

# **Triterpene aus Arten der Gattung *Aglaia* (Meliaceae)**

**Inaugural-Dissertation**

**zur  
Erlangung des Doktorgrades der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

**vorgelegt von**

**Gero Eck**

**aus Schweinfurt**

**Düsseldorf 2004**

**Gedruckt mit der Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

**Referent: Prof. Dr. Peter Proksch**

**Koreferent: Juniorprofessor. Dr. Rainer Ebel**

**Tag(e) der mündlichen Prüfung: 18.1.2005**

**24.1.2005**

**26.1.2005**

**Meiner Familie**

## Erklärung

Hiermit erkläre ich ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel "Triterpene aus Arten der Gattung *Aglaia* (Meliaceae)" selbst angefertigt habe. Außer den angegebenen Quellen und Hilfsmittel wurden keine weiteren verwendet. Diese Dissertation wurde weder in gleicher noch in abgewandelter Form einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegt. Weiterhin erkläre ich, dass ich früher weder akademische Grade erworben habe, noch dies versucht habe.

Düsseldorf , den 1.2.2005

Gero Eck

## Danksagungen

Allen voran danke ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Peter Proksch ganz herzlich für die Betreuung und die Unterstützung dieser Arbeit. Herr Proksch hatte immer ein offenes Ohr, nicht nur in professionellen Belangen, sondern auch in den vielen Situationen menschlicher und persönlicher Probleme. Sehr dankbar bin ich auch für die unschätzbaren Erfahrungen, die ich während meiner Auslandsaufenthalte auf Elba und in China machen durfte, die mir Herr Proksch ermöglicht hat. Vielen Dank.

Für eine intensive Betreuung, die Geduld in endlos langen Sitzungen bei der Strukturaufklärung meiner Verbindungen sowie bei der mühsamen Korrektur meines Manuskriptes und auch für eine humorvolle Zusammenarbeit danke ich herzlich Herrn Juniorprofessor Dr. Rainer Ebel.

Frau Dr. RuAngelie Edrada-Ebel hat insbesondere bei der Substanzisolierung, aber auch bei der Strukturaufklärung durch Ihre Erfahrung geholfen. Ferner hat RuAn einen Teil der in dieser Arbeit präsentierten Tests auf biologische Aktivität durchgeführt und an der Korrektur meines Manuskriptes mitgewirkt.

Ich habe sehr von dem hervorragenden NMR-Seminar profitiert, welches RuAn und Rainer angeboten haben. Ich habe von beiden sehr viel gelernt.

Mit Herrn Prof. Dr. Bingui Wang habe ich eine schöne Zeit in unserem gemeinsamen Labor verbracht, in der ich sehr von seinen Erfahrungen, vor allem aber auch von seiner asiatischen Ruhe profitiert habe. Bingui hat meine Einstellung in vielerlei Hinsicht positiv beeinflusst und mir so manche Weisheit mit auf den Weg gegeben. Bei meinem Aufenthalt in Qingdao waren er und seine Familie hervorragende Gastgeber.

Herrn PD. Dr. Claus Paßreiter danke ich herzlich für die Zusammenarbeit während der Praktika. Er hat sich stets Zeit genommen um mich bei Problemen während meiner Arbeit zu beraten und ich habe von seiner fachliche Kompetenz sehr profitiert.

Herrn PD. Dr. Thomas Schmidt und Herr Muharrem Ak danke ich für die Durchführung des „Molecular Modellings“ und für die Hilfe bei der Strukturaufklärung meiner Lignane. Herr Schmidt hat außerdem wertvolle Beiträge zu meiner Arbeit mit der Gaschromatographie geleistet und stand jederzeit für Fragen professioneller Natur zur Verfügung.

Herr Prof. Dr. Wenhan Lin von den „National Research Laboratories of Natural and Biomimetic drugs“ danke ich herzlich für seine Hilfe bei der Strukturaufklärung einiger meiner Verbindungen. Mit dem typisch chinesischen Fleiß ist es Ihm gelungen einige „harte Nüsse zu knacken“. Ganz besonders danke ich Herrn Lin für die interessante und schöne Zeit in Peking. Ich bin dort mit einer beispiellosen Wärme und Herzlichkeit empfangen worden. In diesem Sinne danke ich auch allen seinen Mitarbeitern.

Herrn Dr. Chaidir, in dessen Fußstapfen ich mit der Bearbeitung der Gattung *Aglaia* getreten bin, danke ich für seine Unterstützung in der sensiblen und manchmal hilflosen Anfangsphase meiner Arbeit.

Für die herorragenden NMR- und MS-Messungen sowie die Unterstützung bei der strukturellen Aufklärung vieler meiner Verbindungen danke ich Herrn Dr. Victor Wray von der Gesellschaft für Biotechnologischen Forschung (GBF) in Braunschweig. Frau Christel Karkoschke danke ich für die Bearbeitung und den Versand meiner Spektren.

Der größte Teil der zahlreichen NMR-spektroskopischen Messungen wurden am Institut für Anorganische Chemie und Molekulare Chemie an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf unter Dr.

Peters durchgeführt. Weitere NMR-Messungen wurden von Prof. Dr. Deng von der „Normal University“ in Peking durchgeführt.

Prof. Dr. Walter Frank und Mitarbeitern im Institut für Anorganische Chemie und Strukturchemie II der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf danke ich für die Durchführung der Röntgenstruktur-Analyse.

Herrn Prof. Dr. Müller und Mitarbeitern vom Institut für Physiologische Chemie (Abteilung für Angewandte Molekularbiologie) der Universität Mainz danke ich für die Durchführung der Zytotoxizitätstests.

Für die Molekülmassenbestimmungen danke ich Herrn Dr. Peter Tommes im Institut für Anorganische Chemie und Strukturchemie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf und Herrn Dr. Albrecht Berg am Hans-Knöll-Institut für Naturstoffforschung in Jena.

Die Tests auf antivirale Aktivität wurden im Institut für Molekulare und Medizinische Virologie unter Herrn Prof. Dr. med. Klaus Überla von Herrn Dr. Charles Esimone durchgeführt. Herrn Esimone danke ich auch für die Hilfe bei der Darstellung und Interpretation der Ergebnisse.

Ich danke allen meinen Kollegen und ehemaligen Kollegen für eine gute Zusammenarbeit, für das Teilen der Sorgen und Ängste, für die Hilfsbereitschaft und für die vielen schönen gemeinsamen Stunden bei diversen Freizeitaktivitäten. Ich danke vor allem Ziyad Baker, Gernot Brauers, Arnulf Diesel, Birgit Diez, Ngoc Tu Duong, Hefni Effendi, Amal Hassan, Jan Hiort, Sofia Lindgren, Suwigarn Pedpradap, Franka Teuscher, Carsten Thoms, Sebastian Stöber und Nadine Weber.

Frau Sabine Borstel danke ich herzlich für Ihren Trost und Beistand in schwierigen Situationen aber auch für das Teilen Ihrer Erfahrung im Labor.

Ich danke auch den technischen Assistenten Waltraud Schlag und Katja Friedrich, Klaus Dieter Jansen, Eva Müller und Katja Rätke für die Hilfsbereitschaft sowie die Versorgung mit Laborutensilien und Lösungsmitteln. Katrin Kohnert danke ich zudem für eine schöne Zusammenarbeit während der Praktika.

Mareike Thiel danke ich ganz herzlich für Ihre unkomplizierte bedingungslose Unterstützung bei all den formellen Hürden während meiner Arbeit.

Ich danke Herrn Dr. Bambang Nugroho. Mit seiner unschätzbaren Hilfe während meiner Diplomarbeit habe ich den Weg zur Naturstoffchemie gefunden. Bambang hat bei mir einen unvergesslichen Eindruck als hilfsbereiter Kollege und Freund und durch seinen Tod eine große Lücke hinterlassen. Ich werde Dich nie vergessen, Bambang.

Für Ihre Hilfe und Unterstützung in der oft nicht ganz einfachen Zeit danke ich auch Stefanie Pallast und ihren Eltern Elisabeth und Ulrich.

Vielen Dank an meine Freundin Alwina Immel, die immer für mich da ist und mir die Arbeit unschätzbar erleichtert hat.

Ich danke meinen Eltern, Ursula und Günter Eck, die mir auch noch in der oft harten Zeit Sicherheit gegeben und mich immer unterstützt haben. Auch meinem Bruder Rüdiger möchte ich danken, der immer Motivation, Antrieb und Freund für mich war und dessen Meinung ich nicht höher einschätzen könnte.

## **Inhaltsverzeichnis**

### **I. Erklärung**

### **II. Danksagungen**

<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Die Bedeutung von Naturstoffen</b>	<b>1</b>
<b>1.2. Die Gattung <i>Aglaia</i></b>	<b>2</b>
<b>1.3. <i>Aglaia</i>-Arten in der Volksmedizin</b>	<b>3</b>
<b>1.4. Bekannte Inhaltsstoffe aus <i>Aglaia</i>-Arten</b>	<b>4</b>
<b>1.4.1. Rocaglamide und verwandte Verbindungen aus <i>Aglaia</i>-Arten</b>	<b>5</b>
<b>1.4.2. Lignane aus <i>Aglaia</i>-Arten</b>	<b>7</b>
<b>1.4.3. Terpenoide aus <i>Aglaia</i>-Arten</b>	<b>9</b>
<b>1.4.3.1. Sesquiterpene</b>	<b>9</b>
<b>1.4.3.2. Triterpene und Steroide</b>	<b>11</b>
<b>1.4.3.2.1. Triterpene</b>	<b>11</b>
<b>1.4.3.2.2. Steroide</b>	<b>15</b>
<b>1.5. Biologische Aktivität bekannter Inhaltsstoffe</b>	<b>17</b>
<b>1.5.1. Rocaglamide</b>	<b>17</b>
<b>1.5.2. Sesquiterpene</b>	<b>18</b>
<b>1.5.3. Triterpene</b>	<b>18</b>

<b>1.6. Fragestellung</b>	<b>22</b>
<b>2. Material und Methoden</b>	<b>23</b>
<b>2.1. Material</b>	<b>23</b>
<b>2.1.1 Pflanzenmaterial</b>	<b>23</b>
<b>2.1.2. Chemikalien, Reagenzien</b>	<b>24</b>
<b>2.1.3. Geräte und Materialien</b>	<b>24</b>
<b>2.1.3.1. Dünnschichtchromatographie</b>	<b>25</b>
<b>2.1.3.2. Flüssigkeitschromatographie</b>	<b>26</b>
<b>2.1.3.3. Vakuum-Flüssigkeitschromatographie</b>	<b>26</b>
<b>2.1.3.4. HPLC-Fließmittel</b>	<b>26</b>
<b>2.1.3.5. Analytische HPLC</b>	<b>27</b>
<b>2.1.3.6. Semipräparative HPLC</b>	<b>27</b>
<b>2.1.3.7. MPLC</b>	<b>28</b>
<b>2.1.3.8. Blitz- (Flash-) Chromatographie</b>	<b>28</b>
<b>2.1.3.9. GC-MS</b>	<b>28</b>
<b>2.1.4. <i>Spodoptera littoralis</i> Kultur</b>	<b>29</b>
<b>2.1.4.1. Kultivierung der Versuchstiere</b>	<b>29</b>
<b>2.1.4.2. Artifizielles Futter</b>	<b>30</b>
<b>2.1.4.3. Artifizielle Diät für den Biotest</b>	<b>30</b>
<b>2.1.4.4. Berechnung der Überlebens- und Wachstumsraten</b>	<b>31</b>
<b>2.2. Methoden</b>	<b>32</b>
<b>2.2.1. Extraktion des Pflanzenmaterials</b>	<b>32</b>
<b>2.2.2. Naturstoffisolierung</b>	<b>32</b>

<b>2.2.2.1. Ausschütteln mit Lösungsmitteln verschiedener Polarität</b>	<b>32</b>
<b>2.2.2.2. Vakuum-Flüssigkeits-Chromatographie</b>	<b>33</b>
<b>2.2.2.3. Flüssigkeitschromatographie</b>	<b>33</b>
<b>2.2.2.4. Mitteldruck-Chromatographie (MPLC)</b>	<b>33</b>
<b>2.2.2.5. Blitz-(Flash)-Chromatographie</b>	<b>34</b>
<b>2.2.2.6. Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC)</b>	<b>34</b>
<b>2.2.2.7. Präperative Dünnschicht-Chromatographie</b>	<b>35</b>
<b>2.2.2.8. Isolierungsschemata</b>	<b>35</b>
<b>2.2.2.9. Biotestergebnis-gesteuerte Isolierung</b>	<b>40</b>
<b>2.2.3. Strukturaufklärung</b>	<b>40</b>
<b>2.2.3.1. Bestimmung der optischen Drehung <math>[\alpha]_D^{20}</math></b>	<b>40</b>
<b>2.2.3.2. Massenspektrometrie</b>	<b>41</b>
<b>2.2.3.3. NMR-Spektroskopie</b>	<b>41</b>
<b>2.2.3.4. „Molecular Modelling“</b>	<b>42</b>
<b>2.2.3.5. Kristallographie</b>	<b>42</b>
<b>2.2.4. Detektion</b>	<b>42</b>
<b>2.2.4.1. Dünnschichtchromatographische Analytik</b>	<b>42</b>
<b>2.2.4.2. Gaschromatographie-Massenspektrometrie</b>	<b>42</b>
<b>2.2.4.3. Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie</b>	<b>44</b>
<b>2.2.5. Tests auf biologische Aktivität</b>	<b>45</b>
<b>2.2.5.1. Test auf insektizide Aktivität an <i>Spodoptera littoralis</i></b>	<b>45</b>
<b>2.2.5.2. Test auf antibiotische Aktivität</b>	<b>45</b>
<b>2.2.5.3. Test auf Zytotoxizität</b>	<b>46</b>
<b>2.2.5.4. Test auf fungizide Aktivität</b>	<b>47</b>
<b>2.2.5.4.1. Autobiographischer Biotest</b>	<b>47</b>
<b>2.2.5.4.2. Agar-Diffusionstest</b>	<b>48</b>
<b>2.2.5.4.3. Bestimmung der minimalen Inhibierungskonzentration</b>	<b>48</b>
<b>2.2.5.5. Test auf antivirale versus zytotoxische Aktivität</b>	<b>49</b>
<b>2.2.5.5.1. Screening am lentiviralen HIV-1-Vektor (Vicl2dSB) und HeLa-Zellen</b>	<b>49</b>
<b>2.2.5.5.2. Test am adenoviralen Vektor (AdOW126)</b>	<b>50</b>
<b>2.2.5.5.3. Kinetische Studien am lentiviralen HIV-1-Vektor (Vicl2dSB)</b>	<b>51</b>

<b>2.2.5.5.4. Test am HIV-1-Wildtyp und der P4CCR5-Zelllinie</b>	<b>52</b>
<b>2.2.5.5.5. Test am Respiratorischen Syncytialen Virus (RSV) und Hep-2-Zellen</b>	<b>53</b>
<b>2.2.5.5.6. In vitro Test an Reverser Transcriptase (RT)</b>	<b>54</b>
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>55</b>
<b>3.1. Isolierte Verbindungen</b>	<b>55</b>
<b>3.1.1. 3,4-Secodammarane aus der Rinde von <i>Aglaia ignea</i></b>	<b>55</b>
<b>3.1.2. 3,4-Secodammarane aus der Wurzel von <i>Aglaia duppereana</i></b>	<b>84</b>
<b>3.1.3. Dammarane aus Zweigen von <i>Aglaia cucculata</i> Zweigen</b>	<b>89</b>
<b>3.1.4. Dammarane aus Blättern von <i>Aglaia duppereana</i></b>	<b>94</b>
<b>3.1.5. Cycloartane aus <i>Aglaia</i>-Arten</b>	<b>105</b>
<b>3.1.6. Tirucallane aus Zweigen von <i>Aglaia cucculata</i></b>	<b>118</b>
<b>3.1.7. Lupane aus Blättern von <i>Aglaia tsangii</i></b>	<b>126</b>
<b>3.1.8. Steroide aus Zweigen von <i>Aglaia pleuroptiris</i></b>	<b>132</b>
<b>3.1.9. Sesquiterpene aus <i>Aglaia</i>-Arten</b>	<b>137</b>
<b>3.1.10. Rocaglamide aus der Rinde von <i>Aglaia ignea</i></b>	<b>147</b>
<b>3.1.11. Lignane aus der Rinde von <i>Aglaia ignea</i></b>	<b>151</b>
<b>3.2. GCMS-Screening verschiedener <i>Aglaia</i>-Extrakte</b>	<b>163</b>
<b>3.3. Ergebnisse der Untersuchungen zur biologischen Aktivität</b>	<b>168</b>

<b>3.3.1. Test auf insektizide Aktivität</b>	<b>168</b>
<b>3.3.2. Test auf antibiotische Aktivität</b>	<b>168</b>
<b>3.3.3. Test auf Zytotoxizität</b>	<b>169</b>
<b>3.3.4. Test auf fungizide Aktivität</b>	<b>170</b>
<b>3.3.5. Test auf antivirale versus zytotoxische Aktivität</b>	<b>170</b>
<b>3.3.5.1. Screening lentiviralen HIV-1-Vektor (Vicl2dSB) und HeLa-Zellen</b>	<b>171</b>
<b>3.3.5.2. Kinetische Studien am lentiviralen HIV-1-Vektor (Vicl2dSB)</b>	<b>173</b>
<b>3.3.5.3. Test am adenoviralen Vektor (AdOW126)</b>	<b>174</b>
<b>3.3.5.4. Test am Respiratorischen Syncytialen Virus (RSV) und Hep-2-Zellen</b>	<b>175</b>
<b>3.3.5.5. Test am HIV-1-Wildtyp und der P4CCR5-Zelllinie</b>	<b>176</b>
<b>3.3.5.6. In vitro Test an Reverser Transcriptase (RT)</b>	<b>178</b>
<b>4. Diskussion</b>	<b>180</b>
<b>4.1. Vermutete Biogenetische Zusammenhänge der isolierten Triterpene</b>	<b>180</b>
<b>4.2. Massenspektrometrie der Triterpene</b>	<b>189</b>
<b>4.2.1. Screening der <i>Aglaia</i>-Extrakte</b>	<b>189</b>
<b>4.2.2. Fragmente der verschiedenen Triterpene</b>	<b>191</b>
<b>4.2.3. Potential der GCMS-Detektion</b>	<b>196</b>
<b>4.3. Biologische Aktivität</b>	<b>197</b>
<b>4.3.1. Potentielle insektizide Aktivität der isolierten Verbindungen</b>	<b>197</b>

<b>4.3.2. Zytotoxische Aktivität der isolierten Verbindungen</b>	<b>197</b>
<b>4.3.3. Antivirale Aktivität der isolierten Verbindungen</b>	<b>199</b>
4.3.3.1. Antivirale versus zytotoxische Aktivität	201
4.3.3.2. Spekulationen zum Wirkmechanismus	201
<b>4.3.4. Potentielle chemoökologische Funktion der aktiven Substanzen</b>	<b>203</b>
<b>5. Anhang</b>	<b>205</b>
<b>5.1. Kristallstrukturdaten der Dammarensäure</b>	<b>205</b>
<b>5.2. 1D-NMR-und Massen-Spektren der isolierten Naturstoffe</b>	<b>213</b>
<b>5.3. DC-Chromatographischer Überblick über die isolierten Triterpene</b>	<b>242</b>
<b>6. Zusammenfassung</b>	<b>243</b>
<b>7. Summary</b>	<b>246</b>
<b>8. Literaturverzeichnis</b>	<b>249</b>

### **III. Publikationen**

### **IV. Tabellarischer Lebenslauf**

### 1. Einleitung

#### 1.1. Die Bedeutung von Naturstoffen

In Laufe der Evolution wurden vor allem von sessilen Organismen wie den Pflanzen im Zuge koevolutiver Prozesse und in Auseinandersetzung mit der abiotischen und biotischen Umwelt eine Vielfalt an Naturstoffen gebildet [z.B. Abrahamson 1988; Rosenthal und Berenbaum (Hrsg.) 1992; Larcher 1994]. Solche Sekundärstoffe haben für die Produzenten vielfältige ökologische Funktionen. Dabei sind beispielsweise eine Vielzahl von Substanzen zu nennen, die in Pflanzen der Abwehr von Mikroorganismen und Fraßschädlingen (v.a. Insekten) dienen [z.B. Abrahamson 1988]. Auch allelopathische Effekte haben zur Evolution verschiedener Inhaltsstoffe geführt, die im Kampf um Standorte eine Rolle spielen [z.B. Larcher 1994]. Dabei haben in den Pflanzen Produkte des sekundären Stoffwechsels nicht nur Funktionen bei der Abwehr der Herbivorie oder des mikrobiellen Befalls durch Bakterien, Pilze oder Viren. Andere Sekundärstoffe schützen die Produzenten beispielsweise vor der aggressiven UV-Strahlung. Wieder andere stehen im Zusammenhang mit der Reproduktion, wie beispielsweise Verbindungen, die als Lockstoffe für Pollinatoren fungieren, oder solche, die im Dienste der Fruchtverbreitung stehen [z.B. Abrahamson 1988].

