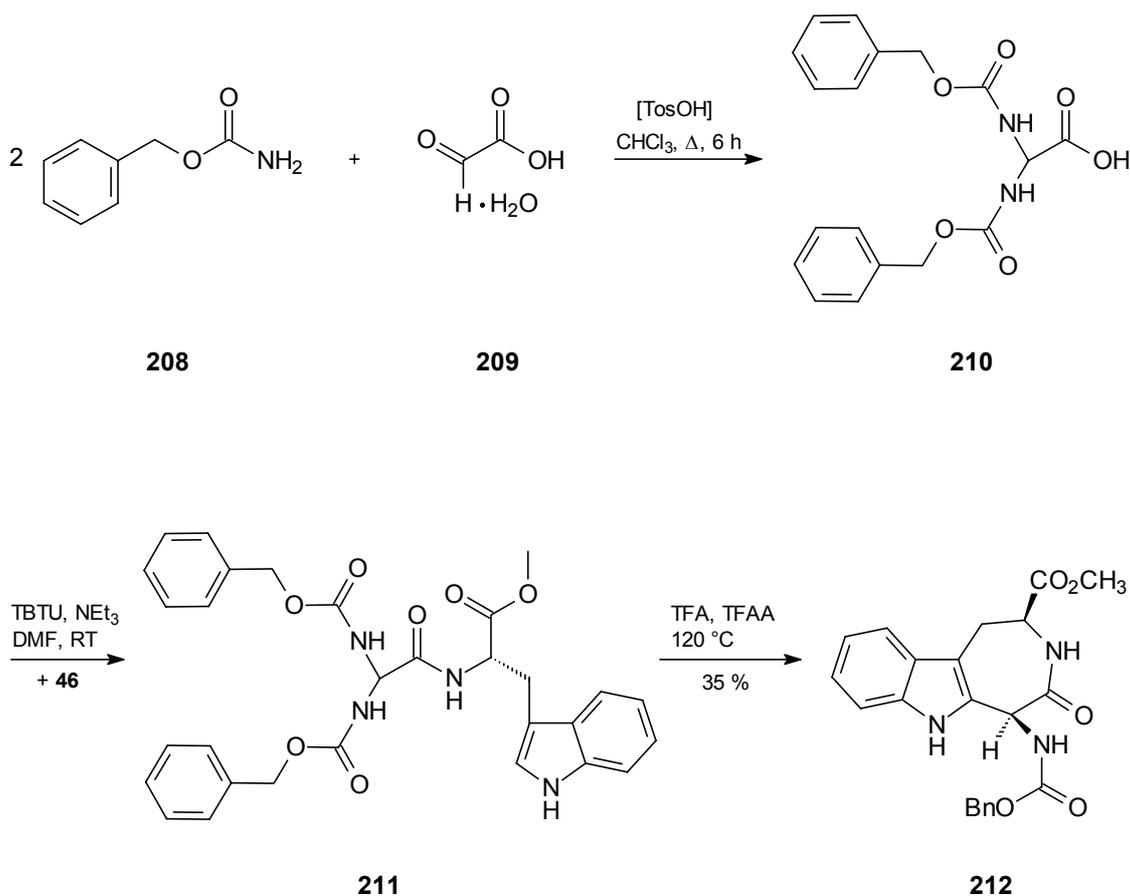


Abbildung 8.40 Synthese von **212** nach *Boehringer*.^[225]

Das erhaltene Produkt **212** könnte leicht von der *Z*-Schutzgruppe durch Hydrogenolyse befreit und das erhaltene freie Amin **213** beispielsweise mit 2,6-Di-*tert*-butyl-1,4-chinon (**214**) zum Keton **215** oxidiert werden.^[226]

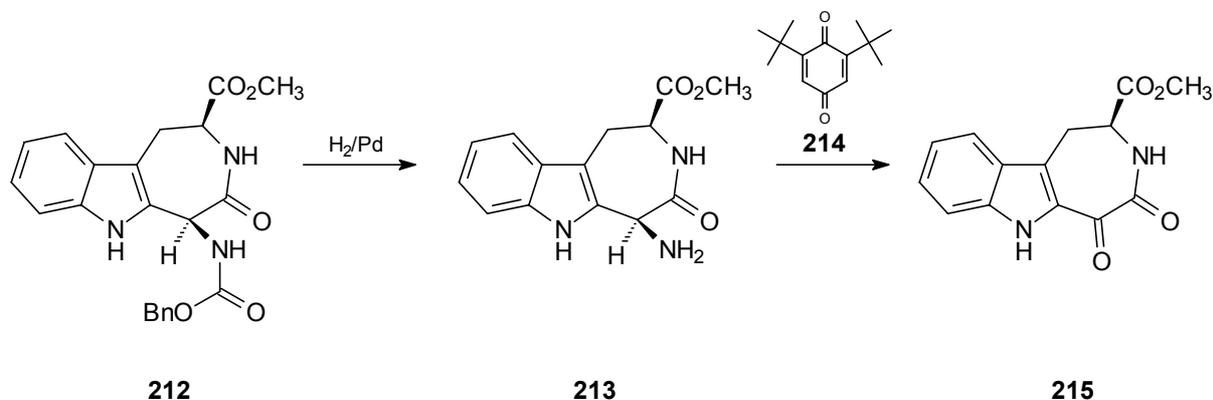


Abbildung 8.41 Mögliche Darstellung von **215**.

Die Verbindung **215** könnte durch Umsetzung mit Indol (**21**) in den Methyl ester **217** überführt werden. Zur Einführung des zweiten Stereozentrums würde sich die Methode von *Zhuang et al.*^[227] anbieten. *Zhuang et al.* können mit der chiralen Lewis-Säure **216** enantioselektiv Alkohole durch Angriff von Indol (**21**) an Trifluorpyruvat in guter Ausbeute darstellen.^[227] Auf das vorliegende Problem übertragen, könnte durch Einsatz von **216** der Methyl ester **217** dargestellt werden.

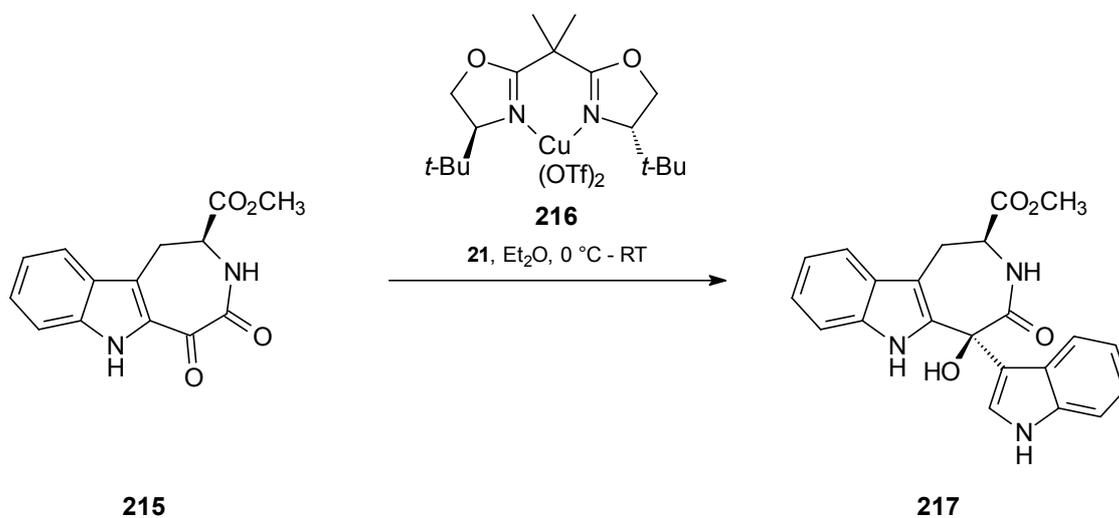


Abbildung 8.42 Umsetzung von **215** mit **21** unter Katalyse von **216**.

Durch anschließende Desoxygenierung, beispielsweise mit Lithium in flüssigen Ammoniak,^[228] würde man zum Ester **218** kommen.

Aus den beiden Verbindungen **217** und **218** könnten schließlich die beiden Naturstoffe Malassezindol B (**146**) und Malassezindol A (**141**) durch Verseifung gewonnen werden.

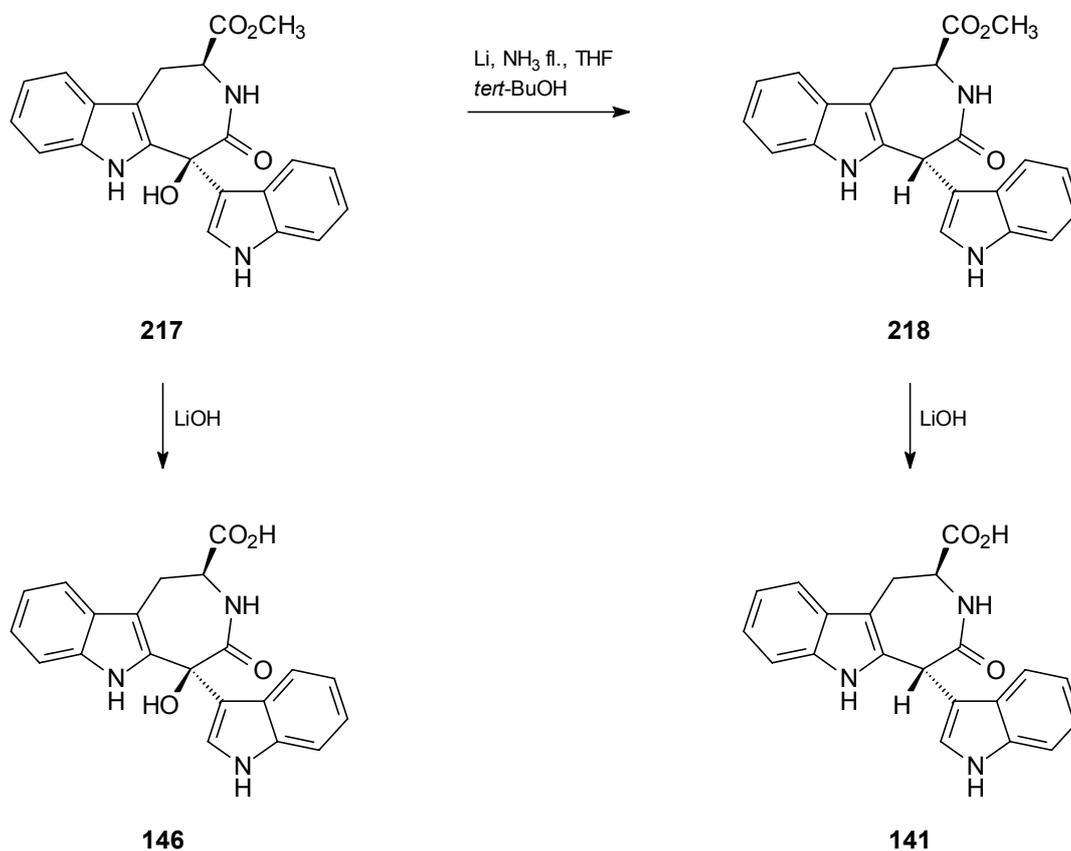


Abbildung 8.43 Synthesemöglichkeit für **141** und **146**.

9 Malasseziacitrin (219)

9.1 Struktur von Malasseziacitrin (219)

Malasseziacitrin (**219**) wird nach der Isolierung und dem Lyophilisieren als braunrotes flockiges Pulver erhalten. Die Probe von Malasseziacitrin (**219**) löst sich vollständig in DMSO und Methanol. Die Proben werden nach dem Messen immer im Gefrierschrank aufbewahrt, um eine mögliche Zersetzung zu vermeiden.

Das UV-Spektrum zeigt ein Absorptionsmaximum bei 357 nm.

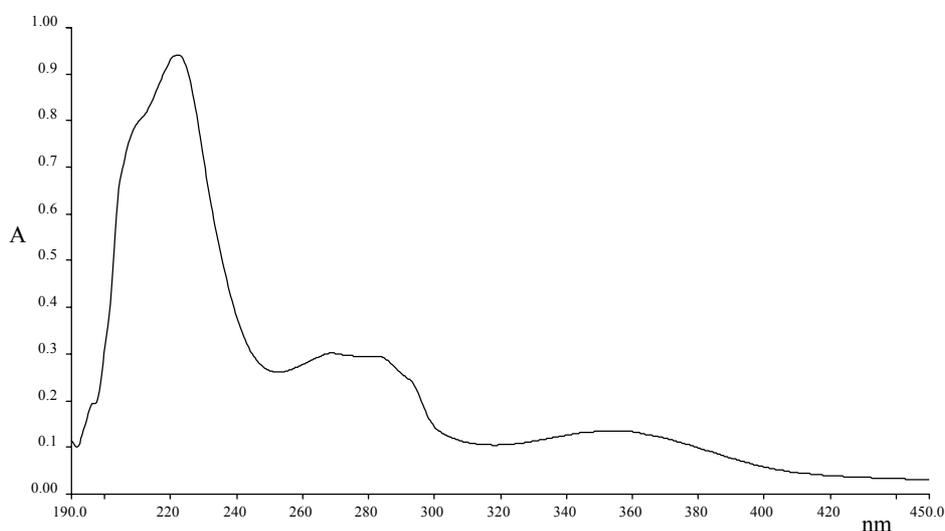


Abbildung 9.1 UV-Spektrum von **219** in Methanol.

Die Bestimmung der Masse gestaltet sich schwierig. Im CI- und (\pm)-ESI-MS werden keine auswertbaren Peaks erhalten. Das EI-MS liefert sehr stark aufgespaltene Spektren, die die Bestimmung des Massenpeaks erschweren, durch die Messung im (+)-FAB-MS kann ein aussagekräftiger Molekülpeak bei 441 entdeckt werden. Dieser ist auch im EI-Spektrum zu erkennen, was der Summenformel $C_{29}H_{19}N_3O_2$ entspricht. Eine weitere Messung eines MALDI-MS² bestätigt die Masse von 441.

Wie bei den vorherigen Verbindungen erkennt man auch in diesem IR-Spektrum eine starke NH-Valenzschwingung bei 3414 cm^{-1} . Die Bande bei 1726 cm^{-1} deutet auf einen

² Ich danke Frau Georgette Thumshirn für die Aufnahme der Masse.

α,β -ungesättigten Ester hin. Bei 745 cm^{-1} ist die Bande für einen 1,2-disubstituierten Aromaten zu sehen.

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum sind außer den aromatischen Signalen dreier Indol-Systeme noch zwei Dubletts bei $\delta = 5.33$ und 6.09 zu erkennen. Bei tiefem Feld sind drei NH-Protonen zu sehen.

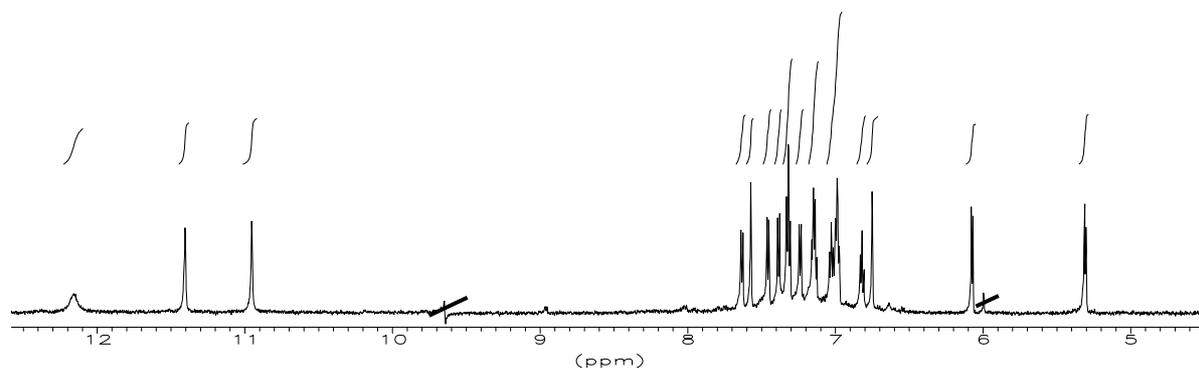


Abbildung 9.2 $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Malasseziacitrin (**219**) (600 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$).

Das $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum zeigt die typischen aromatischen Signale für die Indole und noch zwei ungewöhnliche Verschiebungswerte von $\delta = 41.48$ (Wert aus Methanol-Spektrum, da im DMSO-Spektrum vom Lösungsmittel verdeckt) und 87.25 . Durch das DEPT-Spektrum werden beide Signale als CH-Gruppen identifiziert. Außerdem kann man noch drei Signale im tiefen Feld erkennen. Das Singulett bei $\delta = 174.95$ sollte ein Carbonyl-Kohlenstoffatom sein. Die beiden Signale bei $\delta = 156.09$ und 161.02 lassen sich schwer zuordnen, da die beiden Sauerstoffatome bereits an den aus dem IR-Spektrum vermuteten Ester vergeben sind.

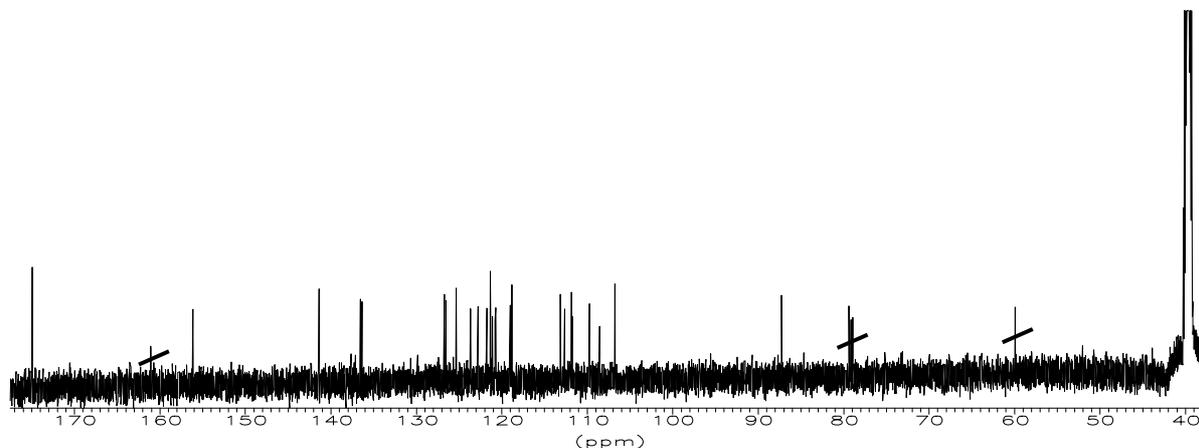


Abbildung 9.3 $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum von **219** (150.9 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$).

Mit Hilfe der $^1\text{H}^1\text{H}$ -COSY- und HSQC-Spektren können die Protonensignale den einzelnen C-Atomen zugeordnet werden. Aus diesen Informationen läßt sich ableiten, daß zwei Indole vorliegen, die nur an der 3-Position mit dem restlichen Molekül verbunden sind und ein Indol, das sowohl an der 2- als auch an der 3-Position substituiert ist. Weitere wertvolle Informationen gibt das HMBC-Spektrum. So können jeweils von den Protonen an der 2-Position der Indole **221** und **222** Korrelationen zu den an der 3-Position verknüpften C-Atomen gesehen werden, und es lassen sich die drei Teilstrukturen **220**, **221** und **222** ableiten.

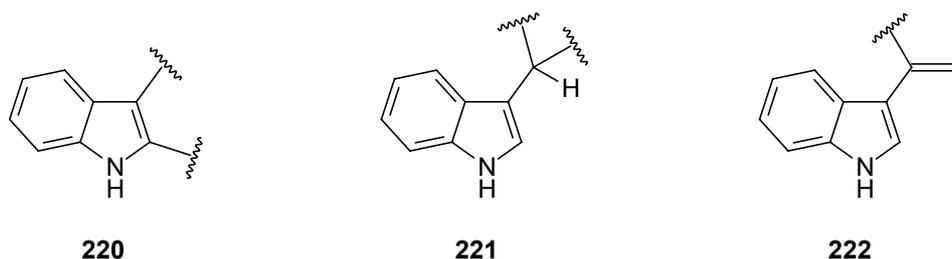


Abbildung 9.4 Teilstrukturen von Malasseziacitrin (**219**).

Um diese Teilstücke zu verbinden, bleiben laut Summenformel noch drei C-Atome und zwei O-Atome übrig. Die beiden quartären C-Atome haben ^{13}C -Verschiebungswerte von $\delta = 161.02$ und 174.95 , die CH-Gruppe von $\delta = 87.25$. Die Kopplungskonstante zwischen den beiden CH-Gruppen beträgt 6.72 Hz, woraus sich ableiten läßt, daß die beiden Gruppen benachbart sein müssen, da dieser Wert typisch für eine 3J -Kopplung ist.

Den endgültigen Hinweis auf die Struktur liefern die HMBC-Korrelationen der Protonen bei $\delta = 5.33$ und 6.09 , die Hinweise auf die Verknüpfung der einzelnen Teilstrukturen geben. Es läßt sich aus diesen Informationen der folgende Strukturvorschlag ableiten.

Position	δ_C [ppm]	Art	δ_H [ppm]	m	J [Hz]	$^1H^1H$ -COSY	HMBC
2	174.95	C _q					6.09**
3	108.54	C _q					6.09, 7.59**
3a	161.02	C _q					5.33, 6.09
3b	112.61	C _q					5.33, 7.33, 12.18
4	120.68*'	CH	7.33	d	7.80	7.01	7.16
4a	121.29*	C _q					7.01, 7.40, 12.18
5	121.08	CH	7.01	dd	7.80, 7.80	7.16, 7.33	7.40
6	122.77	CH	7.16	dd	7.80, 7.80	7.01, 7.40	7.33
7	113.13	CH	7.40	d	7.80	7.16	7.01
7a	141.33	C _q					7.33, 7.16
8		NH	12.18	s			
8a	156.09	C _q					5.33, 12.18
9	41.48**'	CH	5.33	d	6.72	6.09	6.77**, 6.09
10	87.25	CH	6.09	d	6.72	5.33	5.33
1'		NH	11.42			7.59	
2'	125.29	CH	7.59	d	2.46	11.42	11.42
3'	106.76	C _q					7.59, 7.66
3a'	126.75	C _q					7.01, 7.48, 7.59, 11.42
4'	120.75*'	CH	7.66	d	7.80	7.01	7.17
5'	119.00	CH	7.01	dd	7.80, 7.80	7.17, 7.66	7.48
6'	121.73	CH	7.17	dd	7.80, 7.80	7.01, 7.48	7.66
7'	111.84	CH	7.48	d	7.80	7.17	7.01
7a'	136.54	C _q					7.17, 7.59, 7.66, 11.42
1''		NH	10.97	s		6.77	
2''	123.64	CH	6.77	d	2.40	10.97	5.33, 10.97
3''	109.71	C _q					5.33, 6.09, 6.77, 7.26, 10.97
3a''	126.52	C _q					5.33, 6.77, 6.84, 7.34
4''	118.78	CH	7.26	d	8.04	6.84	7.05
5''	118.87	CH	6.84	dd	8.04, 8.04	7.05, 7.26	7.34
6''	121.31*	CH	7.05	dd	8.04, 8.04	6.84, 7.34	7.26
7''	111.72	CH	7.34	d	8.04	7.05	6.84
7a''	136.31	C _q					6.77, 7.05, 7.26, 10.97

Tabelle 9.1NMR-Werte von **219** (600/150.9 MHz, [D₆]DMSO).*''': Wert aus [D₄]Methanol-¹³C-Spektrum, da in [D₆]DMSO vom Lösungsmittel verdeckt.*': Korrelation nur in [D₄]Methanol-HMBC-Spektrum sichtbar.x, x': Ähnliche ¹³C-Werte tauschbar; * und *': ¹³C-Werte austauschbar.

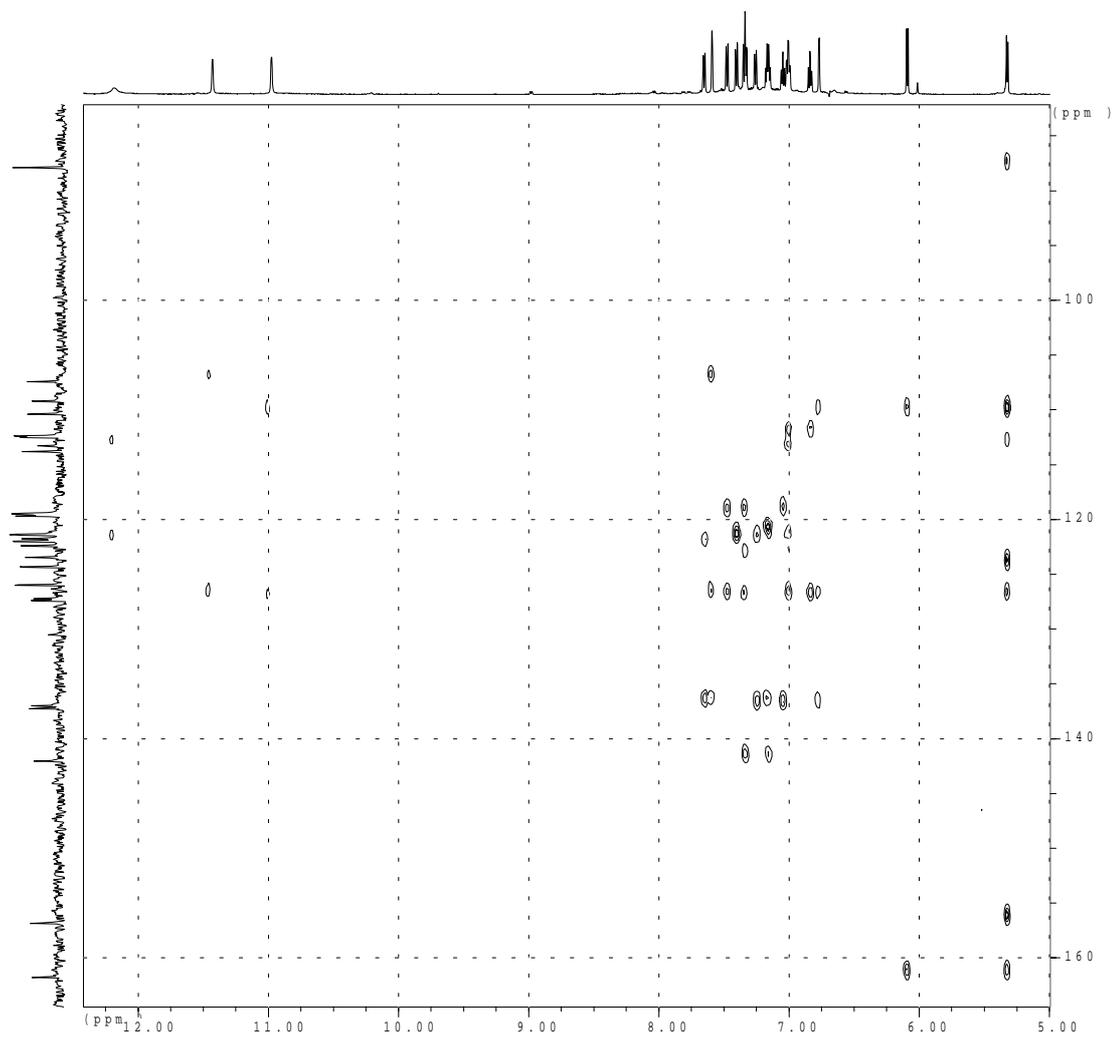


Abbildung 9.5 HMBC-Spektrum von **219** (600/150.9 MHz, [D₆]DMSO).

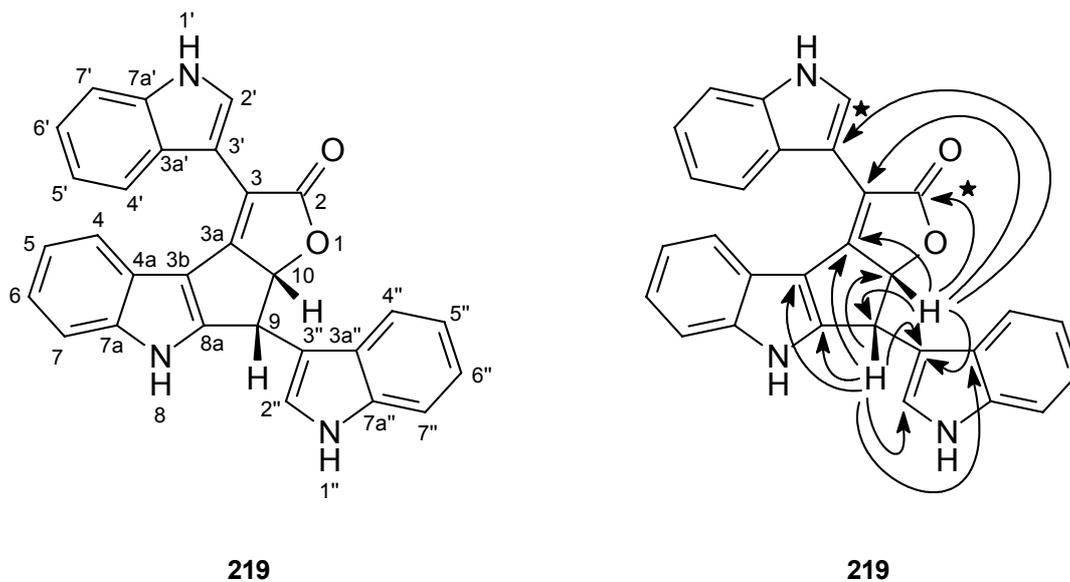


Abbildung 9.6 Strukturvorschlag für Malasseziacitrin (**219**) und ausgewählte HMBC-Korrelationen (600/150.9 MHz, $[D_6]DMSO$).

*: Nur im $[D_4]$ Methanol-HMBC-Spektrum zu sehen.

Aussagen zur Stereochemie lassen sich über das NOESY-Spektrum machen. Es ist sehr gut der NOE-Effekt zwischen den beiden Protonen bei $\delta = 5.33$ und 6.09 zu erkennen. Daraus läßt sich ableiten, daß diese beiden H-Atome räumlich gesehen in dieselbe Richtung stehen müssen. Außerdem sieht man noch NOE-Effekte zwischen den Protonen der einzelnen Indol-Systeme. Mit Hilfe von Kraftfeldrechnungen^[208] lassen sich verschiedene Konformationen berechnen. An der abgebildeten Konformation können alle NOE-Effekte nachvollzogen werden.

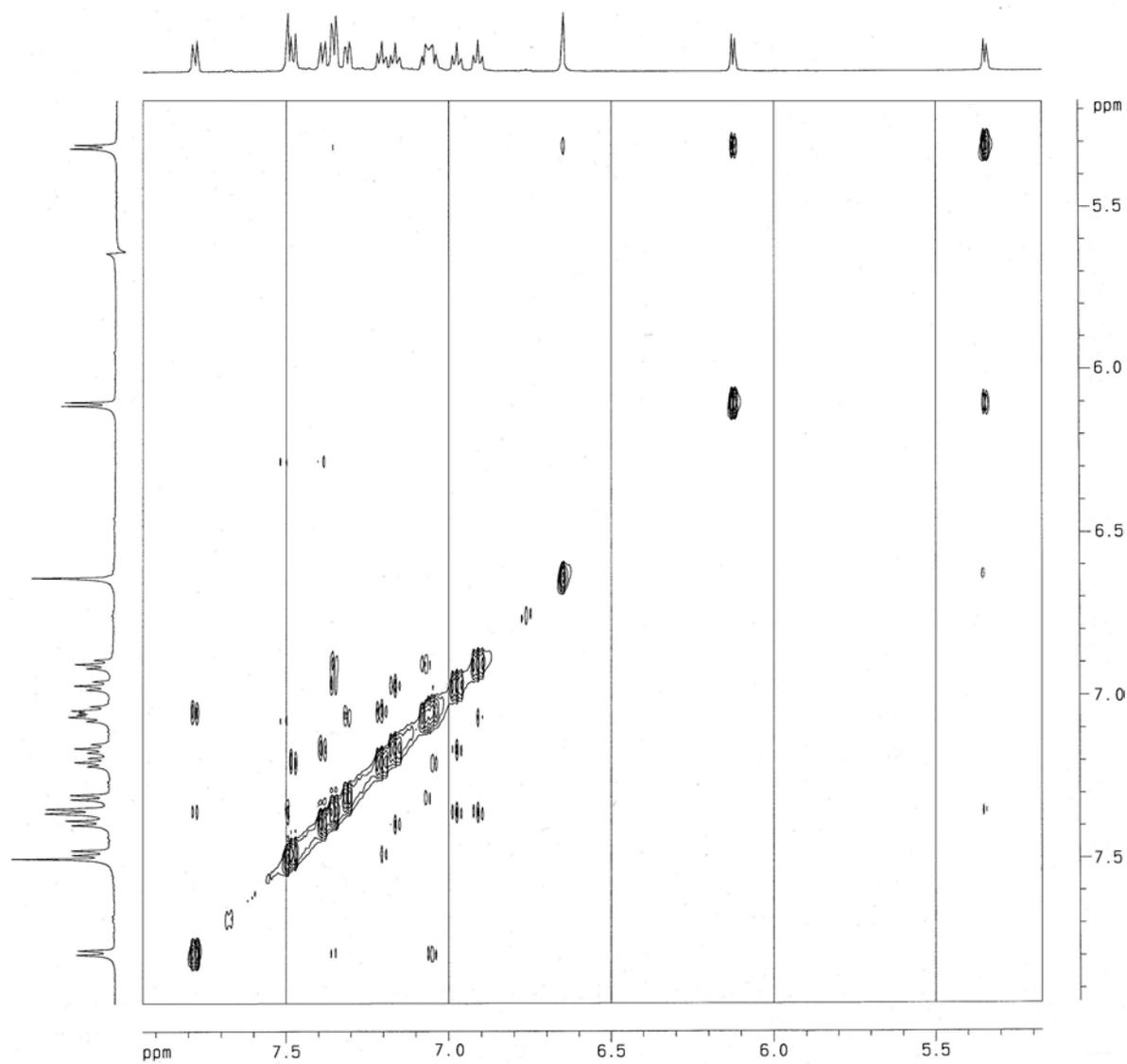


Abbildung 9.7 NOESY-Spektrum von **219** (600 MHz, [D₄]Methanol).

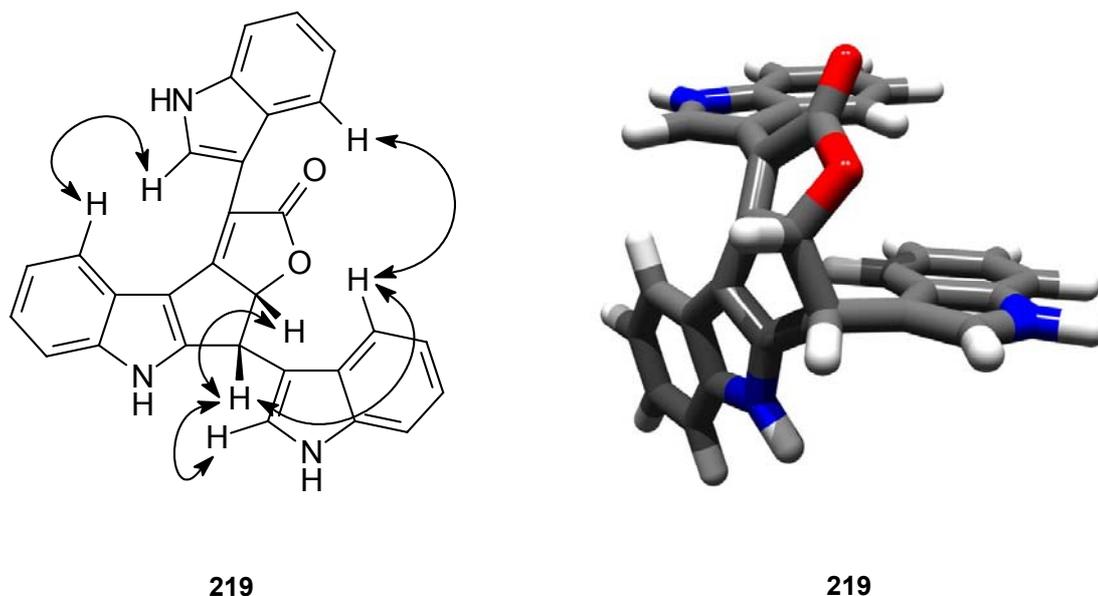


Abbildung 9.8 Ausgewählte NOE-Korrelationen und Abbildung einer Konformation von **219** als Ergebnis von Kraftfeldrechnungen.^[208]

Anhand dieser Informationen können sowohl die Struktur als auch die Stereochemie abgesichert werden. Eine optische Aktivität wird nicht festgestellt. Bei geringen Substanzmengen können kleinere Drehwerte nicht mehr gemessen werden, was in diesem Fall das Nichtvorhandensein der optischen Aktivität erklären könnte. Mit einer größeren Menge sollten sowohl der Drehwert als auch ein CD-Spektrum aufgenommen werden.

9.2 Strukturbeweis durch Vergleichsverbindungen

Dieser neue Strukturtyp ist in der Natur und auf synthetischem Gebiet unbekannt. Eine ähnliche Verbindung konnten *Stierle et al.*^[229] aus *Aspergillus parasiticus* isolieren. Das Sequoiaton A (**220**) zeigt Wirkung gegen eine Reihe von menschlichen Tumorzellen.^[229]

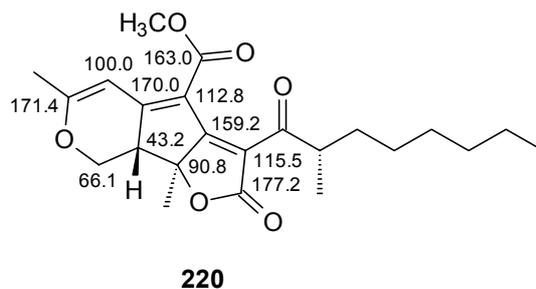


Abbildung 9.9 Ausgewählte ^{13}C -NMR-Werte von **220** (125 MHz, CDCl_3).

Die Verschiebungswerte zeigen große Übereinstimmung mit denen von **219**.

Synthetische Verbindungen, die strukturelle Verwandtschaft zu **219** zeigen, sind auch wenig bekannt. *Demir et al.*^[230] und *Ishii et al.*^[231] konnten die Verbindung **221** synthetisieren. Eine weitere strukturell ähnliche Verbindung wurde von *Zhang et al.*^[232] dargestellt.

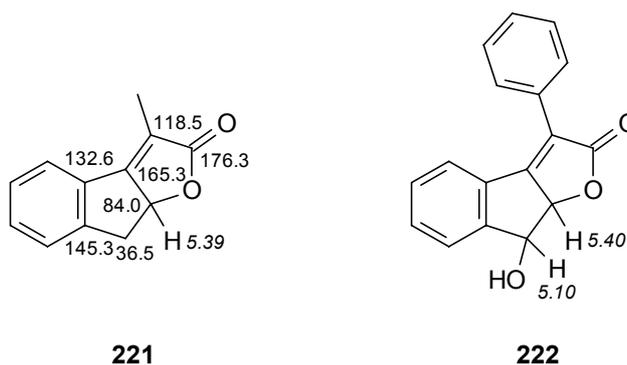


Abbildung 9.10 Ausgewählte ^{13}C - und ^1H -NMR-Werte von **221**^[231] (400/100 MHz, CDCl_3) und **222**^[232] (270 MHz, CDCl_3).

Auch hier zeigt der Vergleich gute Übereinstimmung der spektroskopischen Daten der synthetischen Verbindungen **221** und **222** mit dem Naturstoff **219**.

Der Strukturvorschlag für **219** kann somit als sicher angesehen werden.

9.3 Biosynthetische Überlegungen

Betrachtet man die Verbindung **219** genauer, sind einige Strukturelemente der bisher behandelten Naturstoffe zu erkennen. So könnte Malasseziacitrin (**219**) evtl. aus dem Pityrianhydrid (**29**) entstehen. Analog zur Biosynthese von Staurosporin könnte auch bei

29 eine Carbonylgruppe reduziert werden und die Verbindung **223** mit Indol-3-carbaldehyd (**66**) zu dem Naturstoff **219** reagieren.

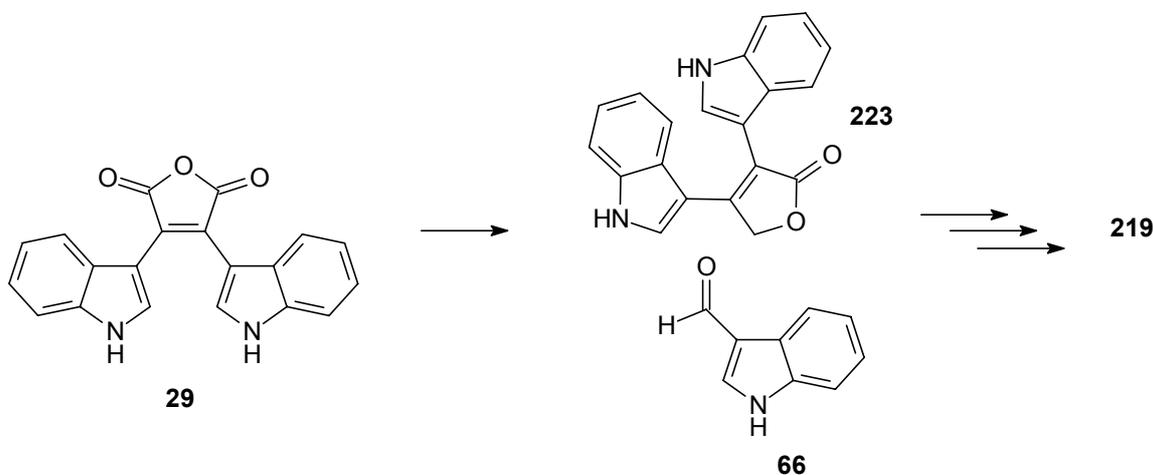


Abbildung 9.11 Mögliche Biosynthese für **219**.

Ein anderer Aufbau könnte über die Verbindung **224** gehen, die den Pulvinonen ähnelt. Dabei würde Indol (**21**) als binucleophiles Teilchen reagieren.

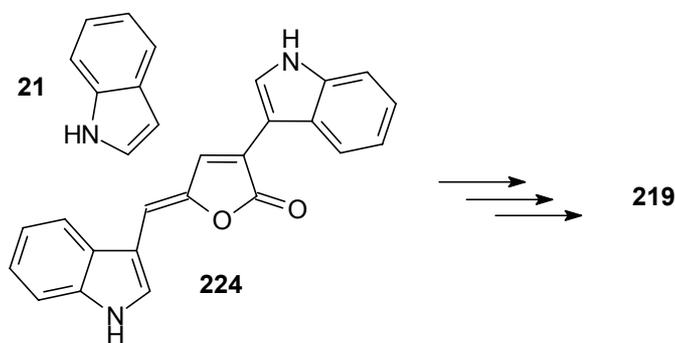


Abbildung 9.12 Möglicher Biosyntheseweg für Malasseziacitrin (**219**).

Die Struktur **219** bietet viele Biosyntheseansatzpunkte. Auch **225** könnte ein Biosynthesevorläufer sein. **225** könnte aus Malassezin (**27**) aufgebaut werden oder aus Malassezindol A (**141**) abgebaut. Durch Verknüpfen mit Indol-3-ylessigsäure (**185**) würde wieder **219** entstehen.

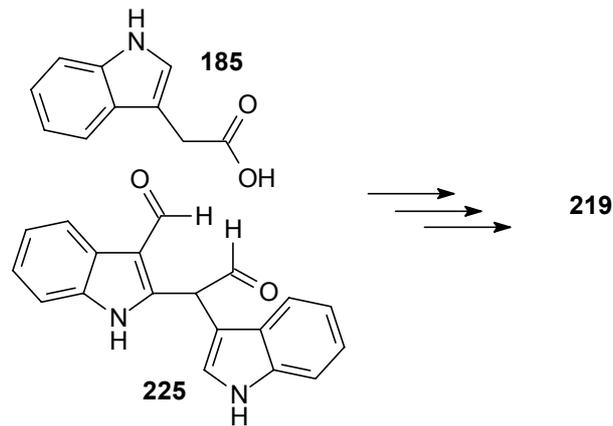


Abbildung 9.13 Weiterer Biosynthesevorschlag für **219**.

Es scheint viele biosynthetische Möglichkeiten zu geben, die Verbindung **219** darzustellen. Eine genaue Aufklärung könnte wichtige Einblicke in die Mechanismen der Biosynthese von *M. furfur* geben. Durch Verfütterung von [2-¹³C]-DL-Tryptophan oder sogar [2,3-¹³C]-DL-Tryptophan würde man mehr über den Aufbau von **219** in Erfahrung bringen.

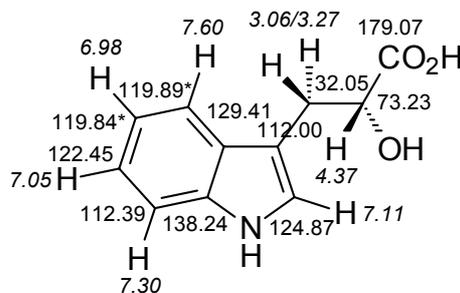
10 Weitere Sekundärmetabolite aus Kulturen von *M. furfur*

10.1 D-Indolylmilchsäure (226)

10.1.1 Struktur von D-Indolylmilchsäure (226)

In den Kulturen von *M. furfur* kann in großen Mengen eine stark polare Substanz gefunden werden. Die Vermutung, daß es sich dabei um nicht umgesetztes L-Tryptophan (**22**) handelt, wird nicht bestätigt. Die farblose Substanz eluiert bereits nach 17 Minuten von einer analytischen RP-18-Säule.

Die farblose Substanz **226** ist sowohl in Wasser als auch in Methanol löslich und hat einen Drehwert von $[\alpha]_D^{25} = -6$ ($c = 0.28$, Wasser). Aus den spektroskopischen Daten erkennt man sehr schnell, daß es sich um ein einfaches Indol-Derivat handeln muß. Die Summenformel $C_{11}H_{11}NO_3$, die sich aus dem EI-Massenpeak von 205 ergibt und das Auftreten einer C-O-Valenzschwingung im IR-Apektrum bei 1095 cm^{-1} deuten auf die D-Indolylmilchsäure (**226**) hin. Dies wird durch Aufnahme von 2D-NMR-Spektren bestätigt.



226

Abbildung 10.1 NMR-Werte (600/150.9 MHz, $[D_4]$ Methanol), und Struktur von **226**.

*: Werte tauschbar.

Sasaki et al. konnten durch Einwirken von Proteusbakterien auf L-Tryptophan (**22**) die D-Indolylmilchsäure (**226**) isolieren.^[233] Die angegebenen Daten stimmen mit der Verbindung **226** überein. *Ehrlich* und *Jacobsen* erhielten dieselbe Verbindung durch

Umsetzung von L-Tryptophan (**22**) mit dem Schimmelpilz *Oidium lactis*.^[234] DL-Indolylmilchsäure ist käuflich erhältlich und zeigt dieselben NMR-Werte.

10.2 Malasseziamilchsäure (**227**)

10.2.1 Struktur von Malasseziamilchsäure (**227**)

Malasseziamilchsäure (**227**) fällt nach dem Lyophilisieren als farbloser Feststoff an und ist in Methanol gut löslich. Das hochaufgelöste ESI-Massenspektrum zeigt einen $[2M-H]^-$ -Peak bei 667.2533, dem die Summenformel $C_{20}H_{18}N_2O_3$ zuzuordnen ist.

Im IR-Spektrum ist die bereits vertraute NH-Valenzschwingung bei 3430 cm^{-1} zu erkennen, daneben Bande für eine Carbonsäure bei 1716 cm^{-1} und die starke Schwingung für den Sechsring des Indols bei 745 cm^{-1} .

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ist im aliphatischen Bereich das ABC-Spinsystem für eine aminosäureartige Teilstruktur zu erkennen und im aromatischen Bereich zwei ABCD-Spinsysteme, die zwei Indolen entsprechen. Ein Dublett bei $\delta = 4.27$ mit einer kleinen Kopplungskonstante von 4.62 Hz läßt sich noch nicht zuordnen.

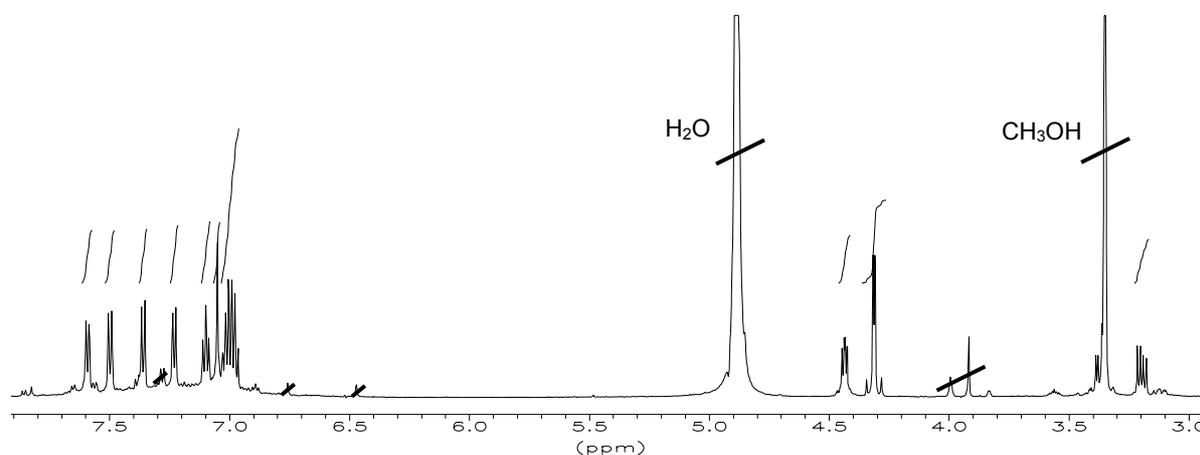


Abbildung 10.2 $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **227** (600 MHz, $[\text{D}_4]$ Methanol).

Betrachtet man das $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum, so sind sowohl die Carboxyl-Funktion bei $\delta = 178.23$ zu sehen als auch die typischen Aromatensignale der beiden Heterocyclen. Auffällig ist die CH-Gruppe bei $\delta = 73.12$ und die stark zu hohem Feld verschobene CH_2 -Gruppe bei $\delta = 23.68$.

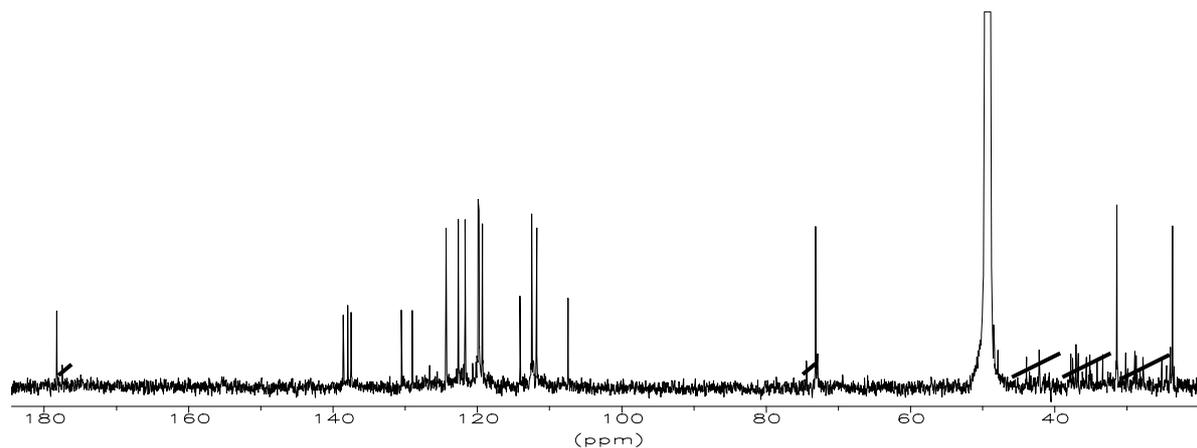


Abbildung 10.3 ^{13}C -NMR-Spektrum von **227** (150.9 MHz, $[\text{D}_4]$ Methanol).

Ein sehr ähnlicher Verschiebungswert für die CH-Gruppe ist bereits von der D-Indolylmilchsäure (**226**) bekannt, und eine stark zu hohem Feld verschobene CH_2 -Gruppe liegt auch im Malassezin (**27**)^[103] vor.

Das $^1\text{H}^1\text{H}$ -COSY-Spektrum bestätigt das Vorliegen zweier Indole, wobei ein Indol-System an der 2- und 3-Position substituiert ist und eines nur an der 3-Position.

Mit Hilfe der HSQC- und HMBC-Spektren und den bereits gewonnenen Informationen können alle Signale eindeutig zugeordnet und folgender Strukturvorschlag abgeleitet werden.

Position	δ_C [ppm]	Art	δ_H [ppm]	m	J [Hz]	$^1H^1H$ -COSY	HMBC
2	137.94	C _q					3.16, 3.34, 4.27
3	107.44	C _q					3.16, 3.34, 4.27, 4.40, 7.55
3a	130.49	C _q					3.16, 3.34, 6.96, 7.19, 7.55
4	119.30	CH	7.55	d	7.26	6.96	6.96
5	119.76	CH	6.96	m		6.96, 7.55	7.19
6	121.68	CH	6.96	m		6.96, 7.19	7.55
7	111.77	CH	7.19	d	7.26	6.96	6.96
7a	137.47	C _q					6.96, 7.55
8	23.68	CH ₂	4.27	pd	4.62	7.01	7.01
9	31.39	CH ₂	3.16	dd	14.46, 7.74	3.34, 4.40	4.40
			3.34	dd	14.46, 5.22	3.16, 4.40	
10	73.12	CH	4.40	dd	7.74, 5.22	3.16, 3.34	3.16, 3.34
11	178.23	C _q					3.16, 3.37, 4.40
2'	124.30	CH	7.01	s		4.27	4.27
3'	114.08	C _q					4.27, 7.01, 7.46
3a'	128.98	C _q					4.27, 6.96, 7.01, 7.46
4'	119.84*	CH	7.46	d	8.28	6.96	7.06
5'	119.91*	CH	6.96	m		7.06, 7.46	7.32
6'	122.62	CH	7.06	dd	8.28, 8.28	6.96, 7.32	7.46
7'	112.43	CH	7.32	d	8.28	7.06	6.96
7a'	138.57	C _q					7.01, 7.06, 7.46

Tabelle 10.1 NMR-Werte von Malasseziamilchsäure (**227**) (600/150.9 MHz, [D₄]Methanol). NH- und OH-Protonen in [D₄]Methanol nicht sichtbar.

*: Werte austauschbar.

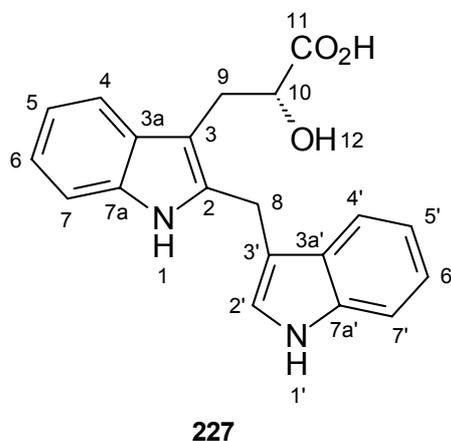


Abbildung 10.4 Strukturvorschlag für Malasseziamilchsäure (**227**).

Bei dieser Verbindung liegt zum einen die Teilstruktur einer D-Indolylmilchsäure (**226**) vor und zum anderen das 2,3'-Methylenbisindolyl-Gerüst des Malassezins (**27**).

Die Stereochemie wird hier wie bei Verbindung **226** gewählt, da ebenfalls ein negativer Drehwert vorliegt und große strukturelle Verwandtschaft besteht.

10.2.2 Verbindungen mit 2,3'-Methylenbisindolyl-Struktur

Diese Verbindung wurde bis jetzt noch nicht in der Literatur beschrieben. Eine ähnlicher Naturstoff aus *M. furfur* ist das bereits erwähnte Malassezin (**27**), das vor kurzem aufgeklärt werden konnte.^[103]

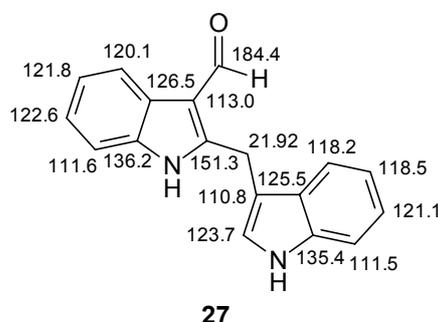


Abbildung 10.5 Malassezin (**27**) aus *Malassezia furfur* (150.9 MHz, [D₆]DMSO/CCl₄).

Die NMR-Werte von **27** stimmen gut mit denen des 2,3'-Methylenbisindolyl-Gerüsts des Malassezins (**27**) überein. Der größere Unterschied der Verschiebung von $\delta = 151.3$ im Malassezin (**27**) gegenüber den $\delta = 137.94$ in **223** ist auf die Konjugation mit der Aldehydgruppe zurückzuführen.

Eine strukturell nahezu identische Verbindung ist das IMT (2-(3'-Indolylmethyl)tryptophan, **228**). IMT (**228**) wurde als Verunreinigung im käuflichen L-Tryptophan (**22**) der japanischen Firma *Showa Denko K.K.* gefunden.^[235] Der epidemische Ausbruch des Eosinophilie-Myalgie-Syndroms (EMS) 1989 in den USA wird mit der oralen Verabreichung des L-Tryptophans (**22**) der Firma *Showa Denko K.K.* und damit von IMT (**228**) in Verbindung gebracht.^[235]

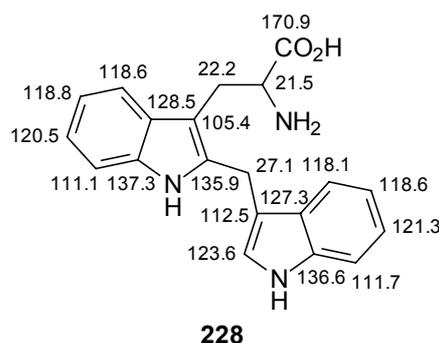


Abbildung 10.6 Struktur von IMT (**228**) (100 MHz, $[D_6]DMSO$).^[235]

Die NMR-Werte stimmen sehr gut mit denen des Naturstoffs **227** überein. Nur der Verschiebungswert von $\delta = 21.5$ für das α -C-Atom weicht stark ab. Dieser muß angezweifelt werden, da bei L-Tryptophan (**22**) der Wert für das α -C-Atom im Bereich von $\delta = 50$ liegt.

Der Vergleich mit diesen beiden Verbindungen bestätigt die Struktur von Malasseziamilchsäure (**227**).

10.3 Malasseziacarbazol A (**229**)

10.3.1 Struktur von Malasseziacarbazol A (**229**)

Malasseziacarbazol A (**229**) fällt nach dem Lyophilisieren als rotgelbes Pulver an. Es zeigt im hochaufgelösten ESI-Massenspektrum einen $[2M-H]^-$ -Peak bei 655.1623, was einer Summenformel von $C_{20}H_{12}N_2O_3$ entspricht. Malasseziacarbazol A (**229**) besitzt die gleiche Summenformel wie Pityrianhydrid (**29**) und Pityrialacton (**35**). Während die beiden EI-Massenspektren von **29** und **35** einen Massenpeak von 328 und Massenverluste von 44 und 28 zeigen, tritt bei **229** im EI-Massenspektrum kein Peak bei 328 auf. Erst der Peak bei 284, was einem Massenverlust von 44 entspricht, ist schwach zu sehen. Gut sichtbar ist in allen drei Spektren das Abbauprodukt mit Masse 256. Malasseziacarbazol A (**229**) muß ein Isomer zu **29** und **35** sein, das in der Masse noch leichter eine CO_2 -Einheit verliert. Das 1H -NMR-Spektrum von Malasseziacarbazol A (**229**) zeigt wie bei **35** zwei ABCD-Spinsysteme im Aromatenbereich.

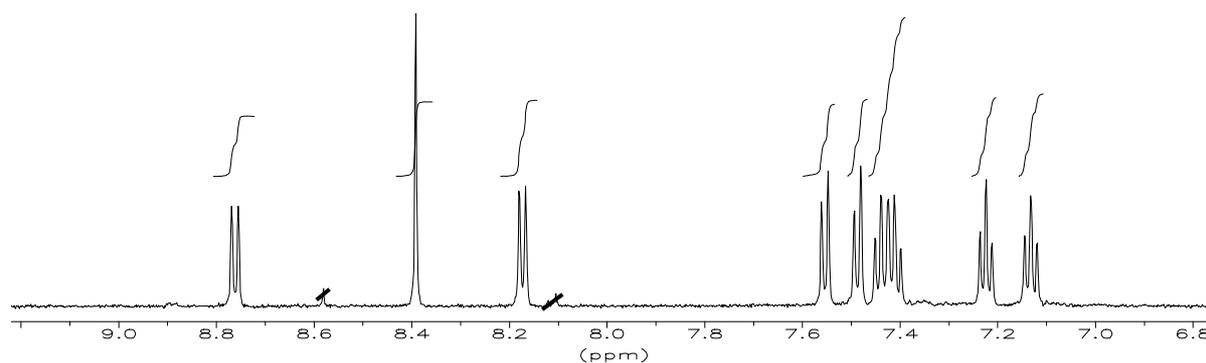


Abbildung 10.7 ^1H -NMR-Spektrum von **229** (600 MHz, $[\text{D}_4]$ Methanol).

Die bisherigen Informationen lassen darauf schließen, daß bei dieser Verbindung zwei Indole vorliegen, die im Unterschied zu Pityrianhydrid (**29**) nicht durch eine symmetrische Einheit verbunden sind.

Das ^{13}C -NMR-Spektrum von **229** zeigt 20 Signale und bestätigt damit die durch das Massenspektrum gefundene Summenformel. Während bei Pityrianhydrid (**29**) nur ein Signal im tiefen Feld erscheint, sind hier wie bei Pityrialacton (**35**) zwei Signale zu sehen ($\delta = 175.83$ und 197.87). Beide Singulets entsprechen Carbonyl-Funktionen.

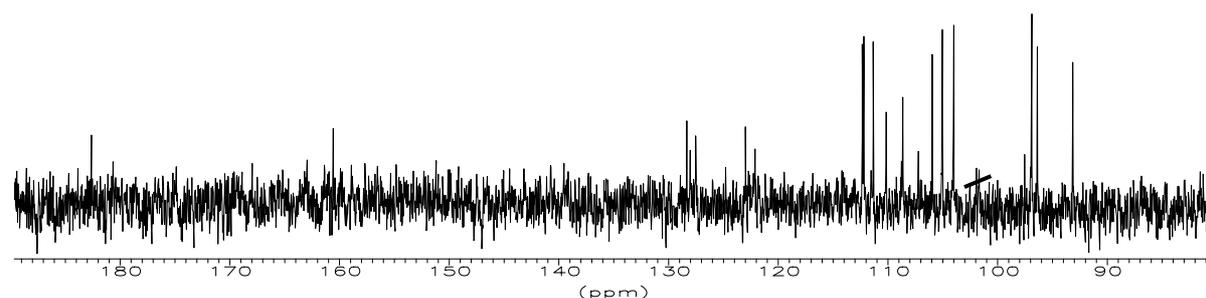


Abbildung 10.8 ^{13}C -NMR-Spektrum von **229** (150.9 MHz, $[\text{D}_4]$ Methanol).

Mit Hilfe des ^1H - ^1H -COSY-Spektrums können die Signale der beiden Spinsysteme den jeweiligen Aromaten zugeordnet werden.

Durch Auswertung des HSQC- und HMBC-Spektrums können alle Signale in den Benzolringen der Indole eindeutig den entsprechenden Kohlenstoffatomen zugeordnet werden, aber nicht in der Verbrückungseinheit. Im Unterschied zu **29** und **35** sind bei **229**

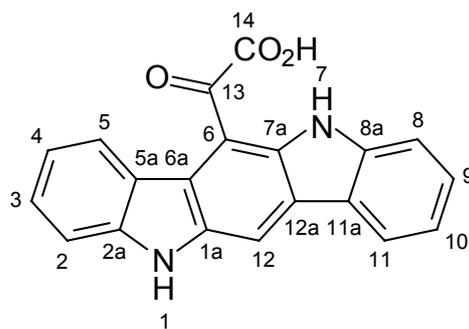
beide Heterocyclen an der 2- und 3-Position substituiert. Durch die Methode der Änderung des D_6 -Delays in den HMBC-Spektren, die bereits bei **35** (Kapitel 4.2.1) und **56** (Kapitel 4.4.1) erfolgreich angewandt wurde, können neue Informationen über die Struktur gewonnen werden. Als beste Zeit für den Delay hat sich bei mehreren Messungen $D_6 = 190$ ms ergeben.

Mit Hilfe dieser Daten kann ein Strukturvorschlag für Malasseziacarbazol A (**229**) erarbeitet werden.

Position	δ_C [ppm]	Art	δ_H [ppm]	m	J [Hz]	$^1H^1H$ -COSY	HMBC
1a	137.39	C _q					
2	111.63	CH	7.50	d	8.28	7.44	7.14, 8.77
2a	143.59	C _q					7.44, 8.77
3	127.59	CH	7.44	m		7.14, 7.50	
4	119.28	CH	7.14	dd	8.28, 8.28	7.44, 8.77	7.50
5	126.59	CH	8.77	d	8.28	7.14	7.44
5a	123.92	C _q					7.14, 7.50
6	112.80	C _q					8.40*
6a	122.50	C _q					8.40
7a	138.25	C _q					8.40
8	112.16	CH	7.57	d	8.34	7.44	7.24, 8.19
8a	142.78	C _q					7.44, 8.19
9	127.45	CH	7.44	m		7.24, 7.57	8.19*
10	120.32	CH	7.24	dd	8.34, 8.34	7.44, 8.19	7.57
11	121.21	CH	8.19	d	8.34	7.24	7.44
11a	123.92	C _q					7.24, 7.57, 8.40
12	108.40	CH	8.40	s			
12a	125.42	C _q					8.19*
13	197.87	C _q					
14	175.83	C _q					

Tabelle 10.2 NMR-Werte von Malasseziacarbazol A (**229**) (600/150.9 MHz, [D₄]Methanol). NH- und OH-Protonen in [D₄]Methanol nicht sichtbar.

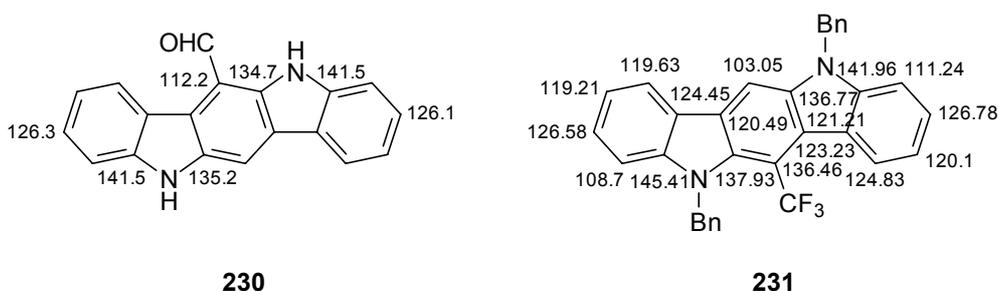
*: Werte nur im HMBC-Spektrum mit Delay $D_6 = 190$ ms sichtbar.

**229****Abbildung 10.9** Strukturvorschlag für Malasseziacarbazol A (**229**).

Bei Malasseziacarbazol A (**229**) liegt ein Indolo[3,2-*b*]carbazol-Grundgerüst vor, das bereits bei der Synthese von Malassezin (**27**) in Kapitel 3.3 behandelt wurde. An der 6-Position ist das Indolo[3,2-*b*]carbazol (**28**) durch eine α -Keto-Säure substituiert. α -Keto-Säuren spalten in der Massenspektroskopie sehr schnell CO_2 ab, deshalb kann erst mit der milden ESI-Methode der Massenpeak bestimmt werden.

10.3.2 Vergleich mit 6-substituierten Indolo[3,2-*b*]carbazolen

Die Struktur des Malasseziacarbazol A (**229**) ist in der Literatur noch nicht behandelt worden. In der Natur wurde bisher nur das Indolo[3,2-*b*]carbazol (**28**) gefunden,^[236] doch ähnliche Verbindungen wurden bereits synthetisiert. Die schwedische Arbeitsgruppe um *Bergman*^[237] konnte die Verbindung **230** erfolgreich synthetisieren. **230** gilt als sehr effizienter Ligand für den Aryl-Hydrocarbon-Rezeptor (AHR),^[237] der bereits mit Malassezin (**27**) Wechselwirkung gezeigt hat. *Biswas et al.*^[238] konnten die Trifluor-Verbindung **231** erfolgreich darstellen.

**230****231****Abbildung 10.10** Ausgewählte ^{13}C -NMR-Werte von **230** und **231**.

Die spektroskopischen Werte stimmen gut mit denen von **229** überein. Die Struktur von Malasseziacarbazol A (**229**) kann als bewiesen angesehen werden. Da **230** und Malassezin (**27**) starke Wechselwirkungen mit dem AHR-Rezeptor zeigen, kann vermutet werden, daß die Verbindung **229** ebenfalls ein guter Ligand für diesen Rezeptor ist.

10.4 Malasseziacarbazol B (**232**)

10.4.1 Struktur von Malasseziacarbazol B (**232**)

Nach dem Lyophilisieren wird Malasseziacarbazol B (**232**) als gelblicher Feststoff erhalten, der sowohl in Methanol als auch in DMSO gut löslich ist.

Im IR-Spektrum ist eine intensive NH-Valenzschwingung bei 3435 cm^{-1} und die Bande bei 745 cm^{-1} für einen 1,2-disubstituierten Aromaten zu erkennen. Eine starke Schwingung bei 1631 cm^{-1} deutet auf eine Carbonsäure hin.

Das (-)-ESI-Massenspektrum zeigt einen $[M-H]^-$ -Peak bei 341. Daraus ergibt sich eine Summenformel von $C_{21}H_{14}N_2O_3$.

Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **232** zeigt vor allem Signale im aromatischen Bereich, aber auch drei Signale im tiefen Feld. Die beiden Singuletts bei $\delta = 10.16$ und 11.21 sind zwei indolischen NH-Protonen zuzuordnen. Auffällig ist der breite Peak bei $\delta = 17.10$. Solche extremen Verschiebungen zum tiefen Feld werden nur durch Wasserstoffbrücken-Bindungen erreicht.

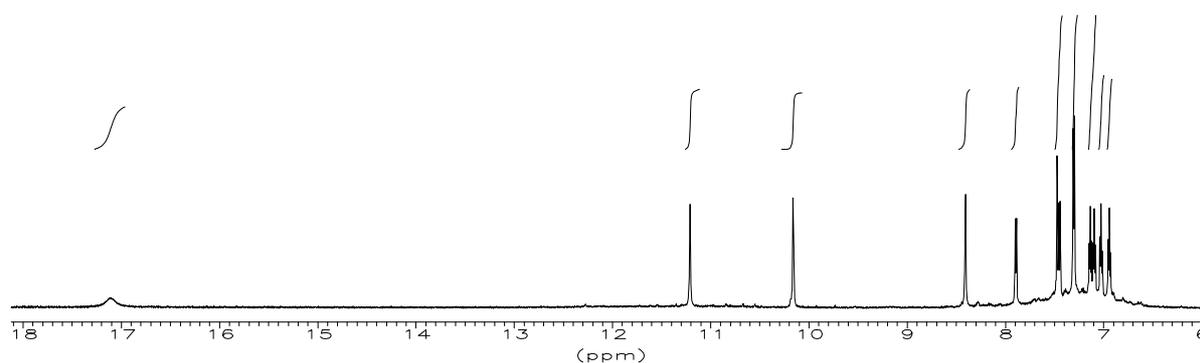


Abbildung 10.11 $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **232** (600 MHz, $[D_6]$ DMSO).

Das $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum kann nicht aufgenommen werden, da selbst nach mehreren Tagen Meßzeit die Signale nicht über das Grundrauschen hinausragen. Aufgrund der

geringen Substanzmenge werden die NMR-Werte für die Kohlenstoffatome aus dem HMBC-Spektrum entnommen.

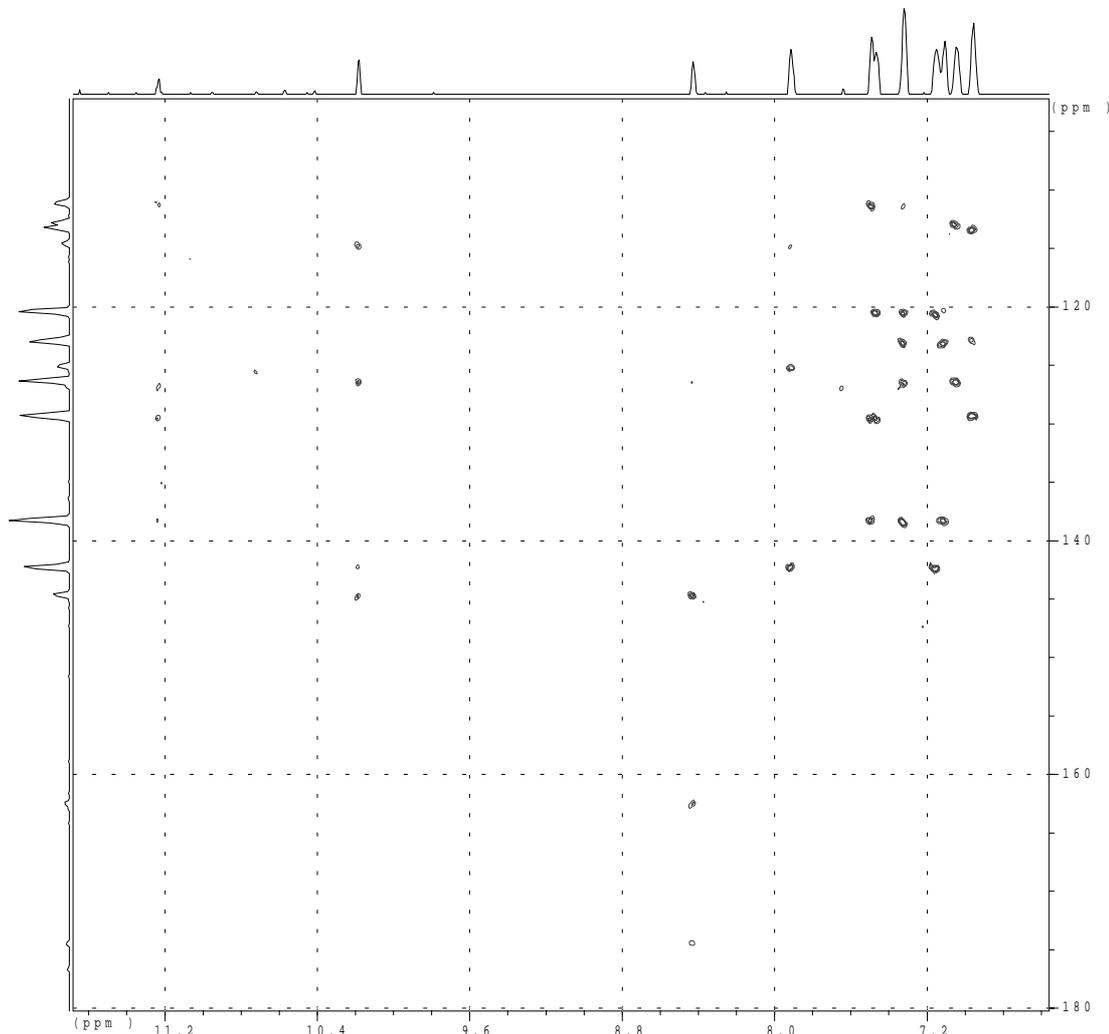


Abbildung 10.12 HMBC-Spektrum von **232** (600/150.9 MHz, [D₆]DMSO).

Am ¹H-NMR-Spektrum läßt sich schon erkennen, daß zwei Indole in der Verbindung vorliegen müssen. Dies wird durch das ¹H¹H-COSY-Spektrum bestätigt. Außerdem kann aus diesen Informationen abgeleitet werden, daß ein Indolsystem über die 2- und 3-Position verknüpft ist, während das andere nur an der 3-Position substituiert ist.

Mit Hilfe der HSQC- und HMBC-Spektren wird ein eindeutiger Strukturvorschlag erarbeitet.

Position	δ_C [ppm]	Art	δ_H [ppm]	m	J [Hz]	$^1H^1H$ -COSY	HMBC
1	104.89*	C _q					
1a	142.50	C _q					8.40, 10.16
2	160.32	C _q					8.40
3	104.89*	C _q					
4	122.79	CH	8.40	s			
4a	112.74	C _q					7.89, 10.16
5	118.42	CH	7.89	d	7.38	7.02	7.13
5a	124.25	C _q					7.02, 7.30, 8.40, 10.16
6	118.42	CH	7.02	dd	7.38, 7.38	7.13, 7.89	7.30
7	122.93	CH	7.13	dd	7.38, 7.38	7.02, 7.30	7.89
8	110.84	CH	7.30	d	7.80	7.13	7.02
8a	140.27	C _q					7.13, 7.89, 10.16
9		NH	10.16	s			
10		OH	17.10				
11	172.12	C _q					8.40
1'		NH	11.21	s		7.47	
2'	124.71	CH	7.47	s		11.21	11.21
3'	109.31	C _q					7.30, 11.21
3a'	127.09	C _q					6.94, 7.45, 11.21
4'	121.04	CH	7.30	d	7.80	6.94	7.09
5'	118.42	CH	6.94	dd	8.28	7.09, 7.30	7.45
6'	120.97	CH	7.09	dd	8.28, 8.28	6.94, 7.45	7.30
7'	111.28	CH	7.45	d	8.28	7.09	6.94
7a'	136.12	C _q					7.09, 7.30, 7.47, 11.21

Tabelle 10.3 NMR-Werte von **232** (600/150.9 MHz, [D₆]DMSO).

*: Wert aus [D₄]Methanol HMBC-Spektrum. Dieser Wert kann nicht eindeutig der Position 3 oder 1 zugeordnet werden.

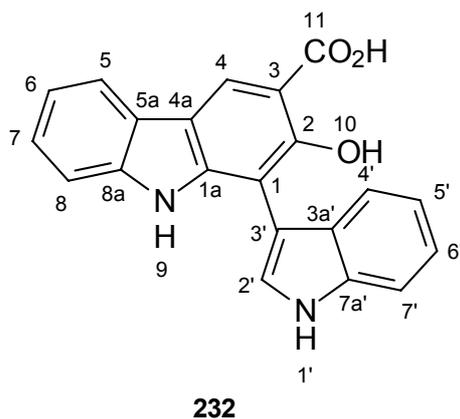


Abbildung 10.13 Strukturvorschlag für Malasseziacarbazol B (**232**).

Im HMBC-Spektrum, das in $[D_4]$ Methanol aufgenommen wird, kann eine Korrelation von dem Proton bei $\delta = 8.40$ zu einem Kohlenstoffatom bei $\delta = 104.89$ beobachtet werden. Dabei kann es sich um eine 2J -Kopplung des Protons zu dem C-Atom an Position 3 oder eine 4J -Kopplung zu dem C-1-Atom handeln. Eine eindeutige Zuordnung kann nicht erfolgen. Da die Aufnahme eines ^{13}C -NMR-Spektrum an der geringen Substanzmenge scheitert, kann der Wert für das fehlende Kohlenstoffatom auch nicht bestimmt werden. In dieser Verbindung liegt ein Carbazol-Grundgerüst vor, das an drei Stellen substituiert ist. Das Carbazol ist auch eine Teilstruktur des Naturstoffs **229**.

10.4.2 Naturstoffe mit Carbazol-Teilstruktur

Carbazole sind in der Natur bekannt, aber keine, die wie Malasseziacarbazol B (**232**) an der 1-Position durch einen Heterocyclus substituiert sind. 1996 konnten Japaner aus dem südasiatischen Strauch *Clausena excavata* BURM. f. (Rutaceae) das Clausolin E (**233**) isolieren.^[239] Die Blätter- und Rindenextrakte des Strauchs werden in der Volksmedizin gegen Schlangenbisse und Bauchschmerzen verwendet.^[239] Aus derselben Pflanze konnte Wu das Mukonidin (**234**)^[240] gewinnen, das strukturell größere Verwandtschaft zu **232** zeigt und das Clausin U (**235**)^[241].

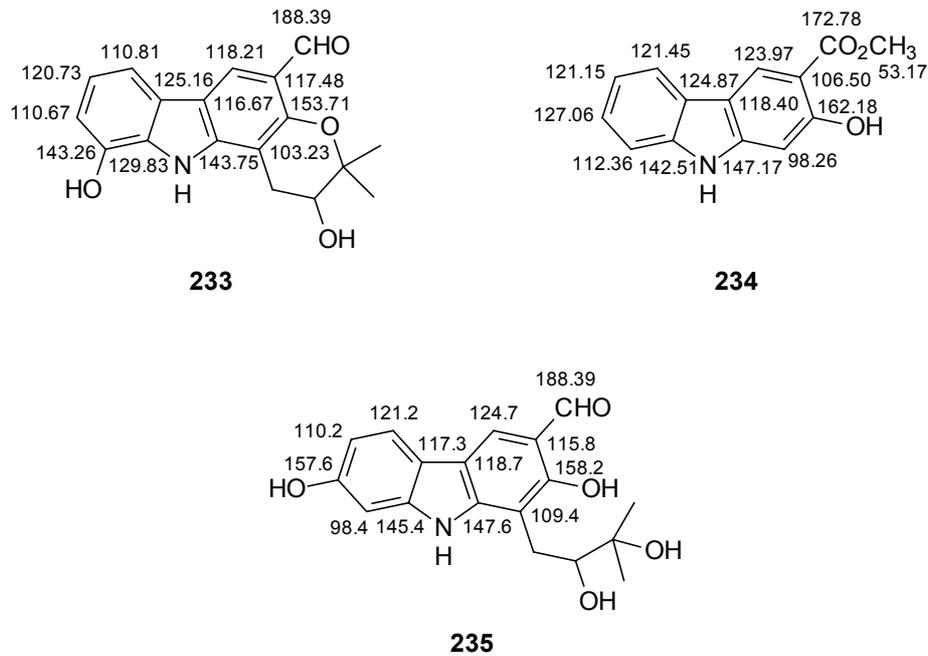


Abbildung 10.14 Clauszolin E (**233**) (100 MHz, [D₆]DMSO), Mukonidin (**234**) und Clausin U (**235**) (100 MHz, [D₆]Aceton) aus *Clausena excavata*.

Die Verbindungen zeigen gute Übereinstimmung in den NMR-Werten. Für die Naturstoffe **233** und **235** weichen die Verschiebungswerte für das Indol-System etwas ab, da eine Hydroxy-Gruppe als zusätzlicher Substituent vorliegt. Auch durch die Vergleichsverbindungen kann keine genaue Aussage über die Lage des NMR-Wertes bei $\delta = 104.89$ getroffen werden. Der Strukturvorschlag wird aber bestätigt.

11 Biosynthetische Überlegungen zu ausgewählten Sekundärmetaboliten

Wie bereits in Kapitel 3.3 erwähnt, sind im Rohextrakt einige einfache Indol-Derivate nachgewiesen worden. ^[101] Dazu gehören z.B. Indol-3-carbaldehyd (**66**) und Indol-3-yl-essigsäuremethylester (**156**). Dies läßt vermuten, daß auch die in dem folgenden Biosyntheschema verwendeten Indol-Derivate Indol-3-ylglyoxylsäure (**236**), Tryptamin (**132**) und Indol-3-ylglyoxylaldehyd (**238**) vorkommen könnten.

Von L-Tryptophan (**22**) ausgehend kann die Brenztraubensäure (**68**) dargestellt werden und durch Reduktion die D-Indolylmilchsäure (**226**).

Die biosynthetische Darstellung von Pityriacitrin (**117**) läuft vermutlich über eine Decarboxylierung des L-Tryptophans (**22**) zum Tryptamin (**132**) ab. Tryptamin könnte in einer *Pictet-Spengler*-Reaktion mit dem Aldehyd **238** den Ringschluß vollziehen und anschließende Dehydrierung würde den Naturstoff **117** ausbilden.

Als Ausgangssubstanzen des weiteren Biosyntheseweges werden L-Tryptophan (**22**) und Indol-3-ylglyoxylsäure (**236**) angenommen. Die Säure **236** sollte durch Decarboxylierung und zweifache Oxidation aus dem L-Tryptophan (**22**) entstehen.

Beide Verbindungen könnten zu **237** reagieren. Durch einen einfachen, peptidartigen Ringschluß würde sich Malassezindol B (**146**) bilden und durch reduktive Entfernung der Hydroxylgruppe das Malassezindol A (**141**).

Auf einem anderen Weg könnte von **237** zuerst reduktiv die Hydroxylgruppe abgespalten und anschließend die Aminogruppe in eine Keto-Funktion umgewandelt werden. Die neu entstandene Verbindung **239** würde nun decarboxyliert und zum Tricarbonyl **240** oxidiert werden. **240** sollte leicht zu Malasseziacarbazol A (**229**) cyclisieren.

239 könnte auch durch einfache Decarboxylierung und anschließende Reduktion der Ketogruppe in die Malasseziamilchsäure (**227**) überführt werden. Diese würde wiederum durch den Abbau der Seitenkette das Malassezin (**27**) ergeben.

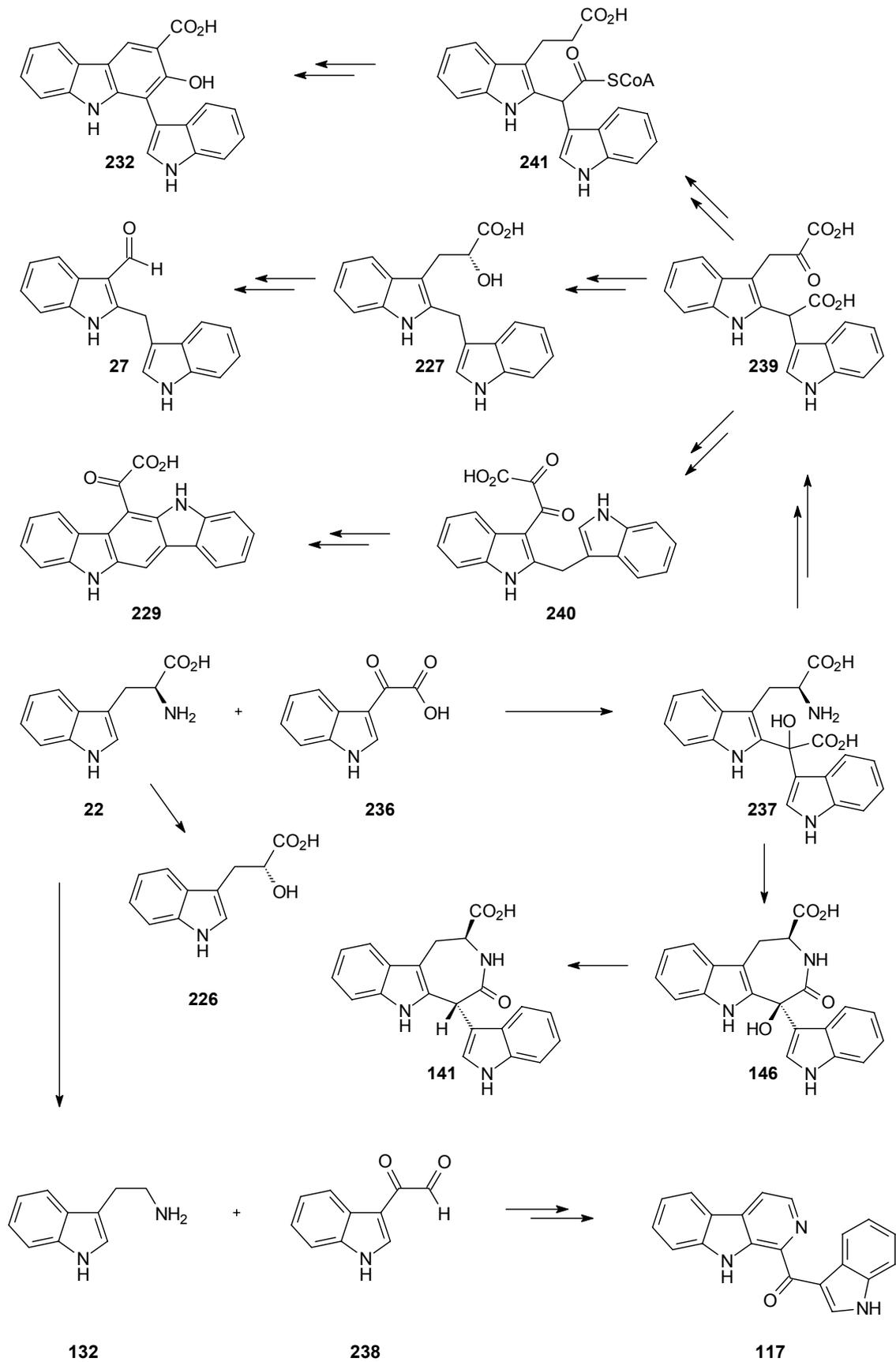


Abbildung 11.1 Überlegungen zu den biosynthetischen Zusammenhängen.