Die biologischen Aktivitäten der Sekundärstoffe lassen sich aber auch durch den Menschen nutzen. So werden weltweit in der traditionellen Medizin Pflanzendrogen zur Therapie der verschiedensten Erkrankungen eingesetzt. Auch die pharmazeutische Industrie nutzt wirksame Naturstoffe und Drogenextrakte für den Einsatz am Menschen. Dabei fungieren die Naturstoffe auch als Leitstrukturen, die nach chemischen Modifikationen mit zum Teil verstärkter Wirksamkeit und zum Beispiel besserer Resorbierbarkeit bei oraler Verabreichung den Naturstoffen sogar noch überlegen sind.

Neben dem potentiellen medizinischen Nutzen können Naturstoffe auch gemäß ihrer ökologischen Funktion nutzbar gemacht werden. Das Pyrethrum [z.B. Schneider 1990] aus *Chrysanthemum*-Arten ist ein Beispiel für ein potentes Insektizid natürlichen Ursprungs und findet heute als natürliches Pestizid Anwendung. Auch hier hat die chemische Industrie durch Derivatisierung der Leitstruktur des natürlichen Pyrethrums die Effektivität noch gesteigert. Daneben korreliert die Wirksamkeit vieler pflanzlicher Inhaltsstoffe oft mit der potentiellen Nutzbarkeit in der Medizin. Für fungizide, antibakterielle oder antivirale Substanzen kann

neben ihrer Wirksamkeit gegen Pflanzenpathogene unter Umständen auch eine Wirksamkeit gegen Humanpathogene erwartet werden.

Die belebte Natur mit ihrer Diversität bietet hier ein riesiges Reservoir an aktiven Verbindungen. Es sind beispielsweise allein ca. 250.000 Arten innerhalb der Gruppe der Angiospermen oder Blütenpflanzen beschrieben worden [König und Linsenmair 1996]. Die größte Diversität findet sich dabei in tropischen Habitaten. Angesichts dieser Vielfalt an Sekundärstoffproduzenten stellt die Naturstoff-Chemie eine berechtigte Ergänzung der synthetischen Chemie dar, wenn es um die Findung interessanter Substanzen geht.

Neben der Gewinnung immer neuer Verbindungen mit biologischen Aktivitäten sind auch Informationen über Struktur-Wirkungsbeziehungen interessant für die Forschung. So sind auch nicht aktive Verbindungen, gerade im Vergleich mit wirksamen Naturstoffen von Interesse.

### 1.2. Die Gattung *Aglaia*

In dieser Arbeit wurden Arten der Gattung *Aglaia* (Meliaceae) untersucht, für die etwa 130 verschiedene Arten beschrieben wurden. Die Abbildung 1.1. zeigt Bäume von *Aglaia odorata*. Das Verbreitungszentrum dieser Pflanzengattung befindet sich im südost-asiatischen Raum, also vorwiegend in tropischen Habitaten, und reicht bis nach Südchina, die Pazifischen Inseln und das nördliche Australien [Ridley 1992, Pannell 1992, Li 1997].



**Abbildung 1.1.: *Aglaia odorata***

Bei *Aglaia*-Arten handelt es sich um diözische Sträucher bzw. kleine Bäume. Wegen der typischen Stein-Früchte der Familie Meliaceae zeichnen sich die Vertreter dieser Gattung durch Zoochorie aus. Dabei fungieren hier Vögel als Verbreiter der Samen [Panell 1992].

### **1.3. *Aglaia*-Arten in der Volksmedizin**

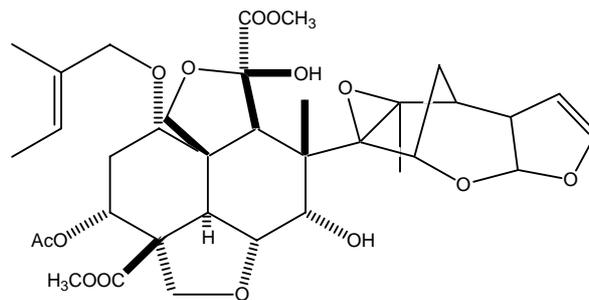
Die traditionelle Medizin Südostasiens nutzt Arten der Gattung *Aglaia* in den verschiedensten Indikationen. Die Behandlung von Husten, Fieber, Entzündungen, sowie traumatischen Beschwerden und der Einsatz als Herzstimulans sind dabei zu nennen [Phaetthanesuan 1972, Hayashi *et al.* 1982, Heyne 1987]. Die Art *A. lawii* wird in Vietnam als Mittel gegen bakterielle Infektionen sowie bei Leber- und Tumorerkrankungen verwendet [Qui *et al.* 2001]. Auch in der indischen Volksmedizin findet die Gattung *Aglaia* Anwendung [Balakrishna *et al.* 1990]. *A. roxburghiana* wird zum Beispiel wegen der angeblichen diuretischen, antileprotischen, antidysentrischen sowie antitumoralen Eigenschaften genutzt [Vishnoi *et al.* 1988] und *A. harmsiana* wird als Rohextrakt in der Chinesischen Medizin angewandt, um Arthritis, Pharyngitis, Tonsillitis, und andere Erkrankungen zu behandeln [Bhattacharyya *et al.* 2000].

Daneben tauchen *Aglaia*-Arten in Vietnam als aromatische Komponente in Tees auf [Proksch *et al.* 2001]. In Südostasien wird *Aglaia* zur Parfümierung von Textilien genutzt und dient als Mottenschutz [Corner 1951; Heyne 1987; Mabberley *et al.* 1995; Proksch *et al.* 2001]. In Indonesien werden die Blüten von *A. odorata* als Repellent gegen Insekten verwendet [Proksch *et al.* 2001].

#### 1.4. Bekannte Inhaltsstoffe aus *Aglaia*-Arten

Die Gattung *Aglaia* ist ein Vertreter der Pflanzenfamilie der Meliaceae. Unter den für diese taxonomische Einheit beschriebenen Pflanzeninhaltsstoffen finden sich v.a. Limonoide, Mono-, Di-, Sesqui- und Triterpene, Coumarine, Chromone, Lignane, Flavonoide und daneben auch andere Phenole [Mulholland *et al.* 2000].

Etliche Arbeiten befassen sich mit den Limonoiden der Meliaceen [z.B. Rembold & Puhlmann 1993; Nakatani 2001; Omar *et al.* 2003], die wegen ihrer insektiziden und Antimalaria-Aktivität interessante Verbindungen darstellen. Der bekannteste Vertreter dieser triterpenoiden Verbindungen ist das Azadirachtin (siehe Abbildung 1.2.) vom Neem-Baum *Azadirachta indica*, ein Naturstoff, der als natürliches Insektizid vermarktet wird [Rembold & Puhlmann 1995; Klocke 1989].



**Abbildung 1.2.:** Das Limonoid Azadirachtin aus *Azadirachta indica* (Meliaceae)

In der Literatur über Sekundärstoffe aus Pflanzen der Gattung *Aglaia* treten vor allem triterpenoide Verbindungen auf [siehe unten]. Daneben überwiegen Cyclopenta[*b*]benzofurane, sogenannte Rocaglamide und verwandte Verbindungen, bzw. solche, die im biosynthetischen Zusammenhang mit diesen stehen [Übersicht siehe: Proksch *et al.* 2001]. Auch Lignane wurden aus *Aglaia*-Arten beschrieben [z.B. Wang *et al.* 2002]. Im Zusammenhang mit der Untersuchung des ätherischen Öls aus *Aglaia* sind ferner hauptsächlich Sesquiterpene bekannt geworden [Weyerstahl *et al.* 1999].

Im folgenden Abschnitt sollen die wichtigsten, aus *Aglaia* beschriebenen Verbindungen vorgestellt werden.

### 1.4.1. Rocaglamide und verwandte Verbindungen aus *Aglaia*-Arten

In *Aglaia*-Arten finden sich als gattungstypisches Merkmal aromatische Verbindungen mit einem Cyclopenta[*b*]benzofuran-Skelett [Nugroho *et al.* 1997a, b]. Das namensgebende und zuerst gefundene Derivat – das Rocaglamid [King *et al.* 1982] – ist in der Abbildung 1.3. gezeigt. Bis heute sind Strukturen dieses Typs ausschließlich aus der Gattung *Aglaia* bekannt [Proksch *et al.* 2001]. Ein großer Teil der Literatur über Arten dieser Gattung beschäftigt sich mit diesen Rocaglamiden bzw. mit biosynthetisch verwandten Derivaten [Proksch *et al.* 2001]. Von den Rocaglamiden sind bisher mehr als 50 Derivate beschrieben worden [Proksch *et al.* 2001].

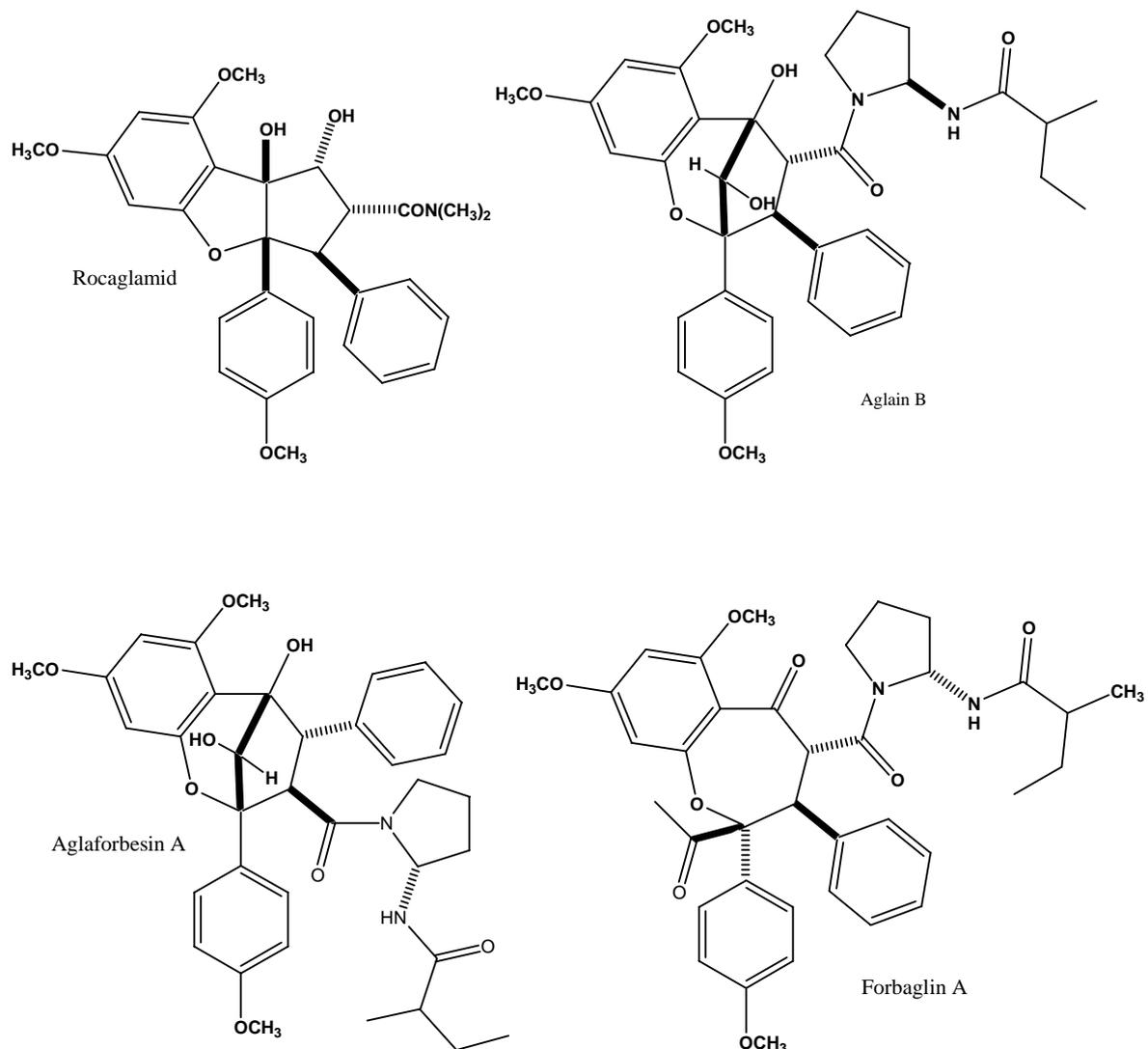
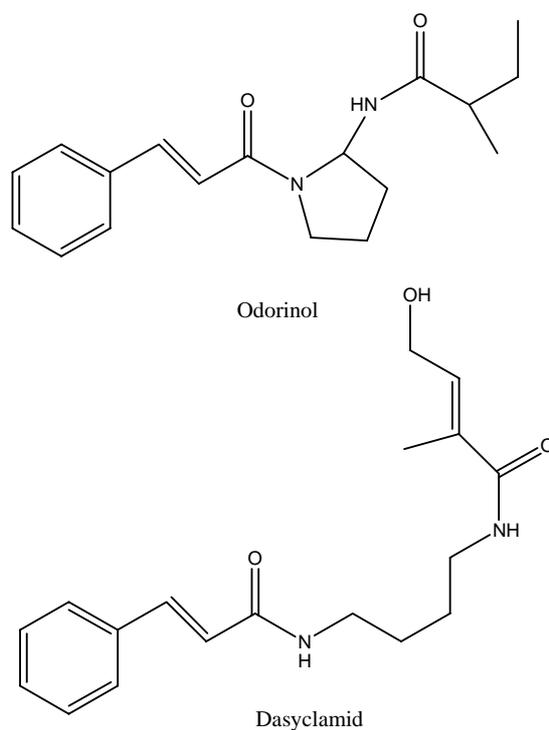


Abbildung 1.3.: Rocaglamid und verwandte Verbindungen

In biosynthetischer Verwandtschaft zu den Rocaglamiden stehen die Verbindungen wie Aglain [z.B. Nugroho *et al.* 1999, Proksch *et al.* 2001], Aglaforbesin und Forbaglin [z.B. Dumontet *et al.* 1996; Proksch *et al.* 2001] (siehe Abbildung 1.3.). Diese und ein Großteil der Rocaglamide besitzen Stickstoff im Molekül und können daher als Alkaloide im weiteren Sinne bezeichnet werden. Es wird spekuliert, dass sich diese Verbindungen biogenetisch von Flavonoiden in Kombination mit einem Bisamid ableiten lassen.

Als strukturelles Element der Aglaine, Aglaforbesine und Forbagline sind Pyrrolidin-Bisamide zu nennen, die sich ebenfalls aus *Aglaia*-Arten darstellen lassen und als Odorin (siehe Abbildung 1.4.) [z.B. Duh *et al.* 1993], Odorinol [z.B. Hayashi *et al.* 1982] und Piriferin [z.B. Brader *et al.* 1988] beschrieben sind. Diese tauchen als Seitenketten in den genannten Verbindungstypen auf [Proksch *et al.* 2001]. Daneben kommen auch Putrescin-Bisamide wie das Dasyclamid (siehe Abbildung 1.4.) als strukturelles Element der oben genannten Verbindungen, sowie ungebunden vor [Chaidir *et al.* 2001].



**Abbildung 1.4.: Bisamide aus *Aglaia*-Arten**

### 1.4.2. Lignane aus *Aglaia*-Arten

Als aus dem Phenylpropanstoffwechsel stammende Verbindungen wurde auch eine Reihe von Lignanen (siehe Abbildung 1.5.) aus Arten der Gattung *Aglaia* beschrieben [Fuzzati *et al.* 1996; Brader *et al.* 1998; Wang *et al.* 2001; Wang *et al.* 2002].