Ebenfalls von der Zwischenstufe **239** scheint die Biosynthese des Naturstoffs Malassezia-carbazol B (**232**) auszugehen. Durch Aktivierung der Carbonsäure, beispielsweise mit Coenzym A, und Entfernung der Keto-Funktion könnte sich ein Enol ausbilden, das am aktivierten Ester angreift. Dies würde die Bildung eines Sechsrings zur Folge haben, der durch Dehydrierung leicht aromatisiert werden könnte.

Anhand dieses Biosyntheschemas kann gezeigt werden, daß die Naturstoffe der Kapitel 7,8 und 10 vermutlich aus denselben Biosynthesewegen stammen.

Eine Beteiligung von Indoleninen als Zwischenstufe bei der Biosynthese kann auch in Betracht gezogen werden, wird aber in diesem Schema nicht behandelt.

Experimenteller Teil

12 Geräte und Materialien

Schmelzpunkte

Büchi Schmelzpunktapparate SMP 535 und B-540, sowie Reichert Thermovar Mikroheiztisch. Die angegebenen Werte sind unkorrigiert.

UV/VIS-Spektren

Perkin-Elmer Lambda 16 Spektrophotometer und HP 8452A Dioden Array Spectrometer der Firma Hewlett Packard. Die Proben wurden in Quarzglasküvetten bei Raumtemperatur gemessen. Angegeben werden die Wellenlänge λ der Absorptionsmaxima in nm und die dekadischen Logarithmen der Extinktionskoeffizienten ϵ .

CD-Spektren

Instruments S.A. Jobin Yvon CD-6-Dichrograph. Die Proben wurden in Quarzglasküvetten bei Raumtemperatur gemessen. Es wird die Wellenlänge der Maxima, Minima und Nulldurchgänge der CD-Kurven in nm, sowie deren differentielle Absorbanz $\Delta\epsilon$ und das Lösungsmittel angegeben.

Optische Aktivitäten

Polarimeter 241 der Firma Perkin-Elmer. Als Lichtquelle dient eine Natriumdampflampe. Die Proben-Konzentration c ist in g/100 ml angegeben.

IR-Spektren

FT 1000 Fourier-Spektrometer und 1420 Infrared Spektrometer der Firma Perkin-Elmer. Die Wellenzahlen $\tilde{\nu}$ sind in cm^{-1} angegeben und die Bandenintensitäten werden als stark (s), mittel (m), schwach (w) und breit (br) beschrieben. Die Substanzen wurden als KBr-Preßling oder als Film auf KBr vermessen.

¹H-NMR-Spektren

ARX 300 (300.13 MHz) und AMX 600 (600.19 MHz) der Firma Bruker. Die Angabe der chemischen Verschiebung δ erfolgt in ppm, die der Kopplungskonstanten J in Hz. Das angegebene Lösungsmittel wurde als interner Standard verwendet (CDCl₃: 7.26, CD₂Cl₂: 5.32, [D₆]Aceton: 2.04, [D₆]DMSO: 2.49, [D₄]Methanol: 3.35, [D₃]Acetonitril: 1.93 ppm). Die Signalmultiplizität wird mit s (Singulett), d (Dublett), dd (Dublett von Dubletts), ddd (Dublett von Dubletts von Dubletts), dddd (Dublett von Dubletts von Dubletts von Dubletts), t (Triplet), q (Quartett), quint (Quintett) und m (Multipllett) abgekürzt. Verbreiterte Signale sind mit „br“ gekennzeichnet.

¹³C-NMR-Spektren

ARX 300 (75.5 Mhz) und AMX 600 (150.9 MHz) der Firma Bruker. Das angegebene Lösungsmittel wurde als interner Standard verwendet (CDCl₃: 77.0, CD₂Cl₂: 53.5, [D₆]Aceton: 29.8, [D₆]DMSO: 39.7, [D₄]Methanol: 49.3, [D₃]Acetonitril: 1.30 ppm). Die Angabe der chemischen Verschiebung δ erfolgt in ppm. Für gekoppelte ¹³C-NMR-Spektren sind die Kopplungskonstanten J in Hz angegeben. Die Multiplizitäten werden wie bei den ¹H-NMR-Spektren abgekürzt.

2D-NMR-Experimente

ARX 300 und AMX 600 der Firma Bruker.

Massenspektren

MAT 90 und MAT 95 Q der Firma Finnigan. Angegeben werden die Ionisierungsmethode, die Massenzahl m/z und die relativen Intensitäten in %. Bei hochaufgelösten Massen wird zusätzlich die Summenformel und die berechnete Masse des Molekülions angegeben.

Im EI-Modus betrug die Quelltemperatur 200 °C und die Elektronenenergie 70 eV. FAB-Proben wurden auf Stahl-Target in m-Nitrobenzylalkohol-, Glycerin- oder Thioglycerin-Matrix gelöst und mit einem Cs⁺-Ionenstrahl von 20 kV (MAT 95 Q) oder mit einer 8 kV Ar-Kanone (MAT 90) ionisiert. ESI-MS wurde mit einem quellengekoppelten API-Interface II der Firma Finnigan mit ESI- und APCI-Kopf durchgeführt. Die Spraykapillarenspannung betrug 3 kV und die Heizkapillarens-temperatur 250 °C. Als Lösungsmittel wurden Methanol, Acetonitril/Wasser 9/1 und Methanol/Wasser 9/1 mit einem Fluß von 10 µl/min und einem Sheathgasdruck von 5 psi Stickstoff verwendet.

Elementaranalysen

Die Elementaranalysen wurden im Mikroanalytischen Laboratorium des Institutes für Organische Chemie der LMU München durchgeführt. Kohlenstoff und Wasserstoff wurden mit einem Analysenautomaten der Firma Heraeus bestimmt.

Analytische Dünnschichtchromatographie

DC-Aluminiumfolien (Kieselgel 60 F₂₅₄) der Firma Merck. Zur Detektion der Banden diente je nach Erfordernis UV-Licht der Wellenlänge 254 bzw. 366 nm.

Säulenchromatographie

Kieselgel 60 (Korngröße 40–63 µm) der Firma Merck. Die Chromatographie wurde unter Druck durchgeführt. Die jeweiligen Eluenten werden angegeben.

Analytische HPLC-Messungen

Anlage der Firma Waters, ausgerüstet mit 510 HPLC Pumpe, Waters 996 Photodiode Array Detector, Waters 717plus Autosampler (10 °C) und Säulenofen K5 (Firma Techlab, Erkerode, 20 °C). Zur Auswertung diente ein Rechner NEC Image 466 mit Millennium Version 2.10. Als Trennsäule diente eine Nucleosil 100-RP-18, 5 µm (4 × 250 mm).

13 Arbeitsvorschriften zu Kapitel 3

13.1 Kultivierung

Verwendet wird der *M. furfur*-Referenzstamm CBS 1878. Die Stammhaltung erfolgt auf modifiziertem Dixon-Agar nach *Guého et al.*^[25] Das Medium zur Pigmentinduktion besteht aus einer Mischung aus 30.0 ml Tween[®] 80 ultra der Firma Sigma, 970 ml Wasser bidest. und 20.0 g Agar der Firma Merck bei einem pH = 5.5. Nach Autoklavieren und Abkühlen auf 50 °C wird das Medium mit 3.00 g L-Tryptophan (**22**) der Firma Sigma versetzt und zu jeweils 10.0 ml in sterile Petrischalen (10 cm Durchmesser) gegossen.^[100] Für die Gewinnung größerer Rohextraktmengen wird CBS 1878 mit einem sterilen Tupfer auf das Agarmedium ausgestrichen. Die Inkubation beträgt 14 Tage bei 30 °C.

13.2 Isolierung

Der Inhalt der Petrischalen wird zerkleinert und mit Essigsäureethylester der Firma Merck über zwölf Stunden extrahiert. Der Extrakt wird über Glaswolle abfiltriert, mit einem gleichen Volumen Wasser gewaschen und das Lsgm. i. Vak. entfernt.

Der Rohextrakt wird über Gelchromatographie (Länge ca. 525 mm) an Sephadex LH-20 der Firma Sigma vorgereinigt. Als Laufmittel dient Methanol (Fluß etwa 20 ml/min), die Detektion erfolgt unter UV-Licht bei 254 nm. Die einzelnen Fraktionen beinhalten etwa 3–5 Banden.

Die dünnschichtchromatographische Auftrennung der Einzelfraktionen erfolgt auf Kieselgel 60 Platten der Firma Merck mit dem Laufmittel Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3. Für die Dünnschichtchromatographie steht ein Camag-Linnomat IV zur Verfügung, welcher eine standardisierte und rationelle Probenaufgabe insbesondere auch für die präparativen Dünnschichtchromatographie ermöglicht.

Für präparative Zwecke wird die stationäre Phase der erhaltenen Banden von den Platten gekratzt und mit Essigsäureethylester und Wasser bidest. extrahiert. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet, abzentrifugiert, unter einem Stickstoffstrom bei 40°C in einem Heizblock getrocknet und bei –20 °C gelagert.

Die Zusammensetzung der mittels Gelchromatographie und präparativer Dünnschichtchromatographie gewonnenen Fraktionen des Rohextraktes werden durch analytische HPLC untersucht. Routinemäßig werden Reversed-Phase-Säulen (RP-8, RP-18, 4 × 250

mm) verwendet. Elution erfolgt isokratisch oder mittels Niederdruck-Gradient. Als mobile Phase wird überwiegend Acetonitril-Wasser eingesetzt, wobei in Hinblick auf die Übertragbarkeit auf die präparative Trennung soweit wie möglich auf den Zusatz von Pufferstoffen verzichtet werden sollte. Die Detektion eluierter Substanzen erfolgt zumeist bei 220 nm, kann aber an den jeweiligen Einzelfall optimal angepaßt werden. Für fluoreszierende Verbindungen wird zusätzlich zum UV-Detektor ein Fluoreszenzdetektor (Fluoromonitor III, LDC-Milton-Roy) eingesetzt.

Die in der analytischen HPLC optimierten Trennbedingungen können auf die präparative HPLC übertragen werden. Durch präparative HPLC können die trotz Vorreinigung noch recht komplexen Fraktionen (durchschnittlich 5–10 Komponenten nach bisheriger Erfahrung) über einen Gradienten mit einer LiChrospher-RP-18 Säule (30 × 250mm) und einer LiChrosorb-RP-18 Vorsäule getrennt und rein dargestellt werden. Zur Trennung wird folgendes System verwendet:

Trennsystem 1 Laufmittel A: Wasser
 Laufmittel B: Acetonitril
 Gradient: Start: 100% A, 180 min: 100% B
 Flußrate: 5ml/min

Da keine einzelnen Peaks zu erkennen sind, erfolgt die Fraktionierung nach visuellen Kriterien, wie Farbe, Fluoreszenz bei 340 nm und Absorption im UV bei fehlender Farbe. Die eluierenden Verbindungen werden mittels Fraktionensammler (Super Frac, Pharmacia Biotech) aufgefangen und lyophilisiert (Lyovac GT2). Anschließend wird mit einem zweiten Gradienten weiter aufgetrennt, wobei folgende Trennsysteme verwendet werden:

Trennsystem 2 Laufmittel A: Wasser
 Laufmittel B: Acetonitril
 Gradient: Start: 50% A und 50% B, 180 min: 20% A und 80% B
 Flußrate: 5ml/min

Trennsystem 3 Laufmittel A: Wasser
 Laufmittel B: Acetonitril
 Gradient: Start: 100% A, 180 min: 60% A und 40% B
 Flußrate: 5ml/min

Trennsystem 4	Laufmittel A:	Wasser
	Laufmittel B:	Acetonitril
	Gradient:	Start: 60% A und 40% B, 180 min: 40% A und 60% B
	Flußrate:	5ml/min
Trennsystem 5	Laufmittel A:	Wasser
	Laufmittel B:	Acetonitril
	Gradient:	Start: 60% A und 40% B, 180 min: 30% A und 70% B
	Flußrate:	5ml/min
Trennsystem 6	Laufmittel A:	Wasser
	Laufmittel B:	Acetonitril
	Gradient:	Start: 50% A und 50% B, 180 min: 100% B
	Flußrate:	5ml/min
Trennsystem 7	Laufmittel A:	Wasser
	Laufmittel B:	Acetonitril
	Gradient:	Start: 100% A, 180 min: 70% A und 30% B
	Flußrate:	5ml/min
Trennsystem 8	Laufmittel A:	Wasser
	Laufmittel B:	Acetonitril
	Gradient:	Start: 100% A, 180 min: 80% A und 20% B
	Flußrate:	5ml/min
Trennsystem 9	Laufmittel A:	Wasser
	Laufmittel B:	Acetonitril
	Gradient:	Start: 50% A und 50% B, 180 min: 30% A und 70% B
	Flußrate:	5ml/min
Trennsystem 10	Laufmittel A:	Wasser
	Laufmittel B:	Acetonitril
	Gradient:	Start: 80% A und 20% B, 180 min: 50% A und 50% B
	Flußrate:	5ml/min

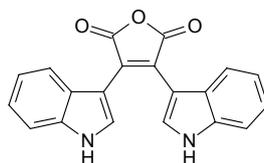
Trennsystem 11 Laufmittel A: Wasser
Laufmittel B: Acetonitril
Gradient: Start: 90% A und 10% B, 180 min: 85% A und 15% B
Flußrate: 5ml/min

Trennsystem 12 Laufmittel A: Wasser
Laufmittel B: Acetonitril
Gradient: Start: 55% A und 45% B, 180 min: 45% A und 55% B
Flußrate: 5ml/min

Bei Bedarf wird eine weitere Reinigung mit einem der oben erwähnten Trennsysteme durchgeführt.

14 Arbeitsvorschriften und Experimentelle Daten zu Kapitel 4

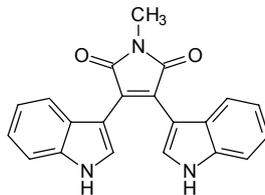
14.1 Pityrianhydrid (29)



Die Verbindung, aus der DC-Bande mit R_f -Wert 0.46 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3), eluiert nach 54 Minuten von der analytischen RP-18-Säule.

Die isolierte Menge stammt aus 214 Petrischalen. Die Substanz wird mittels präparativer HPLC (Trennsysteme 1 und 2) gereinigt.

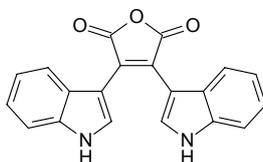
Ausbeute	0.85 mg eines orangen Feststoffes
Schmp.	227–230 °C (Lit. ^[109] 229 °C)
R_f -Wert	0.46 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} (log ϵ) = 277 (3.99), 376 (3.72), 452 nm (3.95).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3386 (s), 3060 (w), 1819 (m), 1748 (s), 1700 (w), 1630 (m), 1614 (m), 1529 (s), 1426 (s), 1338 (w), 1256 (s), 1179 (m), 1126 (m), 1014 (w), 932 (w), 816 (w), 742 (s), 596 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	([D ₆]Aceton, 600 MHz): δ = 6.70 (dd, 3J = 8.04 Hz, 3J = 8.04 Hz, 2 H), 6.96 (d, 3J = 8.04 Hz, 2 H), 7.04 (dd, 3J = 8.04 Hz, 3J = 8.04 Hz, 2 H), 7.46 (d, 3J = 8.04 Hz, 2 H), 7.95 (s, 2 H), 11.04 (s, 2 H, br).
$^{13}\text{C-NMR}$	([D ₆]Aceton, 150.9 MHz): δ = 106.65 (2 C), 112.65 (2 CH), 120.90 (2 CH), 122.40 (2 CH), 123.20 (2 CH), 126.30 (2 C), 129.35 (2 C), 130.94 (2 CH), 137.20 (2 C), 167.53 (2 C).
EI-MS	m/z (%) = 329 (20), 328 (93) [M] ⁺ , 260 (8), 259 (17), 257 (34), 256 (100), 255 (37), 228 (9), 227 (9), 173 (8), 144 (8), 130 (20), 129 (11), 128 (18), 114 (10), 44 (37) 43 (8).
HR-EI-MS	für [M] ⁺ ber. 328.0848, gef. 328.0826.
Summenformel	C ₂₀ H ₁₂ N ₂ O ₃ (MG 328.33)

14.2 2,3-Bis-(1*H*-indol-3-yl)-*N*-methylmaleinimid (34)^[109]

7.33 g Indol (**21**, 62.6 mmol) werden in 70.0 ml abs. Toluol vorgelegt und bei 0 °C mit 66.0 ml 1.00 M Ethylmagnesiumbromidlösung versetzt. Bei Raumtemperatur gibt man 4.00 g 2,3-Dibrom-*N*-methylmaleinimid (**33**, 14.9 mmol) in 20.0 ml abs. Toluol gelöst hinzu. Die Reaktionsmischung wird für zwei Stunden refluxiert und nach dem Abkühlen mit 2N HCl angesäuert. Es wird dreimal mit 150 ml Essigsäureethylester extrahiert und die gesammelten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lsgm. wird i. Vak. entfernt und der Rückstand an Kieselgel mit Chloroform/Essigsäureethylester 6/1 flash-chromatographisch gereinigt. Man erhält ein rotorangeses Pulver.

Ausbeute	3.50 g (70%, Lit. ^[109] 70%)
Schmp.	>250 °C (Lit. ^[109] 278 °C)
¹ H-NMR	([D ₆]DMSO, 300 MHz): δ = 3.04 (s, 3 H), 6.63 (dd, ³ J = 8.07 Hz, ³ J = 8.07 Hz, 2 H), 6.83 (d, ³ J = 8.07 Hz, 2 H), 6.98 (dd, ³ J = 8.07 Hz, ³ J = 8.07 Hz, 2 H), 7.38 (d, ³ J = 8.07 Hz, 2 H), 7.76 (d, ³ J = 2.76 Hz, 2 H), 11.68 (s, 2 H).
¹³ C-NMR	([D ₆]DMSO, 75.5 MHz): δ = 24.09 (CH ₃), 105.83 (2 C), 111.92 (2 CH), 119.92 (2 CH), 121.11 (2 CH), 121.78 (2 CH), 125 (2 CH), 127.27 (2 C), 129.29 (2 C), 136.17 (2 C), 171.97 (2 CON).
EI-MS	<i>m/z</i> (%) = 343 (100), 342 (23), 341 (97) [M] ⁺ , 340 (16), 258 (74), 257 (50), 256 (43), 255 (41), 128 (42).
Summenformel	C ₂₁ H ₁₅ N ₃ O ₂ (MG 341.37)

14.3 Pityrianhydrid: 2,3-Bis-(1*H*-indol-3-yl)maleinsäureanhydrid (29)^[109]

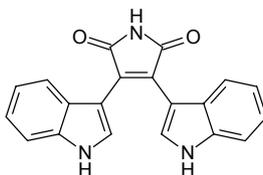


2.10 g 2,3-Bis-(1*H*-indol-3-yl)-*N*-methylmaleinimid (**34**, 6.15 mmol) werden in 300 ml 10proz. KOH für eine Stunde refluxiert. Nach dem Abkühlen wird mit 2*N* HCl angesäuert und der rote Niederschlag filtriert. Nach dem Trocknen erhält man ein rotes Pulver.

Ausbeute 1.57 g (78%, Lit.^[109] 80%)
Schmp. 228–230 °C (Lit.^[109] 229 °C)

Spektroskopische Daten siehe 14.1.

14.4 Arcyriarubin A (30)^[109]

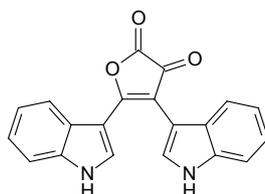


1.00 g 2,3-Bis-(1*H*-indol-3-yl)maleinsäureanhydrid (**29**, 3.05 mmol) werden mit 5.00 g (64.9 mmol) Ammoniumacetat vermischt und für zehn Minuten auf 140 °C erhitzt. Die Mischung wird mit Wasser und Essigsäureethylester versetzt. Die wäßrige Phase wird zweimal mit Essigsäureethylester extrahiert und die gesammelten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lsgm. wird i. Vak. entfernt und der Rückstand an Kieselgel mit Essigsäureethylester/Petrolether 4/1 flash-chromatographisch gereinigt. Man erhält einen roten Feststoff.

Ausbeute 748 mg (75%, Lit.^[109] 80%)
Schmp. 160 °C (Lit.^[109] 161 °C)

$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_6]$ DMSO, 300 MHz): $\delta = 6.61$ (dd, $^3J = 8.01$ Hz, $^3J = 8.01$ Hz, 2 H), 6.79 (d, $^3J = 8.01$ Hz, 2 H), 6.96 (dd, $^3J = 8.01$ Hz, $^3J = 8.01$ Hz, 2 H), 7.35 (d, $^3J = 8.01$ Hz, 2 H), 7.72 (s, 2 H), 10.87 (s, 1 H), 11.63 (s, 2 H).
$^{13}\text{C-NMR}$	($[\text{D}_6]$ DMSO, 75.5 MHz): $\delta = 105.74$ (2 C), 111.85 (2 CH), 119.43 (2 CH), 121.05 (2 CH), 121.70 (2 CH), 125.57 (2 C), 127.86 (2 C), 129.22 (2 CH), 136.10 (2 C), 173.16 (2 CON).
EI-MS	m/z (%) = 327 (100) $[\text{M}]^+$, 326 (30).
Summenformel	$\text{C}_{20}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2$ (MG 327.34)

14.5 Pityrialacton (35)

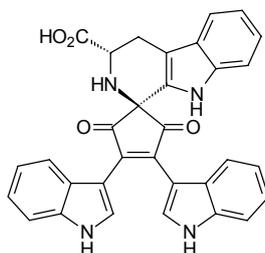


Die Verbindung, aus der DC-Bande mit R_f -Wert 0.19 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3), eluiert nach 22 Minuten von der analytischen RP-18-Säule. Die isolierte Menge stammt aus 214 Petrischalen. Die Substanz wird mittels präparativer HPLC (Trennsysteme 1 und 3) gereinigt.

Ausbeute	0.80 mg eines schwach gelben Pulvers
Schmp.	>250 °C
R_f -Wert	0.19 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)
UV	(Methanol): λ_{max} (log ϵ) = 224 (4.07), 276 (3.63), 292 (sh, 3.55), 356 nm (3.55).
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3402$ (ss, br), 2926 (w), 2855 (w), 1736 (s), 1639 (ss), 1536 (m), 1491 (w), 1458 (m), 1424 (m), 1365 (m), 1341 (m), 1244 (m), 1209 (m), 1127 (w), 1105 (w), 1024 (w), 1010 (w), 955 (w), 744 (s), 585 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_6]$ DMSO, 600 MHz): $\delta = 6.48$ (dd, $^3J = 7.44$ Hz, $^3J = 7.44$ Hz, 1 H), 6.65 (m, 2 H), 6.88 (dd, $^3J = 7.44$ Hz, $^3J = 7.44$ Hz, 1 H), 6.94

	(dd, $^3J = 8.22$ Hz, $^3J = 8.22$ Hz, 1 H), 7.00 (d, $^3J = 8.22$ Hz, 1 H), 7.27 (d, $^3J = 7.44$ Hz, 1 H), 7.32 (d, $^3J = 8.22$ Hz, 1 H), 7.41 (d, $^3J = 2.28$ Hz, 1 H), 7.57 (s, 1 H, br), 11.24 (s, 1 H), 11.48 (s, 1 H, br).
^{13}C -NMR	($[\text{D}_6]$ DMSO, 150.9 MHz): $\delta = 107.00, 108.36, 111.49$ (CH), 111.56 (CH), 117.28, 118.65 (CH), 119.11 (CH), 120.75 (CH), 121.13 (CH), 121.35 (CH), 121.43 (CH), 125.37, 126.37 (CH, C), 128.06 (CH), 135.82, 136.16, 151.94, 168.10 (COO), 172.84 (C=O).
EI-MS	m/z (%) = 329 (15), 328 (92) $[\text{M}]^+$, 315 (15), 314 (64), 270 (16), 269 (22), 258 (11), 257 (38), 256 (100), 255 (38), 228 (8), 227 (9), 207 (59), 144 (14), 130 (13), 128 (20), 117 (13), 57 (13), 51 (12), 45 (14).
HR-EI-MS	für $[\text{M}]^+$ ber. 328.0848, gef. 328.0866.
Summenformel	$\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$ (MG 328.33)

14.6 Pityriarubin A (39)



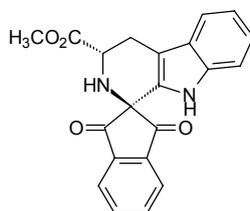
Die Verbindung, aus der DC-Bande mit R_f -Wert 0.14 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3), eluiert nach 49 Minuten von der analytischen RP-18-Säule.

Die isolierte Menge stammt aus 214 Petrischalen. Die Substanz wird in der präparativen HPLC (Trennsysteme 1 und 4) gereinigt.

Ausbeute	1.40 mg eines lockeren orangeroten Pulvers
Schmp.	>200 °C (Zersetzung)
R_f -Wert	0.14 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)
UV	(Acetonitril): λ_{max} ($\log \varepsilon$) = 198 (4.46), 219 (4.43), 277 (4.04), 385 (3.63), 436 nm (3.68).
Drehwert	(Acetonitril): $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -80$ ($c = 0.05$).

CD	(Acetonitril): $\lambda_{\max} (\Delta\epsilon) = 207 (-1.77), 211 (0), 222 (+2.07), 231 (0), 241 (-1.72), 255 (0), 265 (+0.82), 278 (0), 298 (-2.23), 350 (0), 374 (+0.44), 391 (0), 434 (-0.94), 503 \text{ nm} (0)$.
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3402 (\text{ss, br}), 2927 (\text{w}), 1683 (\text{ss}), 1516 (\text{m}), 1458 (\text{w}), 1422 (\text{s}), 1336 (\text{w}), 1243 (\text{m}), 1202 (\text{s}), 1135 (\text{s}), 1012 (\text{w}), 744 (\text{m}), 723 \text{ cm}^{-1} (\text{w})$.
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_3]$ Acetonitril, 600 MHz): $\delta = 2.92 (\text{dd}, {}^2J = 15.48 \text{ Hz}, {}^3J = 10.68 \text{ Hz}, 1 \text{ H}), 3.26 (\text{dd}, {}^2J = 15.48 \text{ Hz}, {}^3J = 4.32 \text{ Hz}, 1 \text{ H}), 4.52 (\text{dd}, {}^3J = 10.68 \text{ Hz}, {}^3J = 4.32 \text{ Hz}, 1 \text{ H}), 6.66 (\text{dd}, {}^3J = 8.16 \text{ Hz}, {}^3J = 8.16 \text{ Hz}, 1 \text{ H}), 6.67 (\text{dd}, {}^3J = 8.16 \text{ Hz}, {}^3J = 8.16 \text{ Hz}, 1 \text{ H}), 6.86 (\text{d}, {}^3J = 8.16 \text{ Hz}, 1 \text{ H}), 6.88 (\text{d}, {}^3J = 8.16 \text{ Hz}, 1 \text{ H}), 7.02 (\text{dd}, {}^3J = 8.16 \text{ Hz}, {}^3J = 8.16 \text{ Hz}, 1 \text{ H}), 7.03 (\text{dd}, {}^3J = 8.16 \text{ Hz}, {}^3J = 8.16 \text{ Hz}, 1 \text{ H}), 7.08 (\text{dd}, {}^3J = 7.98 \text{ Hz}, {}^3J = 7.98 \text{ Hz}, 1 \text{ H}), 7.12 (\text{dd}, {}^3J = 7.98 \text{ Hz}, {}^3J = 7.98 \text{ Hz}, 1 \text{ H}), 7.25 (\text{d}, {}^3J = 7.98 \text{ Hz}, 1 \text{ H}), 7.41 (\text{d}, {}^3J = 8.16 \text{ Hz}, 1 \text{ H}), 7.43 (\text{d}, {}^3J = 8.16 \text{ Hz}, 1 \text{ H}), 7.55 (\text{d}, {}^3J = 7.98 \text{ Hz}, 1 \text{ H}), 8.03 (\text{d}, {}^3J = 3.00 \text{ Hz}, 2 \text{ H}), 9.16 (\text{s}, 1 \text{ H, br}), 9.99 (\text{s}, 2 \text{ H, br})$.
$^{13}\text{C-NMR}$	($[\text{D}_3]$ Acetonitril, 150.9 MHz): $\delta = 25.76 (\text{CH}_2), 54.09 (\text{CH}), 62.67, 107.89 (2 \text{ C}), 112.29 (\text{CH}), 112.72 (2 \text{ CH}), 112.78, 119.11 (\text{CH}), 120.51 (\text{CH}), 120.89 (\text{CH}), 120.91 (\text{CH}), 122.68 (\text{CH}), 122.74 (\text{CH}), 123.21 (\text{CH}), 123.26 (\text{CH}), 123.37 (\text{CH}), 126.62, 126.69, 127.60, 129.91, 131.75 (\text{CH}), 131.94 (\text{CH}), 137.09 (2 \text{ C}), 137.78, 144.71, 144.87, 174.30 (\text{COOH}), 200.24 (\text{C=O}), 200.74 (\text{C=O})$.
(-)-FAB-MS	(m-NBA) $m/z (\%) = 525 (3) [\text{M}-\text{H}]^-$.
HR-FAB-MS	für $[\text{M}-\text{H}]^-$ ber. 525.1563, gef. 525.1548.
Summenformel	$\text{C}_{32}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_4$ (MG 526.55)

14.7 (3S)-1,2,3,4,9-Pentahydro-pyrido[3,4-b]indol-3-carboxymethyl-1-spiro-2'-(1',3'-indandion) (47)

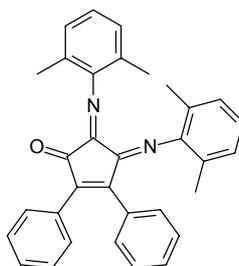


1.78 g Ninhydrin (**45**, 10.0 mmol) und 2.54 g L-Tryptophanmethylester-hydrochlorid (**46**, 10.0 mmol) werden in 200 ml Wasser gelöst und 48 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Der gelbe Niederschlag wird abfiltriert und aus Ethanol umkristallisiert. Man erhält leuchtend gelbe Kristalle.

Ausbeute	3.10 g (86%)
Schmp.	230–232 °C (Zersetzung)
R_f -Wert	0.52 (Essigsäureethylester/Petrolether 4/1)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} (log ϵ) = 229 (4.85), 252 nm (4.19).
Drehwert	(Acetonitril): $[\alpha]_D^{25} = -75$ ($c = 0.31$).
CD	(Acetonitril): λ_{\max} ($\Delta\epsilon$) = 204 (-7.90), 212 (0), 215 (+2.49), 219 (0), 226 (-4.87), 231 (0), 234 (+3.00), 238 (+3.72), 244 (0), 266 (-5.28), 299 (-1.89), 359 (0), 372 (+0.39), 393 nm (0).
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3308$ (m), 3059 (w), 2947 (w), 2847 (w), 1740 (s), 1730 (s), 1707 (s), 1591 (w), 1454 (w), 1438 (w), 1337 (m), 1268 (m), 1244 (m), 1183 (m), 1158 (w), 1070 (w), 1007 (w), 952 (w), 854 (w), 745 (m), 721 (w), 651 (w), 591 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_3]$ Acetonitril, 600 MHz): $\delta = 2.88$ (dd, $^2J = 15.42$ Hz, $^3J = 11.04$ Hz, 1 H), 3.22 (dd, $^2J = 15.42$ Hz, $^3J = 4.20$ Hz, 1 H), 3.75 (s, 3 H), 4.50 (dd, $^3J = 11.04$ Hz, $^3J = 4.20$ Hz, 1 H), 7.07 (dd, $^3J = 8.04$ Hz, $^3J = 8.04$ Hz, 1 H), 7.12 (dd, $^3J = 8.04$ Hz, $^3J = 8.04$ Hz, 1 H), 7.18 (d, $^3J = 8.04$ Hz, 1 H), 7.53 (d, $^3J = 8.04$ Hz, 1 H), 8.07 (m, 3 H), 8.13 (m, 1 H), 8.79 (s, 1 H).
$^{13}\text{C-NMR}$	($[\text{D}_3]$ Acetonitril, 150.9 MHz): $\delta = 25.95$ (CH_2), 52.77 (CH_3), 54.04 (CH), 65.74, 112.19 (CH), 112.62, 119.20 (CH), 120.63 (CH), 123.57

	(CH), 125.41 (2 CH), 127.27, 128.87, 137.75, 137.99 (CH), 138.44 (CH), 142.01, 142.44, 173.84 (COO), 198.70 (C=O), 199.62 (C=O).
EI-MS	m/z (%) = 361 (23), 360 (100) [M] ⁺ , 358 (15), 302 (13), 301 (68), 300 (82), 299 (90), 287 (11), 274 (12), 273 (30), 272 (20), 271 (24), 245 (14), 243 (13), 167 (27), 151 (12), 150 (15), 122 (12), 105 (11), 77 (10).
HR-EI-MS	für [M] ⁺ ber. 360.1111, gef. 360.1093.
EA	ber. C 69.99 H 4.48 N 7.77 gef. C 70.16 H 4.40 N 7.76
Summenformel	C ₂₁ H ₁₆ N ₂ O ₄ (MG 360.37)

14.8 4,5-Bis(2,6-dimethylphenylimino)-2,3-diphenylcyclopent-2-enon (**54**)^[125]

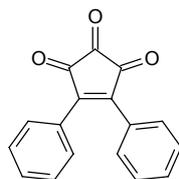


5.50 g Diphenylcyclopropenon (**52**, 26.7 mmol) und 10.0 g 2,6-Dimethylphenylisocyanid (**53**, 76.2 mmol) werden in 180 ml abs. Benzol suspendiert. Man refluxiert vier Stunden, wobei sich die Suspension rasch dunkel färbt. Das Lsgm. wird i. Vak. entfernt und der Rückstand an Kieselgel mit Petrolether/Essigsäureethylester 25/1 flash-chromatographisch gereinigt. Man erhält ein schwarz glänzendes Pulver.

Ausbeute	9.49 g (76%, Lit. ^[125] 76%)
Schmp.	183–184 °C (Lit. ^[125] 184 °C)
¹ H-NMR	(CDCl ₃ , 300 MHz): δ = 1.82 (s, 6 H), 2.10 (s, 6 H), 6.92 (m, 6 H), 7.33 (m, 8 H), 7.59 (m, 2 H).
¹³ C-NMR	(CDCl ₃ , 75.5 MHz): δ = 17.88 (2 CH ₃), 18.38 (2 CH ₃), 122.97 (CH), 123.07 (2 C), 123.23 (2 C), 123.87 (CH), 127.37 (2 CH), 127.49 (2 CH), 127.74, 128.21 (2 CH), 128.26 (2 CH), 128.90, 129.71 (CH), 130.13 (2

	CH), 130.31 (CH), 130.50 (2 CH), 145.97, 147.66, 149.46, 152.08, 156.99, 158.95, 183.77 (C=O).
EI-MS	m/z (%) = 470 (9), 469 (7), 468 (17) $[M]^+$, 454 (10), 453 (29), 337 (8), 310 (6), 309 (20), 179 (15), 178 (100), 176 (5), 149 (4), 77 (3).
Summenformel	$C_{33}H_{28}N_2O$ (MG 468.60)

14.9 4,5-Diphenyl-cyclopent-4-en-1,2,3-trion (51)

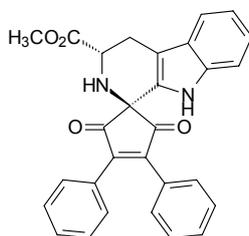


4.50 g 4,5-Bis(2,6-dimethylphenylimino)-2,3-diphenylcyclopent-2-enon (**54**, 9.60 mmol) werden in einer Mischung aus 150 ml Ether und 150 ml Wasser suspendiert. Unter kräftigem Rühren tropft man über 30 Minuten 90.0 ml konz. HCl zu. Nach weiteren vier Stunden Rühren bei Raumtemperatur wird die organische Phase abgetrennt. Man extrahiert die wäßrige Phase dreimal mit je 50.0 ml Ether. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lsgm. i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird an Kieselgel mit Essigsäureethylester/Petrolether 1/1 flash-chromatographisch gereinigt. Man erhält einen orange-gelben Schaum.

Das Produkt **51** liegt als Monohydrat vor. Durch Trocknen im Vakuum bei 120 °C für zwölf Stunden erhält man das Triketon **51** als dunkelrotes Pulver

Ausbeute	2.15 g (80%, bezogen auf Monohydrat)
Schmp.	132–133 °C (Lit. ^[121] 131–132 °C, Monohydrat)
¹ H-NMR	(CDCl ₃ , 300 MHz): δ = 7.45 (m, 10 H).
¹³ C-NMR	(CDCl ₃ , 75.5 MHz): δ = 127.26 (2 C), 128.88 (4 CH), 130.29 (4 CH), 132.04 (2 CH), 155.76 (2 C), 184.98 (2 C=O), 190.11 (C=O).
EI-MS	m/z (%) = 264 (2) $[M+2H]^+$, 235 (5), 234 (9), 179 (6), 178 (100), 177 (6), 176 (14), 152 (7), 151 (7), 89 (7), 76 (7).
Summenformel	$C_{17}H_{10}O_3$ (MG 262.26)

14.10 (7S)-6,13-Dihydro-2,3-diphenyl-indolo[3,2-*l*]-6-aza-1,4-dioxo-spiro[4.5]deca-2,9-dien-7-carbonsäuremethylester (**55**)

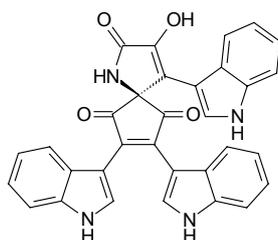


440 mg Tryptophanmethylester-hydrochlorid (**46**, 1.73 mmol) und 453 mg 4,5-Diphenylcyclopent-4-en-1,2,3-trion (**51**, 1.73 mmol) werden in 35.0 ml Wasser vorgelegt. Es wird soviel Aceton zugegeben, bis sich alles gelöst hat. Nach 48 Stunden bei Raumtemperatur wird die Suspension vom Aceton befreit, der Niederschlag abfiltriert und aus Ethanol umkristallisiert. Man erhält ein oranges, kristallines Pulver.

Ausbeute	510 mg (64%)
Schmp.	250–252 °C
R_f -Wert	0.60 (Essigsäureethylester/Petrolether 1/1)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} (log ϵ) = 224 (4.62), 282 (4.18), 325 nm (3.97).
Drehwert	(Acetonitril): $[\alpha]_D^{25} = -19$ ($c = 0.26$).
CD	(Acetonitril): λ_{\max} ($\Delta\epsilon$) = 209 (-4.97), 215 (0), 227 (+9.93), 246 (0), 265 (-2.15), 302 (-4.27), 363 nm (0).
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3418$ (m, br), 3059 (w), 2951 (w), 2848 (w), 1747 (m), 1703 (s), 1624 (w), 1599 (w), 1488 (w), 1444 (w), 1350 (m), 1272 (w), 1177 (w), 1136 (w), 1092 (w), 993 (w), 841 (w), 744 (m), 694 (m), 634 (w), 571 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_3]$ Acetonitril, 600 MHz): $\delta = 2.84$ (d, $^3J = 8.22$ Hz, 1 H), 2.88 (dd, $^2J = 15.30$ Hz, $^3J = 11.04$ Hz, 1 H), 3.23 (dd, $^2J = 15.30$ Hz, $^3J = 4.20$ Hz, 1 H), 3.76 (s, 3 H), 4.49 (ddd, $^3J = 11.04$ Hz, $^3J = 8.22$ Hz, $^3J = 4.20$ Hz, 1 H), 7.10 (dd, $^3J = 8.04$ Hz, $^3J = 8.04$ Hz, 1 H), 7.17 (dd, $^3J = 8.04$ Hz, $^3J = 8.04$ Hz, 1 H), 7.33 (d, $^3J = 8.04$ Hz, 1 H), 7.44 (m, 10 H), 7.55 (d, $^3J = 8.04$ Hz, 1 H), 9.24 (s, 1 H).

^{13}C -NMR	($[\text{D}_3]$ Acetonitril, 150.9 MHz): $\delta = 25.93$ (CH_2), 52.80 (CH_3), 54.06 (CH), 62.82, 112.37 (CH), 112.89, 119.23 (CH), 120.67 (CH), 123.65 (CH), 127.40, 128.40, 129.40 (2 CH), 129.45 (2 CH), 130.12, 130.17, 130.93 (2 CH), 131.12 (2 CH), 131.30 (CH), 131.33 (CH), 137.85, 153.63, 154.11, 173.83 (COO), 200.35 (C=O), 201.25 (C=O).
EI-MS	m/z (%) = 463 (31), 462 (100) $[\text{M}]^+$, 427 (6), 405 (6), 404 (17), 403 (61), 402 (11), 375 (7), 374 (10), 373 (12), 345 (10), 178 (11), 169 (8), 168 (8), 167 (10), 142 (8).
HR-EI-MS	für $[\text{M}]^+$ ber. 462.1579, gef. 462.1569.
EA	ber. C 75.31 H 4.79 N 6.06 gef. C 75.68 H 4.77 N 5.94
Summenformel	$\text{C}_{29}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$ (MG 462.50)

14.11 Pityriarubin B (56)

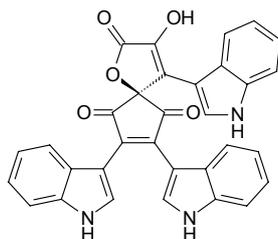


Die Verbindung, aus der DC-Bande mit R_f -Wert 0.27 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3), eluiert nach 48 Minuten von der analytischen RP-18-Säule. Die isolierte Menge stammt aus 214 Petrischalen. Die Substanz wird mittels präparativer HPLC (Trennsysteme 1 und 5) gereinigt.

Ausbeute	1.37 mg eines orangen Pulvers
Schmp.	180–183 °C (Zersetzung)
R_f -Wert	0.27 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)
UV	(Acetonitril): λ_{max} (log ϵ) = 196 (4.38), 218 (4.34), 277 (4.05), 382 (3.55), 446 nm (3.61).
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3401$ (s, br), 2927 (w), 2228 (w), 1732 (m), 1689 (s), 1618 (w), 1518 (m), 1423 (m), 1275 (w), 1244 (m), 1198 (m), 1133 (m), 1014 (w), 816 (w), 744 (m), 720 cm^{-1} (w).