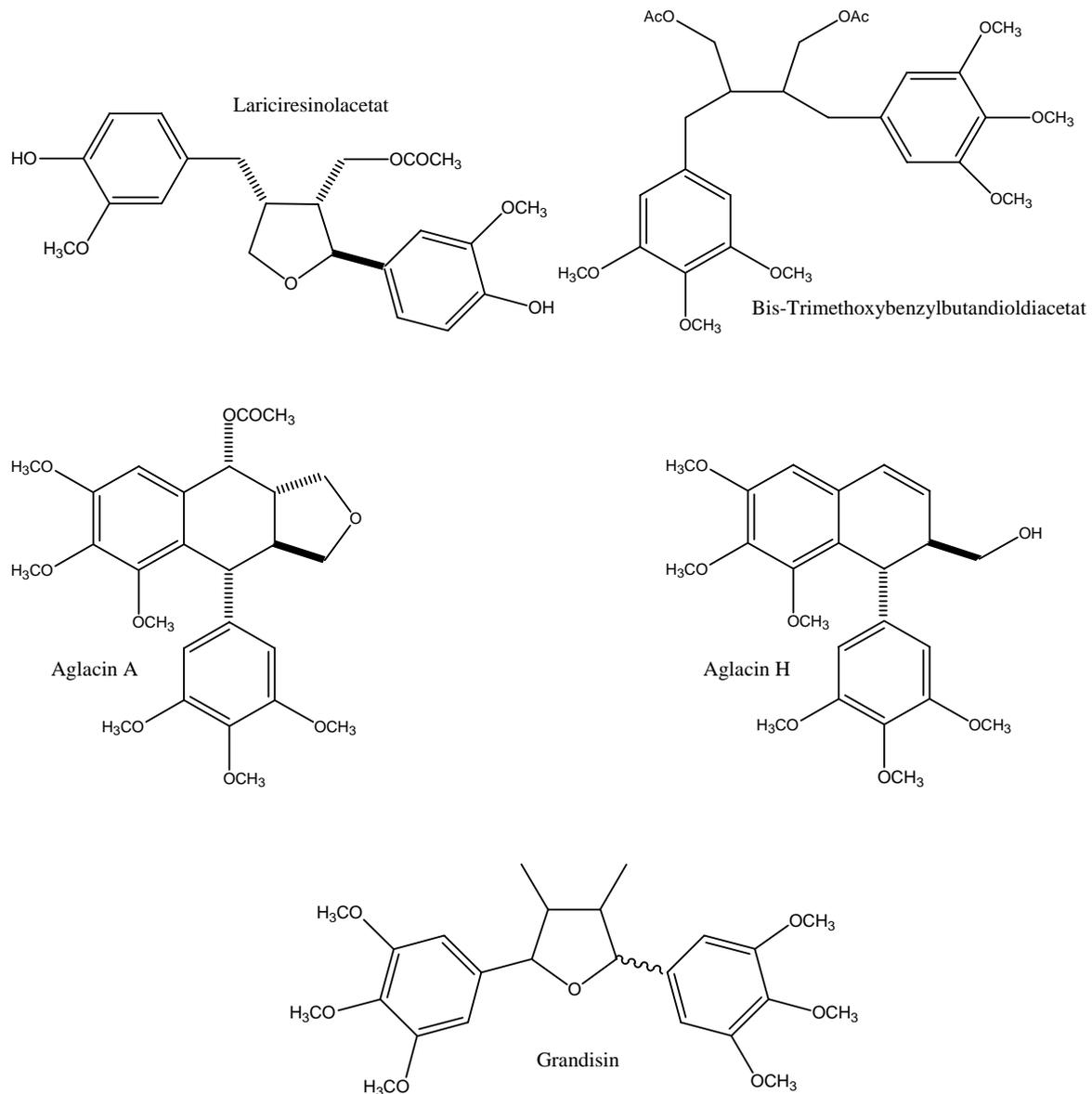


Abbildung 1.5.: Beispiele für Lignane aus *Aglaia*-Arten

Brader *et al.* [1998] konnten aus *A. tomentosa* ein Lignan des Dibenzylbutyrolacton-Typs und aus *A. grandis* in großen Mengen ein Lignan des Sesamin(tetrahydrofuran)-Typs isolieren. Daneben isolierten sie einen bis dahin unbekanntem Naturstoff, der ein Lignan des substituierten Furan-Typs darstellt. Dieses Derivat, Lariciresinolacetat (siehe Abbildung 1.5.), tritt in *Aglaia elaeagnoidea* (= *A. roxburghiana*) als eine Hauptkomponente in Erscheinung [Brader *et al.* 1998].

Ebenfalls aus *A. elaeagnoidea* konnten Fuzzati *et al.* [1996] zwei Lignane gewinnen. Die eine Substanz zeichnet sich durch einen Tetrahydrofuranring aus. Dieses Derivat ist, genauso wie die zweite Verbindung, das trans-2, 3-bis (3, 4, 5-trimethoxybenzyl-1,4-butandiol-Diacetat (siehe Abbildung 1.5.) mit jeweils drei Methoxygruppen an den beiden Aromaten substituiert.

Greger *et al.* [2000] haben aus *A. leptantha* fünf Lignane beschrieben, darunter die bekannten Verbindungen Yangambin und Eudesmin, die dem weit verbreiteten Tetrahydrofuran-Sesamin-Typ angehören, zwei Stereoisomere des Grandisins (H-5 $\alpha$  und H-5 $\beta$ ; siehe Abbildung 1.5.), sowie ein substituiertes Lignan des Furan-Typs und das Neolignan Dehydrodiconiferylalkohol.

Aus *A. cordata* wurden sechs neue Naturstoffe einer neuen Klasse von Aryltetralin-Lignanen mit einer cyclischen Etherfunktion beschrieben und als Aglacine A-E bezeichnet [Wang *et al.* 2001; Wang *et al.* 2002]. Daneben konnten Wang *et al.* [2002] aus dieser *Aglaia*-Art ein weiteres Lignan mit einer ungewöhnlichen Formylgruppe (Aglacin G), sowie ein neues Norlignan (Aglacin H) darstellen. Alle diese Aryltetrahydronaphthalene besitzen zwei dreifach methoxylierte Ringsysteme, die für diese Lignan-Klasse zuvor in der Literatur nicht beschrieben wurden [Wang *et al.* 2002]. Die Abbildung 1.5. zeigt das Aglacin A und H.

### 1.4.3. Terpenoide aus *Aglaia*-Arten

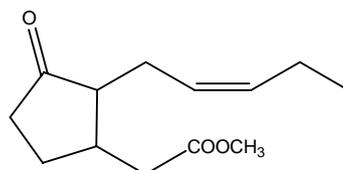
#### 1.4.3.1. Sesquiterpene

Für die Blüten von *Aglaia odorata* aus China werden in der Literatur u.a. Sesquiterpene, Aldehyde, Alkylbenzene, Alkane als Inhaltsstoffe genannt [Wang *et al.* 1986].

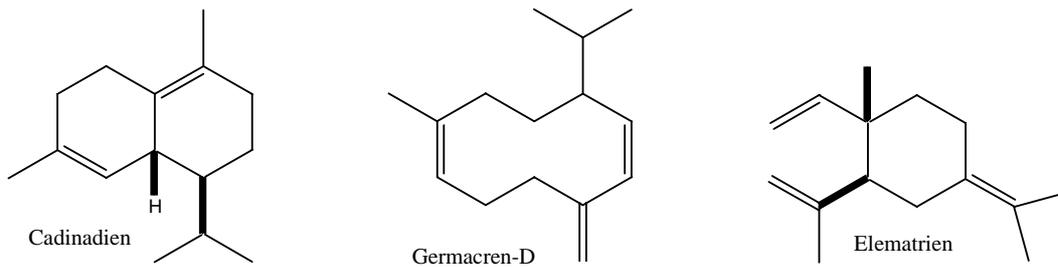
Nanda *et al.* [1987] haben die Wurzelrinde von *A. odoratissima* gaschromatographisch untersucht und beschreiben 2-Pentanon, n-Hexan,  $\beta$ -Caryophyllen, Longifolen und andere Sesquiterpene als Inhaltsstoffe.

Weyerstahl *et al.* [1999] haben das wohlriechende ätherische Öl aus den Blüten von *Aglaia odorata* aus Vietnam untersucht und mit den Ergebnissen aus Untersuchungen der selben Art aus China verglichen. Die Zusammensetzung des Öls gleicht nur zum Teil der des Öls aus der chinesischen Pflanze. Es wurde eine ganze Reihe von Sesquiterpenen identifiziert, wobei es sich bei der Mehrzahl um Cadinan- und Cyclocadinan-Derivate handelt. Daneben finden sich Elemene und Germacrane in relativ hohen Anteilen. Mit 26.8 Prozent ist das  $\delta$ -Cadinen (syn. 1(10),4-Cadinadien) die Hauptverbindung (siehe Abbildung 1.7.). Weitere Hauptkomponenten sind das Germacren-D (6.3 %) (siehe Abbildung 1.7.), das  $\gamma$ -Elemen (syn. 1,3,7(11)-Elematriene; 4.7 %) (siehe Abbildung 1.7.), das  $\alpha$ -Copenen (4.4 %), das  $\alpha$ -Humulen (3.2 %) und das (*E*)- $\beta$ -Farnesen (2.1 %).

Für den Geruch des ätherischen Öles aus *A. odorata* scheinen dagegen v.a Methyljasmonat (siehe Abbildung 1.6.) verantwortlich zu sein [Weyerstahl *et al.* 1999].



**Abbildung 1.6.:** Methyljasmonat aus dem ätherischen Öl von *A. odorata*



**Abbildung 1.7.: Sesquiterpene aus *Aglaia odorata***

Unter den terpenoiden Verbindungen aus *Aglaia*-Arten wurden verschiedene Sesquiterpene auch aus anderen Pflanzenorganen beschrieben [z.B. Benosman *et al.* 1995; Roux *et al.* 1998].

So haben beispielsweise Roux *et al.* [1998] das Sesquiterpen Spathulenol aus den Blättern von *A. lawii* isoliert. Das Caryophyllenoxid wurde z.B. in den Rinden der beiden Arten *A. leucophylla* und *A. foveolata* gefunden [Benosman *et al.* 1995; Roux *et al.* 1998].

Ein neues Sesquiterpen des Eudesmantyps, das 6 $\alpha$ -Hydroxy-Eudesm-4(14)-en-1-on, konnte, neben drei bekannten Sesquiterpenen aus den Zweigen von *Aglaia grandis* isoliert werden Inada *et al.* [2002].

### 1.4.3.2. Triterpene und Steroide

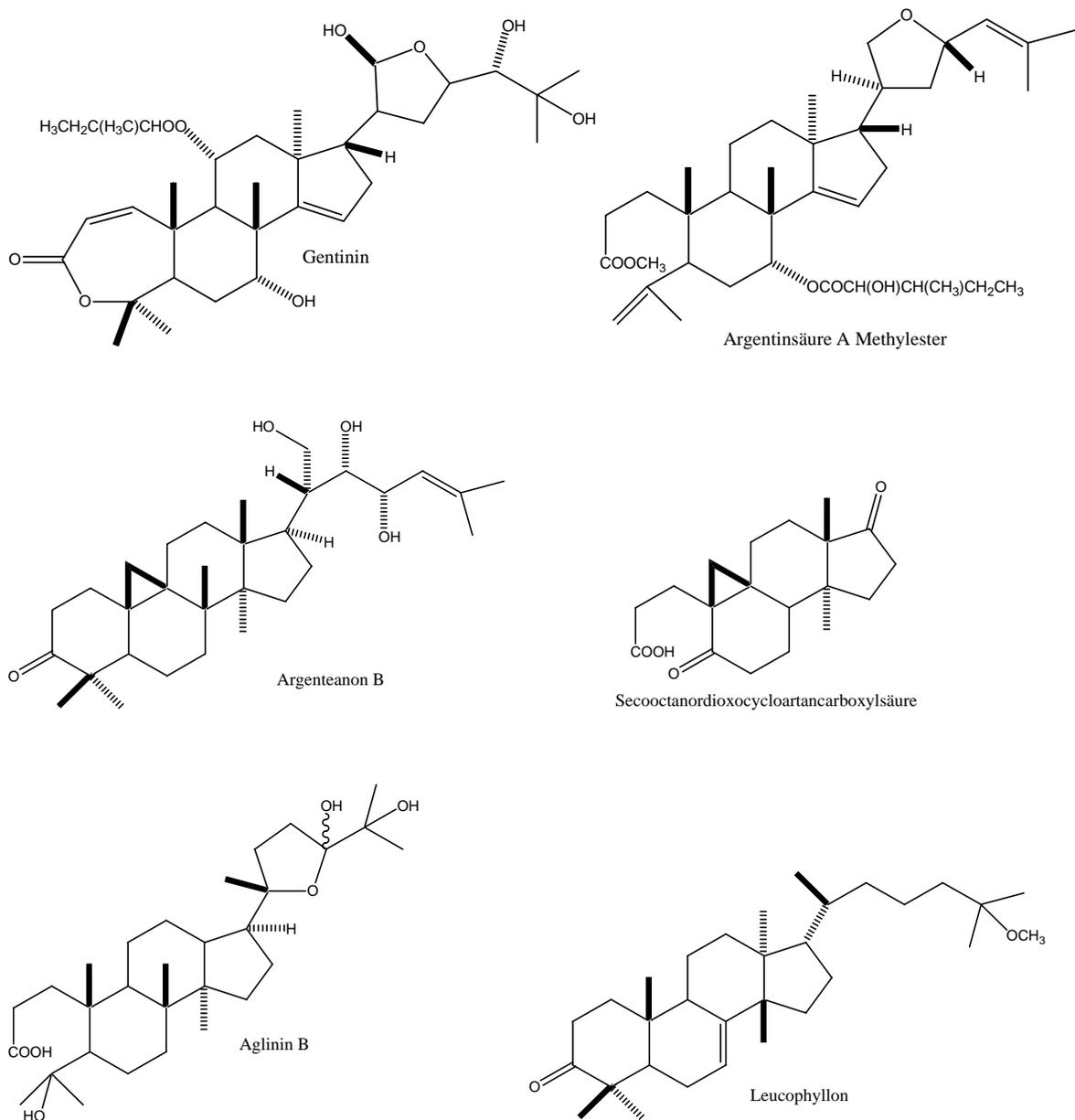
Von den Triterpenen bzw. Steroiden, die in der Literatur im Zusammenhang mit *Aglaia* auftauchen, sind Verbindungen des Androstan-, Apotirucallan-, Cholesterol-, Cycloartan-, Dammaran-, Pregnan- und Tirucallan-Typs zu nennen. Einige Beispiele zeigen die Abbildungen 1.8., 1.9. und 1.10.

#### 1.4.3.2.1 Triterpene

Omubuwajo *et al.* [1996] konnten aus *A. argentea* fünf neue Naturstoffe des Apotirucallan-Typs isolieren. Eine Verbindung, das Gentinin, zeichnet sich hier durch einen siebengliedrigen Ring A aus, in welchem eine Esterbrücke vorliegt [siehe Abbildung 1.8.]. Ebenfalls aus *A. argentea* wurden neun weitere Apotirucallane beschrieben, die einen 3,4-Seco-A-Ring aufweisen [Mohamad *et al.* 1999a], wie am Beispiel der Argentinsäure A Methylesters gezeigt (siehe Abbildung 1.8.). Bei diesen Verbindungen wurden die natürlich vorkommenden Säuren in Form ihrer Methylester isoliert [Mohamad *et al.* 1999a].

Eine ganze Reihe von Cycloartanen sind aus Arten der Gattung *Aglaia* beschrieben worden [Vishnoi *et al.* 1988; Balakrishna *et al.* 1990; Inada *et al.* 1995; Omubuwajo *et al.* 1996; Mohamed *et al.* 1997; Inada *et al.* 1997; Brader *et al.* 1998; Weber *et al.* 2000; Bhattacharyya *et al.* 2000]. Die Mehrzahl der aus *Aglaia* beschriebenen Triterpene gehört dem Cycloartan-Typ an.

Dabei kommen Cycloartane mit geminalen Methylgruppen am Kohlenstoff C-4, wie beispielsweise das Argenteanon B (siehe Abbildung 1.8.) [Omubuwajo *et al.* 1996], aber auch sog. Nor-Verbindungen, bei denen es zur Eliminierung einer oder beider Methylgruppen in dieser Position gekommen ist vor [z.B. Vishnoi *et al.* 1988; Balakrishna *et al.* 1990]. Die Nor-Verbindungen Roxburghiadiol A und B aus den Blättern und Früchten von *A. roxburghiana* tragen Hydroxylgruppen in den Positionen 3 und 6 und eine Exomethylengruppe an C-24 [Purushathaman *et al.* 1986].



**Abbildung 1.8.: Beispiele für Triterpene aus *Aglaia*-Arten**

Die verschiedenen Cycloartane unterscheiden sich ferner durch unterschiedliche Oxidationsgrade des Kohlenstoffs C-3. Hier findet man Hydroxyl- oder Ketofunktionen, z.T. liegen diese auch experimentell acetyliert vor [z.B. Balakrishna *et al.* 1990]. Des Weiteren unterscheiden sich die verschiedenen Derivate durch Substitutionen z.B. in Position 6, wo neben Verbindungen mit Methylengruppe auch Derivate mit Hydroxylgruppe oder Ketofunktion vorkommen [z.B. Brader *et al.* 1998]. Auch das Substitutionsmuster der Seitenkette am Kohlenstoff C-17 variiert. So kommen an verschiedenen Kohlenstoffen

Hydroxylgruppen [z.B. Omobuwajo *et al.* 1996; Weber *et al.* 2000],  $\Delta^{24,25}$ - Epoxidgruppen [z.B. Weber *et al.* 2000] und Hydroperoxidfunktionen [Mohamad *et al.* 1997] vor. Einige Derivate besitzen einen  $\Delta^{20,23}$ -Epoxid- oder einen Lactonring [Omobuwajo *et al.* 1996; Mohamad *et al.* 1997]. In der Seitenkette treten  $\Delta^{24,25}$ - und  $\Delta^{23,24}$ -Doppelbindungen auf [z.B. Weber *et al.* 2000]. Daneben sind Exomethylengruppen in den Positionen 24 und 25 zu nennen [Vishnoi *et al.* 1988; Weber *et al.* 2000]. Die Methylgruppen H<sub>3</sub>-21 bzw. H<sub>3</sub>-29 kommen als Hydroxymethyl in höherer Oxidationsstufe vor [Omobuwajo *et al.* 1996; Weber *et al.* 2000].

Weber *et al.* [2000] haben neben vier gewöhnlichen Cycloartanen auch eine außergewöhnliche 17-Octanor-Ring-A-Seco-Säure isoliert (siehe Abbildung 1.8.).

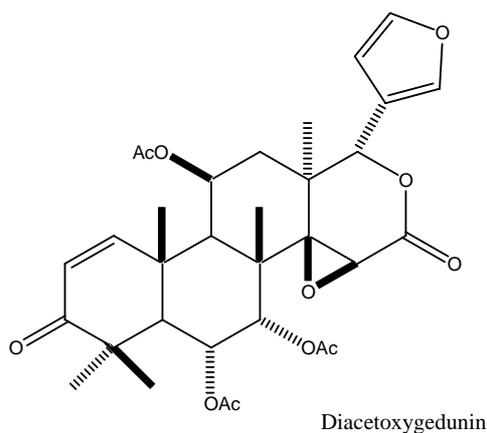
Daneben dominieren in der Literatur über *Aglaia*-Arten Verbindungen des Dammaran-Typs [Shiengthong *et al.* 1974; Boar *et al.* 1977; Fuzzati *et al.* 1996; Roux *et al.* 1998; Mohamad *et al.* 1999b; Weber *et al.* 2000; Qui *et al.* 2001]. Auch hier kommen gewöhnliche Dammarane mit geminalen Methylgruppen am Kohlenstoff C-4 vor [Weber *et al.* 2000]. Aus *A. odorata* sind Dammarane mit einer Exomethylengruppe am Kohlenstoff C-20 beschrieben worden [Shiengthong *et al.* 1974; Boar *et al.* 1977]. Bei einigen Derivaten bildet die Seitenkette am Kohlenstoff C-17 eine Esterbrücke aus [Roux *et al.* 1998; Qui *et al.* 2001]. Interessant sind Dammarane, bei denen der Ring A des Grundgerüsts offen ist. Solche 3,4-Seco-Verbindungen konnten Mohamed *et al.* [1999] aus *A. lawii* isolieren. In der Abbildung 1.8. ist das Aglinin B aus *A. lawii* gezeigt. Auch bei diesen Derivaten findet sich ein fünfgliedriger Ring mit Sauerstoffbrücke in der Seitenkette. Auch für *A. foveolata* sind Verbindungen dieses Typs mit einem Epoxidring beschrieben worden [Roux *et al.* 1998]. Bei diesen Secodammaranen kommen Derivate vor, die neben den geminalen Methylgruppen an C-4 eine Hydroxylgruppe tragen, wie die Foveoline A und B [Roux *et al.* 1998] oder das Aglinin B [Mohamed *et al.* 1999]. Bei dem Aglinin A z.B. ist dagegen eine Methylgruppe durch eine Exomethylengruppe ersetzt [Mohamed *et al.* 1999].

Wie bei den Cycloartanen variieren die beschriebenen Dammarane bezüglich der Substitutionen in der Seitenkette mit Hydroxylgruppen bzw. Epoxidgruppen [z.B. Shiengthong *et al.* 1974] und durch das Auftreten von Doppelbindungen ( $\Delta^{23,24}$ ) [z.B. Weber *et al.* 2000]. Auch bei den beschriebenen Dammaranen aus *Aglaia* kann eine Methylgruppe in einem höheren Oxidationsgrad als Hydroxymethylfunktion vorliegen [Fuzzati *et al.* 1996].

Neben den oben beschriebenen Apotirucallanen sind auch Triterpene des Tirucallan-Typs für *A. leucophylla* beschrieben worden [Benosman *et al.* 1994, 1995]. Hier konnten die Autoren u.a. die bekannten Verbindungen (-)-Niloticin und (-)-Piscidinol zusammen mit einem neuen Tirucallan, dem (-)-Leucophyllon (siehe Abbildung 1.8.) finden. Daneben beschreiben Benosman *et al.* [1994] aus dieser *Aglaia*-Art auch 3,4-Seco-Verbindungen dieses Triterpentyps, die (24Z)-3,4-secotirucalla-4(28),7,24-trien-3,26-diolsäure und deren 3-Monomethylester.

Außerdem wurden einige ubiquitär verbreitete Triterpene, das  $\beta$ -Amyron und  $\beta$ -Amyrin aus *Aglaia* isoliert und beschrieben [Qui *et al.* 2001].

Eine interessante Verbindung stellt ein Limnoid, das  $6\alpha,11\beta$ -Diacetoxygedunin dar, welches Fuzzati *et al.* [1996] aus *A. elaeagnoidea* (= *A. roxburghiana*) isolieren konnten (siehe Abbildung 1.9.). Zwei neue Protolimonoide konnten Mulholland *et al.* [1993] aus *A. ferruginea* isolieren. Das Limnoid Gedunin kommt auch im Holz von *A. andamanica* vor [Subrahmanyam *et al.* 1976].



**Abbildung 1.9.: Limnoid aus *A. roxburghiana***

Auch für die verwandte Gattung *Dysoxylum* sind eine Reihe von Triterpenen in der Literatur erschienen [z.B. Aalbersberg & Singh 1991; Govindachari *et al.* 1994; Hisham *et al.* 1996; Huang *et al.* 1999; Mohamed *et al.* 1999; Luo *et al.* 2000; Hisham *et al.* 2001].

Unter den aus *Dysoxylum* beschriebenen terpenoiden Verbindungen finden sich v.a. Cycloartane, Dammarane und Tirucallane, aber beispielsweise auch Apotirucallane, Lupane und Steroide.

Wie bei *Aglaia* kommen auch in dieser Gattung 3,4-Secoverbindungen vor. So wurden solche Verbindungen des Dammaran-Typs aus den Früchten von *D. richii*, den Blättern von *D. malabaricum*, sowie aus den Früchten von *D. cauliflorum* beschrieben [Aalbersberg & Singh 1991; Govindachari *et al.* 1994; Hisham *et al.* 1996; Huang *et al.* 1999]. Dabei handelt es sich jeweils um Derivate mit einer Sauerstoffbrücke in der Seitenkette, also um 20, 24-Epoxy-Dammarane, wie z.B. die Eichleriansäure bzw. Shoreasäure. Dabei kommen aber beispielsweise auch Derivate vor, bei denen die Isopropanyl-Seitenkettensubstitution dehydriert als Isopropenylgruppe vorliegt [Aalbersberg & Singh 1991].

### 1.4.3.2.2 Steroide

Neben den Triterpenen aus *Aglaia* sind auch eine Reihe interessanter Steroide aus dieser Gattung beschrieben worden.

Weber *et al.* [2000] beschreiben zwei Androstane in *A. rubiginosa*. Die Abbildung 1.10. zeigt eines dieser für Pflanzen ungewöhnlichen Steroide mit der typischen Ring-A Cyclohexadienon-Struktur, das Androsta-1,4-dien-3,17-dion.

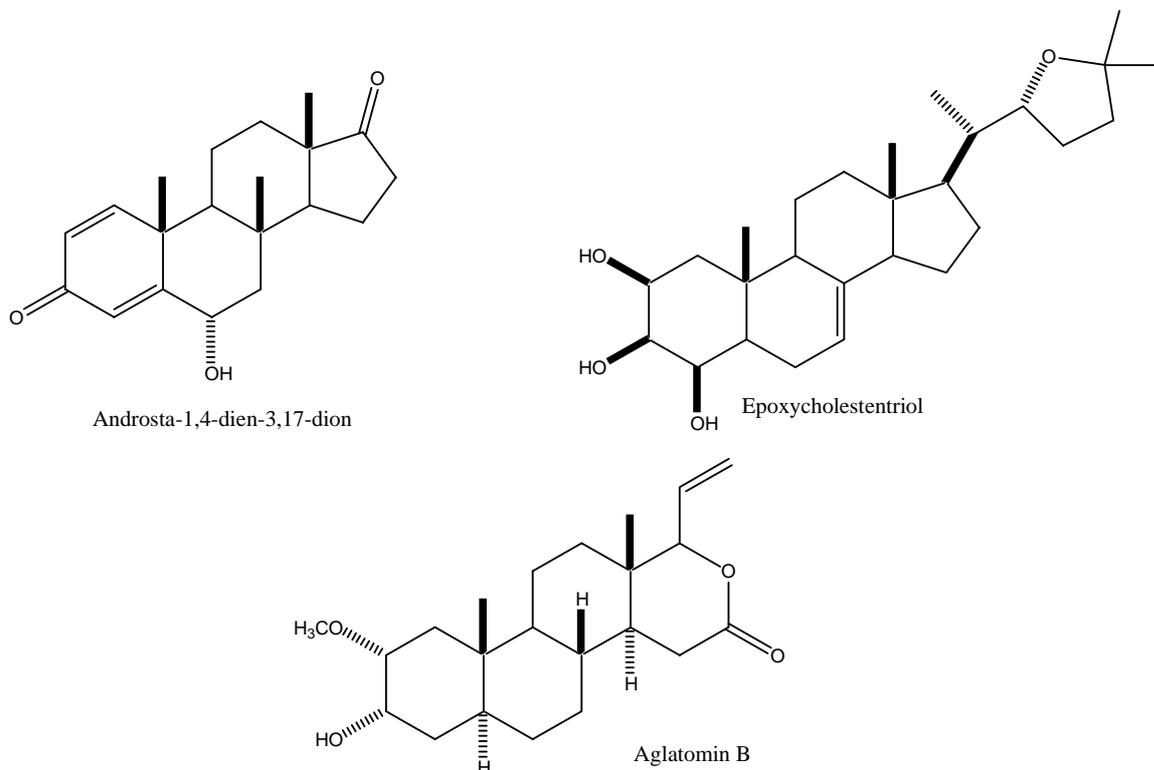
Aus *A. rubiginosa* haben Weber *et al.* [2000] drei ungewöhnliche Cholesterol-Derivate isolieren können. Diese sind in den Positionen 3 und 4 hydroxyliert und besitzen eine  $\Delta^{5,6}$  - bzw. eine  $\Delta^{7,8}$ -Doppelbindung. In zwei Derivaten, wie hier am Beispiel des (22*R*, 25)-Epoxycholest-7-en-2 $\beta$ ,3 $\beta$ ,4 $\beta$ -triols gezeigt, ist eine Etherbrücke zwischen den Kohlenstoffen C-22 und C-25 ausgebildet (siehe Abbildung 1.10.).

Ein neues dreifach oxigeniertes Sterol, das (-)-3*S*,4*R*,22*R*,24*R*-ethylcholest-en-3,4,22-triol wurde für die Blätter von *A. laxiflora* beschrieben [Xu *et al.* 2001].

Des Weiteren sind für *Aglaia* Terpene des Pregnan-Typs beschrieben worden [Inada *et al.* 1997; Mohamad *et al.* 1999b; Qui *et al.* 2001].

Inada *et al.* [1997] berichten von drei neuen Pregnanen aus den Blättern von *A. grandis*. Diese Steroide zeichnen sich durch ihre 2,3-Dihydroxysubstitution und eine Ketofunktion an Kohlenstoff C-16 aus. Ähnlich diesen Derivaten ist das Pregnan-Steroid, welches Qui *et al.* [2001] für *A. lawii* beschreiben. Bei diesem sog. (*E*)-Aglawon ist der Kohlenstoff in Position

2 unsubstituiert. Mit den Aglatominen A und B stellen auch Mohamed *et al.* [1999] zwei neue Pregnan-Steroide aus *A. tomentosa* vor. Bei diesen Derivaten befindet sich eine Methoxygruppe an Kohlenstoff C-2. Interessant ist der Lactonring, der sich im Falle des Aglatomin B findet (siehe Abbildung 1.10.). Die verschiedenen Derivate unterscheiden sich ferner dadurch, dass die Pregnan-Seitenkette z.T. ungesättigt vorliegt, im Falle des Aglatomin B als Exomethylengruppe [Mohamed *et al.* 1999]. Beim Aglawon z.B. findet sich dagegen eine  $\Delta^{17,20}$ -Doppelbindung [Qui *et al.* 2001]. Das Aglatomin A zeichnet sich durch eine ungesättigte Pregnankette aus [Mohamed *et al.* 1999].



**Abbildung 1.10.: Beispiele für Steroide aus *Aglaia*-Arten**

Ferner wurden in der Literatur über *Aglaia* weitere triviale Steroide bzw. Phytosterole, namentlich Stigmastandiol,  $\beta$ -Sitosterol, Stigmasterol und Poriferasterol genannt [Weber *et al.* 2000; Qui *et al.* 2001].

## 1.5. Biologische Aktivität bekannter Inhaltsstoffe

Für die aus *Aglaia*-Arten beschriebenen Verbindungen, sowie für ähnliche Verbindungen, liegt eine ganze Reihe von Daten über verschiedenste biologische Aktivitäten vor. Informationen über die biologische Aktivität von Verbindungen aus *Aglaia* liegen nur über die Rocaglamide und triterpenoide Verbindungen vor.

### 1.5.1. Rocaglamide

Sieht man von einigen Ausnahmen ab, so zeigen die meisten Rocaglamide eine außerordentlich starke insektizide Wirkung gegen verschiedene Schadinsekten [Proksch *et al.* 2001]. Dabei ist die Wirkung vergleichbar mit der des bekannten und sogar in Form von Extrakten kommerziell als Insektizid verwendeten Azadirachtins von *Melia azadirachta* (siehe oben).

Mit der insektiziden Aktivität korreliert eine antiproliferative Aktivität der Cyclopenta[b]tetrahydrobenzofurane. So wurde die antitumorale *in vitro* Wirksamkeit gegen verschiedene Zelllinien von Mäusen aber auch vom Menschen beschrieben. In Mäusen konnte die Wirksamkeit *in vivo* bestätigt werden [siehe Proksch *et al.* 2001]. Dabei lassen Untersuchungen Schlüsse auf den Wirkmechanismus zu. Es sollen eher cytostatische als cytotoxische Effekte an der Aktivität beteiligt sein [siehe Proksch *et al.* 2001]. Die Rocaglamide scheinen die Zellvermehrung und die Proteinsynthese zu hemmen.

Vor kurzem konnte gezeigt werden, dass die meisten Rocaglamide hochpotente und spezifische Inhibitoren der TNF- $\alpha$  oder PMA-induzierten NF- $\kappa$ B Aktivität in verschiedenen Mäuse- und Human-Zelllinien darstellen. Die Rocaglamide gehören zu den stärksten bislang bekannten Inhibitoren der NF- $\kappa$ B induzierten Gen-Aktivierung [siehe Proksch *et al.* 2001].

Ferner wurde beschrieben, dass Rocaglamide die Apoptose resistenter Tumorzellen auslösen können [siehe Proksch *et al.* 2001].

Fuzzati *et al.* [1996] berichten ferner von einer antifungalen Aktivität eines Cyclopenta[b]tetrahydrobenzofuranes.

Die Cyclopenta[b]tetrahydrobenzofurane stellen also interessante Verbindungen mit potentieller Nutzbarkeit gegen Krebserkrankungen dar. Wenn auch eine Verwendung der nur in winzigen Mengen in den Pflanzen vorkommenden Rocaglamide als Reinsubstanzen gegen Schädlinge in der Agrarwirtschaft eher unwahrscheinlich ist, so ist doch zumindest der Einsatz der Rohextrakte denkbar. Entsprechende Experimente finden in unserer Arbeitsgruppe derzeit statt.

Ein ethanolischer Extrakt von *Aglaiia roxburghiana* zeigte eine antivirale Aktivität gegen den Virus der Ranikhet Krankheit (RDV) im Hühnerembryo. Als mögliches wirksames Prinzip wird das (+)-Odorinol genannt [Vishnoi *et al.* 1988].

### 1.5.2. Sesquiterpene

Das ätherische Öl aus *Aglaiia* ist reich an Sekundärstoffen des Typs der Sesquiterpene [z.B. Weyerstahl *et al.* 1999].

Nanda *et al.* [1987] beschreiben die *in vitro* antimikrobielle und anthelmintische Aktivität des Öls aus der Wurzelrinde von *A. odoratissima*, Eigenschaften, die für ätherische Öle nicht außergewöhnlich sind. Des Weiteren beschreiben sie auch eine ZNS unterdrückende Wirksamkeit im Tierversuch an Mäusen. Eine antibakterielle und fungizide Wirksamkeit des ätherischen Öles wird auch für Samen von *A. odoratissima* beschrieben [Kakrani *et al.* 1982a], wie auch eine anthelmintische Aktivität [Kakrani *et al.* 1982b].

### 1.5.3. Triterpene

Triterpenoide Verbindungen sind vermehrt wegen der biologischen Aktivitäten ins Interesse der Wissenschaft gerückt [Connolly & Hill 2001]. Hier werden Wirksamkeiten wie die Krebsprävention, antiulcerative und antidiabetische Effekte, die Inhibition der Angiogenese und der Aktivität eukaryotischer DNA Polymerasen genannt. Ferner stellen Triterpenoide Leitstrukturen für die Chemotherapie der HIV-Infektion dar [Connolly & Hill 2001]. Die für die Pflanzenfamilie der Meliaceae beschriebenen Limonoide und triterpene Lansiolide sind Verbindungen, die sowohl *in vitro*, als auch *in vivo* am Mäusemodell eine Wirksamkeit gegen Malaria aufweisen [Omar *et al.* 2003].

Andere Indikationen wie z.B. die der Saponine als Expektorantien oder die positiven Einflüsse von Herzwirksamen Glykosiden auf das Herz sind schon lange bekannt [siehe Lehrbücher der Pharmazeutischen Biologie].

In der Literatur über Triterpenoide Verbindungen aus *Aglaia*-Arten sind nur wenige Informationen über biologische Aktivitäten zu finden. Für ähnliche Verbindungen sind jedoch eine Reihe interessanter Wirkungen beschrieben worden.

Nach Benosman *et al.* [1994] ist das Dammaran (+)-Ocotillon (siehe Abbildung 3.20.), ein cytotoxisches Prinzip eines ethanolschen Extraktes von *A. leucophylla* gegen KB-Zellen. Ebenfalls mit signifikanter Cytotoxizität gegen KB-Zellen wurden Argenteanone und Argenteanole und weitere Cycloartane diesen Typs aus den Blättern von *A. argentea* beschrieben [Mohamad *et al.* 1997]. Die IC<sub>50</sub>-Werte liegen hier zwischen 3.7 und 6.2 µg/ml. Ebenfalls Argenteanone und Argenteanole wurden von Omobuwajo *et al.* [1996] mit IC<sub>50</sub>-Werten von 7.5 bis 6.5 µg/ml gegen diese Zelllinie getestet. Mohamed *et al.* [1999ab] haben daneben auch 3,4-Secoapotirucallane aus der Rinde von *A. argentea*, sowie neue Tirucallane aus der verwandten Gattung *Dysoxylum* an KB-Zellen getestet und ebenfalls eine Cytotoxizität festgestellt. Die 3,4-Secoapotirucallane waren nur in Form der Methylester moderat wirksam, während die genuinen Säuren inaktiv waren.

Die Biotest- geleitete Fraktionierung der Blätter von *A. rubiginosa* (syn. *A. ignea*) führte zur Isolierung der gegenüber KB-Zellen cytotoxischen triterpenoiden Verbindungen Cabraleon, Dammarenolsäure, (20*S*, 23*E*)-20,25-dihydroxy-3,4-secodammara-4(28),23-dienol-säure, deren Methylester, (3β,4β,22*R*)-ergosata-5,24(24')-dien,3,4,22-triol, sowie dem oben bereits in diesem Zusammenhang genannten Ocotillon, und der Shoreasäure [Rivero-Cruz *et al.* 2004].

Die Cycloartane Roxburghiadiol A und B aus *A. roxburghiana* var. *beddomei* zeigen im Tierversuch an Ratten eine antiinflammatorische Wirksamkeit [Janaki *et al.* 1999]. Ferner zeigen diese beiden Terpene einen negativen Effekt auf die Degranulation von Mastzellen [Janaki *et al.* 1999].

Neben diesen Daten ist in der Literatur nur noch ein negatives Ergebnis des Tests auf verschiedene humane Krebszelllinien für die aus *Aglaia lawii* Rinde isolierten Verbindungen zu finden [Qui *et al.* 2001]. Ein aus dieser Pflanze isoliertes Pregnan-Steroid, das Amyron und

Amyrin, sowie Cabraleadiol und Cabraleadiolmonoacetat waren inaktiv, obwohl die Fraktion, aus welcher diese Verbindungen isoliert wurden eine Aktivität aufwies [Qui *et al.* 2001].

So wurden z.B. die Tirucallane Niloticin und Piscidinol, die auch in *Aglaia leucophylla* gefunden wurden [Benosman *et al.* 1995] als cytotoxisch gegen V-79-Zellen des Hamsters beschrieben [Itokawa *et al.* 1992]. Dieselben Verbindungen, neben einigen weiteren des Tirucallan-Typs zeigten auch gegen P388- und KB-Zellen [Itokawa *et al.* 1992].