$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_6]$ Aceton, 600 MHz): $\delta = 6.52$ (ddd, $^3J = 7.80$ Hz, $^3J = 7.80$ Hz, $^4J = 1.14$ Hz, 2 H), 6.65 (d, 7.80 Hz, 2 H), 6.91 (ddd, $^3J = 7.80$ Hz, $^3J = 7.80$ Hz, $^4J = 1.14$ Hz, 2 H), 6.98 (ddd, $^3J = 7.80$ Hz, $^3J = 7.80$ Hz, $^4J = 1.14$ Hz, 1 H), 7.00 (d, $^3J = 2.58$ Hz, 1 H), 7.02 (ddd, $^3J = 7.80$ Hz, $^3J = 7.80$ Hz, $^4J = 1.14$ Hz, 1 H), 7.21 (d, $^3J = 7.80$ Hz, 1 H), 7.34 (d, $^3J = 7.80$ Hz, 2 H), 7.88 (d, $^3J = 7.80$ Hz, 1 H), 7.92 (s, 1 H), 7.98 (d, $^3J = 2.58$ Hz, 2 H), 10.26 (s, 1 H, br), 10.95 (s, 2 H, br).
$^{13}\text{C-NMR}$	($[\text{D}_6]$ Aceton, 150.9 MHz): $\delta = 68.47$, 107.06 , 107.78 (2 C), 112.04 (CH), 112.49 (2 CH), 117.94 , 120.09 (CH), 120.69 (2 CH), 122.24 (2 CH), 122.78 (CH), 122.82 (CH), 122.90 (2 CH), 124.15 (CH), 126.50 (2 C), 127.47 , 131.54 (2 CH), 137.14 , 137.17 (2 C), 144.23 , 145.14 (2 C), 170.53 (CONH), 199.03 (2 C=O).
EI-MS	m/z (%) = 524 (52) $[\text{M}]^+$, 496 (4), 340 (4), 256 (22), 255 (13), 207 (10), 157 (4), 144 (8), 130 (10), 117 (24), 90 (8), 89 (6), 44 (100), 43 (25).
HR-EI-MS	für $[\text{M}]^+$ ber. 524.1525 , gef. 524.1509 .
Summenformel	$\text{C}_{32}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_4$ (MG 524.54)

14.12 Pityriarubin C (59)

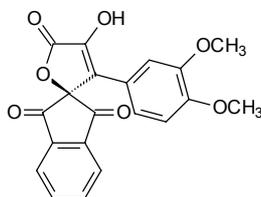


Die Verbindung, aus der DC-Bande mit R_f -Wert 0.38 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3), eluiert nach 52 Minuten von der analytischen RP-18-Säule. Die isolierte Menge stammt aus 214 Petrischalen. Die Substanz wird mittels präparativer HPLC (Trennsysteme 1 und 5) gereinigt.

Ausbeute	1.32 mg eines roten Feststoffes
Schmp.	125–130 °C (Zersetzung)
R_f -Wert	0.38 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)

UV	(Acetonitril): λ_{\max} ($\log \varepsilon$) = 195 (4.66), 218 (4.60), 277 (4.37), 323 (sh, 4.08), 394 (3.74), 462 nm (3.83).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3416 (ss, br), 2924 (w), 1765 (s), 1686 (s), 1619 (m), 1571 (w), 1514 (m), 1459 (w), 1422 (s), 1337 (w), 1241 (m), 1199 (w), 1128 (m), 1095 (m), 1014 (m), 744 cm^{-1} (m).
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_6]$ Aceton, 600 MHz): δ = 6.60 (dd, 3J = 8.22 Hz, 3J = 8.22 Hz, 2 H), 6.77 (d, 3J = 8.22 Hz, 2 H), 6.98 (dd, 3J = 8.22 Hz, 3J = 8.22 Hz, 2 H), 7.06 (dd, 3J = 8.22 Hz, 3J = 8.22 Hz, 1 H), 7.11 (dd, 3J = 8.22 Hz, 3J = 8.22 Hz, 1 H), 7.22 (s, 1 H), 7.31 (d, 3J = 8.22 Hz, 1 H), 7.42 (d, 3J = 8.22 Hz, 2 H), 8.06 (d, 3J = 8.22 Hz, 1 H), 8.16 (s, 2 H), 10.59 (s, 1 H, br), 11.14 (s, 2 H, br).
$^{13}\text{C-NMR}$	($[\text{D}_6]$ Aceton, 150.9 MHz): δ = 82.22, 105.86, 107.53 (2 C), 112.36 (CH), 112.63 (2 CH), 120.78 (CH), 121.03 (2 CH), 122.32 (2 CH), 122.91 (CH), 123.17 (2 CH), 123.37 (CH), 124.64, 125.18 (CH), 126.34 (2 C), 126.70, 132.27 (2 CH), 137.09 (2 C), 137.19, 137.95, 145.60 (2 C), 169.40 (COO), 195.41 (2 C=O).
(+)-FAB-MS	(Glycerin) m/z (%) = 526 (13) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 256 (25).
HR-FAB-MS	für $[\text{M}+\text{H}]^+$ ber. 526.1403, gef. 526.1382.
Summenformel	$\text{C}_{32}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5$ (MG 525.52)

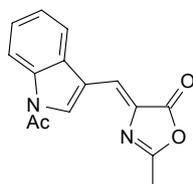
14.13 4-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5H-3-hydroxy-furan-2-on-5-spiro-2'-(1',3'-indandion) (64)



891 mg Ninhydrin (**45**, 5.00 mmol) werden in 15.0 ml Wasser von 50 °C vorgelegt. Man gibt 786 mg 3-(3,4-Dimethoxyphenyl)brenztraubensäuremethylester (**63**, 3.30 mmol) zu und rührt bei 60 °C fünf Stunden. Es bildet sich ein flockiger, gelber Niederschlag. Man filtriert und wäscht mit warmen Wasser nach. Der gelbe Rückstand wird an Kieselgel mit Dichlormethan/Aceton/Ameisensäure 80/12/1 flash-chromatographisch gereinigt. Man erhält ein gelbes Pulver.

Ausbeute	604 mg (50%)
Schmp.	208 °C (Zersetzung)
R_f -Wert	0.45 (Dichlormethan/Aceton/Ameisensäure 80/12/1)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} (log ϵ) = 234 (4.26), 316 nm (3.49).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3326 (m, br), 3003 (w), 2839 (w), 1779 (s), 1722 (s), 1601 (m), 1585 (m), 1522 (s), 1465 (w), 1456 (w), 1386 (s), 1260 (s), 1239 (s), 1178 (m), 1130 (s), 1088 (w), 1020 (m), 975 (m), 827 (w), 755 (m), 664 (m), 606 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_6]$ Aceton, 300 MHz): δ = 3.46 (s, 3 H), 3.73 (s, 3 H), 6.81 (s, 2 H), 6.95 (s, 1 H), 8.35 (s, 4 H).
$^{13}\text{C-NMR}$	($[\text{D}_6]$ Aceton, 75.5 MHz): δ = 55.50 (OCH_3), 55.95 (OCH_3), 82.62, 111.27 (CH), 112.67 (CH), 121.06 (CH), 122.21, 125.65 (2 CH), 126.39, 139.19 (2 CH), 140.20, 142.04 (2 C), 150.22, 151.14, 168.54, 193.93 (2 C=O).
EI-MS	m/z (%) = 366 (11) $[\text{M}]^+$, 323 (19), 322 (100), 295 (17), 294 (84), 293 (43), 279 (20), 263 (47), 251 (14), 165 (12), 164 (10), 163 (11), 152 (12), 44 (29).
HR-EI-MS	für $[\text{M}]^+$ ber. 366.0739, gef. 366.0760.
Summenformel	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_7$ (MG 366.33)

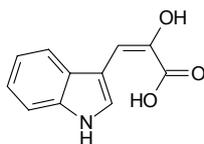
14.14 4-(1-Acetyl-1*H*-indol-3-ylmetylen)-2-methyl-4*H*-oxazol-5-on (67)



2.34 g *N*-Acetylglycin (**65**, 20.0 mmol), 4.35 g Indol-3-carbaldehyd (**66**, 30.0 mmol) und 2.46 g Natriumacetat (30.0 mmol) werden in 20.0 ml Essigsäureanhydrid für drei Stunden auf 120 °C erhitzt. Die erkaltete Masse wird mit Wasser versetzt und filtriert. Der Rückstand wird mit viel Wasser und ein wenig Ethanol gewaschen. Man erhält eine braunrote, kristalline Substanz.

Ausbeute	4.00 g (75%)
Schmp.	205–206 °C
¹ H-NMR	([D ₆]DMSO, 300 MHz): δ = 2.43 (s, 3 H), 2.73 (s, 3 H), 7.41 (m, 2 H), 7.49 (s, 1 H), 8.35 (m, 2 H), 8.68 (s, 1 H).
¹³ C-NMR	([D ₆]DMSO, 75.5 MHz): δ = 15.80 (CH ₃), 24.30 (CH ₃), 115.72, 116.34 (CH), 120.93 (CH), 121.90 (CH), 124.63 (CH), 126.21 (CH), 128.50, 131.52, 133.24 (CH), 135.63, 165.81, 167.30, 170.11.
EI-MS	<i>m/z</i> (%) = 269 (8), 268 (45) [M] ⁺ , 226 (30), 198 (15), 156 (100), 155 (43), 130 (7), 129 (6), 128 (7), 127 (6), 101 (6), 43 (36).
Summenformel	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O ₃ (MG 268.27)

14.15 3-(1*H*-Indol-3-yl)brenztraubensäure (68)

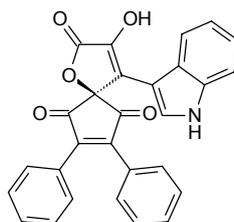


4.00 g Azlacton **67** (14.9 mmol) werden in 150 ml 10N NaOH für vier Stunden refluxiert. Nach dem Abkühlen wird mit konz. HCl angesäuert und der Niederschlag filtriert. Der Rückstand wird zuerst aus Aceton/Essigsäure 1/1 und anschließend aus reinem Aceton umkristallisiert. Man erhält ein beiges Pulver.

Ausbeute	2.42 g (80%)
Schmp.	200–202 °C (Lit. 198 °C) ^[242]
¹ H-NMR	([D ₆]DMSO, 300 MHz): δ = 6.79 (s, 1 H), 7.06 (dd, ³ <i>J</i> = 7.74 Hz, ³ <i>J</i> = 7.74 Hz, 1 H), 7.13 (dd, ³ <i>J</i> = 7.74 Hz, ³ <i>J</i> = 7.74 Hz, 1 H), 7.40 (d ³ <i>J</i> = 7.74 Hz, 1 H), 7.70 (d ³ <i>J</i> = 7.74 Hz, 1 H), 7.87 (d, ³ <i>J</i> = 2.46 Hz, 1 H), 8.69 (s, 1 H, br), 11.37 (s, 1 H), 12.33 (s, 1 H, br).
¹³ C-NMR	([D ₆]DMSO, 75.5 MHz): δ = 103.90 (CH), 110.00, 111.91 (CH), 118.38 (CH), 119.66 (CH), 121.92 (CH), 126.67, 127.51 (CH), 135.84, 138.22, 166.63 (COOH).

EI-MS	m/z (%) = 203 (8) [M] ⁺ , 157 (10), 145 (9), 144 (13), 130 (18), 129 (19), 122 (100), 117 (25), 105 (96), 77 (59), 51 (26), 50 (13), 44 (53).
Summenformel	C ₁₁ H ₉ NO ₃ (MG 203.20)

14.16 2,3-Diphenyl-8-hydroxy-9-(indol-3'-yl)-6-oxa-1,4,7-trioxo-spiro[4.4]nona-2,8-dien (69)



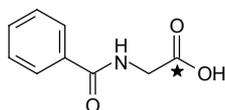
393 mg 4,5-Diphenyl-cyclopent-4-en-1,2,3-trion (**51**, 1.50 mmol) und 305 mg 3-(1*H*-Indol-3-yl)brenztraubensäure (**68**, 1.50 mmol) werden in 20.0 ml Wasser suspendiert und bei 70 °C gerührt. Es bildet sich ein orangeroter Niederschlag. Nach drei Stunden wird filtriert und der Rückstand an Kieselgel mit Dichlormethan/Aceton/Ameisensäure 80/12/1 flash-chromatographisch gereinigt. Man erhält einen roten Feststoff.

Ausbeute	268 mg (40%)
Schmp.	220 °C (Zersetzung)
R_f -Wert	0.47 (Dichlormethan/Aceton/Ameisensäure 80/12/1)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} (log ϵ) = 250 (4.93), 324 nm (4.80).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3381 (m, br), 1772 (s), 1711 (s), 1674 (w), 1598 (w), 1524 (w), 1488 (w), 1421 (w), 1353 (m), 1270 (w), 1239 (w), 1052 (m), 761 (m), 745 (m), 692 (m), 634 cm ⁻¹ (w).
¹ H-NMR	([D ₆]Aceton, 300 MHz): δ = 7.09 (ddd, ³ J = 7.02 Hz, ³ J = 7.05 Hz, ⁴ J = 1.08 Hz, 1 H), 7.17 (ddd, ³ J = 7.02 Hz, ³ J = 7.05 Hz, ³ J = 1.20 Hz, 1 H), 7.25 (d, ³ J = 2.85 Hz, 1 H), 7.38 (m, 11 H), 7.88 (dd, ³ J = 7.05 Hz, ⁴ J = 1.20 Hz, 1 H), 10.70 (s, 1 H, br).
¹³ C-NMR	([D ₆]Aceton, 75.5 MHz): δ = 82.08, 104.93, 112.61 (CH), 121.02 (CH), 122.29 (CH), 123.57 (CH), 123.93, 125.62 (CH), 126.65, 129.28 (2 C),

	129.35 (4 CH), 130.64 (4 CH), 131.50 (2 CH), 137.38, 138.97, 154.85 (2 C), 168.91 (COO), 195.66 (2 C=O).
EI-MS	m/z (%) = 447 (3) [M] ⁺ , 404 (29), 403 (100), 375 (14), 374 (11), 346 (16), 318 (10), 230 (10), 179 (29), 178 (43), 168 (38), 44 (14).
HR-EI-MS	für [M] ⁺ ber. 447.1106, gef. 447.1136.
Summenformel	C ₂₈ H ₁₇ NO ₅ (MG 447.45)

15 Arbeitsvorschriften und Experimentelle Daten zu Kapitel 5

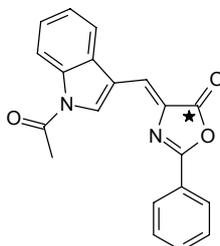
15.1 *N*-Benzoyl[1-¹³C]glycin (86*)^[164]



4.00 g [1-¹³C]Glycin (**84***, 52.6 mmol) werden in 120 ml 2N NaOH gelöst. Man gibt tropfenweise 8.12 g Benzoylchlorid (**85**, 57.8 mmol) zu und rührt 90 Minuten bei Raumtemperatur. Mit konz. HCl wird die Lösung unter Eiskühlung auf pH 2–3 gebracht und der entstandene Niederschlag abfiltriert. Das Filtrat wird sechsmal mit 50.0 ml Essigsäureethylester extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lsgm. wird i. Vak. entfernt. Man erhält ein farbloses, kristallines Pulver, das mit dem Niederschlag vereinigt wird.

Ausbeute	9.47 g (quant., Lit. ^[164] 75%)
Schmp.	189–190 °C (Lit. ^[164] 189–192 °C)
<i>R_f</i> -Wert	0.43 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)
¹ H-NMR	([D ₆]DMSO, 300 MHz): δ = 3.92 (<i>pseudo-t</i> , ³ <i>J</i> = 5.76 Hz, ² <i>J</i> _{¹³C,¹H} = 5.76 Hz, 2 H), 7.49 (m, 3 H), 7.90 (m, 2 H), 8.82 (t, ³ <i>J</i> = 5.76 Hz, 1 H), 12.64 (s, 1 H, br).
¹³ C-NMR	([D ₆]DMSO, 75.5 MHz): δ = 41.39 (d, ¹ <i>J</i> _{¹³C,¹³C} = 59.0 Hz), 127.40 (2 CH), 128.51 (2 CH), 131.57 (CH), 134.03, 166.64 (CON), 171.49 (¹³ COOH).
EI-MS	<i>m/z</i> (%) = 180 (12) [M] ⁺ , 162 (20), 135 (21), 134 (16), 105 (100), 77 (37), 51 (9).
Summenformel	¹³ C ¹² C ₈ H ₉ NO ₃ (MG 180.16)

15.2 3-(1-Acet-1*H*-indol-3-ylmethylen)-5-phenyl[2-¹³C]oxazolinon (87*)

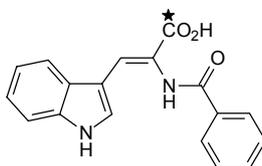


9.45 g *N*-Benzoyl[1-¹³C]glycin (**86***, 52.5 mmol) werden mit 10.3 g Indol-3-carbaldehyd (**66**, 71.0 mmol) und 5.82 g Natriumacetat (71.0 mmol) in 30.0 ml Essigsäureanhydrid für zwei Stunden bei 100 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wird mit 50.0 ml Wasser versetzt und der entstehende Niederschlag abfiltriert. Das rotbraune Produkt wird aus Essigsäure umkristallisiert. Man erhält einen orangeroten Feststoff.

Ausbeute	8.00 g (46%)
Schmp.	199–201 °C
<i>R_f</i> -Wert	0.38 (Essigsäureethylester/Petrolether 1/1)
UV	(Acetonitril): λ_{max} (log ϵ) = 198 (4.49), 202 (4.48), 241 (4.22), 250 (4.23), 295 (4.28), 401 nm (4.46).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3438 (m, br), 1789 (s), 1764 (m), 1719 (s), 1652 (s), 1587 (m), 1558 (m), 1529 (s), 1490 (m), 1451 (s), 1387 (s), 1374 (s), 1331 (s), 1315 (s), 1253 (m), 1209 (s), 1169 (s), 1014 (m), 940 (m), 884 (m), 866 (m), 756 (s), 703 (s), 666 (m), 534 cm ⁻¹ (m).
¹ H-NMR	([D ₆]DMSO, 300 MHz): δ = 2.82 (s, 3 H), 7.44 (m, 2 H), 7.68 (m, 4 H), 8.15 (m, 2 H), 8.39 (m, 2 H), 8.87 (s, 1 H).
¹³ C-NMR	([D ₆]DMSO, 75.5 MHz): δ = 24.12 (CH ₃), 115.86, 116.18 (CH), 120.70 (CH), 122.79 (CH), 124.35 (CH), 125.33, 126.06 (CH), 128.05 (2 CH), 128.34, 129.54 (2 CH), 131.69 (d, $^1J_{^{13}\text{C},^{13}\text{C}}$ = 71.3 Hz), 133.70 (2 CH), 135.47, 165.30, 166.52 (¹³ COO), 170.02.
EI-MS	<i>m/z</i> (%) = 331 (73) [M] ⁺ , 289 (39), 155 (7), 105 (100), 77 (22).
HR-EI-MS	für [M] ⁺ ber. 331.1038, gef. 331.1044.
EA	ber. C 72.72 H 4.27 N 8.48 gef. C 72.63 H 4.21 N 8.53

Summenformel $^{13}\text{C}^{12}\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$ (MG 331.33)

15.3 2-Benzamido-3-(indol-3-yl)[1- ^{13}C]acrylsäure (88*)



8.00 g Azlacton **87*** (24.1 mmol) werden in 800 ml 1proz. NaOH refluxiert. Nach vier Stunden wird mit konz. HCl angesäuert und der Niederschlag abfiltriert. Man erhält ein graues Pulver.

Ausbeute 5.50 g (74%)

Schmp. 227–229 °C

R_f -Wert 0.46 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)

UV (Acetonitril): λ_{max} (log ϵ) = 226 (4.53), 275 (3.98), 332 nm (4.24).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3371 (s, br), 3289 (s, br), 1704 (s), 1640 (s), 1578 (m), 1517 (s), 1472 (s), 1418 (m), 1279 (m), 1235 (s), 1134 (m), 1110 (w), 936 (w), 746 (m), 723 (m), 606 (w), 576 cm^{-1} (w).

$^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO, 300 MHz): δ = 7.14 (m, 2 H), 7.44 (d, 3J = 7.77 Hz, 1 H), 7.55 (m, 3 H), 7.70 (d, 3J = 2.22 Hz, 1 H), 7.77 (d, 3J = 7.77 Hz, 1 H), 7.85 (d, $^3J_{^{13}\text{C},^1\text{H}}$ = 4.38 Hz, 1 H), 8.05 (d, 3J = 7.26 Hz, 2 H), 9.74 (s, 1 H), 11.69 (s, 1 H), 12.33 (s, 1 H, br).

$^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO, 75.5 MHz): δ = 109.29 (d, $^3J_{^{13}\text{C},^{13}\text{C}}$ = 5.57 Hz), 112.20 (CH), 118.27 (CH), 120.49 (CH), 121.72 (d, $^1J_{^{13}\text{C},^{13}\text{C}}$ = 81.0 Hz), 122.36 (CH), 127.15 (CH), 127.24, 127.82 (2 CH), 128.08, 128.60 (2 CH), 131.77 (CH), 134.15, 135.71, 165.66 (CONH), 166.77 ($^{13}\text{COOH}$).

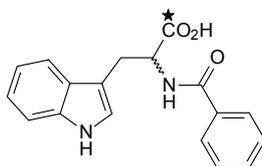
EI-MS m/z (%) = 307 (9) $[\text{M}]^+$, 289 (38), 262 (34), 260 (21), 157 (26), 155 (12), 144 (11), 130 (13), 105 (100), 77 (34).

HR-EI-MS für $[\text{M}]^+$ ber. 307.1038, gef. 307.1020.

EA	ber.	C 70.58	H 4.61	N 9.15
	gef.	C 70.48	H 4.61	N 9.17

Summenformel $^{13}\text{C}^{12}\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$ (MG 307.31)

15.4 N-Benzoyl[1- ^{13}C]-DL-tryptophan (89*)



5.50 g 2-Benzamido-3-(indol-3-yl)[1- ^{13}C]acrylsäure (**88***, 17.9 mmol) werden in 100 ml 1N NaOH gelöst. Man gibt 3.28 g Aluminium-Nickel-Legierung (38.3 mmol) zu und rührt sechs Stunden bei Raumtemperatur. Es wird vom Festen abfiltriert und das Filtrat mit konz. HCl vorsichtig angesäuert. Der Niederschlag wird abfiltriert und in 0.2 N HCl gerührt, um das restliche Aluminium zu entfernen. Man filtriert erneut und erhält ein graues Pulver. Die Substanz verfärbt sich bei Raumtemperatur schnell nach Pink.

Ausbeute 4.55 g (82%)

Schmp. 191–192 °C

R_f -Wert 0.46 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)

UV (Acetonitril): λ_{max} (log ϵ) = 221 (4.60), 272 (3.73), 289 nm (3.62).

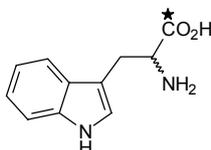
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3398 (s), 1730 (m), 1630 (s), 1576 (m), 1542 (s), 1489 (m), 1458 (m), 1340 (w), 1232 (m), 1097 (w), 965 (w), 746 (m), 710 (m), 687 (w), 584 cm^{-1} (w).

$^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ Aceton, 300 MHz): δ = 3.37 (dddd, 2J = 14.7 Hz, 3J = 8.13 Hz, $^3J_{^{13}\text{C},^1\text{H}}$ = 2.76 Hz, 4J = 0.69 Hz, 1 H), 3.50 (dddd, 2J = 14.7 Hz, 3J = 4.95 Hz, $^3J_{^{13}\text{C},^1\text{H}}$ = 3.84 Hz, 4J = 0.84 Hz, 1 H), 5.00 (ddd, $^2J_{^{13}\text{C},^1\text{H}}$ = 6.18 Hz, 3J = 8.13 Hz, 3J = 4.95 Hz, 1 H), 7.00 (ddd, 3J = 7.83 Hz, 3J = 6.99 Hz, 4J = 1.23 Hz, 1 H), 7.08 (ddd, 3J = 7.83 Hz, 3J = 6.99 Hz, 4J = 1.23 Hz, 1 H), 7.28 (s, 1 H), 7.43 (m, 4 H), 7.67 (m, 1 H), 7.82 (m, 2 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ Aceton, 75.5 MHz): δ = 27.97 (CH_2), 54.30 (d, $^1J_{^{13}\text{C},^{13}\text{C}}$ = 59.6 Hz, CH), 111.24 (d, $^3J_{^{13}\text{C},^{13}\text{C}}$ = 2.93 Hz), 112.17 (CH), 119.24 (CH), 199.61

	(CH), 122.19 (CH), 124.19 (CH), 128.07 (2 CH), 128.63, 129.11 (2 CH), 132.13 (CH), 135.33, 137.45, 167.41 (d, $^3J_{^{13}\text{C},^{13}\text{C}} = 1.17$ Hz, CONH), 173.48 ($^{13}\text{COOH}$).
EI-MS	m/z (%) = 309 (5) $[\text{M}]^+$, 189 (5), 188 (35), 131 (10), 130 (100), 105 (8), 77 (8).
HR-EI-MS	für $[\text{M}]^+$ ber. 309.1194, gef. 309.1176.
EA	ber. C 70.12 H 5.23 N 9.09 gef. C 69.84 H 5.43 N 9.09
Summenformel	$^{13}\text{C}^{12}\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$ (MG 309.33)

15.5 [1- ^{13}C]-DL-Tryptophan (83*)

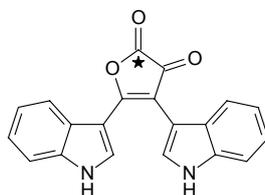


4.50 g *N*-Benzoyl[1- ^{13}C]-DL-tryptophan (**89***, 14.5 mmol) werden in 200 ml Wasser suspendiert. Man gibt 45.7 g Bariumhydroxid (145 mmol) zu und refluxiert 24 Stunden. Es wird auf die dreifache Menge mit Wasser verdünnt und das Barium mit 2N H_2SO_4 ausgefällt. Man filtriert den Niederschlag ab und bringt das Filtrat mit 2N NaOH auf pH 7. Das Lsgm. wird i. Vak. entfernt und der Rückstand mit 80.0 ml Ethanol und 50.0 ml Wasser gewaschen. Man erhält ein schwach gelbes Pulver.

Ausbeute	2.50 g (84%)
Schmp.	> 250 °C
R_f -Wert	0.07 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)
UV	(Wasser): λ_{max} (log ϵ) = 218 (4.53), 279 (3.71), 287 nm (3.62).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3404 (s), 3079 (s), 3040 (s, br), 2565 (m, br), 2075 (w), 1667 (s), 1591 (s), 1458 (s), 1414 (s), 1357 (s), 1316 (w), 1231 (m), 1099 (m), 1077 (w), 1008 (m), 987 (w), 864 (w), 744 (s), 527 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_6]$ DMSO, 300 MHz): δ = 2.93 (dd, $^2J = 14.04$ Hz, $^3J = 9.63$ Hz, 1 H), 3.29 (ddd, $^2J = 14.04$ Hz, $^3J = 3.87$ Hz, $^3J_{^{13}\text{C},^1\text{H}} = 3.87$ Hz, 1 H), 3.42 (<i>pseudo</i> -q, $^2J = 14.04$ Hz, $^2J_{^{13}\text{C},^1\text{H}} = 3.87$ Hz, $^3J = 3.87$ Hz,

	1 H), 6.96 (dd, $^3J = 7.17$ Hz, $^3J = 7.17$ Hz, 1 H), 7.05 (dd, $^3J = 7.17$ Hz, $^3J = 7.17$ Hz, 1 H), 7.19 (d, $^3J = 1.77$ Hz, 1 H), 7.33 (d, $^3J = 7.17$ Hz, 1 H), 7.55 (d, $^3J = 7.17$ Hz, 1 H), 10.89 (s, 1 H).
^{13}C -NMR	($[\text{D}_6]$ DMSO, 75.5 MHz): $\delta = 27.41$ (CH_2), 54.98 (d, $^1J_{^{13}\text{C},^{13}\text{C}} = 51.1$ Hz, CH), 109.94 (d, $^3J_{^{13}\text{C},^{13}\text{C}} = 3.22$ Hz), 111.45 (CH), 118.41 (CH), 118.53 (CH), 121.03 (CH), 124.12 (CH), 127.44, 136.49, 170.20 ($^{13}\text{COOH}$).
EI-MS	m/z (%) = 205 (5) $[\text{M}]^+$, 159 (2), 131 (13), 130 (100), 117 (2), 103 (5), 102 (2), 80 (3).
HR-EI-MS	für $[\text{M}]^+$ ber. 205.0932, gef. 205.0924.
EA	ber. C 64.69 H 5.92 N 13.72 gef. C 64.70 H 5.92 N 13.49
Summenformel	$^{13}\text{C}^{12}\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$ (MG 205.22)

15.6 Pityrialacton* (35*)

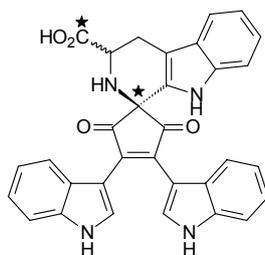


Die Verbindung, aus der DC-Bande mit R_f -Wert 0.19 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3), eluiert nach 22 Minuten von der analytischen RP-18-Säule. Die isolierte Menge stammt aus 40 Petrischalen. Die Substanz wird mittels präparativer HPLC (Trennsysteme 1 und 3) gereinigt.

Ausbeute	0.50 mg eines schwach gelben Pulvers
Schmp.	>250 °C
R_f -Wert	0.19 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)
UV	(Methanol): λ_{max} (log ϵ) = 224 (4.07), 276 (3.63), 292 (sh, 3.55), 356 nm (3.55).
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3402$ (ss, br), 2926 (w), 2855 (w), 1736 (s), 1639 (ss), 1536 (m), 1491 (w), 1458 (m), 1424 (m), 1365 (m), 1341 (m), 1244 (m), 1209

	(m), 1127 (w), 1105 (w), 1024 (w), 1010 (w), 955 (w), 744 (s), 585 cm ⁻¹ (w).
¹ H-NMR	([D ₆]DMSO, 600 MHz): δ = 6.48 (dd, ³ J = 7.44 Hz, ³ J = 7.44 Hz, 1 H), 6.65 (m, 2 H), 6.88 (dd, ³ J = 7.44 Hz, ³ J = 7.44 Hz, 1 H), 6.94 (dd, ³ J = 8.22 Hz, ³ J = 8.22 Hz, 1 H), 7.00 (d, ³ J = 8.22 Hz, 1 H), 7.27 (d, ³ J = 7.44 Hz, 1 H), 7.32 (d, ³ J = 8.22 Hz, 1 H), 7.41 (d, ³ J = 2.28 Hz, 1 H), 7.57 (s, 1 H, br), 11.24 (s, 1 H), 11.48 (s, 1 H, br).
¹³ C-NMR	([D ₆]DMSO, 150.9 MHz): δ = 107.00, 108.36, 111.49 (CH), 111.56 (CH), 117.28, 118.65 (CH), 119.65 (CH), 120.75 (CH), 121.13 (CH), 121.35 (CH), 121.43 (CH), 125.37, 126.37 (CH, C), 128.06 (CH), 135.82, 136.16, 151.94, 168.10 (¹³ COO), 172.84 (C=O).
EI-MS	<i>m/z</i> (%) = 329 (30) [M] ⁺ , 328 (100), 315 (12), 314 (49), 270 (12), 269 (16), 257 (33), 256 (83), 255 (31), 207 (16), 144 (22), 130 (7), 128 (13), 117 (14), 51 (36), 46 (38).
HR-EI-MS	für [M] ⁺ ber. 329.0881, gef. 329.0871.
Summenformel	¹³ C ¹² C ₁₉ H ₁₂ N ₂ O ₃ (MG 329.32)

15.7 Pityriarubin A* (39*)

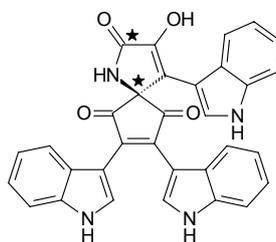


Die Verbindung, aus der DC-Bande mit *R_f*-Wert 0.14 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3), eluiert nach 49 Minuten von der analytischen RP-18-Säule. Die isolierte Menge stammt aus 40 Petrischalen. Die Substanz wird mittels präparativer HPLC (Trennsysteme 1 und 4) gereinigt.

Ausbeute	0.31 mg eines lockeren orangeroten Pulvers
Schmp.	>200 °C (Zersetzung)
<i>R_f</i> -Wert	0.14 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)

UV	(Acetonitril): λ_{\max} (log ϵ) = 198 (4.46), 219 (4.43), 277 (4.04), 385 (3.63), 436 nm (3.68).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3402 (ss, br), 2927 (w), 1683 (ss), 1516 (m), 1458 (w), 1422 (s), 1336 (w), 1243 (m), 1202 (s), 1135 (s), 1012 (w), 744 (m), 723 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_4]$ Methanol, 600 MHz): δ = 2.91 (dd, 2J = 12.66 Hz, 3J = 12.66 Hz, 1 H), 4.46 (m, 1 H), 6.66 (dd, 3J = 8.28 Hz, 3J = 8.28 Hz, 1 H), 6.67 (dd, 3J = 8.28 Hz, 3J = 8.28 Hz, 1 H), 6.93 (d, 3J = 8.28 Hz, 1 H), 6.94 (d, 3J = 8.28 Hz, 1 H), 7.03 (m, 3H), 7.09 (dd, 3J = 7.98 Hz, 3J = 7.98 Hz, 1 H), 7.27 (d, 3J = 7.98 Hz, 1 H), 7.37 (d, 3J = 8.28 Hz, 1 H), 7.39 (d, 3J = 8.28 Hz, 1 H), 7.54 (d, 3J = 7.98 Hz, 1 H), 8.04 (s, 1 H), 8.05 (s, 1 H). 1 Signal durch Lsgm. verdeckt.
$^{13}\text{C-NMR}$	($[\text{D}_4]$ Methanol, 150.9 MHz): δ = 27.50 (CH_2), 56.91 (CH), 63.49 (^{13}C), 108.54, 108.71, 112.63 (CH), 112.75 (2 CH, C), 119.17 (CH), 120.36 (CH), 121.16 (CH), 121.20 (CH), 123.26 (CH), 123.42 (CH), 123.45 (2 CH), 123.59 (CH), 127.29, 127.37, 128.46, 129.91, 132.16 (CH), 132.56 (CH), 138.07 (2 C), 139.01, 144.45, 145.63, 181.35 ($^{13}\text{COOH}$), 201.58 (C=O), 201.85 (C=O).
(+)-FAB-MS	(m-NBA) m/z (%) = 529 (3) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 45 (100).
HR-FAB-MS	für $[\text{M}+\text{H}]^+$ ber. 529.1786, gef. 529.1829.
Summenformel	$^{13}\text{C}_2^{12}\text{C}_{30}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_4$ (MG 528.53)

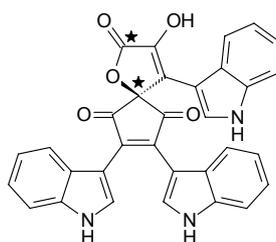
15.8 Pityriarubin B* (56*)



Die Verbindung, aus der DC-Bande mit R_f -Wert 0.27 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3), eluiert nach 48 Minuten von der analytischen RP-18-Säule. Die isolierte Menge stammt aus 40 Petrischalen. Die Substanz wird mittels präparativer HPLC (Trennsysteme 1 und 5) gereinigt.

Ausbeute	0.21 mg eines orangen Pulvers
Schmp.	180–183 °C (Zersetzung)
R_f -Wert	0.27 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} (log ϵ) = 196 (4.38), 218 (4.34), 277 (4.05), 382 (3.55), 446 nm (3.61).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3400 (s, br), 2927 (w), 2228 (w), 1732 (m), 1689 (s), 1618 (w), 1518 (m), 1423 (m), 1275 (w), 1244 (m), 1198 (m), 1133 (m), 1014 (w), 816 (w), 744 (m), 720 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	([D ₆]Aceton, 600 MHz): δ = 6.52 (ddd, 3J = 7.80 Hz, 3J = 7.80 Hz, 4J = 1.14 Hz, 2 H), 6.65 (d, 7.80 Hz, 2 H), 6.91 (ddd, 3J = 7.80 Hz, 3J = 7.80 Hz, 4J = 1.14 Hz, 2 H), 6.98 (ddd, 3J = 7.80 Hz, 3J = 7.80 Hz, 4J = 1.14 Hz, 1 H), 7.00 (d, 3J = 2.58 Hz, 1 H), 7.02 (ddd, 3J = 7.80 Hz, 3J = 7.80 Hz, 4J = 1.14 Hz, 1 H), 7.21 (d, 3J = 7.80 Hz, 1 H), 7.34 (d, 3J = 7.80 Hz, 2 H), 7.88 (d, 3J = 7.80 Hz, 1 H), 7.92 (s, 1 H), 7.98 (d, 3J = 2.58 Hz, 2 H), 10.26 (s, 1 H, br), 10.95 (s, 2 H, br).
$^{13}\text{C-NMR}$	([D ₆]Aceton, 150.9 MHz): δ = 68.47 (^{13}C), 107.06, 107.78 (2 C), 112.04 (CH), 112.49 (2 CH), 117.94, 120.09 (CH), 120.69 (2 CH), 122.24 (2 CH), 122.78 (CH), 122.82 (CH), 122.90 (2 CH), 124.15 (CH), 126.50 (2 C), 127.47, 131.54 (2 CH), 137.14, 137.17 (2 C), 144.23, 145.14 (2 C), 170.53 ($^{13}\text{CONH}$), 199.03 (2 C=O).
EI-MS	m/z (%) = 527 (34), 526 (91) [M] ⁺ , 525 (86), 524 (23), 497 (14), 381 (15), 380 (47), 329 (12), 328 (48), 327 (12), 321 (38), 283 (13), 258 (18), 257 (32), 256 (100), 255 (45), 144 (34), 133 (15), 130 (17), 117 (59), 44 (89).
HR-EI-MS	für [M] ⁺ ber. 526.1552, gef. 526.1576.
Summenformel	$^{13}\text{C}_2\text{ }^{12}\text{C}_{30}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_4$ (MG 526.51)

15.9 Pityriarubin C* (59*)

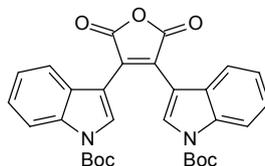


Die Verbindung, aus der DC-Bande mit R_f -Wert 0.38 (Toluol/Ameisensäureethyl-ester/Ameisensäure 10/5/3), eluiert nach 52 Minuten von der analytischen RP-18-Säule. Die isolierte Menge stammt aus 40 Petrischalen. Die Substanz wird mittels präparativer HPLC (Trennsysteme 1 und 5) gereinigt.

Ausbeute	0.32 mg eines roten Feststoffes
Schmp.	125–130 °C (Zersetzung)
R_f -Wert	0.38 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} (log ϵ) = 195 (4.66), 218 (4.60), 277 (4.37), 323 (sh, 4.08), 394 (3.74), 462 nm (3.83).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3416 (ss, br), 2924 (w), 1765 (s), 1686 (s), 1619 (m), 1571 (w), 1514 (m), 1459 (w), 1422 (s), 1337 (w), 1241 (m), 1199 (w), 1128 (m), 1095 (m), 1014 (m), 744 cm^{-1} (m).
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_6]$ Aceton, 600 MHz): δ = 6.60 (dd, 3J = 8.22 Hz, 3J = 8.22 Hz, 2 H), 6.77 (d, 3J = 8.22 Hz, 2 H), 6.98 (dd, 3J = 8.22 Hz, 3J = 8.22 Hz, 2 H), 7.06 (dd, 3J = 8.22 Hz, 3J = 8.22 Hz, 1 H), 7.11 (dd, 3J = 8.22 Hz, 3J = 8.22 Hz, 1 H), 7.22 (s, 1 H), 7.31 (d, 3J = 8.22 Hz, 1 H), 7.42 (d, 3J = 8.22 Hz, 2 H), 8.06 (d, 3J = 8.22 Hz, 1 H), 8.16 (s, 2 H), 10.59 (s, 1 H, br), 11.14 (s, 2 H, br).
$^{13}\text{C-NMR}$	($[\text{D}_6]$ Aceton, 150.9 MHz): δ = 82.22 (^{13}C), 105.86, 107.53 (2 C), 112.36 (CH), 112.63 (2 CH), 120.78 (CH), 121.03 (2 CH), 122.32 (2 CH), 122.91 (CH), 123.17 (2 CH), 123.37 (CH), 124.64, 125.18 (CH), 126.34 (2 C), 126.70, 132.27 (2 CH), 137.09 (2 C), 137.19, 137.95, 145.60 (2 C), 169.40 (^{13}COO), 195.41 (2 C=O).
(+)-FAB-MS	(Glycerin) m/z (%) = 528 (4) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 527 (6), 45 (100).
HR-FAB-MS	für $[\text{M}+\text{H}]^+$ ber. 528.1470, gef. 528.1471.
Summenformel	$^{13}\text{C}_2^{12}\text{C}_{30}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5$ (MG 527.50)

16 Arbeitsvorschriften zu Kapitel 6

16.1 4,5-Bis-(1-*tert*-Butyloxycarbonyl-indol-3-yl)maleinsäureanhydrid (91)

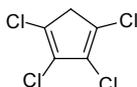


1.50 g Bis-(1*H*-indol-3-yl)maleinsäureanhydrid (**29**, 4.57 mmol) werden in 50.0 ml abs. THF gelöst. Man gibt 2.05 g (Boc)₂O und eine Spatelspitze DMAP hinzu. Nach einer Stunde Rühren bei Raumtemperatur wird mit 150 ml Essigsäureethylester verdünnt und je einmal mit 30.0 ml Wasser und 1.1 M Kaliumhydrogensulfatlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lsgm. i. Vak. entfernt. Man erhält ein orangefelbes Pulver.

Ausbeute	2.22 g (92%)
Schmp.	114–115 °C (Zersetzung)
<i>R_f</i> -Wert	0.42 (Petrolether/Essigsäureethylester 4/1)
UV	(Acetonitril): λ_{max} (log ϵ) = 210 (4.65), 252 (4.18), 281 (4.11), 288 (4.09), 413 nm (4.02).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3436 (w, br), 3154 (w), 3055 (w), 2981 (w), 2935 (w), 1830 (w), 1765 (s), 1744 (s), 1637 (w), 1609 (w), 1582 (w), 1550 (m), 1476 (w), 1453 (s), 1371 (s), 1311 (m), 1289 (s), 1249 (s), 1206 (s), 1149 (s), 1116 (m), 1091 (w), 932 (w), 841 (w), 745 (m), 592 cm ⁻¹ (w).
¹ H-NMR	(CDCl ₃ , 300 MHz): δ = 1.69 (s, 18 H), 6.88 (m, 4 H), 7.21 (ddd, ³ <i>J</i> = 8.40 Hz, ³ <i>J</i> = 8.40 Hz, ⁴ <i>J</i> = 1.77 Hz, 2 H), 8.15 (d, ³ <i>J</i> = 8.40 Hz, 2 H), 8.22 (s, 2 H).
¹³ C-NMR	(CDCl ₃ , 75.5 MHz): δ = 28.05 (6 CH ₃), 85.26 (2 C), 109.54 (2 C), 115.24 (2 CH), 121.40 (2 CH), 123.15 (2 CH), 125.23 (2 CH), 127.23 (2 C), 129.90 (2 C), 130.50 (2 CH), 135.08 (2 C), 148.81 (2 CON), 165.39 (2 COO).

EI-MS	m/z (%) = 528 (1) $[M]^+$, 329 (21), 328 (100), 257 (13), 256 (67), 255 (23), 228 (6), 227 (6), 128 (8), 114 (6), 57 (7), 56 (22), 55 (8), 44 (35), 41 (37), 39 (14).
HR-EI-MS	für $[M]^+$ ber. 528.1896, gef. 528.1856.
Summenformel	$C_{30}H_{28}N_2O_7$ (MG 528.56)

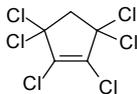
16.2 1,2,3,4-Tetrachlorcyclopenta-1,3-dien (97)^[168]



50.0 g Hexachlorcyclopentadien (**96**, 183 mmol) werden in 110 ml Eisessig gelöst. Man gibt innerhalb von 45 Minuten 29.0 g Zink (443 mmol) unter starkem Rühren zu. Die Temperatur im Reaktionsgefäß soll dabei 20 °C nicht überschreiten. Die gelbe Suspension wird in 300 ml warmes Wasser (50 °C) gegeben und das Reaktionsgefäß mit 150 ml warmen Wasser nachgespült. Es wird sofort vom Zinkstaub abfiltriert und das Filtrat im Eisbad gekühlt. Der entstandene Kristallbrei wird abfiltriert. Man erhält einen farblosen, kristallinen Feststoff.

Ausbeute	29.0 g (78%, Lit. ^[168] 80%)
Schmp.	63–64 °C (Lit. ^[168] 63.5–64 °C)
¹ H-NMR	(CDCl ₃ , 300 MHz): δ = 3.38 (s, 2 H).
¹³ C-NMR	(CDCl ₃ , 75.5 MHz): δ = 46.90 (CH ₂), 125.36 (2 C), 127.97 (2 C).
EI-MS	m/z (%) = 208 (3) $[M_{37Cl_3^{35}Cl}]^+$, 206 (18) $[M_{37Cl_2^{35}Cl_2}]^+$, 204 (37) $[M_{37Cl^{35}Cl_3}]^+$, 202 (29) $[M_{35Cl_4}]^+$, 171 (29), 169 (94), 167 (100), 97 (11), 85 (32), 83 (52), 61 (14), 47 (15), 35 (13).
Summenformel	$C_5H_2Cl_4$ (MG 203.88)

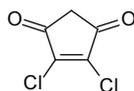
16.3 1,1,2,3,4,4-Hexachlorcyclopent-2-en (**98**)^[168]



25.0 g 1,2,3,4-Tetrachlorcyclopenta-1,3-dien (**97**, 123 mmol) werden in 180 ml Tetrachlorkohlenstoff gelöst. Man leitet bei Raumtemperatur sechs Stunden trockenes Chlor ein. Das überschüssige Chlor wird mit Stickstoff vertrieben und das Lsgm. i. Vak. entfernt. Der gelbe, ölige Rückstand wird destilliert. Man erhält ein farbloses Öl, das in der Kälte zu einem farblosen Kristallbrei erstarrt.

Ausbeute	20.0 g (59%, Lit. ^[168] 67%)
Schmp.	39–40 °C (Lit. ^[168] 39–40.5 °C)
¹ H-NMR	(CDCl ₃ , 300 MHz): $\delta = 4.04$ (s, 2 H).
¹³ C-NMR	(CDCl ₃ , 75.5 MHz): $\delta = 66.20$ (CH ₂), 83.84 (2 C), 136.86 (2 C).
Summenformel	C ₅ H ₂ Cl ₆ (MG 274.79)

16.4 2,3-Dichlorcyclopent-2-en-1,4-dion (**90**)^[168]

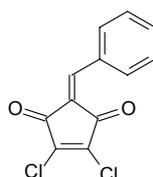


18.0 g 1,1,2,3,4,4-Hexachlorcyclopent-2-en (**98**, 65.5 mmol) werden in 180 ml konz. H₂SO₄ bei 50–60 °C gerührt. Nach sechs Stunden wird die Mischung auf Eis gegossen und der entstandene Feststoff abgetrennt. Man erhält ein farbloses Pulver.

Ausbeute	10.0 g (93%, Lit. ^[168] 90%)
Schmp.	162–163 °C (Lit. ^[168] 163–163.5 °C)
¹ H-NMR	(CDCl ₃ , 300 MHz): $\delta = 3.24$ (s, 2 H).
¹³ C-NMR	(CDCl ₃ , 75.5 MHz): $\delta = 42.14$ (CH ₂), 151.74 (2 C), 188.10 (2 C=O).

EI-MS	m/z (%) = 168 (9) [M_{37Cl_2}] ⁺ , 166 (64) [$M_{37Cl^{35}Cl}$] ⁺ , 164 (100) [M_{35Cl_2}] ⁺ , 129 (15), 124 (18), 122 (30), 108 (14), 96 (25), 94 (37), 89 (25), 87 (79), 73 (24), 69 (38), 43 (24), 42 (58), 37 (10), 36 (18).
Summenformel	C ₅ H ₂ Cl ₂ O ₂ (MG 164.98)

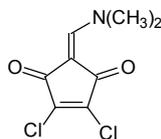
16.5 2,3-Dichlor-5-benzyliden-cyclopent-2-en-1,4-dion (104)^[174]



1.65 g 2,3-Dichlor-cyclopent-2-en-1,4-dion (**90**, 10.0 mmol) und 1.17 g Benzaldehyd (**103**, 11.0 mmol) werden auf 0 °C gekühlt und vorsichtig mit 4.00 ml konz. H₂SO₄ versetzt. Die rotbraune Suspension wird bei Raumtemperatur 15 Stunden gerührt. Man gibt zu der festen, beigen Masse Eis und filtriert. Der Rückstand wird zweimal mit Wasser und einmal mit eiskaltem Methanol gewaschen. Man erhält ein farbloses Pulver.

Ausbeute	2.30 g (91%, Lit. ^[174] 95%)
Schmp.	148–150 °C (Lit. ^[174] 149–150 °C)
R_f -Wert	0.49 (Petrolether/Essigsäureethylester 4/1)
¹ H-NMR	(CDCl ₃ , 300 MHz): δ = 7.54 (m, 3 H), 7.71 (s, 1 H), 8.29 (m, 2 H).
¹³ C-NMR	(CDCl ₃ , 75.5 MHz): δ = 122.85, 128.97 (2 CH), 131.83, 133.79 (CH), 134.05 (CH), 145.33 (CH), 147.39, 151.03, 180.89 (C=O), 183.19 (C=O).
EI-MS	m/z (%) = 256 (6) [M_{37Cl_2}] ⁺ , 255 (14), 254 (40) [$M_{37Cl^{35}Cl}$] ⁺ , 253 (70), 252 (64) [M_{35Cl_2}] ⁺ , 251 (100), 217 (8), 189 (15), 161 (12), 129 (6), 126 (11), 102 (10), 87 (16).
Summenformel	C ₁₂ H ₆ Cl ₂ O ₂ (MG 253.08)

16.6 2,3-Dichlor-5-(dimethylamino-methylen)cyclopent-2-en-1,4-dion (106)



3.00 g 2,3-Dichlorcyclopent-2-en-1,4-dion (**90**, 18.2 mmol) werden in 50.0 ml Dichlormethan gelöst und bei 0 °C vorsichtig mit 4.34 g *N,N*-Dimethylformamid-dimethylacetal (36.4 mmol) versetzt. Nach einer Stunde bei 0 °C wird das Lsgm. i. Vak. entfernt und der Rückstand aus Methanol umkristallisiert. Man erhält gelbe Kristalle.

Ausbeute 3.00 g (75%)

Schmp. 181–182 °C (Lit.^[243] 182 °C)

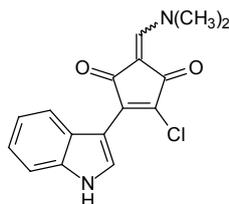
¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ = 3.30 (s, 3 H), 3.60 (s, 3 H), 7.24 (s, 1 H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 75.5 MHz): δ = 43.05 (CH₃), 47.84 (CH₃), 95.82, 139.59, 143.07, 149.93 (CH), 180.25 (C=O), 185.21 (C=O).

EI-MS m/z (%) = 223 (10) [M_{37Cl_2}]⁺, 222 (6), 221 (64) [$M_{37Cl^{35}Cl}$]⁺, 220 (10), 219 (100) [M_{35Cl_2}]⁺, 206 (19), 204 (31), 184 (12), 178 (7), 177 (9), 175 (6), 158 (7), 156 (23), 140 (7), 128 (14), 116 (8), 87 (16), 53 (11).

Summenformel C₈H₇Cl₂NO₂ (MG 220.06)

16.7 3-Chlor-2-(indol-3-yl)-5-(dimethylamino-methylen)cyclopent-2-en-1,4-dion (107)



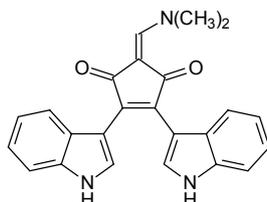
221 mg Indol (**21**, 1.89 mmol) werden in 10.0 ml abs. Toluol vorgelegt. Man gibt bei 0 °C 1.98 ml 1.00 M Ethylmagnesiumbromid in THF (1.98 mmol) zu und rührt für zehn

Minuten bei Raumtemperatur. 100 mg 2,3-Dichlor-5-(dimethylamino-methylen)cyclopent-2-en-1,4-dion (**106**, 0.45 mmol) werden in 5.00 ml abs. Toluol gelöst und zugegeben. Die Reaktionsmischung färbt sich sofort intensiv blau. Nach fünf Minuten Rühren bei Raumtemperatur wird mit 2N HCl gequenscht und dreimal mit 50.0 ml Essigsäureethylester extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lsgm. i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird an Kieselgel mit Essigsäureethylester/Petrolether 4/1 flash-chromatographisch gereinigt. Man erhält leuchtend orange Kristalle.

Ausbeute	100 mg (74%)
Schmp.	253 °C (Zersetzung)
R_f -Wert	0.33 (Essigsäureethylester/Petrolether 4/1)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} (log ϵ) = 218 (4.46), 258 (4.03), 285 (4.23), 319 (4.48), 445 nm (3.61).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3421 (m, br), 3210 (m), 2930 (w), 1703 (m), 1647 (s), 1617 (s), 1490 (w), 1438 (m), 1420 (m), 1392 (m), 1345 (w), 1261 (w), 1176 (w), 1126 (m), 1090 (m), 1005 (w), 900 (w), 855 (w), 822 (w), 748 (m), 648 (w), 624 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_6]$ DMSO, 300 MHz): δ = 3.31 (s, 6 H), 3.57 (d, 4J = 2.88 Hz, 6 H), 7.10 (dd, 3J = 7.98 Hz, 3J = 7.98 Hz, 2 H), 7.18 (dd, 3J = 7.98 Hz, 3J = 7.98 Hz, 2 H), 7.34 (s, 1 H), 7.48 (d, 3J = 7.98 Hz, 2 H), 7.73 (d, 3J = 7.98 Hz, 1 H), 7.79 (d, 3J = 7.98 Hz, 1 H), 7.89 (d, 4J = 2.88 Hz, 1 H), 7.92 (d, 4J = 2.88 Hz, 1 H), 11.93 (s, 2 H).
$^{13}\text{C-NMR}$	($[\text{D}_6]$ DMSO, 75.5 MHz): δ = 42.78 (CH_3), 42.90 (CH_3), 47.27 (2 CH_3), 95.73, 96.23, 104.00, 104.04, 112.23 (2 CH), 120.14 (CH), 120.16 (CH), 122.15 (CH), 122.19 (CH), 122.25 (CH), 122.32 (CH), 125.28, 125.33, 130.54 (CH), 130.64 (CH), 132.34, 135.83, 136.49, 136.53, 137.96, 141.21, 149.74 (CH), 149.91 (CH), 182.82 (C=O), 186.84 (C=O), 187.39 (C=O), 191.28 (C=O).
EI-MS	m/z (%) = 302 (18) [$\text{M}_{37\text{Cl}}$] $^+$, 301 (10), 300 (53) [$\text{M}_{35\text{Cl}}$] $^+$, 285 (6), 168 (18), 140 (7), 113 (5), 98 (6), 88 (7), 73 (5), 70 (11), 61 (15), 45 (14), 44 (8), 43 (100), 42 (8), 36 (6).
HR-EI-MS	für [$\text{M}_{35\text{Cl}}$] $^+$ ber. 300.0665, gef. 300.0662.
EA	ber. C 63.90 H 4.36 N 9.31 Cl 11.79 gef. C 63.68 H 4.51 N 9.19 Cl 11.88

Summenformel $C_{16}H_{13}ClN_2O_2$ (MG 300.74)

16.8 2,3-Bis-(1*H*-indol-3-yl)-5-(dimethylamino-methylen)cyclopent-2-en-1,4-dion (108)



3.90 g Indol (**21**, 33.3 mmol) werden in 50.0 ml abs Toluol vorgelegt. Man gibt bei 0 °C 35.0 ml 1.00 M Ethylmagnesiumbromid in THF (35.0mmol) zu und rührt für zehn Minuten bei Raumtemperatur. Es werden 1.74 g 2,3-Dichlor-5-(dimethylamino-methylen)-cyclopent-2-en-1,4-dion (**106**, 7.91 mmol) in 20.0 ml abs. Toluol gelöst zugegeben. Es tritt sofortige Blaufärbung ein. Die Mischung wird für zwei Stunden refluxiert und mit 2N HCl gequentscht. Man extrahiert dreimal mit je 150 ml Essigsäureethylester und trocknet die organische Phase über Magnesiumsulfat. Das Lsgm. wird i. Vak. entfernt und der Rückstand an Kieselgel mit Essigsäureethylester/Petrolether 4/1 flash-chromatographisch gereinigt. Man erhält ein ziegelrotes Pulver.

Ausbeute 1.85 g (61%)

Schmp. >250 °C

R_f -Wert 0.26 (Essigsäureethylester/Petrolether 4/1)

UV (Acetonitril): λ_{\max} (log ϵ) = 204 (4.64), 286 (4.27), 339 (4.45), 477 nm (3.50).

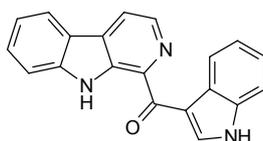
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3408 (m, br), 3056 (w), 2927 (w), 1693 (m), 1631 (s), 1610 (s), 1529 (m), 1489 (w), 1421 (m), 1389 (m), 1330 (w), 1241 (m), 1179 (w), 1130 (m), 1095 (m), 1036 (m), 1011 (w), 962 (w), 808 (w), 782 (w), 744 (m), 656 (w), 544 (w), 430 cm^{-1} (w).

$^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO, 300 MHz): δ = 3.29 (s, 3 H), 3.63 (s, 3 H), 6.55 (m, 2 H), 6.76 (dd, 3J = 7.65 Hz, 2 H), 6.90 (dd, 3J = 7.65 Hz, 2 H), 7.27 (s, 1 H), 7.31 (d, 3J = 7.65 Hz, 2 H), 7.68 (d, 3J = 2.52 Hz, 1 H), 7.71 (d, 3J = 2.52 Hz, 1 H), 11.46 (s, 2 H).

¹³ C-NMR	([D ₆]DMSO, 75.5 MHz): $\delta = 42.67$ (CH ₃), 47.05 (CH ₃), 97.37, 106.96, 107.04, 111.57 (2 CH), 119.02 (2 CH), 121.03 (CH), 121.08 (CH), 121.24 (CH), 121.27 (CH), 125.91, 126.01, 128.83 (CH), 128.89 (CH), 135.01, 135.99, 136.03, 137.97, 148.87 (CH), 191.00 (C=O), 194.90 (C=O).
EI-MS	m/z (%) = 382 (24), 381 (100) [M] ⁺ , 380 (7), 337 (3), 309 (5), 283 (7), 257 (6), 256 (19), 255 (17), 228 (4), 227 (4), 190 (4), 43 (10).
HR-EI-MS	für [M] ⁺ ber. 381.1478, gef. 381.1466.
Summenformel	C ₂₄ H ₁₉ N ₃ O ₂ (MG 381.43)

17 Arbeitsvorschriften und Experimentelle Daten zu Kapitel 7

17.1 Pityriacitrin (117)

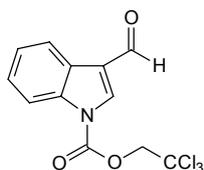


Die Verbindung, aus der DC-Bande mit R_f -Wert 0.15 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3), eluiert nach 64 Minuten von der analytischen RP-18-Säule. Die isolierte Menge stammt aus 214 Petrischalen. Die Substanz wird mittels präparativer HPLC (Trennsysteme 1 und 6) gereinigt.

Ausbeute	1.74 mg eines zitronengelben Feststoffes
Schmp.	227–230 °C
R_f -Wert	0.15 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} (log ϵ) = 193 (4.24), 216 (4.47), 262 (sh, 3.91), 281 (sh, 3.95), 289 (3.99), 310 (3.86), 389 nm (3.88).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3420 (ss, br), 3057 (w), 2929 (w), 1630 (m), 1600 (s), 1509 (m), 1491 (s), 1467 (m), 1426 (s), 1384 (w), 1319 (w), 1285 (w), 1234 (m), 1215 (m), 1122 (m), 938 (m), 883 (w), 840 (w), 802 (m), 778 (m), 745 (m), 633 (m), 580 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_3]$ Acetonitril, 600 MHz): δ = 7.32 (m, 3 H), 7.57 (dd, 3J = 6.66 Hz, 4J = 1.86 Hz, 1 H), 7.62 (dd, 3J = 7.80 Hz, 3J = 7.80 Hz, 1 H), 7.77 (d, 3J = 7.80 Hz, 1 H), 8.26 (d, 3J = 7.80 Hz, 1 H), 8.27 (d, 3J = 4.80 Hz, 1 H), 8.58 (d, 3J = 4.80 Hz, 1 H), 8.60 (d, 3J = 6.66 Hz, 1 H), 9.40 (d, 3J = 2.94 Hz, 1 H), 10.06 (s, 1 H, br), 10.96 (s, 1 H, br).
$^{13}\text{C-NMR}$	($[\text{D}_3]$ Acetonitril, 150.9 MHz): δ = 112.94 (CH), 113.40 (CH), 115.83, 118.87 (CH), 121.27 (CH), 121.69, 122.68 (CH), 123.12 (CH), 123.30 (CH), 124.20 (CH), 128.48, 129.92 (CH), 132.15, 136.93, 137.09, 138.42 (CH), 138.69 (CH), 139.48, 142.40, 189.39 (C=O).

EI-MS	m/z (%) = 312 (15), 311 (79) [M] ⁺ , 310 (60), 295 (21), 294 (100), 283 (20), 282 (41), 281 (8), 168 (5), 166 (10), 156 (5), 155 (22), 144 (28), 141 (5), 116 (10), 89 (7).
HR-EI-MS	für [M] ⁺ ber. 311.1058, gef. 311.1033.
Summenformel	C ₂₀ H ₁₃ N ₃ O (MG 311.34)

17.2 3-Formyl-indol-1-carbonsäure-2,2,2-trichlorethylester (130)

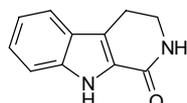


5.00 g Indol-3-carbaldehyd (**66**, 34.4 mmol) werden in 100 ml Chloroform suspendiert. Man gibt 3.65 g Triethylamin (36.1 mmol) zu und tropft unter Wasserbadkühlung langsam 7.65 g Chlorameisensäure-2,2,2-trichlorethylester (**129**, 36.1 mmol) zu. Nach 15 Minuten Rühren bei Raumtemperatur wird mit je 30 ml Wasser und gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung extrahiert. Man trocknet über Magnesiumsulfat und entfernt das Lsgm. i. Vak. Man erhält ein rotes Pulver, das mit wenig Methanol farblos gewaschen wird.

Ausbeute	9.37 g (85%)
Schmp.	151–153 °C
R_f -Wert	0.37 (Petrolether/Essigsäureethylester 4/1)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} (log ϵ) = 213 (4.54), 237 (4.09), 287 nm (4.04).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3436 (w, br), 3144 (w), 2831 (m), 1765 (s), 1675 (s), 1550 (s), 1481 (m), 1454 (s), 1401 (s), 1377 (m), 1347 (s), 1312 (m), 1224 (s), 1155 (s), 1081 (m), 1039 (m), 855 (m), 798 (s), 778 (m), 760 (s), 750 (s), 714 (s), 61113 (m), 569 cm ⁻¹ (m).
¹ H-NMR	(CDCl ₃ , 300 MHz): δ = 5.11 (s, 2 H), 7.44 (m, 2 H), 8.27 (m, 3 H), 10.13 (s, 1 H).
¹³ C-NMR	(CDCl ₃ , 75.5 MHz): δ = 76.19 (CH ₂), 93.89 (CCl ₃), 115.13 (CH), 122.43 (CH), 123.06, 125.35 (CH), 126.15, 126.76 (CH), 135.43 (CH), 135.85, 148.72 (NCOO), 185.60 (CHO).

EI-MS	m/z (%) = 323 (25) [$M_{37Cl_2^{35}Cl}$] ⁺ , 322 (12), 321 (79) [$M_{37Cl^{35}Cl_2}$] ⁺ , 320 (15), 319 (81) [M_{35Cl_3}] ⁺ , 284 (13), 172 (22), 145 (60), 144 (75), 143 (13), 135 (14), 133 (46), 131 (49), 117 (23), 116 (100), 115 (28), 97 (21), 96 (13), 95 (33), 89 (44), 88 (13), 63 (18), 62 (11), 61 (20).				
HR-EI-MS	für [$M_{37Cl_2^{35}Cl}$] ⁺ ber. 322.9511, gef. 322.9488.				
EA	ber.	C 44.96	H 2.52	N 4.37	Cl 33.18
	gef.	C 44.79	H 2.31	N 4.26	Cl 32.98
Summenformel	C ₁₂ H ₈ Cl ₃ NO ₃ (MG 320.56)				

17.3 2,3,4,9-Tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-1-on (134)^[205]

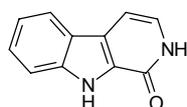


9.00 g Tryptamin (**132**, 56.2 mmol) werden in 800 ml Toluol unter Erwärmen gelöst. Die Lösung wird auf Raumtemperatur abgekühlt und mit 13.8 g Triethylamin (136 mmol) versetzt. Man tropft langsam 6.70 g Triphosgen (**133**, 22.6 mmol) zu und lässt 30 Minuten bei Raumtemperatur rühren, wobei sich ein gelber Niederschlag bildet. Nach Zugabe von 13.0 ml 30proz. HBr in Eisessig wird die Mischung 120 Minuten refluxiert. Man versetzt die Reaktionslösung mit 300 ml Essigsäureethylester und 300 ml Wasser. Die wässrige Phase wird zweimal mit 300 ml Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinten organischen Phasen trocknet man über Magnesiumsulfat und entfernt das Lsgm. i. Vak. Man erhält ein hellgelbes Pulver.

Ausbeute	7.72 g (74%, Lit. ^[205] 74%)
Schmp.	180–182 °C (Lit. ^[205] 184 °C)
¹ H-NMR	(CDCl ₃ , 300 MHz): δ = 3.04 (t, ³ <i>J</i> = 7.20 Hz, 2 H), 3.69 (dt, ³ <i>J</i> = 7.20 Hz, ³ <i>J</i> = 2.10 Hz, 2 H), 6.89 (s, 1 H), 7.12 (dd, ³ <i>J</i> = 8.07 Hz, ³ <i>J</i> = 8.07 Hz, 1 H), 7.27 (dd, ³ <i>J</i> = 8.07 Hz, ³ <i>J</i> = 8.07 Hz, 1 H), 7.49 (d, ³ <i>J</i> = 8.07 Hz, 1 H), 7.57 (d, ³ <i>J</i> = 8.07 Hz, 1 H), 10.56 (s, 1 H).

$^{13}\text{C-NMR}$	(CDCl_3 , 75.5 MHz): $\delta = 20.72$ (CH_2), 42.02 (CH_2), 112.74 (CH), 120.07, 120.13 (CH), 120.20 (CH), 125.13 (CH, C), 126.10, 137.68, 163.93 (CONH).
EI-MS	m/z (%) = 187 (12), 186 (89) $[\text{M}]^+$, 157 (36), 130 (17), 129 (100), 128 (18), 102 (15), 101 (7) 77 (6).
Summenformel	$\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}$ (MG 186.21)

17.4 2,9-Dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-1-on (135)



5.38 g 2,3,4,9-Tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-1-on (**134**, 28.9 mmol) werden in 100 ml Hexadecan suspendiert. Nach Zugabe von 2.00 g Palladium auf Aktivkohle wird mit dem Luftbad bis zum Sieden erhitzt. Das Luftbad wird entfernt und die Mischung zehn Minuten gerührt. Man erhitzt wieder bis zum Sieden und rührt nach Entfernen der Heizquelle weitere zehn Minuten. Dieser Vorgang wird noch zweimal wiederholt. Von der abgekühlten Suspension wird das Hexadecan vorsichtig abdekantiert. Der Rückstand wird mit 100 ml Ethanol zum Sieden erhitzt und die Suspension heiß über Celite[®] filtriert. Man wäscht mit 100 ml heißem Ethanol nach und entfernt das Lsgm. i. Vak. Das Produkt wird in wenig Petrolether aufgeschlämmt und abfiltriert. Man wäscht noch mit etwas Petrolether nach und erhält ein farbloses Pulver.

Ausbeute 4.90 g (92%)

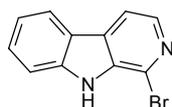
Schmp. 254–256 °C (Lit.^[205] 255–257 °C)

$^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO, 300 MHz): $\delta = 6.97$ (d, $^3J = 6.87$ Hz, 1 H), 7.08 (d, $^3J = 6.87$ Hz, 1 H), 7.16 (dd, $^3J = 8.01$ Hz, $^3J = 8.01$ Hz, 1 H), 7.39 (dd, $^3J = 8.01$ Hz, $^3J = 8.01$ Hz, 1H), 7.52 (d, $^3J = 8.01$ Hz, 1 H), 8.00 (d, $^3J = 8.01$ Hz, 1 H), 11.42 (s, 1 H), 11.94 (s, 1 H).

$^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO, 75.5 MHz): $\delta = 99.91$ (CH), 112.64 (CH), 119.65 (CH), 121.48 (CH), 122.17, 124.46, 124.71 (CH), 126.39 (CH), 128.21, 139.19, 155.90 (CONH).

EI-MS	m/z (%) = 185 (12), 184 (100) $[M]^+$, 155 (17), 129 (19), 128 (9), 102 (7), 101 (6).
Summenformel	$C_{11}H_8N_2O$ (MG 184.20)

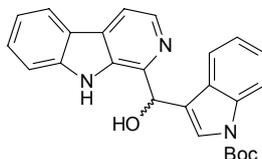
17.5 1-Brom-9H-pyrido[3,4-b]indol (136)^[206]



3.00 g 2,9-Dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-1-on (**135**, 16.3 mmol) und 30.0 g $POBr_3$ (104 mmol) werden in 40.0 ml Anisol refluxiert. Nach vier Stunden gibt man zu der grünschwarzen Suspension vorsichtig 250 ml gesättigte Natriumcarbonatlösung. Die Mischung wird zweimal mit 150 ml Essigsäureethylester extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lsgm. wird i. Vak. entfernt und der Rückstand an Kieselgel mit Petrolether/Essigsäureethylester 2/1 flash-chromatographisch gereinigt. Man erhält einen farblosen Feststoff.

Ausbeute	2.46 g (62%, Lit. ^[206] 88%)
Schmp.	149–151 °C (Lit. ^[206] 152 °C)
1H -NMR	($[D_6]$ DMSO, 300 MHz): δ = 7.27 (dd, 3J = 8.01 Hz, 3J = 8.01 Hz, 1 H), 7.58 (dd, 3J = 8.01 Hz, 3J = 8.01 Hz, 1 H), 7.66 (d, 3J = 8.01 Hz, 1 H), 8.13 (m, 2 H), 8.22 (d, 3J = 8.01 Hz, 1 H), 11.82 (s, 1 H).
^{13}C -NMR	($[D_6]$ DMSO, 75.5 MHz): δ = 112.69 (CH), 115.14 (CH), 120.26 (CH), 121.19, 122.29 (CH), 124.16, 128.94 (CH), 129.50, 134.90, 138.26 (CH), 140.76.
EI-MS	m/z (%) = 249 (12), 248 (87) $[M_{81Br}]^+$, 247 (15), 246 (100) $[M_{79Br}]^+$, 168 (11), 167 (64), 166 (41), 165 (9), 140 (47), 139 (25), 114 (13), 113 (12).
Summenformel	$C_{11}H_7BrN_2$ (MG 247.09)

17.6 (*R,S*)-(9*H*-Pyrido[3,4-*b*]indol-1-yl)(1'-(*tert*-butyloxycarbonyl)-1'*H*-indol-3'-yl)methanol (**138**)

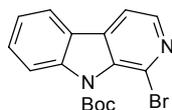


48.0 mg NaH (2.00 mmol) werden in 10.0 ml abs. THF vorgelegt. Bei 0 °C gibt man 494 mg 1-Brom-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol (**136**, 2.00 mmol) zu und rührt 30 Minuten bei dieser Temperatur. Die gelbe Lösung wird auf -78 °C gekühlt und man tropft langsam 2.35 ml *tert*-BuLi (4.00 mmol, 1.7 M in Pentan) zu. Nach 20 Minuten werden 981 mg Aldehyd **24** (4.00 mmol) zugegeben. Nach 90 Minuten wird mit gesättigter Ammoniumchloridlösung gequentscht und zweimal mit 100 ml Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lsgm. i. Vak. entfernt. Der rote ölige Rückstand wird an Kieselgel mit Essigsäureethylester/Petrolether 1/1 flash-chromatographisch gereinigt. Man erhält ein farbloses, kristallines Pulver.

Ausbeute	700 mg (85%)
Schmp.	108–110 °C
<i>R_f</i> -Wert	0.39 (Petrolether/Essigsäureethylester 1/1)
UV	(Methanol): λ_{\max} (log ϵ) = 214 (4.49), 231 (4.62), 291 (4.22), 339 nm (3.52).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3437 (m, br), 3059 (w), 2979 (w), 1734 (s), 1628 (m), 1568 (w), 1453 (s), 1431 (w), 1371 (s), 1310 (w), 1255 (s), 1156 (s), 1087 (m), 933 (w), 840 (w), 766 (m), 746 (s), 590 cm ⁻¹ (w).
¹ H-NMR	([D ₆]DMSO, 300 MHz): δ = 1.60 (s, 9 H), 6.41 (d, ³ <i>J</i> = 4.32 Hz, 1 H), 6.52 (d, ³ <i>J</i> = 4.32 Hz, 1 H), 7.11 (dd, ³ <i>J</i> = 7.83 Hz, ³ <i>J</i> = 7.83 Hz, 1 H), 7.22 (m, 2 H), 7.51 (dd, ³ <i>J</i> = 8.19 Hz, ³ <i>J</i> = 8.19 Hz, 1 H), 7.67 (d, ³ <i>J</i> = 7.83 Hz, 1 H), 7.72 (d, ³ <i>J</i> = 8.19 Hz, 1 H), 7.84 (s, 1 H), 7.98 (d, ³ <i>J</i> = 8.19 Hz, 1 H), 8.00 (d, ³ <i>J</i> = 5.28 Hz, 1 H), 8.18 (d, ³ <i>J</i> = 7.83 Hz, 1 H), 8.27 (d, ³ <i>J</i> = 5.28 Hz, 1 H), 11.34 (s, 1 H).

$^{13}\text{C-NMR}$	($[\text{D}_6]$ DMSO, 75.5 MHz): $\delta = 27.88$ (3 CH_3), 70.33 (CH), 83.86 (C-Boc), 112.66 (CH), 114.13 (CH), 114.81 (CH), 119.32 (CH), 120.57, 120.72 (CH), 121.55 (CH), 122.53 (CH), 123.15 (CH), 123.37, 124.38 (CH), 128.14 (CH), 128.74, 128.82, 132.60, 135.17, 136.88 (CH), 140.80, 146.15, 149.36.				
EI-MS	m/z (%) = 413 (17) $[\text{M}]^+$, 339 (9), 298 (11), 297 (51), 296 (32), 295 (61), 294 (100), 293 (22), 184 (14), 168 (44), 167 (13), 140 (13), 130 (11), 117 (9), 57 (41), 56 (14), 44 (20), 41 (33), 39 (16).				
HR-EI-MS	für $[\text{M}]^+$ ber. 413.1739, gef. 413.1740.				
EA	$\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_3 \cdot 0.6 \text{CCl}_4$	ber.	C 60.79	H 4.58	N 8.31
		gef.	C 60.76	H 4.58	N 8.31
Summenformel	$\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_3$ (MG 413.48)				

17.7 1-Brom-9-*tert*-butyloxycarbonyl-pyrido[3,4-*b*]indol (139)

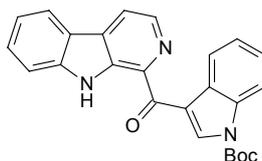


700 mg 1-Brom-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol (**136**, 2.83 mmol) werden in 20.0 ml abs. THF vorgelegt. Man gibt 618 mg $(\text{BOC})_2\text{O}$ (2.83 mmol) und eine Spatelspitze DMAP zu. Es wird 90 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Man verdünnt mit 50.0 ml Essigsäureethylester und wäscht mit 40.0 ml gesättigter Kaliumhydrogensulfatlösung. Die wäßrige Phase wird noch zweimal mit 30.0 ml Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lsgm. i. Vak. entfernt. Man erhält ein farbloses Pulver.

Ausbeute	980 mg (98%)
Schmp.	104–106 °C
R_f -Wert	0.31 (Petrolether/Essigsäureethylester 4/1)
UV	(Acetonitril): λ_{max} (log ϵ) = 226 (4.53), 249 (4.14), 274 (3.94), 282 (4.11), 317 nm (3.68).
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3447$ (w, br), 3010 (w), 2983 (m), 1948 (w), 1902 (w), 1732 (s), 1617 (m), 1546 (s), 1486 (w), 1450 (s), 1431 (s), 1415 (s), 1394 (w),

	1369 (s), 1341 (s), 1302 (s), 1286 (m), 1255 (s), 1219 (s), 1151 (s), 1074 (w), 1053 (s), 953 (w), 935 (m), 838 (s), 804 (m), 771 (s), 746 (s), 734 (m), 698 (w), 652 (m), 616 (m), 554 (w), 428 cm ⁻¹ (m).
¹ H-NMR	([D ₆]DMSO, 300 MHz): δ = 1.65 (s, 9 H), 7.48 (dd, ³ J = 7.71 Hz, ³ J = 7.71 Hz, 1 H), 7.71 (dd, ³ J = 7.41 Hz, ³ J = 7.41 Hz, 1 H), 8.01 (d, ³ J = 7.71 Hz, 1 H), 8.24 (d, ³ J = 5.07 Hz, 1 H), 8.29 (d, ³ J = 7.41 Hz, 1 H), 8.37 (d, ³ J = 5.07 Hz, 1 H).
¹³ C-NMR	([D ₆]DMSO, 75.5 MHz): δ = 27.63 (3 CH ₃), 85.87, 114.41 (CH), 114.76 (CH), 122.47 (CH), 122.82, 124.17 (CH), 128.11, 130.92 (CH), 133.91, 135.31, 140.23, 143.40 (CH), 148.67 (C=O).
EI-MS	<i>m/z</i> (%) = 348 (3) [M _{81Br}] ⁺ , 346 (3) [M _{79Br}] ⁺ , 326 (4), 249 (9), 248 (100), 247 (12), 246 (100), 245 (4), 168 (5), 167 (31), 166 (23), 165 (5), 140 (11), 139 (9), 114 (5), 57 (12), 41 (5).
HR-EI-MS	für [M _{79Br}] ⁺ ber. 346.0317, gef. 346.0315.
Summenformel	C ₁₆ H ₁₅ BrN ₂ O ₂ (MG 347.21)

17.8 (9*H*-Pyrido[3,4-*b*]indol-1-yl)(1'-(*tert*-butyloxycarbonyl)-1'*H*-indol-3'-yl)keton (140)



235 mg Pyridinium-chlorochromat (10.9 mmol) werden in 20.0 ml abs. Dichlormethan vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Unter Rühren gibt man langsam 300 mg Alkohol **138** (0.73 mmol), in 30.0 ml abs. Dichlormethan suspendiert, hinzu. Die Suspension wird 30 Minuten bei 0 °C und nach Entfernen des Eisbades eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Man filtriert die rote Suspension und wäscht mit 150 ml Essigsäureethylester nach. Die organische Phase wird mit 30.0 ml Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lsgm. wird i. Vak. entfernt und der Rückstand an Kieselgel mit Petrolether/Essigsäureethylester 2/1 flash-chromatographisch gereinigt. Man erhält ein hellgelbes Pulver.

Ausbeute	230 mg (77%)
Schmp.	155–156 °C (Zersetzung)
R_f -Wert	0.58 (Petrolether/Essigsäureethylester 2/1)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} (log ϵ) = 221 (4.78), 301 (4.25), 393 nm (4.08).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3435 (m, br), 3179 (w), 2979 (w), 1744 (s), 1613 (s), 1535 (m), 1492 (m), 1467 (m), 1450 (s), 1393 (s), 1370 (s), 1354 (s), 1308 (m), 1256 (s), 1230 (s), 1199 (m), 1139 (s), 1076 (m), 1020 (w), 930 (m), 856 (w), 800 (m), 768 (s), 746 (s), 642 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_6]$ DMSO, 300 MHz): δ = 1.70 (s, 9 H), 7.31 (dd, 3J = 8.01 Hz, 3J = 8.01 Hz, 1 H), 7.46 (m, 2 H), 7.60 (dd, 3J = 8.28 Hz, 3J = 8.28 Hz, 1 H), 7.84 (d, 3J = 8.28 Hz, 1 H), 8.17 (m, 1 H), 8.32 (d, 3J = 8.01 Hz, 1 H), 8.47 (d, 3J = 4.92 Hz, 1 H), 8.59 (m, 3J = 4.92 Hz, 2 H), 9.59 (s, 1 H), 12.08 (s, 1 H).
$^{13}\text{C-NMR}$	($[\text{D}_6]$ DMSO, 75.5 MHz): δ = 27.74 (3 CH_3), 85.66 (C-Boc), 113.24 (CH), 115.06 (CH), 117.12, 119.11 (CH), 120.16, 120.31 (CH), 121.97 (CH), 122.29 (CH), 124.52 (CH), 125.54 (CH), 128.85, 129.10 (CH), 131.39, 134.41, 135.41, 137.08 (CH), 137.26, 137.31 (CH), 141.93, 148.91, 187.97 (C=O).
EI-MS	m/z (%) = 411 (24) $[\text{M}]^+$, 355 (9), 312 (10), 311 (50), 310 (50), 295 (24), 294 (100), 283 (17), 282 (31), 281 (12), 167 (9), 166 (10), 144 (19), 140 (11), 57 (31), 41 (19), 39 (10).
HR-EI-MS	für $[\text{M}]^+$ ber. 411.1534, gef. 411.1643.
EA	ber. C 72.98 H 5.14 N 10.21 gef. C 72.77 H 5.20 N 10.24
Summenformel	$\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_3$ (MG 411.46)

17.9 Pityriacitrin: (9*H*-Pyrido[3,4-*b*]indol-1-yl)(1'*H*-indol-3'-yl)keton (117)



130 mg Keton **140** (0.32 mmol) werden in 10.0 ml einer 5N HCl/*iso*-Propanol-Lösung für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die orange Suspension wird mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung neutralisiert und zweimal mit 50.0 ml Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lsgm. i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird an Kieselgel mit Petrolether/Essigsäureethylester 2/1 flash-chromatographisch gereinigt. Man erhält ein gelbes, kristallines Pulver.

Ausbeute 81.0 mg (80%)

R_f -Wert 0.53 (Essigsäureethylester/Petrolether 1/1)

$^1\text{H-NMR}^3$ ($[\text{D}_6]$ DMSO, 300 MHz): $\delta = 7.28$ (m, 3 H), 7.58 (m, 2 H), 7.84 (d, $^3J = 8.19$ Hz, 1 H), 8.29 (d, $^3J = 7.77$ Hz, 1 H), 8.38 (d, $^3J = 4.98$ Hz, 1 H), 8.57 (dd, $^3J = 7.77$ Hz, $^3J = 4.98$ Hz, 2 H), 9.25 (s, 1 H), 11.99 (s, 1 H), 12.10 (s, 1 H, br).

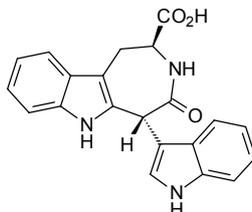
$^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO, 75.5 MHz): $\delta = 112.50$ (CH), 113.21 (CH), 114.47, 118.14 (CH), 120.06 (CH), 120.26, 121.87 (2 CH), 122.25 (CH), 123.11 (CH), 127.42, 128.88 (CH), 130.96, 135.25, 136.16, 137.18 (CH), 138.06 (CH), 138.69, 141.79, 187.58 (C=O).

EA	ber.	C 77.16	H 4.21	N 13.50
	gef.	C 76.82	H 4.26	N 13.31

³ Da die NMR-Daten in dem japanischen Patent^[187] in $[\text{D}_6]$ DMSO angegeben sind, werden hier zum besseren Vergleich die Werte des synthetischen Produkts ebenfalls in $[\text{D}_6]$ DMSO angegeben.

18 Arbeitsvorschriften und Experimentelle Daten zu Kapitel 8

18.1 Malassezindol A (141)



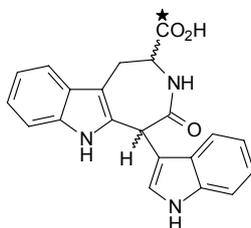
Die Verbindung, aus der DC-Bande mit R_f -Wert 0.38 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3), eluiert nach 27 Minuten von der analytischen RP-18-Säule.

Die isolierte Menge stammt aus 214 Petrischalen. Die Substanz wird mittels präparativer HPLC (Trennsysteme 1 und 7) gereinigt.

Ausbeute	3.84 mg eines farblosen Pulvers
Schmp.	>250 °C
R_f -Wert	0.38 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)
UV	(Methanol): λ_{\max} ($\log \epsilon$) = 222 (4.30), 280 nm (3.68).
Drehwert	(Methanol): $[\alpha]_D^{25} = -87$ ($c = 0.045$).
CD	(Methanol): λ_{\max} ($\Delta\epsilon$) = 206 (-4.59), 225 (-3.41), 231 (0), 239 (+2.71), 254 (0), 286 nm (-2.55).
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3429$ (ss, br), 2926 (w), 1621 (s), 1459 (m), 1398 (m), 1098 (w), 745 (m), 433 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_4]$ Methanol, 600 MHz): $\delta = 2.95$ (dd, $^2J = 16.14$ Hz, $^3J = 12.18$ Hz, 1 H), 3.58 (d, $^2J = 16.14$ Hz, 1 H), 4.55 (d, $^3J = 12.18$ Hz, 1 H), 5.34 (s, 1 H), 6.69 (s, 1 H), 7.03 (dd, $^3J = 7.98$ Hz, $^3J = 7.98$ Hz, 1 H), 7.08 (dd, $^3J = 7.74$ Hz, $^3J = 7.74$ Hz, 1H), 7.14 (dd, $^3J = 7.98$ Hz, $^3J = 7.98$ Hz, 1 H), 7.16 (dd, $^3J = 7.74$ Hz, $^3J = 7.74$ Hz, 1 H), 7.36 (d, $^3J = 7.74$ Hz, 1 H), 7.37 (d, $^3J = 7.98$ Hz, 1 H), 7.52 (d, $^3J = 7.74$ Hz, 1 H), 7.73 (d, $^3J = 7.98$ Hz, 1 H).

^{13}C -NMR	($[\text{D}_4]$ Methanol, 150.9 MHz): $\delta = 31.71$ (CH_2), 48.02 (CH), 55.17 (CH), 110.45, 112.13 (CH), 112.79 (CH), 114.01, 119.27 (CH), 120.29 (CH), 120.41 (CH), 120.61 (CH), 123.11 (CH), 123.26 (CH), 125.23 (CH), 127.55, 130.05, 130.29, 137.53, 138.94, 175.04 (CONH), 177.20 (COOH).
(+)-ESI-MS	m/z (%) = 719 (61) $[2\text{M}+\text{H}]^+$, 360 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$.
HR-ESI-MS	für $[\text{M}+\text{H}]^+$ ber. 360.1348, gef. 360.1363.
Summenformel	$\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3$ (MG 359.38)

18.2 Malassezindol A* (141*)



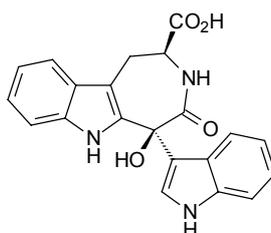
Die Verbindung, aus der DC-Bande mit R_f -Wert 0.38 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3), eluiert nach 27 Minuten von der analytischen RP-18-Säule.

Die isolierte Menge stammt aus 40 Petrischalen. Die Substanz wird mittels präparativer HPLC (Trennsysteme 1 und 7) gereinigt.