Dammarenolsäure (Vgl. Verbindung [1]) zeigt in vitro eine antivirale Aktivität gegen *Herpes simplex* [Poehland *et al.* 1987]. Auch für die Dammarane Hydroxyhopanon und Dammarendiol-II wurde eine Aktivität gegen *Herpes simplex* beschrieben [Purushathaman *et al.* 1989]. Hier handelt es sich um eine 3,4-Secodammaran-Verbindung, ähnlich den aus *A. lawii* oder *A. foveolata* isolierten Substanzen [Roux *et al.* 1998; Mohamed *et al.* 1999]. Methylierte und freie 3,4-Seco-triterpenoide Säuren, die in Wachsen und Harzen vorkommen, sind für ihre antibiotische Aktivität bekannt [siehe Baas & Van Berkel 1991 bzw. dort zitierte Literatur], weswegen die Harze nach Vermutung der Autoren auch zu medizinischen Zwecken Verwendung gegen Infektionen finden.

Das Dammara-20,25-dien-3 $\beta$ , 24 $\alpha$ -diol hat einen repellierenden Einfluß auf die Blattschneiderameisen-Art *Acromyrmex octospinosus* [Hammond *et al.* 1990]. Es handelt sich um eine Verbindung ähnlich den Derivaten, die Shienghong *et al.* [1974] und Boar *et al.* [1977] aus *Aglaia* isolieren konnten und die ebenfalls eine Exomethylengruppe in Position 20 tragen.

Ebenfalls Exomethylengruppen in den Positionen 20 und 25 trägt ein Dammaran, für welches Mata *et al.* [1998] eine Phytotoxizität nachweisen konnten. Es hemmt signifikant das Wurzel-Wachstum und die Keimung verschiedener Pflanzenarten.

Bestimmte Dammaranester aus der Birke sollen bei der therapeutisch genutzten Aktivität als Diuretikum und in der Rheumatherapie beteiligt sein [Hilpisch *et al.* 1997]. Kwon *et al.* [1997] beschreiben die Inhibierung der Farnesylproteintransferase durch Dammarane. Solche spezifischen FPTase-Inhibitoren zeigen eine sehr gute in vivo Aktivität gegen Tumore in Mäusen. Eine besonders hohe Aktivität zeigte eine 25-Oxo-Verbindung.

Als cytotoxisch gegen P388 Leukämie-Zellen erwiesen sich Dammarane aus *Cleome africana* [Nagaya *et al.* 1997].

Auch für Cycloartane wurden antibiotische Wirksamkeiten nachgewiesen. Cantrell *et al.* [1996] haben verschiedene Cycloartane mit einer Aktivität gegen *Mycobacterium tuberculosis* isoliert. Beispielsweise (3 $\beta$ , 24R)-24, 25-Epoxycycloartan-3-ol (Vgl. Verbindung [15]) zeigt dabei eine minimale Hemmkonzentration von nur 8 $\mu$ g/ml.

Silva *et al.* [1997] beschreiben cytotoxische Ring-A-Seco-Cycloartane. Dabei zeigten zwei Derivate Aktivitäten gegen eine Brustkrebs-Zelllinie (ZR-75-1) und gegen die Glioma-Zelllinie U373.

Ein Ring-A-Seco-Cycloartan, die 3,4-Secocycloartan-4(28), 24-(Z)-dien-3,-26-diol-Säure, zeigte Aktivitäten in verschiedenen Anti-HIV-Reverse-Transkriptase und -Polymerase Tests [Sun *et al.* 1996].

Inada *et al.* [1993] haben verschiedene Triterpene auf inhibitorische Effekte auf Epstein-Barr-Virus Antigen-Aktivierung (EBV-EA) getestet. Einige Triterpene, darunter ein Lupanderivat ähnlich dem Lupeon, bieten sich demnach als mögliche Inhibitoren von Tumor-Promotern in vivo an.

Ohne Hinweise auf die verantwortlichen Substanzen beschreiben Lipipun *et al.* [2003] die antivirale Aktivität eines *Aglaia odorata*-Extraktes. In den Versuchstieren (Mäuse) konnte dagegen keine Toxizität der Pflanzenextrakte beobachtet werden, weswegen die Autoren die positiv getesteten Pflanzenextrakte für potentielle Anti-HSV-1-Agentien halten.

### 1.6. Fragestellung

Aus verschiedenen Arten der Gattung *Aglaia*, aber auch aus der nahe verwandten Gattung *Dysoxylum* sind etliche interessante Verbindungen beschrieben worden. Die volksmedizinische Nutzung der Pflanzen in verschiedenen Ländern im Verbreitungsgebiet impliziert das Vorkommen von Naturstoffen mit entsprechenden Wirksamkeiten in den verschiedensten Indikationsbereichen.

Über die Stoffklasse der Rocaglamide aus *Aglaia* liegt schon eine ganze Reihe an Daten über biologische Aktivitäten vor. Diese Arbeit beschäftigt sich ebenfalls mit der Phytochemie der Pflanzen aus der Gattung *Aglaia*. Dabei wurde der Fokus jedoch vornehmlich auf Naturstoffe des Typs der Triterpenoide gelegt. Für Verbindungen aus *Aglaia*, die dieser Stoffklasse angehören, sind in der Literatur kaum biologische Aktivitäten beschrieben worden, wenngleich für diese Stoffklasse an sich interessante Indikationen und Wirksamkeiten durchaus bekannt. Daher sollten die gewonnenen Naturstoffe in diversen Tests auf ihre biologischen Aktivitäten hin überprüft werden.

Daneben sollte in dieser Arbeit aber auch ein Vergleich der Inhaltsstoffspektren der verschiedenen Arten und Organe innerhalb der Gattung ermöglicht werden. Zu diesem Zweck sollte eine Methodik entwickelt werden, mit Hilfe derer die isolierten und strukturell aufgeklärten triterpenoiden Inhaltsstoffe sich auch in anderen Arten schnell und ohne weitere Auftrennung der Extrakte nachweisen lassen.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Material

#### 2.1.1. Pflanzenmaterial

In dieser Arbeit wurden verschiedene Arten der Gattung *Aglaiia* (Familie: Meliaceae; Ordnung: Aglaieae; Klasse Melioideae) bearbeitet.

Das für die Extraktion, die Isolierung der Reinsubstanzen und für die Screening-Tests verwendete Pflanzenmaterial stammt aus Lokalitäten in China, Indonesien und Vietnam. Die Tabelle 2.1.1.1. listet die jeweiligen Herkunftsorte des getrockneten Pflanzenmaterials bzw. der bereits vorbereiteten Extrakte auf.

**Tabelle 2.1.: Herkunftsorte des verwendeten Pflanzenmaterials bzw. der Extrakte**

Art	Pflanzenorgan:	Lösungsmittel der Extraktion	Herkunftsort
<i>A. chittagonga</i>	Zweige	Hexan	Vietnam
<i>A. cordata</i>	Zweige	Hexan	Indonesien
<i>A. cucculata</i>	Zweige	Hexan	Indonesien
<i>A. dasyclada</i>	Rinde	Hexan	China
<i>A. duppereana</i>	Blätter	Hexan	Vietnam
<i>A. duppereana</i>	Blüten	Hexan	Vietnam
<i>A. duppereana</i>	Rinde	Hexan	Vietnam
<i>A. duppereana</i>	Wurzeln	Hexan	Vietnam
<i>A. duppereana</i>	Zweige	Hexan	Vietnam
<i>A. euphoroides</i>	Blätter	Hexan	Vietnam
<i>A. euphoroides</i>	Früchte	Hexan	Vietnam
<i>A. ignea</i>	Rinde	Hexan/MeOH	Indonesien
<i>A. macrocarpa</i>	Rinde	Hexan	Vietnam
<i>A. odorata</i>	Blätter	Hexan	Indonesien
<i>A. perviridis</i>	Zweige	Hexan	Vietnam
<i>A. pleuroptiris</i>	Zweige	Hexan	Vietnam
<i>A. polystichya</i>	Blätter	Hexan	China
<i>A. polystichya</i>	Rinde	Hexan	China
<i>A. roxburghiana</i>	Zweige	Dichlormethan	Vietnam
<i>A. rivularis</i>	Rinde	Hexan	Indonesien
<i>A. tsangii</i>	Blätter	Hexan	China

### 2.1.2. Chemikalien und Reagenzien

Chemikalien aus dem Chemikalienlager der Heinrich Heine Universität wurden in technischer Qualität bezogen und vor Gebrauch destilliert.

Für spektroskopische Messungen wurden die entsprechenden Lösungsmittel mit höherer Qualität von den jeweiligen Firmen bezogen.

<b>Aceton</b>	<b>Merck, Chemikalienlager der HHU</b>
<b>Acetonitril</b>	<b>Merck</b>
<b>AgarAgar</b>	<b>Galke</b>
<b>Anisaldehyd</b>	<b>Acros Organics</b>
<b>L-(+)-Ascorbinsäure</b>	<b>Caesar &amp; Loretz GmbH</b>
<b>Dichlormethan</b>	<b>Merck, Chemikalienlager der HHU</b>
<b>Essigsäure (99-100%)</b>	<b>Riedel-de Haën</b>
<b>Ethylacetat</b>	<b>Chemikalienlager der HHU</b>
<b>Formaldehyd (37%; p.a.)</b>	<b>Merck</b>
<b>Gentamycinsulfat</b>	<b>Serva</b>
<b>i-Propanol</b>	<b>Merck</b>
<b>n-Hexan</b>	<b>Baker; Chemikalienlager der HHU</b>
<b>Methanol</b>	<b>Chemikalienlager der HHU</b>
<b>Nipagin (<i>p</i>-Hydroxybenzoesäureethylester)</b>	<b>SIGMA Chemical Co.</b>
<b>Phosphorsäure (85%)</b>	<b>Bernd Kraft GmbH</b>
<b>Schwefelsäure (95-97%)</b>	<b>Riedel-de Haën</b>

### 2.1.3. Geräte und Materialien

Je nach chromatographischem Problem kamen verschiedene Verfahren zum Einsatz. Für die Analytik wurde dabei neben der Dünnschichtchromatographie die analytische Hochleistungschromatographie (HPLC) und die Massenspektroskopie in Verbindung mit der Gaschromatographie durchgeführt.

Für die Naturstoffisolierung wurden, je nach Trennproblematik ebenfalls verschiedene chromatographische Verfahren angewandt (siehe unter 2.2.). Folgende Geräte und Materialien wurden verwendet.

### **2.1.3.1. Dünnschichtchromatographie**

Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel wurde sowohl analytisch als auch zu präparativen Zwecken eingesetzt.

**DC-Fertigplatte, Kieselgel 60 F<sub>254</sub> mit  
Fluoreszenzindikator;  
Schichtdicke: 0.2 mm** **Merk**

**DC-Fertigplatte, RP 18 F<sub>254</sub> S mit  
Fluoreszenzindikator;  
Schichtdicke: 0.25 mm** **Merk**

Zur Detektion der Substanzen auf den DC-Platten, die keine Fluoreszenzlösung oder Eigenfluoreszenz bei 366 nm bzw. 254 nm besitzen, kam Anisaldehyd-Sprühreagenz zum Einsatz. Nach dem Besprühen wurde auf der Heizplatte bei ca. 100°C bis zur Farbentwicklung erhitzt.

Zusammensetzung des Anisaldehyd-Sprühreagenzes (pro ca. 100ml):

- 85ml Methanol
- 10 ml Eisessig
- 5 ml Schwefelsäure
- 0.5 ml Anisaldehyd

### 2.1.3.2. Flüssigkeitschromatographie

Je nach Komplexität des zu trennenden Gemisches und in Abhängigkeit von der Menge der aufgetragenen Fraktion wurden Säulen verschiedener Größe verwendet. Dabei bewegte sich das Verhältnis Fraktion zu Säulenmaterial in der Regel im Bereich von 1:100 bis 1:1000.

<b>Kieselgel 60; Korngröße: 0.04-0.063 mm</b>	<b>Merck</b>
<b>RP 18; Korngröße: 0.04-0.063 mm</b>	<b>Merck</b>
<b>Sephadex LH-20; Korngröße: 0.025-0.10 mm</b>	<b>Sigma</b>

Zum Auffangen der Fraktionen bei der Flüssigkeitschromatographie kam ein ISCO-Fraktionssammler (Retriever II) zum Einsatz.

### 2.1.3.3. Vakuum-Flüssigkeitschromatographie

Für die Vakuums-Flüssigkeitschromatographie wurde ebenfalls das Kieselgel 60 (Korngröße: 0.04-0.063 mm; Merck) verwendet. Zum Aufbringen der Extrakte bzw. Fraktionen wurden diese mit einer geeigneten Menge Kieselgel 60 versetzt und dann in trockener Form als Pulver auf die Säule aufgebracht.

### 2.1.3.4. HPLC-Fließmittel

<b>Methanol LiChroSolv HPLC</b>	<b>Merck</b>
<b>NANOpur-Wasser; pH 2.0 (eingestellt mit o-Phosphorsäure p.a. (85%))</b>	<b>Institut für Geobotanik der Heinrich Heine-Universität Düsseldorf</b>

Zur Einstellung des Wassers auf einen pH-Wert von 2.0 wurde ein inoLab pH-Meter verwendet.

### **2.1.3.5. Analytische HPLC**

Folgende HPLC-Systeme wurden im Rahmen dieser Arbeit für analytische Zwecke verwendet:

Gynkotheke-HPLC:

Pumpen: Gynkotheke M40

Software: Gynkosoft (V 5.4)

Detektor: Gynkotheke UVD 340

Injektor: Gynkotheke Gina 50

Säulenofen: Gynkotheke STH 580

Dionex-HPLC:

Pumpen: Dionex P580

Software: Chromeleon (V 6.3)

Detektor: Dionex UVD 340 S

Injektor: Dionex Asi-100 automated sampler

Säulenofen: Dionex STH 585

### **2.1.3.6. Semipräparative HPLC**

Merck-Hitachi-HPLC:

Pumpen: Merck-Hitachi, LaChrom L-7100

Detektor: Merck-Hitachi, LaChrom L-7400

Schreiber: Merck-Hitachi, D-2000 Chromato-Integrator

### 2.1.3.7. MPLC

Als Säulenmaterial für die Mitteldruck-Flüssigkeits-Chromatographie wurde das Kieselgel 60 (s.o.) verwendet.

Büchi-MPLC:

Gradientenformer mit Mischkammer B-687

Fraktionssammler B-684

Säulengrößen: Id 26x460 und Id 49x230

### 2.1.3.8. Blitz-(Flash-) Chromatographie-System

Büchi Flash Chromatographie-System

Säulen:

12M Silikagel-Kartuschen

12M C-18-Kartuschen

### 2.1.3.9. GC-MS

Für die Detektion der terpenoiden Inhaltsstoffe in Hexan-Rohextrakten wurde eine mit Massenspektrometrie gekoppelte Gaschromatographie durchgeführt.

Gaschromatograph:

Hewlett Packard-GC: 5890 Series II Plus mit Splitinjektion

Massendetektor:

Hewlett Packard-MS: 5972 Series Mass Selective Detector (Ionisierungsenergie: 70 eV)

Steuerung über HP Chemstation (Hewlett Packard)

GC-Säule:

Optima 5 MS (Innendurchmesser: 0.25µm; Länge: 30m; Außendurchmesser: 0.25mm)	Macherey und Nagel
---	--------------------

Zur Methylierung der Säuregruppen einiger Triterpene kam das Methylierungsreagenz TMSH (Trimethylsulfoniumhydroxid; 0.2 M in Methanol) der Firma Macherey und Nagel zum Einsatz. Dieses Reagenz setzt Alkohole (insbesondere Phenole) aber auch Carbonsäuren um.

### **2.1.4. *Spodoptera littoralis* Kultur**

Als Versuchstiere zur Ermittlung insektizider Aktivitäten dienten Raupen des Nachtfalters *Spodoptera littoralis*. Die polyphagen Falter stammen aus einer seit Jahren etablierten Zucht.

#### **2.1.4.1. Kultivierung der Versuchstiere**

Die verschiedenen Entwicklungsstadien werden bei Temperaturen zwischen 25 und 28°C, und einer Licht/Dunkelphase von 16/8 h gehalten. Die relative Luftfeuchtigkeit ist auf 70-90 % eingestellt.

Die *Spodoptera*-Larven werden in Kunststoffboxen (20x20x10 cm) auf einer artifiziellen Diät unter optimalen Bedingungen gehalten. Dreimal wöchentlich werden die Raupen umgesetzt und mit frischem Futter versorgt. Vor der Metamorphose (am Ende des sechsten Larvalstadiums) werden die Präpuppen auf Vermiculit, ein Silikatmaterial, umgesetzt. Die Verpuppung der Raupen deutet sich an durch eine Verkürzung und Immobilität der Raupen. Durch das Umsetzen vermeidet man den sonst auftretenden Kannibalismus. Vermiculit eignet sich hier wegen seiner guten Wärmeisolationseigenschaften und des hygroskopischen Verhaltens gut als Kulturmedium [Rösler, 1987]. Ferner können sich die Larven, wie auch unter natürlichen Bedingungen eingraben [Gawaad & El-Gayar 1974]. Die bereits sklerotisierten Puppen werden bis zum Schlüpfen der Imago in unbelichteten Kulturschränken bei 25 bis 28°C bei hoher Luftfeuchtigkeit gehalten.

Die geschlüpften Falter werden im Kulturschrank im Licht/Dunkel-Zyklus in einem Kunststoffeimer kultiviert. Mit gesättigter Zuckerlösung getränkte Watte wird den Imagines in einer Petrischale als Futter bereitgestellt. Ziehharmonikaartig gefaltetes Filterpapier dient zur Eiablage. Aus dem Filterpapier lassen sich dann die Eigelege der Falter gut ausschneiden. Die Eipakete werden schließlich im dunklen Kulturschrank bis zum Schlüpfen der jungen

Raupen (Neonates) aufbewahrt. Mit dem noch ungefütterten, ersten Larvenstadium werden die Biotests durchgeführt.

### **2.1.4.2. Artifizielles Futter**

Die Bereitung des Kunstfutters für die Raupen erfolgt nach folgender Rezeptur (Shorey & Hale, 1965; Bowling, 1967; Dimetry, 1970).

- 150 g weiße Bohnen
- 460 ml Wasser
- 3.0 g L-(+)-Ascorbinsäure
- 3.0 g Nipagin (*p*-Hydroxybenzoesäureethylester)
- 180.0 mg Gentamycinsulfat (Aminoglycosid-Antibiotikum)
- 30.0 g Bäckerhefe
- 1.0 ml Formaldehydlösung
- 10.0 g Agar in 315 ml Wasser

Die Bohnen (*Phaseolus vulgaris*) beläßt man für 24 h im Wasser. Nach dem Quellen zerkleinert man die Bohnen mit Hilfe eines Küchenmixers. Anschließend fügt man die Ascorbinsäure, das Nipagin, das Gentamycinsulfat, die Hefe, sowie die Formaldehydlösung zu und verrührt gut.