Ausbeute	0.57 mg eines farblosen Pulvers
Schmp.	>250 °C
R_f -Wert	0.38 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)
UV	(Methanol): λ_{max} ($\log \epsilon$) = 222 (4.30), 280 nm (3.68).
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3429$ (ss, br), 2926 (w), 1621 (s), 1459 (m), 1398 (m), 1098 (w), 745 (m), 433 cm^{-1} (w).
^1H -NMR	($[\text{D}_4]$ Methanol, 600 MHz): $\delta = 2.95$ (dd, $^2J = 15.90$ Hz, $^3J = 12.36$ Hz, 1 H), 3.58 (d, $^2J = 15.90$ Hz, 1 H), 4.55 (d, $^3J = 12.36$ Hz, 1 H, br), 5.34 (s, 1 H), 6.69 (s, 1 H), 7.03 (dd, $^3J = 7.98$ Hz, $^3J = 7.98$ Hz, 1 H), 7.08 (dd, $^3J = 7.74$ Hz, $^3J = 7.74$ Hz, 1H), 7.14 (dd, $^3J = 7.98$ Hz, $^3J = 7.98$ Hz, 1 H), 7.16 (d, $^3J = 7.74$ Hz, 1 H), 7.36 (d, $^3J =$

	7.74 Hz, 1 H), 7.37 (d, $^3J = 7.98$ Hz, 1 H), 7.52 (d, $^3J = 7.74$ Hz, 1 H), 7.73 (d, $^3J = 7.98$ Hz, 1 H).
$^{13}\text{C-NMR}$	($[\text{D}_4]$ Methanol, 150.9 MHz): $\delta = 31.71$ (CH_2), 48.02 (CH), 55.17 (CH), 110.45, 112.13 (CH), 112.79 (CH), 114.01, 119.27 (CH), 120.29 (CH), 120.41 (CH), 120.61 (CH), 123.11 (CH), 123.26 (CH), 125.23 (CH), 127.55, 130.05, 130.29, 137.53, 138.94, 175.04 (CONH), 177.20 ($^{13}\text{COOH}$).
(-)-FAB-MS	(m-NBA) m/z (%) = 359 (10) $[\text{M}-\text{H}]^-$.
HR-FAB-MS	für $[\text{M}-\text{H}]^-$ ber. 359.1225, gef. 359.1245.
Summenformel	$^{13}\text{C}^{12}\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3$ (MG 360.37)

18.3 Malassezindol B (146)

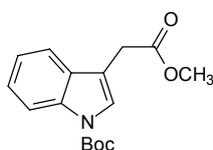


Die Verbindung, aus der DC-Bande mit R_f -Wert 0.14 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3), eluiert nach 23 Minuten von der analytischen RP-18-Säule. Die isolierte Menge stammt aus 214 Petrischalen. Die Substanz wird mittels präparativer HPLC (Trennsysteme 1 und 8) gereinigt.

Ausbeute	2.68 mg eines farblosen Pulvers
Schmp.	213–215 °C (Zersetzung)
R_f -Wert	0.14 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)
UV	(Methanol): λ_{max} ($\log \varepsilon$) = 193 (4.23), 218 (4.10), 261 (3.56), 287 nm (3.48).
Drehwert	(Methanol): $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -15$ ($c = 0.12$).
CD	(Methanol): λ_{max} ($\Delta\varepsilon$) = 204 (-3.65), 220 (0), 235 (+1.18), 266 (0), 292 (-0.57), 314 nm (0).

IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3430 (s, br), 2926 (m), 2854 (w), 1618 (s), 1459 (w), 1385 (m), 1207 (m), 1132 (m), 933 (w), 803 (w), 745 (m), 724 (w), 704 (w), 580 (w), 460 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_4]$ Methanol, 600 MHz): δ = 2.91 (dd, 2J = 16.02 Hz, 3J = 12.96 Hz, 1 H), 3.50 (d, 2J = 16.02 Hz, 1 H), 4.28 (d, 3J = 12.96 Hz, 1 H, br), 6.77 (s, 1 H), 7.01 (dd, 3J = 7.80 Hz, 3J = 7.80 Hz, 1 H), 7.09 (dd, 3J = 7.74 Hz, 3J = 7.74 Hz, 1 H), 7.13 (dd, 3J = 7.80 Hz, 3J = 7.80 Hz, 1 H), 7.19 (dd, 3J = 7.74 Hz, 3J = 7.74 Hz, 1 H), 7.36 (d, 3J = 7.80 Hz, 1 H), 7.47 (d, 3J = 7.74 Hz, 1 H), 7.51 (d, 3J = 7.74 Hz, 1 H), 7.56 (d, 3J = 7.80 Hz, 1 H).
$^{13}\text{C-NMR}$	($[\text{D}_4]$ Methanol, 150.9 MHz): δ = 31.43 (CH_2), 56.00 (CH), 73.48, 108.41, 112.47 (CH), 112.81 (CH), 119.03, 119.39 (CH), 120.30 (CH), 120.72 (CH), 120.83 (CH), 123.10 (CH), 123.23 (CH), 126.04, 126.76 (CH), 130.12, 133.67, 136.72, 138.86, 175.26 (CON), 176.84 (COOH).
(-)-ESI-MS	m/z (%) = 750 (100) $[\text{2M}]^-$, 420 (13) $[\text{M}+\text{HCO}_2\text{H}-\text{H}]^-$, 374 (2) $[\text{M}-\text{H}]^-$.
HR-ESI-MS	für $[\text{M}+\text{HCO}_2\text{H}-\text{H}]^-$ ber. 420.1195, gef. 420.1203.
Summenformel	$\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4$ (MG 375.38)

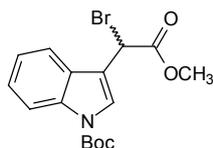
18.4 (1-*tert*-Butyloxycarbonyl-indol-3-yl)essigsäuremethylester (151)



16.2 g Indol-3-yllessigsäuremethylester (**156**, 85.6 mmol) werden in 120 ml abs. THF gelöst. Es werden 18.9 g $(\text{Boc})_2\text{O}$ (86.6 mmol) und eine Spatelspitze DMAP zugegeben. Nach drei Stunden wird mit 300 ml Essigsäureethylester verdünnt und mit 50.0 ml 1.1 M Kalimhydrogensulfatlösung gewaschen. Man trocknet über Magnesiumsulfat und entfernt das Lsgm. i. Vak. Der ölige Rückstand kristallisiert langsam aus. Man erhält einen farblosen, kristallinen Feststoff.

Ausbeute	23.7 g (96%)
Schmp.	63–64 °C
R_f -Wert	0.41 (Petrolether/Essigsäureethylester 4/1)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} ($\log \epsilon$) = 228 (4.42), 262 (4.00), 285 (3.76), 292 nm (3.80).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3441 (m, br), 2982 (m), 2952 (m), 1732 (s), 1611 (w), 1456 (s), 1435 (m), 1411 (m), 1375 (s), 1301 (m), 1259 (s), 1228 (s), 1156 (s), 1079 (s), 1016 (s), 936 (w), 856 (m), 789 (w), 766 (s), 751 (s), 646 (w), 591 cm^{-1} (m).
$^1\text{H-NMR}$	(CDCl_3 , 300 MHz): δ = 1.66 (s, 9 H), 3.70 (s, 3 H), 3.71 (d, 4J = 0.99 Hz, 2 H), 7.24 (ddd, 3J = 8.16 Hz, 3J = 8.16 Hz, 4J = 1.20 Hz, 1 H), 7.32 (ddd, 3J = 8.16 Hz, 3J = 8.16 Hz, 4J = 1.32 Hz, 1 H), 7.52 (d, 3J = 8.16 Hz, 1 H), 7.57 (s, 1 H), 8.14 (d, 3J = 8.16 Hz, 1 H).
$^{13}\text{C-NMR}$	(CDCl_3 , 75.5 MHz): δ = 28.12 (3 CH_3), 30.85 (CH_2), 52.05 (CH_3), 83.55, 113.02, 115.22 (CH), 118.92 (CH), 122.56 (CH), 124.38 (CH), 124.47 (CH), 130.00, 135.36, 149.52 (CON), 171.42 (COO).
EI-MS	m/z (%) = 289 (10) $[\text{M}]^+$, 234 (6), 233 (54), 216 (6), 189 (38), 174 (13), 131 (9), 130 (100), 129 (14), 102 (6), 57 (12).
HR-EI-MS	für $[\text{M}]^+$ ber. 289.1314, gef. 289.1307.
EA	ber. C 66.42 H 6.62 N 4.84 gef. C 66.44 H 6.50 N 4.78
Summenformel	$\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{NO}_4$ (MG 289.33)

18.5 (rac)-2-Brom-(1-tert-Butyloxycarbonyl-indol-3-yl)essigsäuremethylester (157)

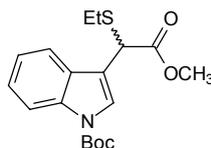


12.0 g (1-tert-Butyloxycarbonyl-indol-3-yl)essigsäuremethylester (**151**, 41.5 mmol) werden in 400 ml Tetrachlorkohlenstoff gelöst und mit 7.76 g NBS (43.6 mmol) versetzt. Man belichtet unter Rühren mit einer 500 W Halogenlampe, bis das entstehende Succinimid

aufschwimmt und alles NBS verbraucht ist. Es wird filtriert und das Lsgm. i. Vak. entfernt. Man erhält ein zähes, braunes Öl, welches nicht weiter gereinigt werden muß. Die Substanz ist lichtempfindlich und sollte sofort verbraucht oder im Gefrierfach aufbewahrt werden.

Ausbeute	15.0 g (98%)
R_f -Wert	0.41 (Petrolether/Essigsäureethylester 4/1)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} (log ϵ) = 223 nm (4.36).
IR	(Film): $\tilde{\nu}$ = 3161 (w, br), 2980 (m), 2954 (m), 1739 (s), 1563 (m), 1477 (m), 1454 (s), 1371 (s), 1310 (s), 1258 (s), 1155 (s), 1088 (s), 1020 (m), 906 (w), 857 (m), 839 (m), 764 (s), 748 (s), 590 (w), 556 cm^{-1} (m).
$^1\text{H-NMR}$	(CDCl_3 , 300 MHz): δ = 1.68 (s, 9 H), 3.85 (s, 3 H), 5.70 (d, 4J = 0.66 Hz, 1 H), 7.33 (m, 2 H), 7.74 (d, 3J = 7.95 Hz, 1 H), 7.90 (s, 1 H), 8.17 (d, 3J = 7.95 Hz, 1 H).
$^{13}\text{C-NMR}$	(CDCl_3 , 75.5 MHz): δ = 28.07 (3 CH_3), 38.83 (CH), 53.31 (CH_3), 84.36, 114.91, 115.41 (CH), 119.75 (CH), 122.96 (CH), 125.14 (CH), 125.84 (CH), 125.84 (CH), 127.83, 135.64, 149.12 (CON), 168.26 (COO).
EI-MS	m/z (%) = 369 (2) [$\text{M}_{81\text{Br}}$] $^+$, 367 (2) [$\text{M}_{79\text{Br}}$] $^+$, 289 (14), 288 (20), 233 (49), 232 (57), 189 (24), 188 (90), 187 (13), 174 (9), 130 (47), 129 (12), 128 (15), 57 (100), 44 (24), 41 (22).
HR-EI-MS	für [$\text{M}_{79\text{Br}}$] $^+$ ber. 367.0419, gef. 367.0424.
Summenformel	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{BrNO}_4$ (MG 368.23)

18.6 (rac)-2-Ethylthio-(1-tert-butyloxycarbonyl-indol-3-yl)essigsäuremethylester (158)

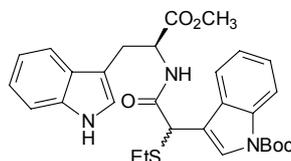


14.8 g (*rac*)-2-Brom-(1-*tert*-Butyloxycarbonyl-indol-3-yl)essigsäuremethylester (**157**, 40.2 mmol) werden in 150 ml abs. THF gelöst und bei 0 °C mit 6.46 g *N*-Ethyl-diisopropylamin

(50.0 mmol) und 3.11 g Ethanthiol (50.0 mmol) versetzt. Nach zwölf Stunden wird das Lsgm. i. Vak. entfernt und der Rückstand in 300 ml Essigsäureethylester aufgenommen. Es wird zweimal mit je 50.0 ml 1.1 M Kaliumhydrogensulfatlösung und gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Man trocknet über Magnesiumsulfat und entfernt das Lsgm. i. Vak. Es wird ein leicht gelbes, zähes Öl erhalten.

Ausbeute	11.4 g (81%)
R_f -Wert	0.40 (Petrolether/Essigsäureethylester 4/1)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} ($\log \epsilon$) = 225 (4.36), 292 nm (3.83).
IR	(Film): $\tilde{\nu}$ = 3456 (w, br), 2979 (m), 2932 (m), 1738 (s), 1669 (w), 1566 (w), 1453 (s), 1371 (s), 1309 (s), 1156 (s), 1086 (s), 1045 (w), 1019 (m), 938 (w), 857 (m), 767 (s), 748 (s), 588 (w), 424 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	(CDCl_3 , 300 MHz): δ = 1.25 (t, 3J = 7.41 Hz, 3 H), 1.67 (s, 9 H), 2.63 (m, 2 H), 3.78 (s, 3 H), 4.83 (d, 4J = 0.90 Hz, 1 H), 7.26 (ddd, 3J = 8.16 Hz, 3J = 8.16 Hz, 4J = 1.32 Hz, 1 H), 7.33 (ddd, 3J = 8.16 Hz, 3J = 8.16 Hz, 4J = 1.32 Hz, 1 H), 7.69 (d, 3J = 8.16 Hz, 1 H), 7.78 (s, 1 H), 8.15 (d, 3J = 8.16 Hz, 1 H).
$^{13}\text{C-NMR}$	(CDCl_3 , 75.5 MHz): δ = 14.00 (CH_3), 25.69 (CH_2), 28.11 (3 CH_3), 42.85 (CH), 52.61 (CH_3), 83.89, 114.61, 115.29 (CH), 119.46 (CH), 122.64 (CH), 124.72 (CH), 124.94 (CH), 128.62, 135.49, 149.43 (CON), 171.11 (COO).
EI-MS	m/z (%) = 349 (5) $[\text{M}]^+$, 293 (5), 233 (8), 232 (26), 190 (12), 189 (30), 188 (80), 187 (100), 172 (26), 160 (11), 156 (32), 144 (29), 130 (78), 129 (30), 128 (73), 116 (12), 102 (12), 101 (35), 75 (19), 62 (29), 57 (28), 56 (27), 51 (12), 44 (41), 41 (38), 39 (16).
HR-EI-MS	für $[\text{M}]^+$ ber. 349.1348, gef. 349.1339.
Summenformel	$\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{NO}_4\text{S}$ (MG 349.45)

18.7 (2*R,S*)-*N*-[2-Ethylthio-2-(1-*tert*-Butyloxycarbonyl-indol-3-yl)-acetyl]-*L*-tryptophanmethylester (159)

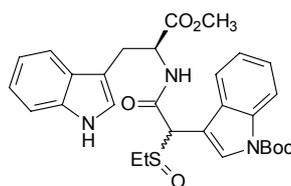


2.75 g (*rac*)-2-Ethylthio-(1-*tert*-butyloxycarbonyl-indol-3-yl)essigsäuremethylester (**158**, 7.87 mmol) werden in 50.0 ml THF mit 887 mg KOH (15.8 mmol) in 10.0 ml Wasser versetzt. Nach zwölf Stunden wird mit 50.0 ml Wasser verdünnt und mit 2N HCl angesäuert. Man extrahiert dreimal mit 100 ml Essigsäureethylester. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lsgm. i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird in 20.0 ml Acetonitril aufgenommen und mit 2.00 g *L*-Tryptophanmethylester-hydrochlorid (**46**, 7.85 mmol), 1.60 g Triethylamin (15.8 mmol) und 2.52 g TBTU (7.85 mmol) versetzt. Nach zwei Stunden verdünnt man mit 150 ml Essigsäureethylester und extrahiert je zweimal mit 40.0 ml 1.1 M Kaliumhydrogensulfatlösung und gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung. Es wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lsgm. i. Vak. entfernt. Man erhält einen hellgelben Schaum.

Ausbeute	3.28 g (78%)
R_f -Wert	0.50 (Petrolether/Essigsäureethylester 1/1)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} (log ϵ) = 222 (4.69), 266 (4.03), 284 (3.96), 292 nm (3.88).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3410 (m, br), 2977 (w), 1736 (s), 1661 (s), 1512 (m), 1476 (w), 1453 (s), 1309 (w), 1258 (s), 1212 (w), 1156 (s), 1081 (s), 1017 (w), 843 (w), 745 (s), 556 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	([D ₆]DMSO, 300 MHz): δ = 1.03 (dd, 3J = 7.41 Hz, 3J = 7.41 Hz, 3 H), 1.13 (dd, 3J = 7.41 Hz, 3J = 7.41 Hz, 3 H), 1.62 (s, 18 H), 2.38 (m, 4 H), 3.16 (m, 4 H), 3.55 (s, 3 H), 3.61 (s, 3 H), 4.60 (m, 2 H), 4.97 (s, 1 H), 5.00 (s, 1 H), 6.84 (dd, 3J = 7.83 Hz, 3J = 7.83 Hz, 1 H), 7.02 (m, 4 H), 7.28 (m, 8 H), 7.50 (d, 3J = 7.83 Hz, 1 H), 7.65 (m, 3 H), 7.73 (d, 3J = 7.62 Hz, 1 H), 8.04 (d, 3J = 8.16 Hz, 2 H), 8.62 (d,

	$^3J = 7.95$ Hz, 1 H), 8.65 (d, $^3J = 8.16$ Hz, 1 H), 10.82 (s, 1 H, br), 10.90 (s, 1 H, br).
$^{13}\text{C-NMR}$	($[\text{D}_6]\text{DMSO}$, 75.5 MHz): $\delta = 14.33$ (CH_3), 14.46 (CH_3), 25.05 (CH_2), 25.17 (CH_2), 27.07 (CH_2), 27.21 (CH_2), 27.82 (6 CH_3), 42.77 (CH), 43.13 (CH), 52.02 (CH_3), 52.04 (CH_3), 53.44 (CH), 53.65 (CH), 84.08, 84.14, 109.29, 109.32, 111.53 (CH), 111.58 (CH), 114.90 (2 CH), 116.63 (CH), 116.68 (CH), 118.16 (2 CH), 118.47 (CH), 118.60 (CH), 120.19 (CH), 120.25 (CH), 121.08 (CH), 121.17 (CH), 122.66 (2 CH), 123.87 (CH), 123.99 (CH), 124.56 (2 CH), 124.76 (CH), 124.80 (CH), 127.19 (2 C), 128.83 (2 C), 134.88 (2 C), 136.25, 136.33, 149.07 (2 CON), 169.47 (CONH), 169.56 (CONH), 172.16 (COO), 172.24 (COO).
EI-MS	m/z (%) = 536 (7), 535 (21) $[\text{M}]^+$, 374 (8), 373 (13), 334 (10), 257 (17), 245 (14), 234 (30), 218 (7), 217 (9), 202 (9), 201 (55), 190 (34), 173 (7), 157 (30), 131 (10), 130 (100), 129 (13), 62 (19), 57 (12), 56 (30), 44 (32), 41 (32), 39 (13).
HR-EI-MS	für $[\text{M}]^+$ ber. 535.2141, gef. 535.2135.
Summenformel	$\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ (MG 535.66)

18.8 (2*R,S*)-*N*-[2-Ethylsulfinyl-2-(1-*tert*-butyloxycarbonyl-indol-3-yl)acetyl]-*L*-tryptophanmethylester (160)



5.93 g Sulfanyl **159** (11.1 mmol) werden in 100 ml Methanol gelöst. Man gibt vorsichtig 2.84 g NaIO_4 (13.3 mmol), in wenig Wasser gelöst, hinzu. Beim Zutropfen bildet sich ein Niederschlag, der sich sofort wieder auflöst. Es wird zwölf Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wobei sich allmählich ein flockiger, farbloser Niederschlag bildet. Man trennt vom Anorganischen ab und entfernt das Lsgm. i. Vak. Der Rückstand wird in 200 ml Essigsäureethylester aufgenommen und mit 50.0 ml Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lsgm. i. Vak. entfernt. Man erhält einen hellgelben Schaum.

Durch flash-chromatographische Reinigung an Kieselgel mit Essigsäureethylester/Petrolether 4/1 kann ein Diastereomer als farbloses Pulver abgetrennt werden.

Daten für isoliertes Diastereomer:

Ausbeute	1.20 g (20%)
Schmp.	119–121 °C
R_f -Wert	0.41 (Essigsäureethylester/Petrolether 4/1)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} ($\log \epsilon$) = 222 (4.68), 267 (3.98), 284 (3.91), 294 nm (3.81).
Drehwert	(CHCl ₃): $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +2$ ($c = 1.02$).
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3410$ (m), 2979 (w), 1740 (s), 1675 (m), 1528 (m), 1476 (w), 1453 (s), 1370 (s), 1310 (m), 1258 (s), 1210 (m), 1155 (s), 1081 (m), 1044 (w), 1018 (m), 841 (w), 745(s), 426 cm ⁻¹ (w).
¹ H-NMR	(CDCl ₃ , 300 MHz): $\delta = 1.21$ (t, ³ $J = 7.53$ Hz, 3 H), 1.57 (s, 9 H), 2.69 (m, 2 H), 3.28 (<i>pseudo</i> -d, ³ $J = 6.84$ Hz, 2 H), 3.57 (s, 3 H), 4.67 (s, 1 H), 4.85 (<i>pseudo</i> -q, ³ $J = 6.84$ Hz, 1 H), 7.05 (m, 4 H), 7.22 (m, 2 H), 7.39 (d, ³ $J = 7.74$ Hz, 1 H), 7.44 (d, ³ $J = 7.74$ Hz, 1 H), 7.66 (d, ³ $J = 7.74$ Hz, 1 H), 7.69 (s, 1 H), 8.02 (d, ³ $J = 8.28$ Hz, 1 H), 8.34 (s, 1 H, br).
¹³ C-NMR	(CDCl ₃ , 75.5 MHz): $\delta = 7.38$ (CH ₃), 27.43 (CH ₂), 28.10 (3 CH ₃), 43.97 (CH ₂), 52.38 (CH ₃), 53.35 (CH), 61.26 (CH), 84.43, 109.25, 109.96, 111.32 (CH), 115.43 (CH), 118.31 (CH), 118.90 (CH), 119.38 (CH), 121.94 (CH), 123.02 (CH), 123.76 (CH), 125.09 (CH), 126.10 (CH), 127.19, 128.65, 135.15, 136.17, 149.20 (CON), 166.14 (CONH), 172.00 (COO).
(+)-ESI-MS	m/z (%) = 1103 (100) [2M+H] ⁺ , 552 (34) [M+H] ⁺ .
HR-ESI-MS	für [M+H] ⁺ ber. 552.2090, gef. 552.2087.
Summenformel	C ₂₉ H ₃₃ N ₃ O ₆ S (MG 551.66)

Daten für Diastereomergemisch:⁴

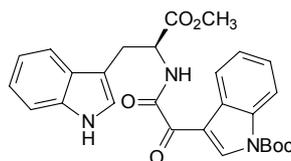
⁴ Da die NMR-Daten für das Diastereomergemisch keine Zuordnung ermöglichen, wird hier auf eine Angabe verzichtet.

Ausbeute	4.84 g (79%)
R_f -Wert	0.29 (Essigsäureethylester/Petrolether 4/1)

18.9 Pummerer-Umsetzung

1.10 g Sulfinyl **160** (2.00 mmol) werden mit 327 mg Trichloressigsäure (2.00 mmol) in 100 ml abs. Dichlorethan bei 40 °C gerührt. Nach 40 Stunden wird das Lsgm. i. Vak. entfernt und der Rückstand an Kieselgel mit Dichlormethan/Aceton 50/1 flash-chromatographisch gereinigt. Es werden zwei Produkte erhalten.

18.9.1 *N*-[2-(1-*tert*-butyloxycarbonyl-indol-3-yl)-2-oxo-acetyl]-L-tryptophan-methylester (**161**)

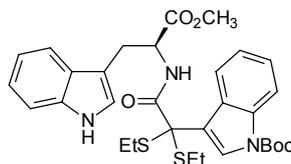


Produkt wird als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute	260 mg (27%)
Schmp.	88–90 °C (115–117 °C Zersetzung)
R_f -Wert	0.44 (Dichlormethan/Aceton 50/1)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} (log ϵ) = 219 (4.76), 251 (4.15), 290 (3.91), 320 nm (3.92).
Drehwert	(Methanol): $[\alpha]_D^{25} = -16$ ($c = 0.60$).
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3401$ (s, br), 3057 (w), 2980 (w), 1748 (s), 1687 (m), 1651 (s), 1509 (s), 1479 (m), 1451 (s), 1371 (s), 1354 (s), 1308 (m), 1278 (s), 1236 (s), 1142 (s), 1099 (s), 1049 (w), 852 (m), 746 (s), 716 (w), 425 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	(CDCl_3 , 300 MHz): $\delta = 1.70$ (s, 9 H), 3.43 (<i>pseudo</i> -d, $^3J = 5.97$ Hz, 2 H), 3.71 (s, 3 H), 4.98 (<i>pseudo</i> -q, $^3J = 5.97$ Hz, 1 H), 7.08 (d, $^3J = 2.52$ Hz, 1 H), 7.12 (dd, $^3J = 7.83$ Hz, $^4J = 1.20$ Hz, 1 H), 7.18 (ddd,

	$^3J = 7.83 \text{ Hz}$, $^3J = 7.83 \text{ Hz}$, $^4J = 1.20 \text{ Hz}$, 1 H), 7.37 (m, 3 H), 7.57 (d, $^3J = 7.83 \text{ Hz}$, 1 H), 7.88 (d, $^3J = 8.28 \text{ Hz}$, 1 H), 8.21 (m, 2 H), 8.34 (m, 1 H), 9.28 (s, 1 H).
^{13}C -NMR	(CDCl_3 , 75.5 MHz): $\delta = 28.02$ (3 CH ₃), 52.52 (CH ₃), 52.71 (CH), 85.63, 109.58, 111.29 (CH), 115.10 (CH), 118.49 (CH), 119.70 (CH), 122.29 (2 CH), 122.93 (CH), 124.71 (CH), 125.73 (CH), 127.25, 127.86, 135.12, 136.17, 138.52 (CH), 148.69 (CON), 161.03 (CONH), 171.48 (COO), 181.17 (C=O).
(+)-FAB-MS	(m-NBA) m/z (%) = 490 (23) [M+H] ⁺ .
HR-FAB-MS	für [M+H] ⁺ ber. 490.1978, gef. 490.1988.
Summenformel	$\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_6$ (MG 489.53)

18.9.2 *N*-[2,2-Bis-ethylthio-2-(1-*tert*-butyloxycarbonyl-indol-3-yl)acetyl]-L-tryptophanmethylester (**162**)

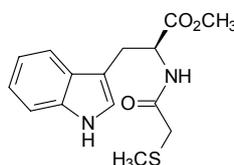


Produkt wird als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute	130 mg (11%)
Schmp.	86 °C (110°C Zersetzung)
R_f -Wert	0.40 (Dichlormethan/Aceton 50/1)
UV	(Acetonitril): λ_{max} (log ϵ) = 221 (4.71), 265 (4.01), 283 (3.98), 292 nm (3.94).
Drehwert	(Methanol): $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -20$ ($c = 0.19$).
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3402$ (s, br), 2976 (w), 2930 (w), 1738 (s), 1665 (m), 1504 (m), 1454 (s), 1371 (s), 1340 (w), 1310 (w), 1257 (m), 1236 (m), 1155 (s), 1090 (s), 1021 (w), 848 (w), 745 (m), 596 cm^{-1} (w).
^1H -NMR	(CD_2Cl_2 , 300 MHz): $\delta = 1.04$ (t, $^3J = 7.53 \text{ Hz}$, 3 H), 1.11 (t, $^3J = 7.50 \text{ Hz}$, 3 H), 1.72 (s, 9 H), 2.32 (m, 2 H), 2.51 (m, 2 H), 3.10 (dd, $^2J = 14.82 \text{ Hz}$, $^3J = 6.54 \text{ Hz}$, 1 H), 3.20 (dd, $^2J = 14.82 \text{ Hz}$, $^3J = 6.54$

	Hz, 1 H), 3.43 (s, 3 H), 4.86 (<i>pseudo-q</i> , $^3J = 6.54$ Hz, 1 H), 6.53 (d, $^3J = 1.77$ Hz, 1 H), 6.74 (d, $^3J = 7.74$ Hz, 1 H), 7.00 (dd, $^3J = 7.74$ Hz, $^3J = 7.74$ Hz, 1 H), 7.17 (m, 3 H), 7.34 (m, 2 H), 7.76 (s, 1 H), 7.82 (d, $^3J = 7.74$ Hz, 1 H), 8.21 (m, 2 H).
$^{13}\text{C-NMR}$	(CD_2Cl_2 , 75.5 MHz): $\delta = 13.00$ (CH_3), 13.03 (CH_3), 24.24 (CH_2), 24.51 (CH_2), 27.38 (CH_2), 28.00 (3 CH_3), 52.16 (CH_3), 53.42 (CH), 64.84, 84.39, 109.32, 111.25 (CH), 115.12 (CH), 118.06 (CH), 118.34, 119.44 (CH), 121.78 (CH), 122.03 (CH), 122.54 (CH), 123.15 (CH), 124.87 (CH), 125.22 (CH), 127.17, 127.56, 135.92, 136.11, 149.43 (CON), 169.29 (CONH), 171.83 (COO).
(+)-FAB-MS	(<i>m-NBA</i>) m/z (%) = 535 (23) $[\text{M-SEt}+\text{H}]^+$, 534 (59) $[\text{M-SEt}]^+$.
HR-FAB-MS	für $[\text{M-SEt}]^+$ ber. 534.2063, gef. 534.2066.
Summenformel	$\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ (MG 595.78)

18.10 *N*-(Methylthio-acetyl)-*L*-tryptophanmethylester (171)

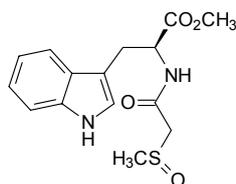


2.55 g Tryptophanmethylester-hydrochlorid (**46**, 10.0 mmol), 1.06 g Methylthio-essigsäure (**170**, 10.0 mmol), 3.21 g TBTU (10.0 mmol) und 2.02 g Triethylamin (20.0 mmol) werden in 20.0 ml Acetonitril für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Man verdünnt mit 150 ml Essigsäureethylester und wäscht je einmal mit 50.0 ml Wasser, 1.1 M Kaliumhydrogensulfatlösung und gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lsgm. i. Vak. entfernt. Man erhält ein farbloses Öl.

Ausbeute	3.04 g (99%)
R_f -Wert	0.18 (Essigsäureethylester/Petrolether 1/1)
UV	(Acetonitril): λ_{max} (log ϵ) = 221 (4.50), 279 (3.73), 289 nm (3.66).
Drehwert	(Methanol): $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +3$ ($c = 0.18$).

IR	(Film): $\tilde{\nu} = 3296$ (s, br), 3058 (w), 3005 (w), 2951 (m), 2921 (m), 1743 (s), 1657 (s), 1517 (s), 1458 (m), 1437 (s), 1383 (m), 1356 (m), 1279 (w), 1215 (s), 1179 (w), 1151 (m), 1065 (w), 1010 (w), 988 (w), 915 (w), 745 (s), 666 (w), 559 (w), 427 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	(CDCl_3 , 300 MHz): $\delta = 1.89$ (s, 3 H), 3.11 (<i>pseudo-d</i> , $^2J = 3.54$ Hz, 2 H), 3.34 (<i>pseudo-t</i> , $^3J = 5.94$ Hz, 2 H), 3.69 (s, 3 H), 4.91 (<i>pseudo-q</i> , $^3J = 5.94$ Hz, 1H), 6.99 (d, $^3J = 2.31$ Hz, 1 H), 7.09 (ddd, $^3J = 7.74$ Hz, $^3J = 7.74$ Hz, $^4J = 1.20$ Hz, 1 H), 7.16 (ddd, $^3J = 7.74$ Hz, $^3J = 7.74$ Hz, $^4J = 1.20$ Hz, 1 H), 7.32 (dd, $^3J = 7.74$ Hz, $^4J = 1.20$ Hz, 1 H), 7.54 (dd, $^3J = 7.74$ Hz, $^4J = 1.20$ Hz, 1 H), 8.80 (s, 1 H, br).
$^{13}\text{C-NMR}$	(CDCl_3 , 75.5 MHz): $\delta = 15.77$ (CH_3), 27.34 (CH_2), 37.81 (CH_2), 52.27 (CH_3), 52.99 (CH), 109.37, 111.27 (CH), 118.26 (CH), 119.39 (CH), 121.98 (CH), 122.82 (CH), 127.32, 136.12, 168.53 (CONH), 172.10 (COO).
EI-MS	m/z (%) = 306 (6) $[\text{M}]^+$, 247 (2), 202 (5), 201 (37), 170 (4), 159 (2), 143 (2), 131 (9), 130 (100), 129 (4), 103 (2), 102 (2), 77 (2), 61 (3).
HR-EI-MS	für $[\text{M}]^+$ ber. 306.1038, gef. 306.1052.
Summenformel	$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ (MG 306.39)

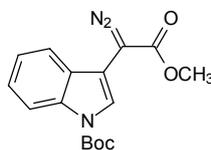
18.11 *N*-(Methylsulfinyl-acetyl)-L-tryptophanmethylester (172)



3.04 g *N*-(Methylthio-acetyl)-L-tryptophanmethylester (**171**, 9.92 mmol) werden in 100 ml Methanol gelöst. Man gibt 2.57 g NaIO_4 (12.0 mmol), in wenig Wasser gelöst, hinzu. Es wird zwölf Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Man trennt vom Anorganischen ab und entfernt das Lsgm. i. Vak. Der Rückstand wird in 30.0 ml Wasser und 120 ml Essigsäureethylester aufgenommen. Die organische Phase wird abgetrennt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lsgm. wird i. Vak. entfernt. Man erhält einen hellgelben Feststoff.

Ausbeute	3.04 g (99%)
R_f -Wert	0.06 (Essigsäureethylester/Petrolether 4/1)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} (log ϵ) = 221 (4.46), 268 (3.69), 289 nm (3.57).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3412 (s, br), 3057 (w), 2952 (w), 1741 (s), 1661 (s), 1582 (w), 1526 (m), 1457 (m), 1438 (m), 1383 (w), 1356 (w), 1279 (w), 1220 (m), 1150 (w), 1105 (w), 1030 (m), 746 (m), 562 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	(CDCl_3 , 300 MHz): δ = 2.37 (s, 3 H), 2.61 (s, 3 H), 3.27 (m, 6 H), 3.50 (dd, 2J = 14.16 Hz, 3J = 1.98 Hz, 2 H), 3.66 (s, 3 H), 3.68 (s, 3 H), 4.89 (m, 2 H), 7.09 (m, 6 H), 7.29 (d, 3J = 7.50 Hz, 2 H), 7.49 (m, 3 H), 7.64 (d, 3J = 7.50 Hz, 1 H), 8.86 (s, 1 H, br), 8.87 (s, 1 H, br).
$^{13}\text{C-NMR}$	(CDCl_3 , 75.5 MHz): δ = 27.25 (CH_2), 27.41 (CH_2), 37.22 (CH_3), 37.34 (CH_3), 52.35 (2 CH_3), 53.04 (2 CH), 55.49 (CH_2), 55.99 (CH_2), 109.12, 109.15, 111.36 (CH), 111.38 (CH), 118.23 (CH), 118.29 (CH), 119.32 (2 CH), 121.91 (2 CH), 123.39 (CH), 123.67 (CH), 127.15, 127.18, 136.13 (2 C), 163.67 (CONH), 164.16 (CONH), 171.92 (COO), 172.07 (COO).
EI-MS	m/z (%) = 322 (8) $[\text{M}]^+$, 205 (2), 202 (5), 201 (36), 170 (4), 146 (4), 131 (11), 130 (100), 129 (5), 103 (3), 102 (2), 77 (3), 63 (2), 59 (2).
HR-EI-MS	für $[\text{M}]^+$ ber. 322.0988, gef. 322.0983.
Summenformel	$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ (MG 322.38)

18.12 (1-*tert*-Butyloxycarbonyl-indol-3-yl)diazoessigsäuremethylester (178)

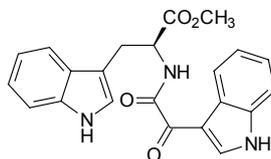


2.90 g (1-*tert*-Butyloxycarbonyl-indol-3-yl)essigsäuremethylester (**151**, 10.0 mmol) werden mit 2.56 g Tosylazid (**100**, 13.0 mmol) in 80.0 ml Acetonitril vorgelegt. Man kühlt auf 0 °C und tropft vorsichtig 1.52 g DBU (10.0 mmol) hinzu. Die Mischung wird für zwölf Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Man entfernt das Lsgm. i. Vak. und reinigt den Rückstand an Kieselgel mit Petrolether/Essigsäureethylester 10/1 flash-chromatographisch.

Man erhält ein rotes Pulver.

Ausbeute	2.20 g (70%)
Schmp.	94–95 °C (Zersetzung)
R_f -Wert	0.50 (Petrolether/Essigsäureethylester 4/1)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} ($\log \epsilon$) = 203 (4.47), 221 (4.38), 286 (4.01), 293 nm (4.04).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3440 (w, br), 2974 (w), 2932 (w), 2095 (s), 1734 (s), 1706 (s), 1476 (w), 1458 (m), 1392 (s), 1371 (s), 1313 (m), 1300 (m), 1274 (s), 1158 (s), 1133 (m), 1108 (m), 1059 (m), 1000 (w), 858 (w), 758 (w), 743 (m), 702 (w), 572 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	(CDCl_3 , 300 MHz): δ = 1.68 (s, 9 H), 3.89 (s, 3 H), 7.26 (ddd, 3J = 7.95 Hz, 3J = 7.95 Hz, 4J = 1.11 Hz, 1 H), 7.36 (ddd, 3J = 7.95 Hz, 3J = 7.95 Hz, 4J = 1.11 Hz, 1 H), 7.49 (dd, 3J = 7.95 Hz, 4J = 1.11 Hz, 1 H), 7.87 (s, 1 H), 8.22 (d, 3J = 7.95 Hz, 1 H).
$^{13}\text{C-NMR}$	(CDCl_3 , 75.5 MHz): δ = 28.15 (3 CH_3), 52.29 (CH_3), 84.11, 102.93, 115.61 (CH), 118.41 (CH), 122.91 (CH), 123.89 (CH), 124.93 (CH), 127.53, 130.24, 135.23, 149.26 (CON), 166.59 (COO).
(+)-FAB-MS	(m-NBA) m/z (%) = 316 (18) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 315 (75) $[\text{M}]^+$.
HR-FAB-MS	für $[\text{M}+\text{H}]^+$ ber. 316.1297, gef. 316.1275.
Summenformel	$\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4$ (MG 315.33)

18.13 *N*-[2-(1*H*-Indol-3-yl)-2-oxo-acetyl]-*L*-tryptophanmethylester (183)

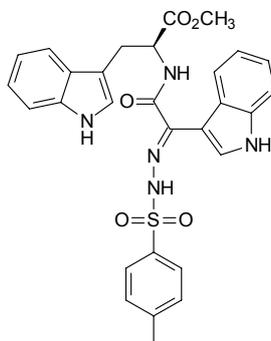


2.55 g *L*-Tryptophanmethylester-hydrochlorid (**46**, 10.0 mmol) und 1.94 g Säurechlorid **182** (10.0 mmol) werden in 50.0 ml abs. THF vorgelegt und mit 2.07 g Triethylamin (20.5 mmol) versetzt. Nach zwölf Stunden rühren wird das Lsgm. i. Vak. entfernt und der Rückstand in 120 ml Dichlormethan und 30.0 ml Wasser aufgenommen. Man trennt die organische Phase ab und wäscht mit 30.0 ml 1.1 M Kaliumhydrogensulfatlösung. Die

organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lsgm. i. Vak. entfernt. Man erhält ein hellgelbes Pulver.

Ausbeute	3.72 g (96%)
Schmp.	101–103 °C
R_f -Wert	0.58 (Essigsäureethylester/Petrolether 4/1)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} (log ϵ) = 210 (4.65), 255 (4.13), 273 (4.13), 289 (3.88), 327 nm (4.00).
Drehwert	(Methanol): $[\alpha]_D^{25} = -23$ ($c = 1.06$).
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3392$ (s, br), 2951 (w), 1739 (m), 1676 (m), 1628 (s), 1492 (s), 1458 (m), 1430 (s), 1342 (w), 1240 (m), 1156 (w), 1129 (w), 1105 (w), 1010 (w), 791 (w), 746 (m), 594 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_6]$ Aceton, 300 MHz): $\delta = 3.44$ (m, 2 H), 3.70 (s, 3 H), 4.89 (m, 1 H), 7.01 (dd, $^3J = 8.07$ Hz, $^3J = 8.07$ Hz, 1 H), 7.09 (dd, $^3J = 8.07$ Hz, $^3J = 8.07$ Hz, 1 H), 7.26 (m, 3 H), 7.38 (d, $^3J = 8.07$ Hz, 1 H), 7.58 (m, 2 H), 8.32 (m, 1 H), 8.97 (s, 1 H).
$^{13}\text{C-NMR}$	($[\text{D}_6]$ Aceton, 75.5 MHz): $\delta = 28.05$ (CH ₂), 52.51 (CH ₃), 53.74 (CH), 110.30, 112.23 (CH), 113.05 (CH), 113.46, 119.10 (CH), 119.70 (CH), 122.26 (CH), 122.68 (CH), 123.51 (CH), 124.43 (CH), 124.48 (CH), 127.62, 128.43, 137.15, 137.43, 139.44 (CH), 163.14 (CONH), 172.43 (COO), 181.16 (C=O).
EI-MS	m/z (%) = 389 (5) $[\text{M}]^+$, 201 (15), 184 (6), 168 (6), 158 (6), 156 (6), 155 (12), 144 (41), 143 (16), 142 (10), 131 (8), 130 (100), 129 (40), 128 (11), 117 (12), 116 (10), 115 (13), 103 (7), 102 (18), 76 (6).
HR-EI-MS	für $[\text{M}]^+$ ber. 389.1375, gef. 389.1409.
Summenformel	$\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4$ (MG 389.41)

18.14 *N*-[2-(1*H*-Indol-3-yl)-2-*para*-toluolsulfonylhydrazon-acetyl]-*L*-tryptophanmethylester (184)

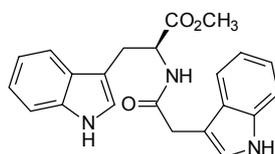


1.77 g *N*-[2-(1*H*-Indol-3-yl)-2-oxo-acetyl]-*L*-tryptophanmethylester (**183**, 4.55 mmol) und 890 mg *para*-Toluolsulfonsäurehydrazid (4.78 mg) werden mit wenigen Tropfen konz. H₂SO₄ in Ethanol refluxiert. Nach 24 Stunden wird das Lsgm. i. Vak. entfernt und der Rückstand an Kieselgel mit Dichlormethan/Aceton 50/1 flash-chromatographisch gereinigt. Man erhält ein farbloses Pulver.

Ausbeute	230 mg (9%)
Schmp.	118–120 °C
<i>R_f</i> -Wert	0.18 (Essigsäureethylester/Petrolether 1/1)
UV	(Acetonitril): λ _{max} (log ε) = 220 (4.80), 269 (4.21), 289 (4.15), 312 nm (4.12).
Drehwert	(Methanol): [α] _D ²⁵ = –84 (c = 0.16).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3411 (s, br), 1736 (m), 1648 (m), 1534 (m), 1458 (w), 1434 (m), 1339 (m), 1241 (w), 1166 (s), 1092 (w), 951 (w), 833 (w), 814 (w), 746 (s), 663 (m), 548 cm ⁻¹ (w).
¹ H-NMR	(CD ₂ Cl ₂ , 300 MHz): δ = 2.34 (s, 3 H), 3.22 (dd, ² J = 14.94 Hz, ³ J = 7.08 Hz, 1 H), 3.39 (dd, ² J = 14.94 Hz, ³ J = 5.07 Hz, 1 H), 3.76 (s, 3 H), 4.96 (dd, ³ J = 7.08 Hz, ³ J = 5.07 Hz, 1 H), 6.76 (d, ³ J = 7.62 Hz, 1 H), 6.85 (s, 2 H), 7.00 (dd, ³ J = 7.62 Hz, ³ J = 7.62 Hz, 1 H), 7.24 (m, 7 H), 7.44 (d, ³ J = 7.86 Hz, 1 H), 7.86 (d, ³ J = 8.19 Hz, 2 H), 7.97 (d, ³ J = 7.86 Hz, 1 H), 8.39 (s, 2 H), 10.66 (s, 1 H).

^{13}C -NMR	(CD_2Cl_2 , 75.5 MHz): $\delta = 21.31$ (CH_3), 27.02 (CH_2), 52.82 (CH_3), 53.05 (CH), 109.23, 110.33, 111.52 (CH), 111.58 (CH), 118.22 (CH), 119.75 (CH), 121.49 (CH), 121.88 (CH), 122.34 (CH), 123.30 (CH), 123.60 (CH), 124.65, 127.19, 127.44 (CH), 127.83 (2 CH), 129.71 (2 CH), 135.64, 136.28, 136.44, 141.71, 144.46, 162.36 (CONH), 171.5 (COO).
(+)-FAB-MS	(<i>m</i> -NBA) m/z (%) = 558 (84) $[\text{M}+\text{H}]^+$.
HR-FAB-MS	für $[\text{M}+\text{H}]^+$ ber. 558.1811, gef. 558.1809.
Summenformel	$\text{C}_{29}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$ (MG 557.63)

18.15 *N*-(1*H*-Indol-3-yl-acetyl)-*L*-tryptophanmethylester (186)

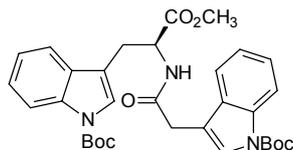


2.55 g *L*-Tryptophanmethylester-hydrochlorid (**46**, 10.0 mmol), 1.75 g Indol-3-yl-essigsäure (**185**, 10.0 mmol), 3.21 g TBTU (10.0 mmol) und 2.23 g Triethylamin (22.0 mmol) werden in 20.0 ml Acetonitril bei Raumtemperatur gerührt. Nach 90 Minuten verdünnt man mit 150 ml Essigsäureethylester und wäscht mit je 30.0 ml Wasser, 1.1 M Kaliumhydrogensulfatlösung und gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lsgm. i. Vak. entfernt. Man erhält ein farbloses Pulver.

Ausbeute	3.44 g (92%)
Schmp.	158–160 °C
R_f -Wert	0.13 (Essigsäureethylester/Petrolether 1/1)
UV	(Acetonitril): λ_{max} (log ϵ) = 220 (4.78), 281 (4.04), 289 nm (3.97).
Drehwert	(Methanol): $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +8$ ($c = 0.22$).
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3442.13$ (s, br), 2932 (w), 1752 (m), 1641 (s), 1525 (m), 1490 (w), 1458 (m), 1422 (m), 1356 (w), 1342 (m), 1279 (w), 1254 (w), 1226 (m), 1200 (m), 1178 (w), 1098 (w), 1026 (w), 1010 (w), 931 (w), 919 (w), 842 (w), 778 (w), 751 (m), 740 (s), 628 (w), 586 (w), 559 (w), 506 (w), 467 cm^{-1} (w).

$^1\text{H-NMR}$	([D ₆]DMSO, 300 MHz): $\delta = 2.68$ (s, 2 H), 3.08 (dd, $^2J = 14.46$ Hz, $^3J = 8.13$ Hz, 1 H), 3.17 (dd, $^2J = 14.46$ Hz, $^3J = 5.82$ Hz, 1 H), 3.55 (s, 2 H), 3.56 (s, 3 H), 4.55 (dd, $^3J = 8.13$ Hz, $^3J = 5.07$ Hz, 1 H), 7.01 (m, 6 H), 7.34 (dd, $^3J = 8.01$ Hz, 2 H), 7.42 (d, $^3J = 7.62$ Hz, 1 H), 7.47 (d, $^3J = 8.01$ Hz, 1 H), 10.81 (s, 1 H), 10.85 (s, 1 H).			
$^{13}\text{C-NMR}$	([D ₆]DMSO, 75.5 MHz): $\delta = 27.35$ (CH ₂), 32.41 (CH ₂), 51.96 (CH ₃), 53.43 (CH), 108.75, 109.63, 111.44 (CH), 111.66 (CH), 118.19 (CH), 118.48 (CH), 118.64 (CH), 118.88 (CH), 121.11 (CH), 121.18 (CH), 123.90 (CH), 123.96 (CH), 127.28, 127.39, 136.28, 136.34, 171.04, 172.69.			
EI-MS	m/z (%) = 375 (2) [M] ⁺ , 202 (3), 201 (34), 175 (3), 174 (25), 170 (3), 131 (9), 130 (100), 129 (2), 103 (3), 77 (2).			
HR-EI-MS	für [M] ⁺ ber. 375.1583, gef. 375.1576.			
EA	ber.	C 70.38	H 5.64	N 11.19
	gef.	C 70.32	H 5.74	N 11.21
Summenformel	C ₂₂ H ₂₁ N ₃ O ₃ (MG 375.43)			

18.16 *N*-(1-*tert*-Butyloxycarbonyl-indol-3-yl-acetyl)-*N*-*tert*-butyloxycarbonyl-L-tryptophanmethylester (187)



3.00 g *N*-[(1*H*-indol-3-yl)acetyl]tryptophanmethylester (**186**, 7.99 mmol) werden in 100 ml abs. THF vorgelegt. Man gibt 3.49 g (Boc)₂O (16.0 mmol) und eine Spatelspitze DMAP hinzu. Nach zwei Stunden wird das Lsgm. i. Vak. entfernt und der Rückstand in 150 ml Essigsäureethylester aufgenommen. Man wäscht mit 40.0 ml 1.1 M Kaliumhydrogensulfatlösung und trocknet die organische Phase über Magnesiumsulfat. Das Lsgm. wird i. Vak. entfernt und man erhält ein farbloses Pulver.

Ausbeute	4.00 g (87%)
Schmp.	88–90 °C
R_f -Wert	0.10 (Petrolether/Essigsäureethylester 4/1)

UV	(Acetonitril): λ_{\max} ($\log \epsilon$) = 228 (4.64), 259 (4.23), 285 (4.02), 293 (4.05), 325 (3.11), 339 nm (3.08).
Drehwert	(Methanol): $[\alpha]_D^{25} = +3$ ($c = 0.68$).
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3421$ (w, br), 2979 (w), 1734 (s), 1656 (w), 1518 (w), 1477 (w), 1454 (s), 1371 (s), 1309 (w), 1257 (m), 1159 (s), 1086 (m), 1018 (w), 857 (w), 768 (w), 746 (m), 592 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	(CD_2Cl_2 , 300 MHz): $\delta = 1.66$ (s, 9 H), 1.67 (s, 9 H), 3.12 (dd, $^2J = 14.70$ Hz, $^3J = 6.06$ Hz, 1 H), 3.22 (dd, $^2J = 14.46$ Hz, $^3J = 5.64$ Hz, 1 H), 3.61 (s, 2 H), 3.66 (s, 3 H), 4.89 (dd, $^3J = 6.06$ Hz, $^3J = 5.82$ Hz, 1 H), 6.16 (d, $^3J = 7.17$ Hz, 1 H), 7.16 (dd, $^3J = 7.86$ Hz, $^3J = 7.86$ Hz, 2 H), 7.34 (m, 5 H), 7.48 (s, 1 H), 8.09 (d, $^3J = 8.85$ Hz, 1 H), 8.12 (d, $^3J = 8.85$ Hz, 1 H).
$^{13}\text{C-NMR}$	(CD_2Cl_2 , 75.5 MHz): $\delta = 27.21$ (CH_2), 27.99 (6 CH_3), 33.10 (CH_2), 52.30 (CH_3), 52.86 (CH), 83.74, 83.81, 113.45, 114.95, 115.28 (2 CH), 118.61 (CH), 119.04 (CH), 122.49 (CH), 122.61 (CH), 124.17 (CH), 124.46 (CH), 124.64 (CH), 124.93 (CH), 129.85, 130.49, 135.34, 135.60, 149.49 (2 CON), 169.70 (CONH), 171.87 (COO).
(+)-FAB-MS	(<i>m</i> -NBA) m/z (%) = 1151 (9) $[2M+H]^+$, 576 (20) $[M+H]^+$.
HR-FAB-MS	für $[M+H]^+$ ber. 576.2710, gef. 576.2714.
Summenformel	$\text{C}_{32}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_7$ (MG 575.66)

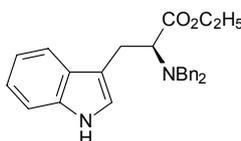
18.17 *tert*-Butylhypochlorit (191)^[218,219]



In einem Dreihalskolben mit aktiver Kühlung werden 30.0 g NaOH (750 mmol) in 180 ml Wasser gelöst. Unter Lichtausschluss gibt man 27.8 g *tert*-Butanol (375 mmol) in 180 ml Wasser hinzu und leitet unter Rühren Chlor ein. In den ersten 30 Minuten leitet man einen starken Chlorgas-Strom durch die Reaktionslösung, dann weitere 30 Minuten etwas langsamer. Die ölige Schicht wird abgetrennt und so oft mit je 30.0 ml 5proz. Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, bis keine saure Reaktion mehr nachzuweisen ist. Anschließend wäscht man noch viermal mit je 30.0 ml Wasser und trocknet über Calciumchlorid. Man erhält eine gelbe Flüssigkeit.

Ausbeute	30.5 g (75%, Lit. ^[218] 72–99%)
¹ H-NMR	(CDCl ₃ , 300 MHz): δ = 1.31 (s, 9 H).
¹³ C-NMR	(CDCl ₃ , 75.5 MHz): δ = 26.71 (3 CH ₃), 83.75.
EI-MS	<i>m/z</i> (%) = 108 (1) [<i>M</i> _{35Cl}] ⁺ , 59 (5), 43 (2), 42 (3), 41 (100), 40 (44), 39 (15), 38 (7).
Summenformel	C ₄ H ₉ ClO (MG 108.57)

18.18 (2S)-2-Dibenzylamino-3-(1*H*-indol-3-yl)propionsäureethylester (197)



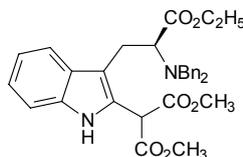
15.0 g L-Tryptophanethylester-hydrochlorid (**195**, 55.8 mmol) und 25.2 g *N*-Ethyl-diisopropylamin (195 mmol) werden in 150 ml Dichlormethan vorgelegt. Man kühlt auf 0 °C und tropft vorsichtig 21.0 g Benzylbromid (**196**, 123 mmol) zu. Die Reaktionsmischung wird 48 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lsgm. wird i. Vak. entfernt und der Rückstand an Kieselgel mit Petrolether/Essigsäureethylester 4/1 flash-chromatographisch gereinigt. Man erhält 14.0 g eines farblosen, kristallinen Feststoffes.

Das anfallende monobenzylierte Produkt (6.50 g, 20.2 mmol) kann erneut mit 4.15 g Benzylbromid (24.3 mmol) und 3.45 g *N*-Ethyl-diisopropylamin (26.7 mmol) in 70.0 ml Dichlormethan umgesetzt werden. Nach 48 Stunden erhält man nochmals 7.00 g Produkt.

Ausbeute	21.0 g (91%)
Schmp.	85 °C
<i>R_f</i> -Wert	0.20 (Petrolether/Essigsäureethylester 4/1)
UV	(Acetonitril): λ _{max} (log ε) = 282 nm (3.79).
Drehwert	(Methanol): [α] _D ²⁵ = −76 (c = 1.27).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3429 (s), 3057 (w), 2986 (w), 2956 (w), 2853 (w), 1727 (s), 1714 (s), 1599 (w), 1494 (m), 1456 (s), 1421 (mw), 1366 (w), 1291 (m),

	1243 (m), 1194 (m), 1122 (m), 1027 (m), 958 (m), 886 (w), 805 (w), 745 (s), 701 (s), 582 (m), 480 cm ⁻¹ (m).
¹ H-NMR	(CDCl ₃ , 300 MHz): δ = 1.33 (t, ³ J = 7.08 Hz, 3 H), 3.16 (dd, ² J = 14.16 Hz, ³ J = 5.64 Hz, 1 H), 3.46 (dd, ² J = 14.16 Hz, ³ J = 9.18 Hz, 1 H), 3.66 (d, ² J = 13.95 Hz, 2 H), 3.87 (dd, ³ J = 5.64 Hz, ³ J = 9.18 Hz, 1 H), 4.10 (d, ² J = 13.95 Hz, 2 H), 4.24 (m, 2 H), 6.92 (d, ³ J = 2.34 Hz, 1 H), 7.03 (dd, ³ J = 7.95 Hz, ³ J = 7.95 Hz, 1 H), 7.20 (m, 2 H), 7.35 (m, 11 H), 7.95 (s, 1 H, br).
¹³ C-NMR	(CDCl ₃ , 75.5 MHz): δ = 14.50 (CH ₃), 26.11 (CH ₂), 54.63 (2 CH ₂), 60.00 (CH ₂), 61.27 (CH), 110.84 (CH), 112.10, 118.70 (CH), 119.09 (CH), 121.68 (CH), 122.70 (CH), 126.87 (2 CH), 127.42, 128.15 (4 CH), 128.76 (4 CH), 136.05, 139.56 (2 C), 172.38 (COO).
EI-MS	<i>m/z</i> (%) = 412 (1) [M] ⁺ , 410 (1), 339 (9), 283 (18), 282 (100), 210 (4), 181 (4), 130 (13), 129 (12), 117 (4), 106 (4), 102 (4), 92 (5), 91 (48).
HR-EI-MS	für [M] ⁺ ber. 412.2150, gef. 412.2156.
EA	ber. C 78.61 H 6.84 N 6.79 gef. C 78.54 H 6.86 N 6.77
Summenformel	C ₂₇ H ₂₈ N ₂ O ₂ (MG 412.53)

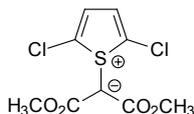
18.19 (2S)-2-Dibenzylamino-3-(1*H*-2-bis(methoxycarbonyl)methyl-indol-3-yl)propionsäureethylester (201)



10.0 g (2*S*)-2-Dibenzylamino-3-(1*H*-indol-3-yl)propionsäureethylester (**197**, 24.2 mmol) werden in 100 ml abs. THF gelöst und mit 2.69 g Triethylamin (26.6 mmol) versetzt. Man kühlt auf –78 °C und tropft vorsichtig 2.89 g *tert*-Butylhypochlorit (**191**, 26.6 mmol) zu. Nach 30 Minuten werden 4.84 ml ZnCl₂ (4.84 mmol, 1 M in Diethylether) zugegeben und weitere zehn Minuten gerührt. 3.83 g Malonsäuredimethylester (29.0 mmol) werden in 30.0 ml abs THF vorgelegt und bei –78 °C mit 12.0 ml BuLi (30.0 mmol, 2.5 M in Hexan) versetzt. Das Lithiummalonat wird zur Reaktionslösung gegeben und bei –78 °C gerührt. Nach zwei Stunden wird mit Wasser gequentscht. Die organische Phase wird abgetrennt

und die wäßrige dreimal mit je 100 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lsgm. i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird an Kieselgel mit Petrolether/Essigsäureethylester 2/1 flash-chromatographisch gereinigt. Man erhält ein farbloses Pulver.

Ausbeute	12.0 g (91%)
Schmp.	70–72 °C
R_f -Wert	0.33 (Petrolether/Essigsäureethylester 2/1)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} (log ϵ) = 283 nm (3.96).
Drehwert	(Methanol): $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -110$ ($c = 0.58$).
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3403$ (m, br), 3060 (w), 2954 (w), 2843 (w), 1725 (s), 1621 (w), 1494 (w), 1457 (m), 1436 (m), 1370 (w), 1296 (m), 1202 (s), 1174 (s), 1074 (w), 1027 (m), 884 (w), 743 (s), 699 (s), 606 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	(CDCl_3 , 300 MHz): $\delta = 1.26$ (t, $^3J = 7.05$ Hz, 3 H), 3.00 (dd, $^2J = 13.95$ Hz, $^3J = 3.54$ Hz, 1 H), 3.47 (dd, $^2J = 13.95$ Hz, $^3J = 10.95$ Hz, 1 H), 3.55 (d, $^2J = 13.71$ Hz, 2 H), 3.68 (s, 3 H), 3.77 (dd, $^3J = 10.95$ Hz, $^3J = 3.54$ Hz, 1 H), 3.81 (s, 3 H), 3.99 (m, 1 H), 4.06 (d, $^2J = 13.71$ Hz, 2 H), 4.21 (m, 1 H), 5.26 (s, 1 H), 6.87 (m, 2 H), 7.13 (d, $^3J = 8.19$ Hz, 1 H), 7.33 (m, 7 H), 7.45 (m, 4 H), 8.79 (s, 1 H).
$^{13}\text{C-NMR}$	(CDCl_3 , 75.5 MHz): $\delta = 14.45$ (CH_3), 25.45 (CH_2), 48.76 (CH), 52.95 (CH_3), 53.01 (CH_3), 54.78 (2 CH_2), 60.11 (CH_2), 60.77 (CH), 110.94, 111.00 (CH), 118.76 (CH), 119.23 (CH), 122.24 (CH), 125.60, 127.03 (2 CH), 127.40, 128.30 (4 CH), 128.83 (4 CH), 135.84, 139.46 (2 C), 167.89 (COOCH_3), 167.99 (COOCH_3), 172.03 (COOCH_2).
EI-MS	m/z (%) = 542 (5) $[\text{M}]^+$, 469 (6), 283 (23), 282 (100), 260 (16), 196 (3), 181 (5), 170 (4), 169 (10), 117 (3), 92 (6), 91 (77).
HR-EI-MS	für $[\text{M}]^+$ ber. 542.2417, gef. 542.2422.
Summenformel	$\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_6$ (MG 542.63)

18.20 2-(2,5-Dichlor-thiophen-1-yl)malonsäuredimethylester (203)

Es werden 10.0 ml Thiophen vorgelegt und mit 5.50 mg Rhodium(II)acetat (0.01 mmol) versetzt. Man gibt 1.58 g Diazomalonsäuredimethylester (**175**, 10.0 mmol) über eine Stunde hinzu und rührt bei Raumtemperatur weitere 24 Stunden. Der Niederschlag wird filtriert und getrocknet. Man erhält einen farblosen Feststoff. Das Filtrat kann weiterverwendet werden.

Ausbeute 2.75 g (97%, Lit.^[223] 100%)

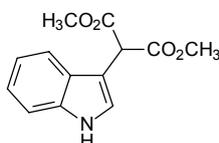
Schmp. n. b.

¹H-NMR ([D₆]DMSO, 300 MHz): δ = 3.30 (s, 1 H), 3.47 (s, 3 H), 3.62 (s, 3 H), 7.43 (s, 2 H).

¹H-NMR ([D₆]DMSO, 75.5 MHz): δ = 50.19, 51.19 (CH₃), 51.33 (CH₃), 131.47 (2 C), 131.52 (2 CH), 163.14 (COO), 165.33 (COO).

(+)-FAB-MS *m/z* (%) = 284 (69) [M+H]⁺.

Summenformel C₉H₈Cl₂O₄S (MG 283.13)

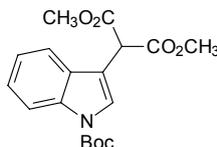
18.21 2-(1H-Indol-3-yl)malonsäuredimethylester (204)

6.60 g Ylid **203** (23.3 mmol) werden mit 2.73 g Indol (**21**, 23.3 mmol) und 60.0 mg Kupfer(II)acetylacetonat (0.23 mmol) in 50.0 ml Toluol für fünf Minuten refluxiert. Nach dem Abkühlen wird das Lsgm. i. Vak. entfernt und der Rückstand an Kieselgel mit Essigsäureethylester/Petrolether 1/1 flash-chromatographisch gereinigt. Man erhält ein hellgelbes Pulver.

Ausbeute 4.70 g (82%, Lit.^[224] 85%)

Schmp.	n. b.
$^1\text{H-NMR}$	(CDCl_3 , 300 MHz): $\delta = 3.75$ (s, 6 H), 4.97 (s, 1 H), 7.15 (m, 2 H), 7.28 (m, 2 H), 7.62 (d, $^3J = 7.86$ Hz, 1 H), 8.33 (s, 1 H, br).
$^1\text{H-NMR}$	(CDCl_3 , 75.5 MHz): $\delta = 49.28$, 52.74 (2 CH_3), 107.06, 111.38 (CH), 118.83 (CH), 119.97 (CH), 122.29 (CH), 124.15 (CH), 126.35, 135.88, 169.07 (2 COO).
EI-MS	m/z (%) = 247 (23) $[\text{M}]^+$, 232 (11), 215 (6), 189 (13), 188 (100), 160 (19), 157 (7), 144 (8), 130 (11), 129 (18), 128 (12), 102 (7), 101 (7), 57 (85), 56 (22), 55 (8), 51 (9), 44 (52), 41 (65), 39 (24).
Summenformel	$\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}_4$ (MG 247.25)

18.22 2-(1-*tert*-Butyloxycarbonyl-indol-3-yl)malonsäuredimethylester (205)



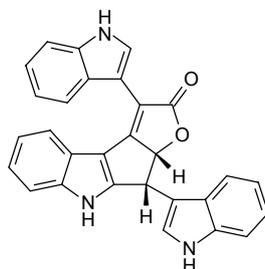
4.36 g 2-(1-*tert*-Butyloxycarbonyl-indol-3-yl)malonsäuredimethylester (**204**, 17.6 mmol) und 3.84 g $(\text{Boc})_2\text{O}$ (17.6 mmol) werden in 100 ml Acetonitril mit einer Spatelspitze DMAP bei Raumtemperatur gerührt. Nach zwei Stunden wird die Reaktionslösung mit 100 ml Essigsäureethylester verdünnt und mit 30.0 ml 1.1 M Kaliumhydrogensulfatlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lsgm. i. Vak. entfernt. Man erhält ein farbloses Pulver.

Ausbeute	5.62 g (92%)
Schmp.	117–118 °C
R_f -Wert	0.55 (Essigsäureethylester/Petrolether 1/1)
UV	(Acetonitril): λ_{max} ($\log \varepsilon$) = 226 (4.40), 263 (4.01), 284 (3.78), 292 nm (3.82).
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3455$ (w, br), 3001 (w), 2978 (w), 2955 (w), 1737 (s), 1611 (w), 1477 (w), 1456 (s), 1435 (m), 1385 (s), 1368 (s), 1328 (m), 1288

	(m), 1268 (s), 1238 (m), 1211 (m), 1159 (s), 1095 (s), 1033 (w), 910 (w), 842 (w), 766 (m), 748 (m), 604 cm ⁻¹ (w).
¹ H-NMR	(CDCl ₃ , 300 MHz): δ = 1.67 (s, 9 H), 3.79 (s, 6 H), 4.91 (s, 2 H), 7.26 (dd, ³ J = 8.19 Hz, ³ J = 8.19 Hz, 1 H), 7.34 (dd, ³ J = 8.19 Hz, ³ J = 8.19 Hz, 1 H), 7.58 (d, ³ J = 8.19 Hz, 1 H), 7.78 (s, 1 H), 8.18 (d, ³ J = 8.19 Hz, 1 H).
¹³ C-NMR	(CDCl ₃ , 75.5 MHz): δ = 28.12 (3 CH ₃), 49.12 (CH), 52.93 (2 CH ₃), 83.94, 111.94, 115.31 (CH), 119.21 (CH), 122.79 (CH), 124.67 (CH), 125.44 (CH), 129.04, 135.29, 149.39 (CON), 168.13 (2 COO).
EI-MS	<i>m/z</i> (%) = 347 (4) [M] ⁺ , 291 (23), 247 (23), 232 (11), 215 (6), 189 (13), 188 (100), 160 (19), 157 (7), 144 (8), 130 (11), 129 (18), 128 (12), 102 (7), 101 (7), 57 (85), 56 (22), 55 (8), 51 (9), 44 (52), 41 (65), 39 (24).
HR-EI-MS	für [M] ⁺ ber. 347.1369, gef. 347.1359.
EA	ber. C 62.24 H 6.09 N 4.03 gef. C 62.04 H 6.06 N 3.99
Summenformel	C ₁₈ H ₂₁ NO ₆ (MG 347.37)

19 Experimentelle Daten zu Kapitel 9

19.1 Malasseziacitrin (219)



Die Verbindung, aus der DC-Bande mit R_f -Wert 0.38 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3), eluiert nach 58 Minuten von der analytischen RP-18-Säule.

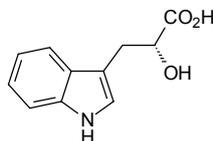
Die isolierte Menge stammt aus 214 Petrischalen. Die Substanz wird mittels präparativer HPLC (Trennsysteme 1 und 9) gereinigt.

Ausbeute	1.50 mg eines rotbraunen Feststoffes
Schmp.	>200 °C (Zersetzung)
R_f -Wert	0.38 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)
UV	(Methanol): λ_{\max} (log ϵ) = 222 (4.72), 269 (4.23), 285 (4.21), 357 nm (3.88).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3414 (s, br), 2925 (w), 1726 (m), 1660 (s), 1618 (m), 1541 (w), 1460 (s), 1384 (w), 1334 (w), 1243 (w), 1138 (w), 1011 (w), 940 (w), 745 (s), 428 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_6]$ DMSO, 600 MHz): δ = 5.33 (d, 3J = 6.72 Hz, 1 H), 6.09 (d, 3J = 6.72 Hz), 6.77 (d, 3J = 2.40 Hz, 1 H), 6.84 (dd, 3J = 8.04 Hz, 3J = 8.04 Hz, 1 H), 7.01 (dd, 3J = 7.80 Hz, 3J = 7.80 Hz, 2 H), 7.05 (dd, 3J = 8.04 Hz, 3J = 8.04 Hz, 1 H), 7.16 (dd, 3J = 7.80 Hz, 3J = 7.80 Hz, 1 H), 7.17 (dd, 3J = 7.80 Hz, 3J = 7.80 Hz, 1 H), 7.26 (d, 3J = 8.04 Hz, 1 H), 7.33 (d, 3J = 7.80 Hz, 1 H), 7.34 (d, 3J = 8.04 Hz, 1 H), 7.40 (d, 3J = 7.80 Hz, 1 H), 7.48 (d, 3J = 7.80 Hz, 1 H), 7.59 (d, 3J = 2.46 Hz, 1 H), 7.66 (d, 3J = 7.80 Hz, 1 H), 10.97 (s, 1 H), 11.42 (s, 1 H), 12.18 (s, 1 H).

¹³ C-NMR	([D ₆]DMSO, 150.9 MHz): δ = 87.25 (CH), 106.76, 108.54, 109.71, 111.72 (CH), 111.84 (CH), 112.61, 113.13 (CH), 118.78 (CH), 118.87 (CH), 119.00 (CH), 120.68 (CH), 120.75 (CH), 121.08 (CH), 121.29 (CH), 121.31 (CH), 121.73, 122.77 (CH), 123.64 (CH), 125.29 (CH), 126.52, 126.71, 136.31, 136.54, 141.33, 156.09, 161.02, 174.95. 1 Signal durch Lsgm. verdeckt.
EI-MS	m/z (%) = 443 (7), 442 (32), 441 (100) [M] ⁺ , 440 (14), 439 (30), 398 (14), 397 (23), 396 (23), 385 (28), 384 (71), 383 (19), 382 (42), 381 (10), 324 (14), 201 (28), 191 (16), 157 (24), 130 (62).
HR-EI-MS	für [M] ⁺ ber. 441.1477, gef. 441.1456.
Summenformel	C ₂₉ H ₁₉ N ₃ O ₂ (MG 441.49)

20 Experimentelle Daten zu Kapitel 10

20.1 D-Indolylmilchsäure (226)

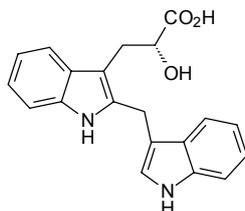


Die Verbindung, aus der DC-Bande mit R_f -Wert 0.28 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3), eluiert nach 17 Minuten von der analytischen RP-18-Säule.

Die isolierte Menge stammt aus 214 Petrischalen. Die Substanz wird mittels präparativer HPLC (Trennsysteme 1 und 9) gereinigt.

Ausbeute	10.0 mg eines farblosen Pulvers
Schmp.	100–103 °C (Lit. ^[233] 98–99 °C)
R_f -Wert	0.28 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)
UV	(Methanol): λ_{\max} (log ϵ) = 221 (4.56), 281 (3.80), 290 nm (3.74).
Drehwert	(Wasser): $[\alpha]_D^{25} = -6$ ($c = 0.28$).
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3406$ (s, br), 3057 (w), 2924 (w), 2854 (w), 1716 (s), 1618 (s), 1489 (w), 1458 (s), 1425 (m), 1341 (m), 1229 (m), 1095 (s), 1022 (w), 1010 (w), 929 (w), 871 (w), 822 (w), 744 (s), 588 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_4]$ Methanol, 600 MHz): $\delta = 3.06$ (s, 1 H, br), 3.27 (d, $^2J = 13.32$ Hz, 1 H), 4.37 (s, 1 H, br), 6.98 (dd, $^3J = 8.22$ Hz, $^3J = 8.22$ Hz, 1 H), 7.05 (dd, $^3J = 8.22$ Hz, $^3J = 8.22$ Hz, 1 H), 7.11 (s, 1 H), 7.30 (d, $^3J = 8.22$ Hz, 1 H), 7.60 (d, $^3J = 8.22$ Hz, 1 H).
$^{13}\text{C-NMR}$	($[\text{D}_4]$ Methanol, 150.9 MHz): $\delta = 32.05$ (CH_2), 73.23 (CH), 112.00, 112.39 (CH), 119.84 (CH), 119.89 (CH), 122.45 (CH), 124.87 (CH), 129.41, 138.24, 179.07 (COOH).
EI-MS	m/z (%) = 205 (10) $[\text{M}]^+$, 187 (2), 159 (4), 144 (5), 131 (18), 130 (100), 103 (7), 89 (2), 77 (8).
HR-EI-MS	für $[\text{M}]^+$ ber. 205.0738, gef. 205.0731.
Summenformel	$\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{NO}_3$ (MG 205.21)

20.2 Malasseziamilchsäure (227)

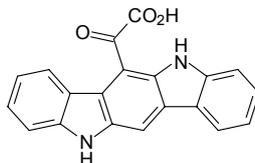


Die Verbindung, aus der DC-Bande mit R_f -Wert 0.28 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3), eluiert nach 40 Minuten von der analytischen RP-18-Säule.

Die isolierte Menge stammt aus 214 Petrischalen. Die Substanz wird mittels präparativer HPLC (Trennsysteme 1, 10 und 5) gereinigt.

Ausbeute	2.00 mg eines farblosen Pulvers
Schmp.	135–137 °C
R_f -Wert	0.28 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)
UV	(Methanol): λ_{\max} (log ϵ) = 209 (4.14), 225 (4.12), 276 nm (3.75).
Drehwert	(Methanol): $[\alpha]_D^{25} = -8$ ($c = 0.17$).
IR	(KBr): $\tilde{\nu} = 3430$ (s, br), 2915 (w), 2849 (w), 1716 (w), 1630 (s), 1524 (w), 1484 (w), 1459 (m), 1422 (m), 1381 (w), 1336 (m), 1233 (w), 1200 (w), 1089 (m), 1038 (w), 1008 (w), 745 cm^{-1} (m).
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_4]$ Methanol, 600 MHz): $\delta = 3.16$ (dd, $^2J = 14.46$ Hz, $^3J = 7.74$ Hz, 1 H), 3.34 (dd, $^2J = 14.46$ Hz, $^3J = 5.22$ Hz, 1 H), 4.27 (<i>pseudo</i> -d, $^2J = 4.62$ Hz, 2 H), 4.40 (dd, $^3J = 7.74$ Hz, $^3J = 5.22$ Hz, 1 H), 6.96 (m, 3 H), 7.01 (s, 1 H), 7.06 (dd, $^3J = 8.28$ Hz, $^3J = 8.28$ Hz, 1 H), 7.19 (d, $^3J = 7.26$ Hz, 1 H), 7.32 (d, $^3J = 8.28$ Hz, 1 H), 7.46 (d, $^3J = 8.28$ Hz, 1 H), 7.55 (d, $^3J = 7.26$ Hz, 1 H).
$^{13}\text{C-NMR}$	($[\text{D}_4]$ Methanol, 150.9 MHz): $\delta = 23.68$ (CH_2), 31.39 (CH_2), 73.12 (CH), 107.44, 111.77 (CH), 112.43 (CH), 114.08, 119.30 (CH), 119.76 (CH), 119.84 (CH), 119.91 (CH), 121.68 (CH), 122.62 (CH), 124.30 (CH), 128.98, 130.49, 137.47, 137.94, 138.57, 178.23 (COOH).
(-)-ESI-MS	m/z (%) = 667 (57) $[\text{2M-H}]^-$, 333 (13) $[\text{M-H}]^-$.
HR-ESI-MS	für $[\text{2M-H}]^-$ ber. 667.2556, gef. 667.2533.
Summenformel	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$ (MG 334.37)

20.3 Malasseziacarbazol A (229)

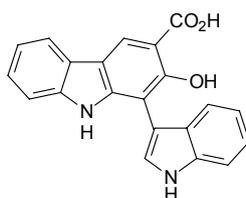


Die Verbindung, aus der DC-Bande mit R_f -Wert 0.27 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3), eluiert nach 42 Minuten von der analytischen RP-18-Säule.

Die isolierte Menge stammt aus 1000 Petrischalen. Die Substanz wird mittels präparativer HPLC (Trennsysteme 1 und 11) gereinigt.

Ausbeute	1.00 mg eines gelben Feststoffes
Schmp.	>250 °C (Zersetzung)
R_f -Wert	0.27 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)
UV	(Acetonitril): λ_{\max} (ϵ_{rel}) = 211 (0.88), 225 (0.97), 255 (1.00), 305 (0.31), 375 (0.38), 447 nm (0.19).
$^1\text{H-NMR}$	($[\text{D}_4]$ Methanol, 600 MHz): δ = 7.14 (dd, 3J = 8.28 Hz, 3J = 8.28 Hz, 1 H), 7.24 (dd, 3J = 8.34 Hz, 3J = 8.34 Hz, 1 H), 7.44 (m, 2 H), 7.50 (d, 3J = 8.28 Hz, 1 H), 7.57 (d, 3J = 8.34 Hz, 1 H), 8.19 (d, 3J = 8.34 Hz, 1 H), 8.40 (s, 1 H), 8.77 (d, 3J = 8.28 Hz, 1 H).
$^{13}\text{C-NMR}$	($[\text{D}_4]$ Methanol, 150.9 MHz): δ = 108.40 (CH), 111.63 (CH), 112.16 (CH), 112.80, 119.28 (CH), 120.32 (CH), 121.21 (CH), 122.50, 123.92 (2 C), 125.42, 126.59 (CH), 127.45 (CH), 127.59 (CH), 137.39, 138.25, 142.78, 143.59, 175.83 (COOH), 197.87 (C=O).
(-)-ESI-MS	m/z (%) = 677 (1) $[\text{2M}-\text{2H}+\text{Na}]^-$, 655 (30) $[\text{2M}-\text{H}]^-$, 327 (100) $[\text{M}-\text{H}]^-$.
HR-ESI-MS	für $[\text{2M}-\text{H}]^-$ ber. 655.1618, gef. 655.1623.
Summenformel	$\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$ (MG 328.33)

20.4 Malasseziacarbazol B (232)



Die Verbindung, aus der DC-Bande mit R_f -Wert 0.54 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3), eluiert nach 49 Minuten von der analytischen RP-18-Säule.

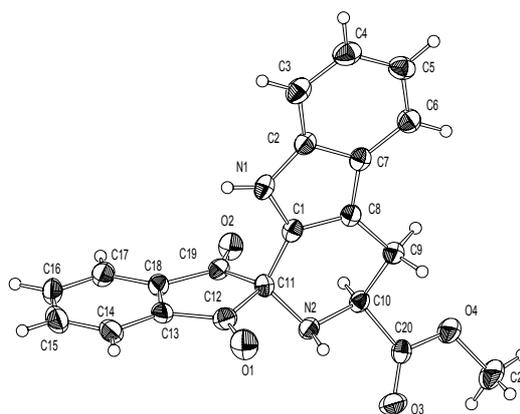
Die isolierte Menge stammt aus 600 Petrischalen. Die Substanz wird mittels präparativer HPLC (Trennsysteme 1, 5 und 12) gereinigt.

Ausbeute	1.00 mg eines farblosen Feststoffes
Schmp.	>250 °C
R_f -Wert	0.54 (Toluol/Ameisensäureethylester/Ameisensäure 10/5/3)
UV	(Methanol): λ_{\max} (log ϵ) = 221 (3.77), 279 (3.52), 336 nm (2.95, sh).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3435 (s, br), 2926 (w), 2855 (w), 2074 (w), 1631 (s), 1487 (w), 1456 (m), 1410 (m), 1354 (w), 1268(w), 1237 (m), 1104 (w), 745 (s), 585 (w), 452 cm^{-1} (w).
$^1\text{H-NMR}$	([D ₆]DMSO, 600 MHz): δ = 6.94 (dd, 3J = 8.28 Hz, 3J = 8.28 Hz, 1 H), 7.02 (dd, 3J = 7.38 Hz, 3J = 7.38 Hz, 1 H), 7.09 (dd, 3J = 8.28 Hz, 3J = 8.28 Hz, 1 H), 7.13 (dd, 3J = 7.38 Hz, 3J = 7.38 Hz, 1 H), 7.30 (d, 3J = 7.80 Hz, 2 H), 7.45 (d, 3J = 8.28 Hz, 1 H), 7.47 (s, 1 H), 7.89 (d, 3J = 7.38 Hz, 1 H), 8.40 (s, 1 H), 10.16 (s, 1 H), 11.21 (s, 1 H), 17.10 (s, 1 H, br).
$^{13}\text{C-NMR}$	([D ₆]DMSO, 150.9 MHz): δ = 109.31, 110.84 (CH), 111.28 (CH), 112.74, 118.42 (3 CH), 120.97 (CH), 121.04 (CH), 122.79 (CH), 122.93 (CH), 124.25, 124.71 (CH), 127.09, 136.12, 140.27, 142.50, 160.32, 172.12 (COOH). Ein ^{13}C -Signal fehlt, da zu diesem im HMBC-Spektrum keine Korrelation gemessen wurde und die ^{13}C -NMR-Werte nur aus dem 2D-Spektrum gewonnen werden konnten.
(-)-ESI-MS	m/z (%) = 341 (100) [M-H] ⁻ .
HR-ESI-MS	für [M-H] ⁻ ber. 341.0926, gef. 341.0933.
Summenformel	C ₂₁ H ₁₄ N ₂ O ₃ (MG 342.35)

Anhang

21 Daten zur Röntgenstrukturanalyse

21.1 Röntgenstrukturanalyse von 47



Kenn-Nummer Irlinger2 (M2407 9/01); Messtemperatur 293(2) K; Strahlung Mo-K α , $\lambda = 0.71073$ Å; monoklin; Raumgruppe P2 $_1$; a = 9.614(2) Å, $\alpha = 90.00(0)^\circ$; b = 12.604(5) Å, $\beta = 90.00(0)^\circ$; c = 14.250(5) Å, $\gamma = 92.85(3)^\circ$; Volumen 1724.6(10) Å 3 ; Z = 4; $\rho_{\text{ber.}} = 1.388$ g/cm 3 ; Absorptionskoeffizient $\mu = 0.098$ mm $^{-1}$; F(000) 752; Kristallabmessungen 0.13x0.53x0.57 mm; 4989 gesammelte Reflexe, 4725 unabhängige Reflexe [R(int) = 0.0336]; Strukturlösung SHELXS86, Strukturverfeinerung SHELXL93; max. und min. Transmissionen 0.9997 und 0.9286; Goodness of fit 1.139; Endverfeinerte Parameter [I > 2 σ I] R1 = 0.0482, wR2 = 0.1127, alle Daten R1 = 0.0724, wR2 = 0.1305; Restelektronendichte 0.216 und -0.184 eÅ $^{-3}$.

Atom	x	y	z	U(eq)	Atom	x	y	z	U(eq)
O(1)	8651(4)	3566(3)	6043(3)	69(1)	N(1A)	6179(4)	8267(3)	7636(3)	47(1)
O(2)	6180(3)	3229(2)	3194(2)	54(1)	N(2A)	9558(3)	7004(3)	7219(3)	47(1)
O(3)	3542(3)	2946(3)	6302(3)	66(1)	O(1A)	7123(4)	5999(3)	6061(2)	75(1)
O(4)	2654(3)	1492(3)	5608(2)	59(1)	O(2A)	8551(3)	6949(2)	9134(2)	52(1)
N(1)	8916(4)	1544(3)	4274(3)	46(1)	O(3A)	11875(4)	6639(3)	6163(3)	75(1)
N(2)	5913(3)	2955(3)	5301(2)	43(1)	O(4A)	12091(4)	8348(3)	5830(3)	94(2)
C(1)	7633(4)	1830(3)	4607(3)	40(1)	C(1A)	7511(4)	8013(4)	7345(3)	42(1)
C(2)	8917(5)	456(3)	4245(3)	44(1)	C(2A)	6097(5)	9354(4)	7568(3)	46(1)
C(3)	9947(5)	-204(4)	3954(3)	56(1)	C(3A)	5008(6)	9989(4)	7797(3)	56(1)
C(4)	9637(6)	-1277(4)	3960(3)	61(1)	C(4A)	5266(6)	11066(4)	7734(3)	61(1)
C(5)	8341(5)	-1701(4)	4256(4)	55(1)	C(5A)	6544(6)	11514(4)	7450(3)	60(1)
C(6)	7341(5)	-1051(3)	4571(3)	50(1)	C(6A)	7593(5)	10880(4)	7175(3)	51(1)
C(7)	7610(4)	44(3)	4556(3)	41(1)	C(7A)	7391(4)	9779(3)	7240(3)	42(1)
C(8)	6816(4)	942(3)	4789(3)	39(1)	C(8A)	8256(4)	8897(3)	7079(3)	42(1)
C(9)	5362(4)	977(3)	5160(3)	44(1)	C(9A)	9699(5)	8854(3)	6696(3)	46(1)
C(10)	4869(4)	2112(3)	5094(3)	38(1)	C(10A)	9937(4)	7713(3)	6432(3)	42(1)
C(11)	7196(4)	2928(3)	4745(3)	41(1)	C(11A)	8068(4)	6932(3)	7439(3)	41(1)
C(12)	8308(5)	3657(4)	5233(3)	47(1)	C(12A)	7176(5)	6088(4)	6903(3)	47(1)
C(13)	8852(4)	4443(3)	4550(3)	44(1)	C(13A)	6425(4)	5396(3)	7602(3)	44(1)
C(14)	9953(5)	5195(3)	4660(4)	55(1)	C(14A)	5440(5)	4582(3)	7452(4)	56(1)
C(15)	10291(6)	5834(4)	3908(5)	67(2)	C(15A)	4871(6)	4083(4)	8226(5)	65(2)
C(16)	9549(6)	5752(4)	3065(4)	63(2)	C(16A)	5242(5)	4377(4)	9129(4)	64(1)
C(17)	8443(5)	5019(4)	2965(4)	56(1)	C(17A)	6235(5)	5184(3)	9295(4)	53(1)
C(18)	8106(4)	4356(3)	3718(3)	43(1)	C(18A)	6824(4)	5700(3)	8508(3)	40(1)
C(19)	7030(4)	3484(3)	3788(3)	40(1)	C(19A)	7887(4)	6565(3)	8482(3)	40(1)
C(20)	3625(4)	2248(3)	5733(3)	41(1)	C(20A)	11412(5)	7500(4)	6144(3)	48(1)
C(21)	1414(5)	1554(5)	6172(5)	74(2)	C(21A)	13478(6)	8207(5)	5477(7)	124(3)

Tabelle 21.1 Atomkoordinaten ($\times 10^4$) und äquivalente isotrope Auslenkungsparameter ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) von **47**. U(eq) ist definiert als ein Drittel der Spur des orthogonalen U_{ij} -Tensors.