Der Agar wird unter Rühren zum Kochen erhitzt. Nach dem Abkühlen auf 50°C gibt man die Agarlösung auf die Bohnenmasse und homogenisiert erneut. Anschließend lässt man die Diät bei Raumtemperatur erkalten. Das verfestigte Futter lässt sich dann 1 bis 2 Wochen im Kühlschrank aufbewahren, entsprechend länger im Gefrierschrank.

### **2.1.4.3. Artifizielle Diät für den Biotest**

In Variation zur Herstellung des Futters für die *Spodoptera*-Zucht, verwendet man zur Bereitung des Futters für die Biotests das Futter in gefriergetrockneter und pulverisierter Form, ohne Zugabe des Gentamycins und des Agars.

Für die Biotests werden 0,735 g des getrockneten Bohnenpulvers in 25 ml Bechergläsern eingewogen. Hierauf pipettiert man den zu testenden Extrakt, bzw. die Fraktion oder Reinsubstanz. Die homogene Verteilung wird durch 2 ml des verwendeten Lösungsmittels gewährleistet, welches mit dem Bohnenpulver verrührt wird. Anschließend lässt man den Ansatz über Nacht trocknen, bis das Lösungsmittel vollständig verdunstet ist. Nun gibt man Gentamycinsulfatlösung hinzu (0,75 mg in 1,41 ml Wasser). Anschließend verrührt man den Ansatz mit auf 50°C abgekühlter Agarlösung (0,3 g Agar in 2,2 ml Wasser). Nach dem Erkalten der Futterpellets transferiert man diese in Kunststoffbecher. Hier werden jeweils 20 gerade geschlüpfte Raupen (erstes Larvalstadium, sog. „Neonates“) auf die Pellets (Frischgewicht der Futterstücke: 3.75 g) gesetzt. Die Becher werden mit Stofftüchern bespannt und bei hoher Luftfeuchtigkeit im Kulturschrank in Gruppen mit jeweils einer Kontrolle in Kunststoffboxen (20x20x10 cm) belassen.

#### **2.1.4.4. Berechnung der Überlebens- und Wachstumsraten**

Die Auswertung wurde nach jeweils einer Woche vorgenommen. Die Überlebens- und Wachstumsraten wurden bezogen auf die Kontrollen berechnet [Abbott, 1925].

Überlebensrate [%] =  $\frac{\text{Anzahl überlebender Versuchstiere}}{\text{Anzahl überlebender Kontrolltiere}} \times 100$

Wachstumsrate [%] =  $\frac{\text{Gewicht der Summe der Versuchstiere}}{\text{Gewicht der Summe der Kontrolltiere}} \times 100$

## **2.2. Methoden**

### **2.2.1. Extraktion des Pflanzenmaterials**

Für die Isolierung der Reinsubstanzen und die Screening-Tests wurden je 30 g des getrockneten und mit der Kaffeemühle fein gemahlene Pflanzenmaterials der jeweiligen *Aglaia*-Arten mit dreimal je 200 ml n-Hexan extrahiert. Die Extraktion fand unter Rühren auf Magnetplatten statt. Die Extraktion dauerte insgesamt ca. 24 Stunden.

Im Falle der Rinde von *Aglaia ignea* wurde auch mit Aceton und Methanol extrahiert, um den größten Teil der in der Pflanze enthaltenen Naturstoffe in Lösung zu bekommen. Zu diesem Zweck wurden 1.5 Kilogramm der getrockneten Rinde mit der Mühle fein gemahlen und erschöpfend zuerst mit Aceton und anschließend mit Methanol unter Rühren über Nacht extrahiert. Die vereinten Fraktionen ergaben 76g Rohextrakt.

### **2.2.2. Naturstoffisolierung**

#### **2.2.2.1. Ausschütteln mit Lösungsmitteln verschiedener Polarität**

Um eine erste grobe Trennung der Inhaltsstoffe zu erzielen, wurde im Falle von *Aglaia ignea* der kombinierte Aceton/Methanol-Extrakt mit Lösungsmittel unterschiedlicher Polarität ausgeschüttelt. Bei dieser Methode nutzt man die verschiedenen Löslichkeitseigenschaften der Pflanzeninhaltsstoffe aus.

In einem Scheidetrichter wird der methanolisch-wässrige Rohextrakt zuerst mit dem lipophilen Lösungsmittel n-Hexan in einem Scheidetrichter ausgeschüttelt. Die untere Phase (Methanol/Wasser) wird erneut mit der gleichen Menge Hexan versetzt und wieder ausgeschüttelt. Nach dreimaliger Wiederholung des Vorganges werden die vereinten Hexanphasen mit einer methanolisch-wässrigen Lösung „gegengeschüttelt“.

Anschließend wird die methanolisch-wässrige Phase nach Einengen des Methanols dreimal mit Ethylacetat ausgeschüttelt. Die vereinten Ethylacetat-Phasen werden wiederum einmal mit Methanol/Wasser gegengeschüttelt.

Zur weiteren Bearbeitung wurde im Falle von *Aglaia ignea* nach dem Screening nach insektizider Aktivität (siehe unter 2.2.2.9.) die Ethylacetatphase zur Isolierung der aktiven Verbindungen herangezogen.

### **2.2.2.2. Vakuum-Flüssigkeits-Chromatographie**

Bei der Vakuum-Flüssigkeitschromatographie wird eine Pumpe verwendet, um in einer Säule Unterdruck zu erzeugen. Über die mit Kieselgel befüllte Säule werden sukzessive Lösungsmittel bzw. Lösungsmittelgemische mit zunehmender Polarität gegeben. Das Eluat wird dann jeweils in Rundkolben aufgefangen.

### **2.2.2.3. Flüssigkeitschromatographie**

Bei der herkömmlichen Flüssigkeitschromatographie wird eine Fraktion auf ein Sorbens aufgebracht und anschließend mit einem Lösungsmittel bzw. Lösungsmittelgemisch eluiert. Die Fraktion wird flüssig in einem Lösungsmittelverhältnis auf die Säule gegeben, mit welchen schließlich eluiert wird. In einem Stufengradienten lässt sich die Polarität des Lösungsmittels verändern.

Hier wurden verschiedene Sorbentien verwendet. Sephadex-Material sorgt durch seine porenartige Struktur für eine Auftrennung der Fraktion nach dem Molekulargewicht, bzw. der Größe der Moleküle. Das polare Kieselgel, genauso wie das RP-18 Säulenmaterial trennen die Fraktionen gemäß ihrer Polarität.

### **2.2.2.4. Mitteldruck-Chromatographie (MPLC)**

Im Falle der Mitteldruck-Chromatographie wird das Eluens mit Druck (ca.1-40 bar) über die Säulenmaterialien gegeben. Hier diente als Sorbens Kieselgel 60. Mit einem Gradientenformer ist es möglich die Lösungsmittelverhältnisse stufenlos zu variieren. Durch den erhöhten Druck ist das jeweilige Sorbens dichter gepackt, was eine bessere Trennleistung zur Folge hat. Ferner bewirkt der erhöhte Druck eine Beschleunigung der Chromatographie.

Die MPLC wurde mit Gradienten aus 100% Hexan bis 100% Dichlormethan und dann von 100% Dichlormethan bis 100% i-Propanol (oder Methanol) betrieben.

### **2.2.2.5. Blitz-(Flash)-Chromatographie**

Die Blitz- oder Flash-Chromatographie ist ein einfaches und effizientes System bei dem mit Druckluft ebenfalls ein erhöhter Druck erzeugt wird, welcher das Eluent über die beladene Säule drückt. Die Säule besteht aus, im Handel erhältlichen Fertiggartuschen, die hier mit Kieselgel betrieben wurden. Bei dieser Form der Chromatographie kann das Lösungsmittel stufenförmig angepasst werden.

In dieser Arbeit haben im Polaritätsbereich der isolierten Terpene Lösungsmittelgemische mit Dichlormethan und Methanol in einem Verhältnis von 100:0 bis 94:4 bewährt. Anschließend wurde das System stets mit Methanol gespült, um auch die polareren Substanzen zu eluieren.

### **2.2.2.6. Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC)**

Das Prinzip der Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie entspricht der MPLC, nur der Druck, mit welchem in einem stufenlos regelbaren Gradienten eluiert wird ist noch deutlich höher. Das hat zur Folge, dass das Sorbens (hier RP-18-Material) entsprechend noch feiner und dichter gepackt ist, was in einer noch besseren Trennleistung resultiert. Durch einen Säulenofen können bei der HPLC die Bedingungen weitgehend konstant gehalten werden. Das führt zu reproduzierbaren Ergebnissen bei der analytischen HPLC. Zur Detektion wurden in dieser Arbeit Dioden-Array-Detektoren verwendet. Damit ist es möglich simultan bei verschiedenen Wellenlängen neben den Substanzsignalen auch die Absorptionsspektren der einzelnen Naturstoffe in den Proben darzustellen.

Mit der HPLC lässt sich analytisch mit kleineren Säulen, aber auch präoperativ mit entsprechend größeren Säulen arbeiten. Ein Schreiber bzw. ein Integrator visualisiert die Eluierung eines mehr oder weniger isolierten Peaks in der Fraktion, der dann manuell abgegriffen und getrennt aufgesammelt werden kann.

### **2.2.2.7. Präparative Dünnschicht-Chromatographie**

Neben der Verwendung von DC-Platten zu analytischen Zwecken kann die Dünnschichtchromatographie auch präparativ eingesetzt werden. Dabei wird eine Platte über die ganze Breite bandenförmig in hoher Konzentration mit der Fraktion beladen. Ein zuvor analytisch optimiertes Lösungsmittelverhältnis transportiert schließlich das Substanzgemisch über Kapillarkräfte auf der Platte in Richtung Fließmittelfront. Präparative Dünnschicht-Chromatographie wurde in dieser Arbeit ausschließlich auf Kieselgelplatten durchgeführt. Die einzelnen Substanzbanden werden von der Aluminiummatrix zusammen mit der Sorbensschicht gekratzt und dann mit einem geeigneten Lösungsmittel aus dem Kieselgel gelöst und abfiltriert.

Bei Substanzen, die keine Farbe auf der Platte und weder eine Löschung noch eine Eigenfluoreszenz unter dem UV-Betrachter zeigen können die Randbereiche der entwickelten DC mit Sprühreagenz (hier Anisaldehyd-Reagenz) besprüht werden, um die Zonen zu detektieren.

### **2.2.2.8. Isolierungsschemata**

Zur Isolierung der Naturstoffe fanden die oben beschriebenen Methoden Anwendung. Die Abbildungen 2.1. bis 2.4. zeigen die Isolierungsschemata, die zur Isolierung der einzelnen Naturstoffe, bzw. Naturstoff-Gemische geführt haben. In den Isolierungsschemata indizieren die Zahlen die Fraktionen, die jeweils aus den vereinigten Fraktionen bestehen, die in der dünnschichtchromatographischen Analytik ein ähnliches Inhaltsstoffmuster zeigten. Dabei werden nur die Nummer der letzten Fraktion, sowie die Fraktionen, die weiter bearbeitet wurden, gezeigt. Die Zahlen in eckigen Klammern verweisen auf die isolierten Reinsubstanzen, deren strukturelle Aufklärung im Ergebnisteil erläutert wird. Daneben werden die chromatographischen Verfahren und die Sorbentien über welche aufgetrennt wurde gezeigt.

# Material und Methoden

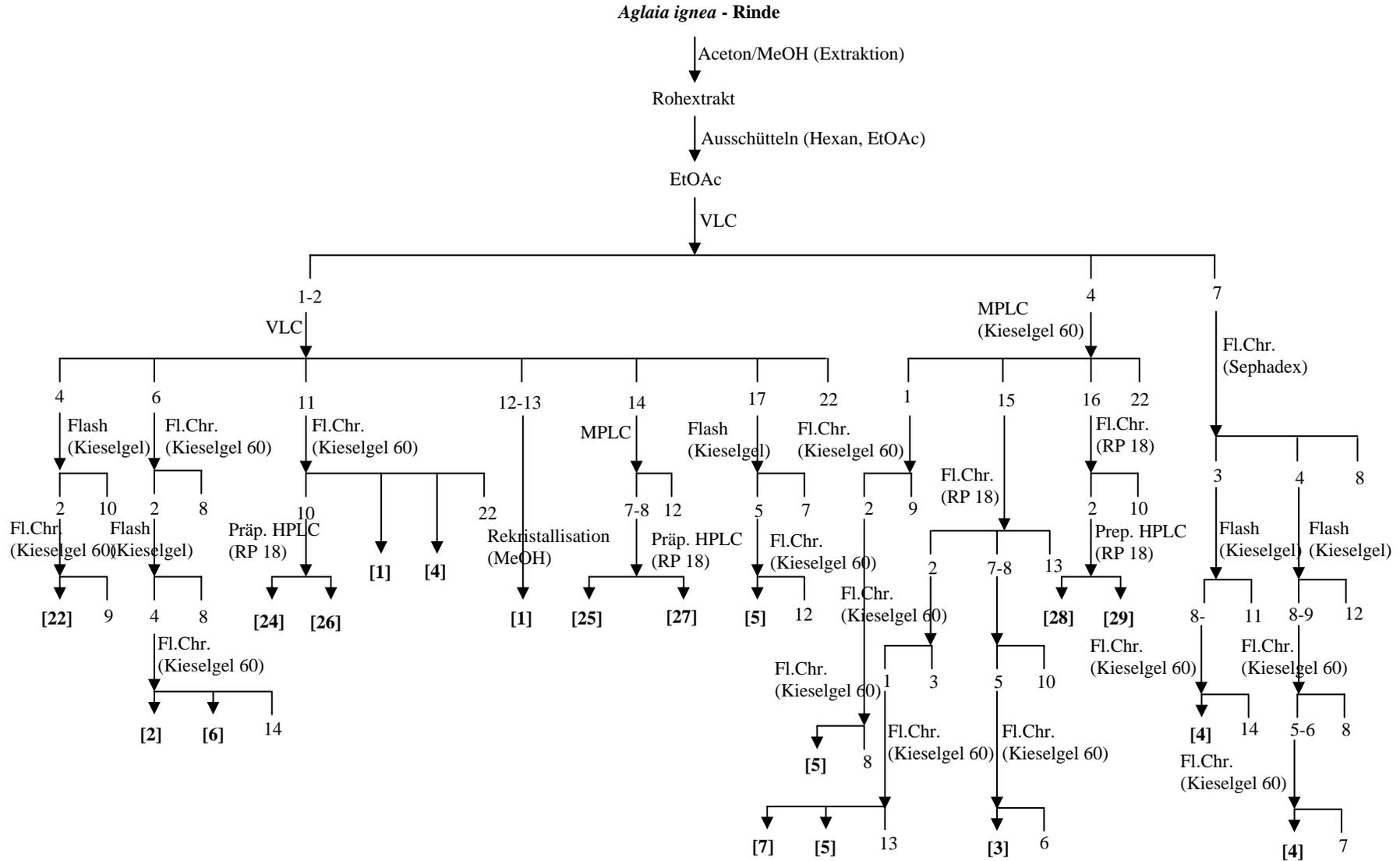
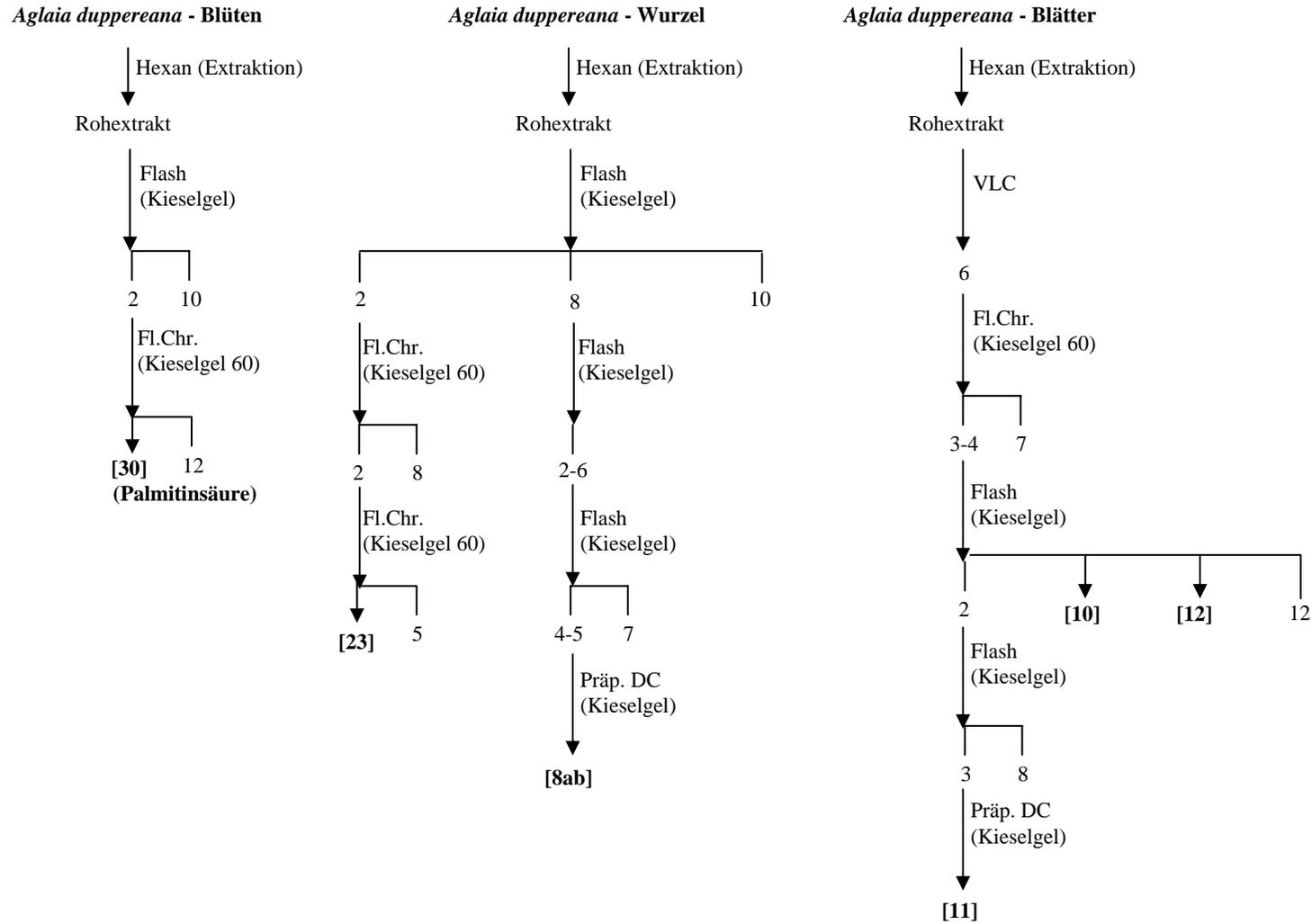


Abbildung 2.1.: Isolationschema zur Isolierung der Naturstoffe aus *Aglaia ignea*