Atome	Abstand	Atome	Abstand	Atome	Abstand
O(1)-C(12)	1.207(5)	C(11)-C(12)	1.541(6)	C(2A)-C(3A)	1.388(7)
O(2)-C(19)	1.209(5)	C(11)-C(19)	1.545(6)	C(2A)-C(7A)	1.410(6)
O(3)-C(20)	1.202(5)	C(12)-C(13)	1.467(6)	C(3A)-C(4A)	1.371(7)
O(4)-C(20)	1.313(5)	C(13)-C(18)	1.387(6)	C(4A)-C(5A)	1.387(7)
O(4)-C(21)	1.443(5)	C(13)-C(14)	1.394(6)	C(5A)-C(6A)	1.375(6)
N(1)-C(2)	1.372(5)	C(14)-C(15)	1.370(7)	C(6A)-C(7A)	1.394(6)
N(1)-C(1)	1.386(5)	C(15)-C(16)	1.398(8)	C(7A)-C(8A)	1.439(6)
N(2)-C(10)	1.455(5)	C(16)-C(17)	1.381(7)	C(8A)-C(9A)	1.495(6)
N(2)-C(11)	1.468(5)	C(17)-C(18)	1.389(6)	C(9A)-C(10A)	1.514(6)
C(1)-C(8)	1.360(5)	C(18)-C(19)	1.475(6)	C(10A)-C(20A)	1.512(6)
C(1)-C(11)	1.479(6)	N(1A)-C(2A)	1.380(5)	C(11A)-C(12A)	1.536(6)
C(2)-C(3)	1.389(6)	N(1A)-C(1A)	1.398(5)	C(11A)-C(19A)	1.563(6)
C(2)-C(7)	1.407(6)	N(2A)-C(11A)	1.465(5)	C(12A)-C(13A)	1.487(6)
C(3)-C(4)	1.370(6)	N(2A)-C(10A)	1.469(5)	C(13A)-C(14A)	1.378(6)
C(4)-C(5)	1.396(7)	O(1A)-C(12A)	1.206(5)	C(13A)-C(18A)	1.394(6)
C(5)-C(6)	1.370(6)	O(2A)-C(19A)	1.214(5)	C(14A)-C(15A)	1.369(7)
C(6)-C(7)	1.391(6)	O(3A)-C(20A)	1.193(5)	C(15A)-C(16A)	1.382(8)
C(7)-C(8)	1.435(6)	O(4A)-C(20A)	1.304(5)	C(16A)-C(17A)	1.380(6)
C(8)-C(9)	1.497(6)	O(4A)-C(21A)	1.445(6)	C(17A)-C(18A)	1.402(6)
C(9)-C(10)	1.533(6)	C(1A)-C(8A)	1.348(6)	C(18A)-C(19A)	1.458(6)
C(10)-C(20)	1.520(5)	C(1A)-C(11A)	1.495(6)		

Tabelle 21.2 Bindungslängen (Å).

Atome	Winkel	Atome	Winkel
C(20)-O(4)-C(21)	116.4(4)	C(2A)-N(1A)-C(1A)	107.7(4)
C(2)-N(1)-C(1)	108.4(3)	C(11A)-N(2A)-C(10A)	114.4(3)
C(10)-N(2)-C(11)	115.1(3)	C(20A)-O(4A)-C(21A)	116.5(4)
C(8)-C(1)-N(1)	109.6(4)	C(8A)-C(1A)-N(1A)	110.4(4)
C(8)-C(1)-C(11)	124.5(4)	C(8A)-C(1A)-C(11A)	125.4(4)
N(1)-C(1)-C(11)	125.9(4)	N(1A)-C(1A)-C(11A)	123.8(4)
N(1)-C(2)-C(3)	130.1(4)	N(1A)-C(2A)-C(3A)	129.6(4)
N(1)-C(2)-C(7)	108.3(4)	N(1A)-C(2A)-C(7A)	107.9(4)
C(3)-C(2)-C(7)	121.5(4)	C(3A)-C(2A)-C(7A)	122.4(4)
C(4)-C(3)-C(2)	117.6(4)	C(4A)-C(3A)-C(2A)	116.8(5)
C(3)-C(4)-C(5)	121.7(5)	C(3A)-C(4A)-C(5A)	122.4(5)
C(6)-C(5)-C(4)	120.7(4)	C(6A)-C(5A)-C(4A)	120.5(5)
C(5)-C(6)-C(7)	119.1(4)	C(5A)-C(6A)-C(7A)	119.3(5)
C(6)-C(7)-C(2)	119.4(4)	C(6A)-C(7A)-C(2A)	118.5(4)
C(6)-C(7)-C(8)	134.3(4)	C(6A)-C(7A)-C(8A)	134.5(4)
C(2)-C(7)-C(8)	106.3(4)	C(2A)-C(7A)-C(8A)	107.0(4)
C(1)-C(8)-C(7)	107.3(4)	C(1A)-C(8A)-C(7A)	106.9(4)
C(1)-C(8)-C(9)	123.0(4)	C(1A)-C(8A)-C(9A)	121.9(4)
C(7)-C(8)-C(9)	129.7(4)	C(7A)-C(8A)-C(9A)	131.3(4)
C(8)-C(9)-C(10)	109.8(3)	C(8A)-C(9A)-C(10A)	108.1(3)
N(2)-C(10)-C(20)	108.3(3)	N(2A)-C(10A)-C(20A)	107.8(4)
N(2)-C(10)-C(9)	115.8(3)	N(2A)-C(10A)-C(9A)	110.0(4)
C(20)-C(10)-C(9)	110.5(3)	C(20A)-C(10A)-C(9A)	115.1(3)
N(2)-C(11)-C(1)	111.8(3)	N(2A)-C(11A)-C(1A)	108.5(3)
N(2)-C(11)-C(12)	107.5(3)	N(2A)-C(11A)-C(12A)	116.6(4)
C(1)-C(11)-C(12)	113.4(4)	C(1A)-C(11A)-C(12A)	111.9(4)
N(2)-C(11)-C(19)	111.1(4)	N(2A)-C(11A)-C(19A)	108.4(3)
C(1)-C(11)-C(19)	110.3(4)	C(1A)-C(11A)-C(19A)	108.4(4)
C(12)-C(11)-C(19)	102.3(3)	C(12A)-C(11A)-C(19A)	102.6(3)
O(1)-C(12)-C(13)	127.5(4)	O(1A)-C(12A)-C(13A)	126.5(4)
O(1)-C(12)-C(11)	124.0(4)	O(1A)-C(12A)-C(11A)	125.4(4)
C(13)-C(12)-C(11)	108.4(4)	C(13A)-C(12A)-C(11A)	108.1(4)
C(18)-C(13)-C(14)	121.5(4)	C(14A)-C(13A)-C(18A)	121.1(4)
C(18)-C(13)-C(12)	110.4(4)	C(14A)-C(13A)-C(12A)	129.0(4)
C(14)-C(13)-C(12)	128.1(5)	C(18A)-C(13A)-C(12A)	109.9(4)
C(15)-C(14)-C(13)	117.5(5)	C(15A)-C(14A)-C(13A)	117.5(5)
C(14)-C(15)-C(16)	121.5(5)	C(14A)-C(15A)-C(16A)	122.4(5)
C(17)-C(16)-C(15)	120.7(5)	C(17A)-C(16A)-C(15A)	121.1(5)
C(16)-C(17)-C(18)	118.1(5)	C(16A)-C(17A)-C(18A)	117.0(5)
C(13)-C(18)-C(17)	120.6(4)	C(13A)-C(18A)-C(17A)	120.9(4)
C(13)-C(18)-C(19)	110.0(4)	C(13A)-C(18A)-C(19A)	110.8(4)
C(17)-C(18)-C(19)	129.4(4)	C(17A)-C(18A)-C(19A)	128.3(4)
O(2)-C(19)-C(18)	126.2(4)	O(2A)-C(19A)-C(18A)	127.9(4)
O(2)-C(19)-C(11)	125.5(4)	O(2A)-C(19A)-C(11A)	124.1(4)
C(18)-C(19)-C(11)	108.2(4)	C(18A)-C(19A)-C(11A)	108.0(3)
O(3)-C(20)-O(4)	123.5(4)	O(3A)-C(20A)-O(4A)	124.0(5)
O(3)-C(20)-C(10)	124.6(4)	O(3A)-C(20A)-C(10A)	123.5(4)
O(4)-C(20)-C(10)	111.8(4)	O(4A)-C(20A)-C(10A)	112.5(4)

Tabelle 21.3 Bindungswinkel [°].

22 Abkürzungsverzeichnis

Ac	Acetyl
Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid
abs.	absolut
AHR	Aryl-Hydrocarbon-Rezeptor
ATP	Adenosintriphosphat
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
(Boc) ₂ O	Di- <i>tert</i> -butyl-dicarbonat
Bu	Butyl
ber.	berechnet
CD	Circulardichroismus
CoA	Coenzym A
COSY	correlation spectroscopy
D-Zellen	Nur mit DMSO behandelte Kulturen von <i>M. furfur</i>
DAHP	3-Desoxy-D-arabino-heptulosonat-7-phosphat
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7en
DC	Dünschichtchromatogramm
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
DDQ	2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon
DEPT	distortionless enhancement by polarisation transfer
CI	Chemische Ionisation
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMFDMA	<i>N,N</i> -Dimethylformamid-dimethylacetal
DMSO	Dimethylsulfoxid
Δ	Erhitzen
EA	Elementaranalyse
EI	Elektronenstoßionisation
EPSP	5-Enolpyruvyl-shikimat-3-phosphat
ESI	Elektronensprayionisation
Et	Ethyl
Et ₂ O	Diethylether
EtOH	Ethanol

eq	Äquivalent(e)
FAB	fast atom bombardment
GC/MS	Gaschromatographie/Massenspektroskopie
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
h	Stunde(n)
HMBC	heteronuclear multiple bond connectivity
HMDS	Hexamethyldisilazan
HMQC	heteronuclear multiple quantum coherence
HSQC	heteronuclear single quantum coherence
HOAc	Essigsäure
HPLC	high performance liquid chromatography
HR	high resolution
IGP	3'-Indolyglycerin-3-phosphat
IR	Infrarotspektrum
i. Vak.	im Vakuum
konz.	konzentriert
Lit.	Literatur
Lsgm.	Lösungsmittel
<i>M.</i>	<i>Malassezia</i>
M ⁺	Molekülion
<i>m/z</i>	Masse-Ladungs-Verhältnis
Me	Methyl
MeOH	Methanol
MG	Molekulargewicht
MS	Massenspektrum
min	Minute(n)
N	normal
NAD ⁺ /NADH	Nicotinamidadenindinucleotid (oxidierte/reduzierte Form)
NADP ⁺ /NADPH	Nicotinamidadenindinucleotidphosphat (oxidierte/reduzierte Form)
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid
NMR	nuclear magnetic resonance
n.b.	nicht bestimmt
NOE	nuclear Overhauser enhancement
NOESY	nuclear Overhauser effect spectroscopy
P-Zellen	Mit DMSO und Pityriacitrin behandelte Kulturen von <i>M. furfur</i>

PCC	Pyridinium-chlorochromat
Pd/C	Palladium auf Kohle
Ph	Phenyl
Pr	Propyl
proz.	prozentig
quant.	quantitativ
RP	reverse phase
RT	Raumtemperatur
R _f	relative Wanderungsgeschwindigkeit
Schmp.	Schmelzpunkt
<i>t</i>	tert
TBTU	<i>N</i> -[(1 <i>H</i> -Benzotriazol-1-yl)(dimethylamino)methylen]- <i>N</i> -methylmethanaminium-tetrafluoroborat- <i>N</i> -oxid
TFA	Trifluoressigsäure
TFAA	Trifluoressigsäureanhydrid
THF	Tetrahydrofuran
Tos	<i>para</i> -Tosyl
TPP	Thiaminpyrophosphat
UV	Ultraviolett
vis	visible

Literaturverzeichnis

- [1] R. Willan, *Scaly diseases of the skin*, London, **1801**, 192–196.
- [2] F. M. Keddie, *The diagnosis and treatment of fungal infections*, C. C. Thomas, Hrsg.: H. M. Robinson jr., Springfield, **1974**, 169–184.
- [3] T. Batemann, *Abbildungen der Hautkrankheiten, darstellend die charakteristischen Erscheinungen ihrer Hauptgattungen und Arten nach Willans Classification*, Bd. 1. Auflage, Verlag des Großh. Sächs. priv. Landes-Industrie-Comptoirs, Weimar, **1829**.
- [4] C. F. Eichstedt, *Froriep's Neue Notizen aus dem Gebiete der Natur- und Heilkunde* **1846**, 853, 270–271.
- [5] E. Ingham, A. C. Cunningham, *J. Med. Vet. Mycol.* **1993**, 31, 265–288.
- [6] T. Sluyter, *Inaugural-Dissertation*, Berlin **1847**.
- [7] C. Robin, *Histoire naturelle des vegetaux parasites*, JB Baillière, Paris, **1853**.
- [8] E. H. Baillon, *Traité de botanique médicale cryptogamique suivi du tableau*, Faculté de Médecine de Paris, Paris, **1889**, 234.
- [9] L. Malassez, *Arch. Physiol. II* **1874**, 1, 203–212.
- [10] R. Sabouraud, *Maladies du cuir chevelu; II Les maladies desquamatives*, Paris, Masson, **1904**.
- [11] S. Rivolta, *F. DiGiulio Speiranai (Ed.) Dei parassiti vegetali*, 1st ed., Figli, Torino, Italy, **1873**, 469–471.
- [12] P. G. Unna, *Mh. Prakt. Derm.* **1894**, 18, 257–261.
- [13] A. Castellani, A. Chalmers, *Manual of tropical medicine*, 2nd ed., Baillière Tindall & Cox, London, **1913**.
- [14] J. Bizzozero, *Virchow's Arch. Path. Anat.* **1884**, 98, 441–459.
- [15] W. C. Slooff, *The Yeasts - A taxonomic Study*, Hrsg.: J. Lodder, 2nd ed., North-Holland Publishing Company, Amsterdam, **1970**, 1167–1186.
- [16] M. Ota, P. T. Huang, *Ann. Parasit. Hum. Com.* **1933**, 11, 49–58.
- [17] R. W. Benham, *J. Invest. Derm.* **1939**, 2, 187–203.
- [18] M. A. Gordon, *Mycologia* **1951**, 43, 524–535.
- [19] A. Fox, *Report of the Laboratory of comparative pathology of the zoological society of Philadelphia*, **1925**, 36–44.
- [20] M. Dorn, K. Roehnert, *J. Invest. Derm.* **1977**, 69, 224–248.

- [21] M. Nazzaro-Porro, S. Passi, F. Caprilli, R. Mercantini, *J. Invest. Derm.* **1977**, *69*, 531–534.
- [22] E. Guého, S. A. Meyer, *Antonie van Leeuwenhoek* **1989**, *55*, 245–251.
- [23] P. F. Cannon, *Microbiological Sciences* **1986**, *3*, 285–287.
- [24] R. B. Simmons, E. Guého, *Mycol. Res.* **1990**, *94*, 1146–1149.
- [25] E. Guého, G. Midgley, J. Guillot, *Antonie van Leeuwenhoek* **1996**, *69*, 337–355.
- [26] J. Guillot, E. Guého, *Antonie van Leeuwenhoek* **1995**, *67*, 297–314.
- [27] K. J. Kwong-Chung, J. E. Bennett, *Medical Mycology*, Lea + Febiger, Philadelphia, London, **1992**, 170–182.
- [28] N. J. van Abbe, *J. Soc. Cosm. Chemists* **1964**, *15*, 609–630.
- [29] J. N. Labows, K. J. McGinley, J. J. Leyden, *Appl. Environm. Microbiol.* **1975**, *38*, 412–415.
- [30] R. B. Simmons, D. G. Ahearn, *Mycologia* **1987**, *79*, 38–43.
- [31] D. Yarrow, D. G. Ahearn, *The yeasts: A taxonomic study*, 3rd ed., North Holland Publishing Company, Amsterdam, **1984**, 882–885.
- [32] H. Mittag, *Mycoses* **1995**, *38*, 13–21.
- [33] H. Mittag, *Mycoses* **1994**, *37*, 393–399.
- [34] E. Thompson, J. R. Colvin, *Can. J. Microbiol.* **1970**, *16*, 263–265.
- [35] J. Brotherton, *J. Gen. Microbiol.* **1967**, *49*, 393–400.
- [36] M. J. Marples, *The Ecology of the Human Skin*, C. C. Thomas, Springfield, **1965**, 408–422.
- [37] W. C. Noble, G. Midgley, *Sabouraudia* **1978**, *16*, 229–232.
- [38] K. J. Mc Ginley, L. J. Leyden, R. R. Marples, A. M. Kligman, *J. Invest. Derm.* **1975**, *64*, 401–405.
- [39] A. B. Ackermann, A. M. Kligman, *J. Soc. Cosm. Chemists* **1969**, *20*, 81–101.
- [40] W. C. Noble, *Microbiology of Human Skin*, Lloyd-Duke, London, **1981**.
- [41] F. A. Whitlock, *Brit. Med. J.* **1953**, *1*, 484–487.
- [42] R. J. Hay, S. O. B. Roberts, D. W. R. Mackenzie, *Textbook of Dermatologie*, 5th ed., Blackwell Scientific Publications, Oxford, **1992**, 1176–1178.
- [43] B. Gudden, *Arch. Physiol. Heilk.* **1853**, *12*, 496–505.
- [44] L. Balus, D. Grigoriu, *Pityriasis versicolor*, Cilag GmbH, Alsbach, **1982**.
- [45] D. Borelli, P. H. Jacobs, L. Nall, *J. Am. Acad. Dermatol.* **1991**, *25*, 300–305.
- [46] M. J. Pontasch, M. E. Kyanko, R. T. Brodell, *Cutis* **1989**, *43*, 81–84.
- [47] L. Bélec, J. Testa, P. Bouree, *J. Med. Vet. Mycol.* **1991**, *29*, 323–329.
- [48] L. Terragni, A. Lasagni, A. Oriani, *Mycoses* **1991**, *34*, 345–347.

- [49] H. Blumenthal, *Arch. Derm.* **1971**, *103*, 461–462.
- [50] H. Götz, *Die Pilzkrankheiten der Haut durch Dermatophyten. Handbuch für Haut- und Geschlechtskrankheiten*, Hrsg.: A. Marchionini, H. Götz, Bd. IV/3, Springer Verlag, Heidelberg, **1962**, 352–360.
- [51] G. N. Chetty, A. Kamalam, A. S. Thambiah, *Mykosen* **1979**, *22*, 234–246.
- [52] H. El-Hefnawi, Z. El-Gothamy, M. Refai, *Mykosen* **1971**, *14*, 483–490.
- [53] V. Silva, G. A. Moreno, L. Zaror, E. de Oliviera, O. Fischman, *J. Med. Vet. Mycol.* **1997**, *35*, 73–74.
- [54] J. O. Lopes, S. H. Alves, J. P. Benevenga, C. S. Encarnacao, *Mycopathologia* **1994**, *125*, 149–152.
- [55] R. Michalowski, H. Rodziewicz, *Brit. J. Derm.* **1965**, *77*, 388–390.
- [56] R. McAleer, *Aust. J. Derm.* **1980**, *21*, 42–46.
- [57] M. Stefanovic, M. Medicijan, *Castellania* **1976**, *4*, 29–31.
- [58] E. M. A. Razack, *Sabouraudia* **1977**, *15*, 305–311.
- [59] S. O. B. Roberts, *Br. J. Derm.* **1969**, *81*, 315–326.
- [60] F. Lingens, *Angew. Chem.* **1968**, *80*, 384–394.
- [61] B. Ganem, *Tetrahedron* **1978**, *34*, 3353–3383.
- [62] J. F. Eykmann, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1891**, *24*, 1278–1303.
- [63] P. Karrer, K. P. Link, *Helv. Chim. Acta* **1927**, *10*, 794–799.
- [64] K. Freudenberg, H. Meisenheimer, J. T. Lane, E. Plankenhorn, *Liebigs Ann. Chem.* **1940**, *543*, 162–171.
- [65] H. O. L. Fischer, G. Dangschat, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1932**, *65*, 1009–1031.
- [66] H. O. L. Fischer, G. Dangschat, *Helv. Chim. Acta* **1934**, *17*, 1196–1207.
- [67] H. O. L. Fischer, G. Dangschat, *Helv. Chim. Acta* **1935**, *18*, 1204–1213.
- [68] H. O. L. Fischer, G. Dangschat, *Helv. Chim. Acta* **1937**, *20*, 705–716.
- [69] P. R. Srinivasen, M. Katagiri, D. B. Sprinson, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 4943–4944.
- [70] K. L. Bartlett, M. A. McLaren, M. A. Marx, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 2082–2085.
- [71] M. J. Turner, B. W. Smith, E. Haslam, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1975**, 52–55.
- [72] H. Yaniv, C. Gilvarg, *J. Biol. Chem.* **1955**, *213*, 787–795.
- [73] M. J. Whipp, A. J. Pittard, *J. Bacteriol.* **1995**, *177*, 1627–1629.
- [74] P. R. Srinivasen, A. Rivera Jr, *Biochemistry* **1963**, *2*, 1059–1062.
- [75] A. Rivera Jr, P. R. Srinivasen, *Biochemistry* **1963**, *2*, 1063–1069.

- [76] H. Morell, M. J. Clark, P. F. Knowles, D. B. Sprinson, *J. Biol. Chem.* **1967**, *242*, 82–90.
- [77] I. P. Crawford, *Annu. Rev. Microbiol.* **1989**, *43*, 567–600.
- [78] P. R. Srinivasen, *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 1772–1773.
- [79] J. Wegman, J. A. DeMoss, *J. Biol. Chem.* **1965**, *240*, 3781–3788.
- [80] F. Lingens, H. J. Burkhardt, H. Hellmann, F. Kaudewitz, *Z. Naturforsch.* **1957**, *12b*, 493–497.
- [81] U. Hommel, M. Eberhard, K. Kirschner, *Biochemistry* **1995**, *34*, 5429–5439.
- [82] C. Yanofsky, *Science* **1955**, *121*, 138–139.
- [83] E. W. Miles, *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* **1991**, *64*, 93–172.
- [84] H. B. Allen, C. R. Charles, B. L. Johnson, *Arch. Derm.* **1972**, *112*, 1110–1112.
- [85] W. I. Dotz, *J. Med. Acad. Derm.* **1985**, *12*, 37–44.
- [86] A. B. Ackermann, *Histologic diagnosis of inflammatory skin disease*, Bd. 2nd ed., Williams and Wilkins, Baltimore, **1997**, 757–758.
- [87] L. Wertheim, *Derm. Zeitschr.* **1928**, *38*, 343–354.
- [88] D. B. Jelliffe, F. W. Jacobsen, *J. Trop. Med. Hyg.* **1954**, *57*, 290–293.
- [89] A. S. Breathnach, M. Nazzaro-Porro, B. Martin, *Giorn. Ital. Derm.* **1975**, *110*, 457–469.
- [90] M. Oguchi, *Acta Derm. (Kyoto)* **1982**, *77*, 187–192.
- [91] A. E. Ruete, *Derm. Wochenschr.* **1933**, *96*, 333–336.
- [92] Z. El-Gothamy, A. Abdel-Fattah, *Int. J. Derm.* **1975**, *14*, 510–515.
- [93] E. G. Jung, E. Bohnert, *Derm. Res.* **1976**, *256*, 333–334.
- [94] M. Nazzaro-Porro, S. Passi, *J. Invest. Derm.* **1978**, *71*, 205–208.
- [95] E. J. Robins, A. S. Breathnach, D. Bennet, M. Picardo, S. Passi, M. Nazzaro-Porro, *Br. J. Derm.* **1985**, *113*, 687–697.
- [96] A. S. Breathnach, M. Nazzaro-Porro, S. Passi, *Br. J. Derm.* **1984**, *111*, 115–120.
- [97] E. Guého, T. Boekhout, H. R. Ashbee, J. Guillot, A. van Belkum, J. Faergemann, *Medical Mycology* **1998**, *36*, 220–229.
- [98] P. G. Sohnle, C. Collins-Lech, *J. Clin. Invest.* **1978**, *62*, 45–53.
- [99] Y. C. Wu, K. T. Chen, *J. Derm.* **1985**, *12*, 161–166.
- [100] P. Mayser, A. Imkampe, M. Winkeler, C. Papavassilis, *Arch. Dermatol. Res.* **1998**, *290*, 277–282.
- [101] P. Mayser, G. Wille, A. Imkampe, W. Thoma, N. Arnold, T. Monsees, *Mycoses* **1998**, *41*, 265–271.

- [102] G. Wille, P. Mayser, W. Thoma, T. Monsees, H.-J. Schmitz, D. Schrenk, K. Zeitler, W. Steglich, *Biorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 955–960.
- [103] G. Wille, *Dissertation*, Universität München **2000**.
- [104] W. Steglich, B. Steffan, L. Kopanski, G. Eckhardt, *Angew. Chem.* **1980**, *92*, 463–464; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1980**, *19*, 459–460.
- [105] J. T. Link, S. Raghavan, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 552–553.
- [106] A. Terpin, *Dissertation*, Universität München **1997**.
- [107] M. M. Faul, K. A. Sullivan, L. L. Winneroski, *Synthesis* **1995**, *12*, 1511–1516.
- [108] P. D. Davis, C. H. Hill, G. Lawton, J. S. Nixon, S. E. Wilkinson, S. A. Hurst, E. Keech, S. E. Turner, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 177–184.
- [109] M. Brenner, H. Rexhausen, B. Steffan, W. Steglich, *Tetrahedron* **1988**, *44*, 2887–2892.
- [110] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 4. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1991**.
- [111] G. Kollenz, C. O. Kappe, H. Abd el Nabey, *Heterocycles* **1991**, *32* (4), 669–673.
- [112] R. W. Saalfrank, T. Lutz, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 1064–1066.
- [113] T. Anthonsen, I. Falkenberg, M. Laake, A. Midelfart, T. Mortensen, *Acta Chem. Scand.* **1971**, *25*, 1929–1930.
- [114] M. Noble, D. Noble, R. A. Fletton, *J. Antibiot.* **1978**, *31*, 15–16.
- [115] A. B. Smith, S. J. Branca, N. N. Pilla, M. A. Guaciaro, *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 1855–1869.
- [116] B. Sontag, *Dissertation*, Universität München **1999**.
- [117] K. T. De Silva, D. King, G. N. Smith, *Chem. Commun.* **1971**, 908–911.
- [118] N. Aimi, H. Seki, S. Sakai, *Chem. Pharm. Bull.* **1992**, *40* (9), 2588–2590.
- [119] R. Aquino, L. Garofalo, N. de Tommasi, O. L. de Ugaz, C. Pizza, *Phytochemistry* **1994**, *37*, 1471–1475.
- [120] A. Heesing, R. Müller-Matthesius, H. Rose, *Liebigs Ann. Chem.* **1970**, *735*, 72–76.
- [121] T. Yamazaki, T. Oohama, T. Doiuchi, T. Takizawa, *Chem. Pharm. Bull.* **1972**, *20*(2), 238–245.
- [122] F. R. Japp, J. Knox, *J. Chem. Soc.* **1905**, *87*, 673–680.
- [123] C. F. H. Allen, E. W. Spanagel, *J. Am. Chem. Soc.* **1932**, *54*, 4338–4347.
- [124] J. W.-T. Wu, E. R. Thornton, *J. Org. Chem.* **1975**, *40*, 1041–1046.
- [125] N. Obata, T. Takizawa, *Tetrahedron Lett.* **1969**, *39*, 3403–3406.

- [126] K. Shiomi, H. Yang, Q. Xu, N. Arai, M. Namiki, M. Hayashi, J. Inokoshi, H. Takeshima, R. Masuma, K. Komiyama, S. Omura, *J. Antibiot.* **1995**, *48*, 1413–1418.
- [127] K. Isobe, C. Mohri, H. Sanko, K. Mohri, H. Enomoto, T. Sano, Y. Tsuda, *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, *37(12)*, 3236–3238.
- [128] N. Kiriya, K. Nitta, Y. Sakaguchi, Y. Taguchi, Y. Yamamoto, *Chem. Pharm. Bull.* **1977**, *25*, 2593–2601.
- [129] K. Nitta, N. Fujita, T. Yoshimura, K. Arai, Y. Yamamoto, *Chem. Pharm. Bull.* **1983**, *31*, 1528–1533.
- [130] K. Arai, T. Yoshimura, Y. Itatani, Y. Yamamoto, *Chem. Pharm. Bull.* **1983**, *31*, 925–933.
- [131] H. N. Song, J. S. Son, M. R. Seong, J. N. Kim, *Synth. Comm.* **1998**, *28(4)*, 687–692.
- [132] C. Marais, J. A. Steenkamp, D. Ferreira, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 5763–5764.
- [133] H. N. C. Wong, Z. L. Xu, H. M. Chang, C. M. Lee, *Synthesis* **1992**, *8*, 793–797.
- [134] M. Oba, R. Ueno, M. Fukuoka, M. Kainosho, K. Nishiyama, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1995**, 1603–1609.
- [135] H. R. Ashbee, E. G. V. Evans, *Clinical Microbiology Reviews* **2002**, *15*, 21–57.
- [136] S. Kesavan, C. E. Walters, K. T. Holland, W. J. Cunliffe, E. Ingham, *J. Invest. Derm.* **1996**, *107*, 447A.
- [137] C. E. Walters, E. Ingham, E. A. Eady, H. H. Cove, J. N. Kearney, W. J. Cunliffe, *Infect Immun.* **1995**, *63*, 1223–1228.
- [138] C. E. Walters, H. R. Ashbee, E. A. Eady, *J. Invest. Derm.* **1995**, *105*, 492A.
- [139] H. Akamatsu, J. Komura, Y. Asada, Y. Miyachi, Y. Niwa, *Arch. Derm. Res.* **1991**, *283*, 162–166.
- [140] S. Kesavan, K. T. Holland, W. J. Cunliffe, E. Ingham, *J. Invest. Derm.* **1997**, *108*, 389A.
- [141] A. E. Stuart, G. Biozzi, C. Stiffel, B. N. Halpern, D. Mouton, *Br. J. Exp. Pathol.* **1960**, *41*, 599–604.
- [142] M. Gill, W. Steglich, *Progr. Chem. Org. Nat. Prod.* **1987**, *51*, 1–317.
- [143] W. Steglich, *Pure & Appl. Chem.* **1989**, *61*, 281–288.
- [144] E. R. Pereira, S. Fabre, M. Sancelme, M. Prudhomme, *J. Antibiot.* **1995**, *48*, 863–868.
- [145] M. Sancelme, S. Fabre, M. Prudhomme, *J. Antibiot.* **1994**, *47*, 793–798.

- [146] P. Thavasu, D. Propper, A. McDonald, N. Dobbs, T. Ganesan, D. Talbot, J. Braybrook, F. Caponigro, C. Hutchinson, C. Twelves, A. Man, D. Fabbro, A. Harris, F. Balkwill, *Cancer Res.* **1999**, *15*, 3980–3984.
- [147] S. M. Barbazuk, M. R. Gold, *Immunol. Lett.* **1999**, *69*, 259–267.
- [148] N. Coudronniere, M. Villalba, N. Englund, A. Altman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 3394–3399.
- [149] O. Acuto, D. Cantrell, *Annu. Rev. Immunol.* **2000**, *18*, 165–184.
- [150] J. Sterzl, J. Milerova, J. Votruba, I. Sterzl, *Int. J. Immunopharmacol.* **1998**, *20*, 583–587.
- [151] S. E. Wilkinson, J. S. Nixon, *C. Cell. Mol. Life Sci.* **1998**, *54*, 1122–1144.
- [152] E. J. Chien, C. H. Chien, J. J. Chen, S. W. Wang, D. J. Hsieh, *J. Cell. Biochem.* **2000**, *76*, 404–410.
- [153] U. Wendling, O. Aktas, K. Schmierer, R. Zschenderlein, F. Zipp, *J. Neuroimmunol.* **2000**, *103*, 69–75.
- [154] W. Steglich, B. Irlinger, P. Mayser, H.-J. Krämer, *Indolderivate mit inhibitorischer Wirkung auf Proteinkinasen*, Patentanmeldung, noch nicht offengelegt, **2002**.
- [155] A. Dorn, *Dissertation*, Universität München **1993**.
- [156] R. Fröde, C. Hinze, I. Josten, B. Schmidt, W. Steglich, B. Steffan, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 1689–1690.
- [157] T. Hashimoto, A. Yasuda, K. Akazawa, S. Takaoka, M. Tori, Y. Asakawa, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 2559–2560.
- [158] C. Peschko, *Dissertation*, Universität München **2001**.
- [159] Gattermann-Wieland, *Die Praxis des Organischen Chemikers*, 43. Aufl., Walter de Gruyter, Berlin, New York, **1982**.
- [160] Sakami, Evans, Gurin, *J. Am. Chem. Soc.* **1947**, *69*, 1110–1112.
- [161] S. A. Ahmed, F. E. Scott, D. J. Stenzel, T. J. Simpson, R. N. Moore, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1989**, 807–816.
- [162] H. Hellmann, D. Dieterich, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1960**, 73–85.
- [163] G. Tang, S. Wang, S. Wu, G. Jiang, *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **1998**, *41*, 139–142.
- [164] J. M. Brown, P. A. Chaloner, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1982**, 711–720.
- [165] J. Elks, D. F. Elliott, B. A. Hems, *J. Chem. Soc.* **1944**, 629–632.
- [166] M. B. Rubin, R. Gleiter, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1121–1164.
- [167] Y. Miki, H. Hachiken, Y. Sugimoto, N. Yanase, *Heterocycles* **1997**, *45*, 1759–1766.
- [168] A. Roedig, L. Hörnig, *Chem. Ber.* **1955**, *88*, 2003–2011.

- [169] D. Cai, W. C. Still, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 4643–4644.
- [170] H. H. Wasserman, J. E. Pickett, *Tetrahedron* **1985**, *41*, 2155–2162.
- [171] R. Gleiter, P. Schang, *Angew. Chem.* **1980**, *92*, 768–769.
- [172] M. Kasai, M. Oda, Y. Kitahara, *Chem. Lett.* **1978**, 217–218.
- [173] F. E. Ziegler, A. K. Petersen, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 2707–2714.
- [174] A. Roedig, H. Ziegler, *Chem. Ber.* **1961**, *94*, 1800–1813.
- [175] H. Bredereck, F. Effenberger, G. Simchen, *Chem. Ber.* **1963**, *96*, 1350–1355.
- [176] H. H. Wasserman, L. I. Jeffrey, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 3238–3240.
- [177] H. H. Wasserman, *Aldrichimica Acta* **1987**, *20*, 63.
- [178] H. H. Wasserman, C. B. Vu, *Pure Appl. Chem.* **1990**, *62*, 1409.
- [179] D. B. Hauze, M. M. Joullié, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 4239–4246.
- [180] G. Dolenz, G. Kollenz, *Chem. Ber.* **1982**, *115*, 593–600.
- [181] I. Saito, S. Matsugo, T. Matsuura, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 7332–7338.
- [182] M. Ohkubo, T. Nishimura, H. Jona, T. Honma, H. Morishima, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 8099–8112.
- [183] W. Harris, C. H. Hill, E. Keech, P. Malsher, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 8361–8364.
- [184] M. G. Saulnier, D. B. Frennesson, M. S. Desphande, D. M. Vyas, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 7841–7844.
- [185] M. M. Faul, L. L. Winneroski, C. A. Krumrich, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2465–2470.
- [186] T. Nogrady, T. W. Doyle, L. Morris, *J. Med. Chem.* **1965**, 656–659.
- [187] T. Nagao, K. Adachi, F. Nishida, M. Nishishima, K. Mochida, Jpn. Kokai Tokkyo Koho CODEN: JKXXAF JP 11269175 A2 19991005 Heisei **1999**.
- [188] P. Mayser, B. Pape, *Antonie van Leeuwenhoek* **1998**, *73*, 315–319.
- [189] P. Mayser, U. Schäfer, H.-J. Krämer, B. Irlinger, W. Steglich, *Arch. Derm. Res.* **2002**, im Druck.
- [190] *Deutscher Arzneimittel Codex*, Deutscher Apothekerverlag, Stuttgart, **2000**.
- [191] J. R. Wikler, N. Janssen, D. P. Bruynzeel, C. Nieboer, *Acta Derm. Venereol (Stockholm)* **1990**, *70*, 69–71.
- [192] N. Liappis, E. Kochbeck, G. Eckhardt, H. Hahne, K. Kessler, P. Bantzer, *Arch. Derm. Res.* **1980**, *269*, 311–323.
- [193] H. Nakamura, J.-I. Kobayashi, Y. Hirata, *Tetrahedron Lett.* **1981**, 1413–1414.
- [194] P. T. Grant, P. A. Plack, R. H. Thomson, *Tetrahedron Lett.* **1980**, 4043–4044.
- [195] S. Takano, D. Uemura, Y. Hirata, *Tetrahedron Lett.* **1978**, 4909–4912.
- [196] S. Ito, Y. Hirata, *Tetrahedron Lett.* **1977**, 2429–2430.

- [197] P. J. Proteau, W. H. Gerwick, F. Garcia-Pichel, R. Castenholz, *Experientia* **1993**, *49*, 825–829.
- [198] D. Karentz, *Mar. Chem. Ecol.* **2001**, 481–520.
- [199] C. S. Cockell, J. Knowland, *Biol. Rev.* **1999**, *74*, 311–345.
- [200] A. Ploutno, S. Carmeli, *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 544–545.
- [201] F. Bracher, J. Daab, *Synth. Comm.* **1995**, *25 (10)*, 1557–1562.
- [202] T. Caronna, G. Fronza, F. Minisci, O. Porta, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1972**, 2035–2038.
- [203] F. Minisci, *Synthesis* **1973**, 1–24.
- [204] F. Minisci, E. Vismara, F. Fontana, *Heterocycles* **1989**, *28*, 489–519.
- [205] F. Bracher, D. Hildebrand, *Liebigs Ann. Chem.* **1992**, 1315–1319.
- [206] F. Bracher, D. Hildebrand, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 12329–12336.
- [207] T. Apelqvist, D. Wensbo, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1471–1472.
- [208] F. Mohamedi, N. G. J. Richards, W. C. Guida, R. Liskamp, M. Lipton, C. Canfield, G. Chang, T. Hendrickson, W. C. Still, *J. Comput. Chem.* **1990**, *11*, 440–467.
- [209] T.-S. Kam, K.-M. Sim, T.-M. Lim, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 2733–2736.
- [210] R. Nagata, Y. Endo, K. Shudo, *Chem. Pharm. Bull.* **1993**, *41(2)*, 369–372.
- [211] T. Kaoudi, B. Quiclet-Sire, S. Seguin, S. Z. Zard, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 747–749.
- [212] C. R. Charles, D. J. Sire, B. L. Johnson, J. G. Beidler, *Int. J. Derm.* **1973**, *12*, 48–58.
- [213] Y. Oikawa, O. Yonemitsu, *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 1118–1124.
- [214] H. Ishibashi, S. Harada, M. Okada, M. Somekawa, M. Kido, M. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, *37*, 939–943.
- [215] J. Toda, M. Sakagami, T. Sano, *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, *47(9)*, 1269–1275.
- [216] B. E. Maryanoff, *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 3000–3002.
- [217] J. M. Michowski, *Tetrahedron Lett.* **1966**, 1773–1778.
- [218] M. Teeter, E. W. Bell, *Org. Synthesis* **1952**, *32*, 20–22.
- [219] C. P. C. Bradshaw, A. Nechvatal, *Proc. Chem. Soc.* **1963**, 213.
- [220] J. M. Schkeryantz, J. C. G. Woo, P. Siliphaivanh, K. M. Depew, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 11964–11975.
- [221] M. E. Kuehne, F. Xu, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7950–7960.
- [222] J. J. Gajewski, J. Jurayi, D. R. Kimbrough, M. E. Gande, B. Ganem, B. K. Carpenter, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 1170–1186.

- [223] R. J. Gillespie, J. Murray-Rust, P. Murray-Rust, A. E. A. Porter, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1978**, 83–86.
- [224] R. J. Gillespie, A. E. A. Porter, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1979**, 50–51.
- [225] G. Asche, F. Esser, H. Kunz,, (DE 19703801A1), **1998**.
- [226] M. Lourak, R. Vanderesse, A. Vicherat, J. Jamal-Eddine, M. Marraud, *Tetrahedron Lett.* **2000**, 8773–8776.
- [227] W. Zhuang, N. Gathergood, R. G. Hazell, K. A. Jorgensen, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 1009–1013.
- [228] H. Fujishima, H. Takeshita, M. Toyota, M. Ihara, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2394–2399.
- [229] A. A. Stierle, D. B. Stierle, T. Bugni, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 5479–5484.
- [230] A. S. Demir, Z. Gercek, N. Duygu, A. C. Igdır, O. Reis, *Can. J. Chem.* **1999**, *77*, 1336–1339.
- [231] Y. Ishii, C. Gao, W.-X. Xu, M. Iwasaki, M. Hidai, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 6818–6825.
- [232] S.-W. Zhang, T. Sugioka, S. Takahashi, *J. Mol. Cat. A: Chemical* **1999**, *143*, 211–228.
- [233] T. Sasaki, I. Otsuka, *Biochem. Z.* **1921**, *121*, 167–170.
- [234] F. Ehrlich, K. A. Jacobsen, *Chem. Ber.* **1911**, *44*, 888–897.
- [235] B. Müller, *Dissertation*, Universität Hamburg **1999**.
- [236] C.-S. Kwon, K. R. Grose, J. Riby, Y.-H. Chen, L. F. Bjeldanes, *J. Agric. Food Chem.* **1994**, *42*, 2536–2540.
- [237] J. Tholander, J. Bergman, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 6243–6260.
- [238] K. M. Biswas, H. Mallik, A. Saha, S. Halder, A. T. McPhail, *Monatsh. Chem.* **1999**, *130*, 1227–1239.
- [239] C. Ito, H. Ohta, H. T.-W. Tan, H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* **1996**, *44(12)*, 2231–2235.
- [240] T.-S. Wu, S.-C. Huang, J.-S. Lai, C.-M. Teng, F.-N. Ko, C.-S. Kuoh, *Phytochemistry* **1993**, *32*, 449–451.
- [241] T.-S. Wu, S.-C. Huang, P.-L. Wu, C.-S. Kuoh, *Phytochemistry* **1999**, *52*, 523–527.
- [242] J. Bergman, G. Lindgren, A. Gogoll, *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1992**, *101*, 643–660.
- [243] G. Seitz, H. Braun, *Arch. Pharm.* **1976**, *309*, 34–38.

Lebenslauf

Name: Bernhard Irlinger
Geburtsdatum: 11. Dezember 1971
Geburtsort: Berchtesgaden
Familienstand: verheiratet
Eltern: Jakob Irlinger und Therese Irlinger, geb. Graßl

Schulausbildung:

09/1978–02/1980 Grundschule Planegg
02/1980–07/1982 Grundschule an der Kirchenstraße Germering
09/1982–07/1991 Carl-Spitzweg-Gymnasium
10. Juli 1991 Abitur

Wehrdienst:

10/1991–09/1992 Grundwehrdienst

Studium:

11/1992–05/1998 Studium der Chemie an der Ludwig-Maximilians-Universität München
11. Mai 1995 Diplomvorprüfung
23. Juli 1997 Diplomhauptprüfung
10/1997–03/1998 Diplomarbeit am Institut für Organische Chemie der LMU München im Arbeitskreis von Prof. Dr. W. Steglich: „Versuche zur Darstellung von 3,5,6-Triaryl-5H-cyclopenta[b]furan-2,4-dionen und aza-substituierten Maleinimiden“

Dissertation:

05/1998–05/2002 Experimentelle Arbeiten zur Dissertation am Institut für Organische Chemie der LMU München im Arbeitskreis von Prof. Dr. W. Steglich: „Strukturaufklärung, Biosynthese und Synthese von Sekundärmetaboliten aus Kulturen von *Malassezia furfur*“

Tätigkeiten:

10/1997–03/1998 Wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Organische Chemie der LMU München
05/1998–05/2002 Wissenschaftlicher Angestellter am Institut für Organische Chemie der LMU München