## Material und Methoden

---



**Abbildung 2.2.: Isolationsschema zur Isolierung der Naturstoffe aus *Aglaia duppereana***

## Material und Methoden

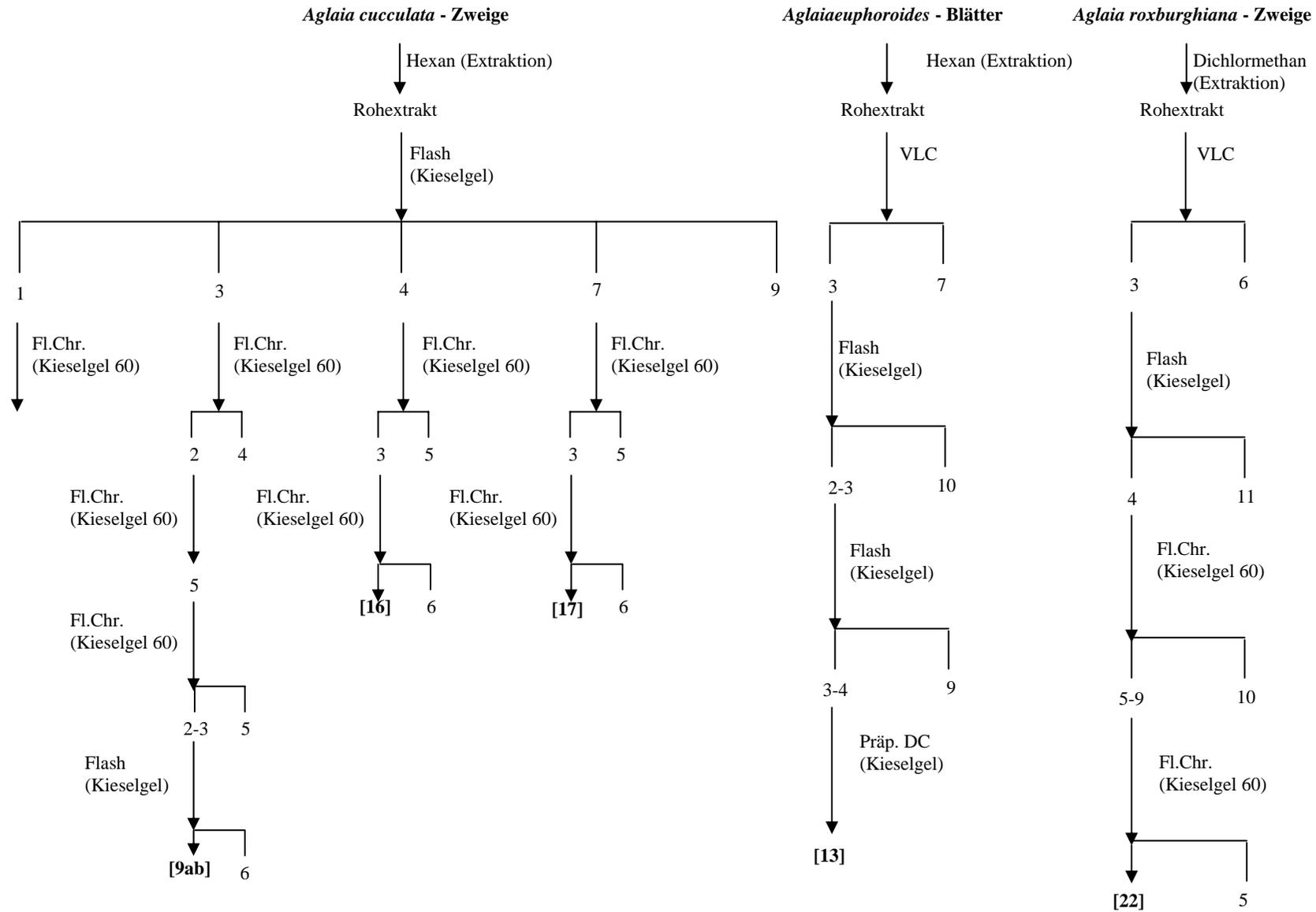


Abbildung 2.3.: Isolationsschemata zur Isolierung der Naturstoffe aus *Aglaia cucullata*, *A. euphoroides* und *A. roxburghiana*

## Material und Methoden

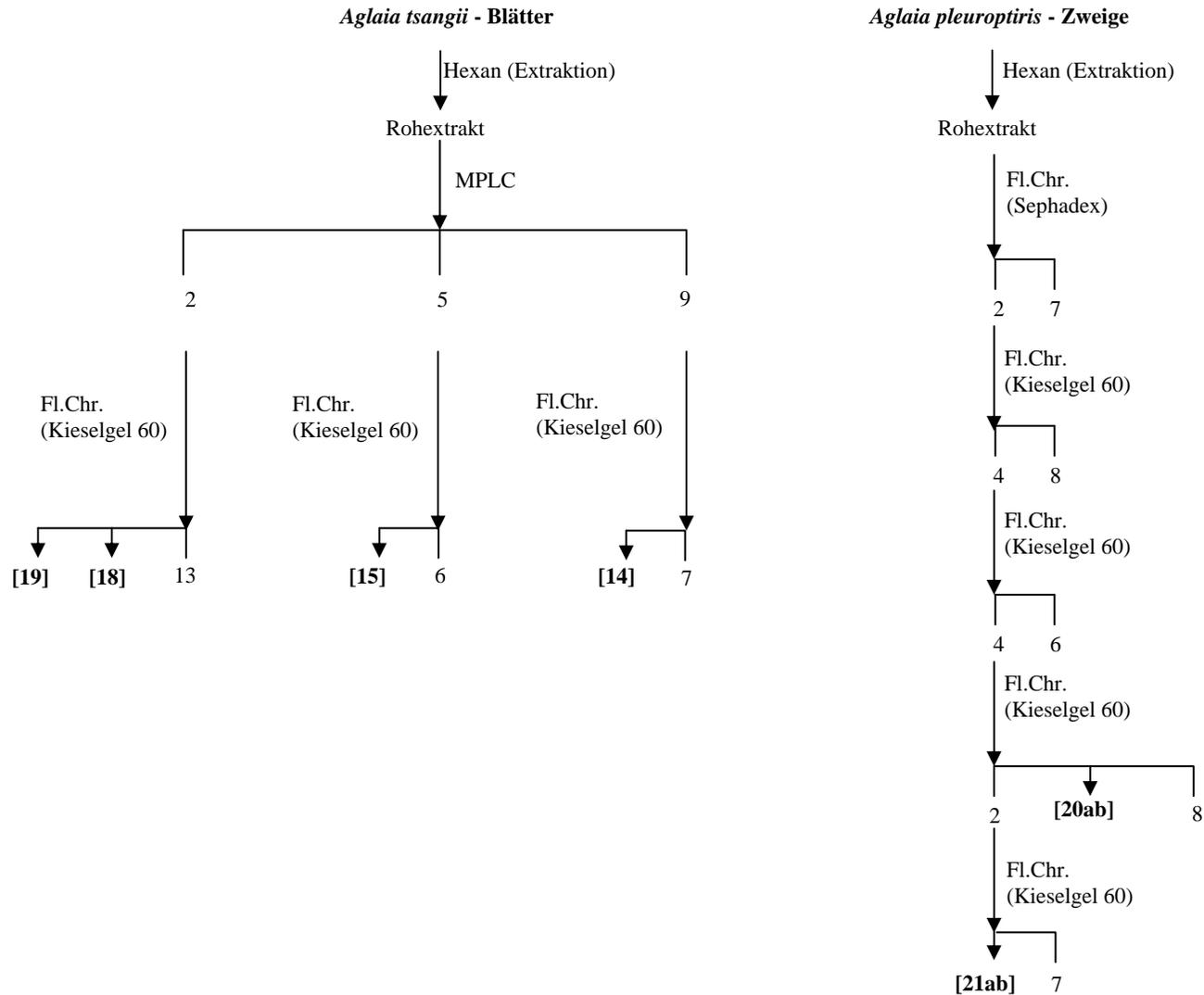


Abbildung 2.4.: Isolationsschemata zur Isolierung der Naturstoffe aus *Aglaia tsangii* und *A. pleuroptiris*

### 2.2.2.9. Biotestergebnis-gesteuerte Isolierung

Im Falle der Isolierung der Rocaglamid-Derivate (Verbindungen [24], [25], [26] und [27]) wurden die Resultate aus den Tests auf insektizide Aktivität an *Spodoptera littoralis* zur gezielten Suche nach diesen aktiven Naturstoffen verwendet. Nach den entsprechenden Trennungsschritten (siehe Isolierungsschema im Anhang 5.1.) wurde jeweils mit den aktiven Fraktionen weiter gearbeitet, was schließlich zur Isolierung der aktiven Substanzen führte.

Auf diese Weise wurden die Fraktionen nach dem Ausschütteln mit Lösungsmitteln verschiedener Polarität und der Vakuums-Flüssigkeits-Chromatographie getestet. Im weiteren Verlauf der Isolierung wurden dann die für Rocaglamid-Derivate typischen UV-Spektren (mit Absorptionsmaxima bei ca. 210 nm) der Dioden-Array-Detektion zu Hilfe genommen, um die Rocaglamide zu isolieren. Da Rocaglamide im Pflanzenmaterial in sehr geringen Konzentrationen vorkommen und in den HPLC-Chromatogrammen in der Regel nicht zu sehen sind, ist zu Beginn der Isolierung die Orientierung an den Biotest-Ergebnissen das Mittel der Wahl.

### 2.2.3. Strukturaufklärung

Die Strukturaufklärung geschah unter Zuhilfenahme von Literaturdaten im Vergleich zu den Ergebnissen aus der NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie. Als weiterer Parameter wurde von den meisten Verbindungen, mit Ausnahme derer, die wegen Instabilität zersetzt wurden, die optische Drehung bestimmt.

#### 2.2.3.1. Bestimmung der optischen Drehung $[\alpha]_D^{20}$

Die Bestimmung der optischen Drehung wurde mit einem Polarimeter 341 LC der Firma Perkin-Elmer bei 20°C und einer Wellenlänge von 589 nm in einer Quarzküvette (Schichtdicke 1 dm; Mikrozelle 0.35 ml) durchgeführt. Als Lösungsmittel dienten Chloroform bzw. Methanol in p.A. Qualität für die Spektroskopie (Merck).

### 2.2.3.2. Massenspektrometrie

Die Massenspektrometrie diente in dieser Arbeit v.a. zur Bestimmung der Molekülmasse und der Summenformel der isolierten Naturstoffe. Des Weiteren wurden jedoch auch Informationen der Molekülfragmentierung zur Strukturaufklärung herangezogen.

Für die verschiedenen isolierten Verbindungen erwiesen sich die „Elektron Impact“ (EI), die „Elektron Spray“ (ESI) oder die „Fast Atom Bombardment“ (FAB) Massenspektrometrie als geeignet.

Die Messungen zur Bestimmung der Molekülmassen wurden von Dr. Albrecht Berg am Hans-Knöll-Institut für Naturstoffforschung in Jena, ferner im „State Key Laboratory of Natural and Biomimetic drugs“ in Peking sowie bei der Gesellschaft für Biotechnologische Forschung in Braunschweig durchgeführt.

Ein Großteil der EIMS und FABMS, sowie die hochauflösenden EIMS-Messungen und einige GCMS-Messungen wurden von Dr. Peter Tommes im Institut für Anorganische Chemie und Strukturchemie gemessen.

### 2.2.3.3. NMR-Spektroskopie

Die ein- ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT (bzw. APT)) und zweidimensionalen (COSY, HMQC und HMBC, ROESY) NMR-Messungen wurden am Institut für Anorganische Chemie und Molekulare Chemie an der HHU Düsseldorf, bei der Gesellschaft für Biotechnologischen Forschung (GBF) bei Dr. Victor Wray in Braunschweig und an der Normal University von Prof. Dr. Deng in Peking durchgeführt.

Ausgewertet wurden die Spektren mit der Win-NMR-Software der Firma Bruker.

#### Verwendete deuterierte Lösungsmittel:

<b>Chloroform (<math>\text{CDCl}_3</math>)</b>	<b>Merck</b>
<b>Dichlormethan (<math>\text{CD}_2\text{Cl}_2</math>)</b>	<b>Merck</b>
<b>Methanol (<math>\text{CD}_3\text{OD}</math>)</b>	<b>Merck</b>
<b>Pyridin (<math>\text{C}_5\text{D}_5\text{N}</math>)</b>	<b>Merck</b>

#### **2.2.3.4. „Molecular Modelling“**

Das „Molecular Modelling“ wurde von Herrn PD. Dr. Thomas Schmidt und von Herrn Ak mit der „Molecular Operations Environment“ (MOE) Software durchgeführt.

#### **2.2.3.5. Kristallographie**

Verbindung [1] wurde in Methanol im Kühlschrank langsam umkristallisiert. Dadurch konnten geeignete Kristalle für die Röntgenstrukturanalyse gewonnen werden.

Die Röntgenstruktur-Analyse der Verbindung [1] wurde in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Walter Frank im Institut für Anorganische Chemie und Strukturchemie II der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf durchgeführt. Wichtige Messparameter sind dem Anhang 5.1. zu entnehmen.

#### **2.2.4. Detektion**

##### **2.2.4.1. Dünnschichtchromatographische Analytik**

Die in dieser Arbeit isolierten terpenoiden Verbindungen wurden mit Hilfe der Dünnschicht-Chromatographie nach Besprühen mit Anisaldehyd-Reagenz in den Extrakten und Fraktionen detektiert. Das Fließmittelsystem wurde dabei auf den entsprechenden Polaritätsbereich der Naturstoffe optimiert. Als geeignet erwies sich ein Fließmittelgemisch von Dichlormethan und Methanol im Verhältnis von 96:4. Für die polareren Fraktionen wurde ein Verhältnis von 92:8 gewählt.

Die Rohextrakte sowie die nach den verschiedenen chromatographischen Trennungsschritten erhaltenen Fraktionen wurden auf diese Weise mittels Dünnschicht-Chromatographie getestet. Ähnliche Fraktionen wurden vereint.

##### **2.2.4.2. Gaschromatographie-Massenspektrometrie**

Zum Nachweis des größeren Teils der isolierten triterpenoiden Verbindungen wurde die Gaschromatographie in Kombination mit der Massenspektrometrie angewandt.

Für die gaschromatographische Analytik der verschiedenen *Aglaia*-Extrakte wurden Parameter verwendet, wie von Papageorgiou *et al.* [1997] für die Trennung von Triterpensäuren beschrieben:

Injektor-Temperatur: 280°C

Trägergas: Helium

Flussrate: 0.672 ml/min

Split-Fluss: 70 ml/min

Temperatur-Gradient:

- 180°C für 0.5 min
- 180°C – 240°C bei 5°C min<sup>-1</sup>
- 240°C – 300°C bei 2°C min<sup>-1</sup>
- 300°C für 15 min

Die Reinsubstanzen wurden vor der Injektion in einer Konzentration von 1.0 mg/ml in Ethylacetat im Verhältnis 1:1 mit dem Methylierungsreagenz TMSH gemischt. Das Injektionsvolumen betrug 1µl.

Die Hexanextrakte wurden in einer Konzentration von 10.0 mg/ml in Ethylacetat im Verhältnis 1:1 mit dem Methylierungsreagenz TMSH gemischt. Auch hier wurde 1µl Lösung injiziert.

Um abschätzen zu können inwiefern die von der Software gelieferten Angaben über die prozentuale Übereinstimmung der Massenspektren die Zuordnung zu den in dieser Arbeit in einer Spektrenbibliothek archivierten Spektren der triterpenoiden Reinsubstanzen zulässt wurde exemplarisch Lupeol in geringer Konzentration injiziert. Die effektive Konzentration kann hier nicht bestimmt werden, da es zu Verlusten über ein defektes Septum gab. Die Übereinstimmung ergab hier einen Wert von 17 Prozent für das Lupeol. In der Trefferliste wurde in diesem Fall nur noch Lupeon, also das strukturell ähnlichste Derivat, mit einer Übereinstimmung von 7 Prozent aufgelistet. Aus Zeitgründen und aufgrund eines Defektes am Gerät konnten keine weiteren Messungen durchgeführt werden, die eine Einschätzung der

Vertrauenswürdigkeit der Prozentangabe zulassen. Das Beispiel Lupeol spricht aber dafür, dass die Identität einer Verbindung in niedriger Konzentration auch bei geringer Übereinstimmung der Spektren gegeben ist. Insbesondere durch die zusätzliche Übereinstimmung der Retentionszeit. Außerdem werden für die getesteten Reinsubstanzen in hoher Konzentration gegebenenfalls weitere Übereinstimmungen nur im Bereich von maximal 2 Prozent gelistet.

### 2.2.4.3. Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie

Für die analytische HPLC wurde ein Standardgradient verwendet (siehe Tabelle 2.2.). Die Säulentemperatur betrug 20°C. Chromatographiert wurde bei einer Flussrate von 1 ml/min.

**Tabelle 2.2.: Fließmittelgradient für die analytischen HPLC**

<b>Zeit [min]</b>	<b>Methanol [%]</b>	<b>Wasser [%]</b>
0	30	70
5	46	54
8	48	52
22	48	52
30	56	44
35	60	40
40	100	0
50	100	0

Für die präparative HPLC wurde vorerst analytisch ein Gradient optimiert, bevor mit der größeren Säule präparativ gearbeitet wurde.

## **2.2.5. Tests auf biologische Aktivität**

### **2.2.5.1. Test auf insektizide Aktivität an *Spodoptera littoralis***

Die Verbindung [1], die in großer Menge zur Verfügung stand, wurde an frisch geschlüpften Raupen, den sog. „Neonates“ des polyphagen Falters *Spodoptera littoralis* auf eine mögliche insektizide Aktivität getestet.

Es wurden 0.5 mg bzw. 1.0 mg der Verbindung in die artifizielle Diät (siehe unter **2.1.4.1.2.**) inkorporiert und an 20 „Neonates“ verfüttert. Für beide Konzentrationen wurden je drei Ansätze getestet. Die Wachstumsraten der Raupen wurden schließlich nach 7 Tagen im Vergleich zum Mittel aus drei Kontrollen (ohne Substanz) bestimmt.

### **2.2.5.2. Test auf antibiotische Aktivität**

Zum Test auf antibiotische Wirksamkeit wurden einige Verbindungen in Würzburg im Institut für Molekulare Infektionsbiologie an den gram-positiven Bakterien *Bacillus subtilis* 168 (BS), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (SA), am gram-negativen Bakterium *Escherichia coli* ATCC 25922 (EC) und an *Candida albicans* (CA)-Kulturen (Hefepilz) getestet. Dabei wurde die antibiotische Aktivität anhand des Durchmessers der gebildeten Hemmhöfe in den Kulturen bestimmt.

Das Luria-Bertoni-Agarplatten-Medium für die Bakterien (SA, BS und EC) setzt sich wie folgt zusammen:

- 10.0 g Trypton
- 5.0 g Hefeextrakt
- 10.0 g NaCl
- 15.0 g Agar
- Destilliertes Wasser (auf 1000.0 ml)

Das Medium wird auf pH 7.0 eingestellt. Das Flüssigmedium wird anschließend mit den Mikroorganismen beimpft und über Nacht bei 37°C gehalten.

Für den Hefepilz CA setzt sich das Medium aus den folgenden Bestandteilen zusammen:

- 3.0 g Hefeextrakt
- 3.0 g Malzextrakt
- 5.0 g Pepton
- 10.0 g Glucose
- Destilliertes Wasser (auf 1000.0 ml)

Das Medium wird mit dem Hefepilz beimpft und über Nacht bei Raumtemperatur (ca. 27°C) gehalten.

Am darauf folgenden Tag werden die beimpften Flüssigmedien mit Impfösen auf Agarplatten aufgetragen.

Die zu testende Substanz wird mit Hilfe von Filterpapierdisks im Durchmesser von 5 mm auf die beimpften Agarplatten gebracht. Vor der Applikation der Filterpapierdisks lässt man das Lösungsmittel vom Filterpapier verdampfen. Nach dem Wachsen der Mikroorganismen (nach 24 h) werden Hemmhöfe um die Filterpapierdisks als positive Reaktion gewertet.

Getestet wurden die Secodammarane [1], [3] und [5], sowie die beiden stereoisomeren Lignane [28] und [29]. Dabei wurden jeweils 5 µl bzw. 10 µl einer 2.5 mg/ml Lösung auf das Filterpapier aufgetragen. Das resultiert in einer Ladekonzentration von 12.5 µg bzw. 25 µg.

### **2.2.5.3. Test auf Zytotoxizität**

Zytotoxizitätstests wurden an drei verschiedenen Zell-Linien in Mainz am Institut für Physiologische Chemie von der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Müller durchgeführt. Für die Tests der Secodammarane [1], [3] und [5] standen die Tumorzell-Linien L5178Y, Hela und PC12 zur Verfügung. Es wurde jeweils in DMSO gelöst und in den Konzentrationen 3µg/ml und 10µg/ml getestet.

Das Zellwachstum der getesteten Kulturen wurde durch Zählung der Zellen mit einem Cytocomp-Zähler (128 Kanal Zähler; System Michaelis, Mainz) mit einem 32-Kanal Größenverteilungs-Plotter bestimmt.

### **2.2.5.4. Test auf fungizide Aktivität**

#### **2.2.5.4.1. Autobiographischer Biotest**

Die Secodammarane [1], [3], [4] und [5] wurden in einem autobiographischen Biotest auf ihre fungizide Aktivität gegenüber dem phytopathogenen Pilz *Cladosporium herbarum* getestet. Bei diesem Test wurden 10µg der Reinsubstanz auf eine Kieselgel-DC-Platte getüpfelt. Die DC-Platte wurde auf eine Petrischale (Durchmesser 20 cm) geleckt und schließlich nach dem Verdunsten des Lösungsmittels mit einem Medium (siehe unten) bedeckt, welches mit Sporen des Pilzes infiziert ist. Nach zwei Tagen Inkubationszeit in einem feuchten, dunklen Schrank ist die DC-Platte mit einer dunklen Mycelschicht bedeckt. Bei einer Aktivität der getesteten Verbindungen ist eine weiße Hemmzone im Bereich der aufgetragenen Reinsubstanz zu erwarten.

Zusammensetzung des Mediums:

- 50.0 g Mannitose
- 50.0 g Saccharose
- 5.4 g Succinylsäure
- 3.0 g Hefeextrakt (Difco, USA) in warmem, destilliertem Wasser
- 0.1 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$
- 0.3 g  $\text{MgSO}_4$
- 10 mg  $\text{FeSO}_4$
- 10 mg  $\text{ZnSO}_4$
- destilliertes Wasser (auf 1000 ml)
- Agar (0.1%)

Anschließend wird das Nährmedium mit Ammoniaklösung auf pH 5.4 eingestellt. Die Nährlösung wird schließlich für 20 Minuten bei 120°C und 0.1 MPa autoklaviert.

#### **2.2.5.4.2. Agar-Diffusions-Test**

Die Verbindungen [2-5] und [7-19] wurden auf Disks aus sterilem Filterpapier (Durchmesser: 5 mm) in einer Ladekonzentration von 100 µg pipettiert. Nach Verdampfen des Lösungsmittels wurden die Filterpapierdisks auf Agarplatten platziert, die mit den pflanzenpathogenen Pilzen *Cladosporium herbarum* und *C. cucumerinum* infiziert wurden. Nach einer Woche wurden die Platten nach möglichen Hemmhöfen untersucht.

#### **2.2.5.4.3. Bestimmung der minimalen Inhibierungskonzentration**

Mit Hilfe einer Verdünnungsreihe wurde die minimale Inhibierungskonzentration (MIC) der Verbindung [1] bestimmt. Zu diesem Zweck wurde die Reinsubstanz (gelöst in Methanol) in ein Flüssigmedium (siehe unten) pipettiert. Das Medium wird mit dem Pilz infiziert. Bei der Konzentration, die der MIC entspricht, ist das Pilzwachstum gehemmt. Ausgewertet wurde nach 3 Tagen.

Zusammensetzung des Flüssig-Mediums:

- 1000.0 ml Infus aus gekochten Kartoffeln
- 20.0 g Glucose

Zur Herstellung des Kartoffel-Infuses werden 200 g geschälte und in kleine Stücke geschnittene Kartoffeln in 1000 ml Wasser für eine Stunde gekocht und anschließend durch ein feines Sieb filtriert.

Für den Test werden Schnappdeckel-Gläschen mit einem Gesamtvolumen von 6 ml (1 ml Probe, 4 ml Flüssigmedium, 1 ml Sporensuspension) für jede Konzentration bereitet.

Als Kontrolle wurde Nystatin, mit einer minimalen Inhibierungskonzentration (MIC) von 1.06 µg/ml, 1 ml Methanol statt der Probe, sowie als Negativkontrolle nur das Flüssigmedium mit den Sporen getestet.

### **2.2.5.5. Test auf antivirale versus zytotoxische Aktivität**

Die Tests auf antivirale Aktivität wurden im Institut für Molekulare und Medizinische Virologie der Universität Bochum in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Überla von Dr. Charles Esimone durchgeführt und die Methodik kann hier nur teilweise dargestellt werden. Getestet wurden die triterpenoiden Verbindungen [1-5] und [7-19]. Die Verbindung [6] stand nicht mehr zur Verfügung.

#### **2.2.5.5.1. Screening am lentiviralen HIV-1-Vektor (Vicl2dSB) und HeLa-Zellen**

Der initiale Screening-Test wurde an einem lentiviralen Vektor (Vicl2dSB) und HeLa-Zellen in einem Microtiter-Platten-Assay durchgeführt. Der Vektor überträgt ein Luciferase-Gen auf die Wirtszelle. Die Luciferase wird in infizierten Zellen exprimiert und die resultierende Lumineszenz kann mit Hilfe eines Luminometers bestimmt werden. Mit den zu testenden Substanzen vorinkubierte Vektoren werden dabei gegen Kontrollen (ohne Substanzen) getestet. So lässt sich die prozentuale Luciferase-Aktivität für die verschiedenen Verbindungen bestimmen.

Die sog. HeLa-„stable“- Zelllinie besitzt Luciferase-Gene, die permanent transduziert werden. Die Lumineszenz lässt sich wieder mittels Luminometer bestimmen. Bei Zellschädigung nach Zugabe aktiver Substanzen wird die Lumineszenz entsprechend reduziert. Auf diese Weise lässt sich eine zytotoxische Aktivität (TC<sub>50</sub>-Wert) der Verbindungen bestimmen und mit der antiviralen Aktivität (IC<sub>50</sub>-Wert) in Beziehung setzen.

Die Proben werden hierfür in DMSO gelöst und anschließend mit PBS (Phosphate Bufate Saline-Lösung; Invitrogen Corporation) 1:10 verdünnt. Dann wird mit einem D-MEM-Medium (4500 mg/ml Glucose + L-Glutamin-Pyruvat + 100mg/ml (Penicillin/Streptomycin 1:1); GIBCO, Invitrogen; ohne FCS) erneut 1:10 verdünnt. Von dieser Stammlösung (80µg/ml in 1% DMSO) wurden hier verschiedene Konzentrationen (für das Screening: 40µg/ml, 10µg/ml und 2µg/ml; bzw. 0.1µg/ml, 0.5µg/ml, 3µg/ml und 10µg/ml in weiteren Tests) bereitet. Diese Lösung wird 1:1 mit dem Vektor (je 100µl) gemischt und für 30 min bei 37°C vorinkubiert. Anschließend werden davon 50µl in je drei Ansätzen in die Microtiterplatte pipettiert, in welcher sich die Zellen der HeLa-Zelllinie (Zelldichte: 6x10<sup>3</sup>

Zellen/well) befinden. Dieser Ansatz wird schließlich bei 37°C und 5% CO<sub>2</sub> inkubiert, um die Zellen mit dem Vektor zu infizieren. Nach der Inkubationszeit von 2 Stunden wird D-MEM-Medium mit 10% FCS (Fetal Calf Serum; Invitrogen) hinzu pipettiert. Das Medium für die Verdünnungsschritte enthält einen entsprechenden DMSO-Anteil, um den Lösungsmittel-Einfluß konstant zu halten. Nach der Infektionszeit werden schließlich noch einmal je 50µl der Versuchslösung zu den Zellen hinzu pipettiert.

Parallel zu diesem Ansatz wird auf derselben Microtiter-Platte der Zytotoxizitäts-Test vorbereitet. Dazu wird in jeweils drei Replikaten je 100µl der Testkonzentrationen zur HeLa-„stable“-Zelllinie pipettiert.

Nach einer 2-tägigen Inkubationszeit bei 37°C und 5%-igem CO<sub>2</sub>-Anteil in der Luft wird schließlich die Lumineszenzbestimmung durchgeführt. Dazu wird der Überstand von den Zellen in den Microtiterplatten entfernt und die Zellen werden mit einem Lyse-Puffer (Promega, Pittsburgh, PA) lysiert. Die Messung findet dann im Luminometer (Orion Microplate Luminometer; Berthold Detection Systems) statt. Die prozentuale Luciferase Aktivität nach Applikation der Testsubstanz ergibt sich im Vergleich zur Luciferaseaktivität von Kontrollen ohne Behandlung mit der Verbindung (100% Luciferaseaktivität).

Die IC<sub>50</sub>- und TC<sub>50</sub>-Werte werden aus der sich ergebenden Geradengleichung berechnet, die durch die Datenpunkte (Mittelwert aus n=3) der Tests bei drei verschiedenen Konzentrationen definiert ist (Esimone, pers. Mitteilung). Aus dem Quotienten zwischen TC<sub>50</sub>- und IC<sub>50</sub>-Wert kann der Selektivitätsindex (S.I.) berechnet werden, der die selektive antivirale gegenüber der zytotoxischen Aktivität veranschaulicht.

### **2.2.5.5.2. Test am adenoviralen Vektor (AdOW126)**

Die Substanz [1], welche im Screening mit außergewöhnlicher Aktivität aufgefallen war, wurde auch am adenoviralen Vektor (AdOW126) getestet.

Dabei unterscheidet sich das Versuchsprotokoll nur hinsichtlich der Inkubationszeit vom Ansatz für den lentiviralen Vektor. Hier wurde statt der zwei Tage nur für einen Tag inkubiert.

### 2.2.5.5.3. Kinetische Studien am lentiviralen HIV-1-Vektor (Vicl2dSB)

Für die Abschätzung potentieller Wirkmechanismen ist eine Untersuchung der Effekte in Abhängigkeit von einer zeitlichen Variation der Applikation der zu testenden Substanz und des viralen Vektors interessant.

Dabei wurde hier das Standardprotokoll (siehe unter **2.2.5.5.1.**) mit einer 30-minütigen Präinkubation des Vektors mit der Probe (hier Verbindung [1]) mit zwei weiteren Versuchsansätzen verglichen. In einem Ansatz wurden der Vektor und die Probe gleichzeitig (ohne vorherige Inkubation) zu den Hela-Zellen pipettiert. In einem weiteren Ansatz wurden die Hela-Zellen vor Applikation der Probe über einen Zeitraum von 2 Stunden mit dem Vektor infiziert. Erst nach Waschen der Zelloberfläche wurde die Probe hinzugegeben. Damit wird ein möglicher Wirkmechanismus vor dem Eintritt des Vektors in die Wirtszelle eliminiert.

Als Positivkontrollen wurden einerseits ein Reverse-Transkriptase-(RT)-Inhibitor (PMPA: Tenovir Disoproxil Fumarat; 0.5  $\mu\text{M}$ ) und Anti-VSVG-Serum (Antikörper; Roche Molecular Biochemicals; handelsübliche Lösung 1:50 verdünnt; d.h. in einer finalen Verdünnung von 1:100 (Standardprotokoll (siehe unter **2.2.5.5.1.**)) getestet. Während PMPA als nukleotidanaloger RT-Inhibitor einen Wirkmechanismus nach dem Eintritt des Vektors in die Wirtszellen charakterisiert, verhindert das Anti-VSVG-Serum den Eintritt des Vektors in die Zellen. VSVG (Vesicular Stomatitis Virus G-Protein) ist ein Hüllprotein, welches den Vektor befähigt in sog.  $\text{CD4}^+$ -Zellen (u.a. auch Hela-Zellen) einzudringen. Das Serum stellt ein Antiserum gegen dieses Hüllprotein dar (Esimone, pers. Mitteilung).

Die Verbindung [1] wurde in diesem Experiment in einer Konzentration von  $3\mu\text{g/ml}$  getestet. Wie im Standardprotokoll (siehe unter **2.2.5.5.1.**) wurden die Positivkontrollen und die Probe in jedem Ansatz in jeweils drei Replikaten getestet. Zur Bestimmung der Zytotoxizität wurde auch hier, wie oben beschrieben die Luciferaseaktivität der „Hela-stable“-Zelllinie nach Applikation der Verbindung [1], sowie der beiden Positivkontrollen bestimmt.

### 2.2.5.5.4. Test am HIV-1-Wildtyp und der P4CCR5-Zelllinie

Die Verbindung [1] wurde darüber hinaus auch am HIV-1-Wildtyp auf antivirale Aktivität getestet.

Dieser Versuch wurde an der P4CCR5-Zelllinie und dem HIV-1-Wildtyp als Vektor und unter Bestimmung der durch Infektion vermittelten  $\beta$ -Galactosidase-Aktivität bzw. der Zellvermehrung (BrdU-Test zur Bestimmung der Zytotoxizität) durchgeführt.

Für die Bestimmung der Galactosidase-Aktivität wurde nach einer Inkubationszeit von 2 Tagen das Medium von den Zellen entfernt und diese einmal mit PBS (siehe oben) gewaschen. Zur Fixierung wurde dann 0.5 % Glutaraldehyd-Lösung gleichmäßig auf den Zellen verteilt und für 10 Minuten bei Raumtemperatur belassen. Anschließend wurde erneut dreimal mit PBS-Lösung gewaschen (1x kurz; 10 min; 1x kurz). Dann wird die X-Gal-Lösung auf die Zellen gegeben. Getestet wurde in Konzentrationen von 1 $\mu$ g/ml, 3 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml und 15 $\mu$ g/ml.

Bei diesem Test färben sich die infizierten Zellen blau und können gezählt werden. Die Werte werden schließlich auf die Kontrollen bezogen, bei denen keine Testsubstanzen mit vorinkubiert wurden. So lässt sich die Aktivität in Prozent der als 100% Aktivität angenommenen Kontrollen berechnen.

Die Bestimmung der Zytotoxizität wird in diesem Fall über einen Zell-Proliferations-ELISA-Test (BrdU) über Chemolumineszenz bestimmt. Diese Vitalfärbung besteht aus einer Doppelfärbung mit Fluoresceindiacetat und Ethidiumbromid. Hierbei wird die Membrandurchlässigkeit der Zellen bestimmt.

Die Zelllinie (P4CCR5) liegt in einer Dichte von  $6 \times 10^3$  Zellen in weißen 96-,well“-Platten (Cellstar) vor. Am nächsten Tag wird das Medium mit verschiedenen Konzentrationen der zu testenden Verbindung (1  $\mu$ g/ml, 3  $\mu$ g/ml, 10  $\mu$ g/ml und 15  $\mu$ g/ml) ersetzt. Anschließend inkubiert man für 2 Tage bei 37°C und 5% CO<sub>2</sub>, bevor die Zellen mit BrdU (5-Bromo-2'-deoxyuridin) für 19-22 Stunden bei 37°C markiert werden. Dann gibt man FixDenate (Roche Molecular Biochemicals) hinzu und inkubiert für weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur.

Nun fügt man Anti-BrdU POD-Lösung zur Markierung hinzu und inkubiert für 30 Minuten bei Raumtemperatur. Schließlich wird die Platte dreimal mit der Waschlösung gewaschen, bevor man das Substrat hinzu pipettiert und für drei Minuten inkubiert. Dann bestimmt man die Chemolumineszenz mit dem Luminometer.

Die Verbindung [1] wurde in Analogie zu dem unter **2.2.5.5.4.** beschriebenen Experiment auch am HIV-1-Wildtyp im Vergleich zu dem RT-Inhibitor PMPA hinsichtlich der antiviralen Aktivität bei unterschiedlichen Applikationszeiten untersucht.

### **2.2.5.5.5. Test am Respiratorischen Syncytialen Virus (RSV)**

Ebenfalls mit der Verbindung [1] wurde ein Test am RS-Virus (Respiratory Syncytial Virus) in Verbindung mit Hep-2-Zellen durchgeführt.

Auch bei diesem Test liegen die Zellen in einer Dichte von  $6 \times 10^3$  Zellen/well auf der Microtiter-Platte vor. Die Virenkonzentration liegt bei  $10^3$ /ml. Die Substanz wurde in den Konzentrationen 9.98 $\mu$ g/ml, 4.5 $\mu$ g/ml, 3 $\mu$ g/ml, 1.5 $\mu$ g/ml, 0.6 $\mu$ g/ml und 0.15 $\mu$ g/ml getestet. Alle Konzentrationen wurde wieder je dreimal getestet.

Der Virus wird für den Test mit den Proben für 30 Minuten bei 37°C vorinkubiert. In den Kontrollen dagegen wird der Virus lediglich mit dem D-MEM-Medium mit 5% FCS (siehe oben) und ohne Proben inkubiert. Das Medium der Hep-2 Versuchszellen wird in je drei Ansätzen pro Konzentration mit der Virusmischung ersetzt.

Für die Immunozytochemische Reaktion wird nach 2 Tagen der Überstand von der Microtiterplatte verworfen und für 10 min bei Raumtemperatur 200 $\mu$ l einer 80%-Ethanol-Lösung hinzu pipettiert. Der Überstand wird verworfen und luftgetrocknet. Zur Dehydrierung lässt man für 5 Minuten 200 $\mu$ l PBS-T-Lösung (Invitrogen) einwirken. Anschließend wird die Platte ausgeschlagen. Dann gibt man 100 $\mu$ l des 1. Antikörpers (3CA) in einer 1:250 Verdünnung mit PBS-T hinzu und lässt für 45-60 Minuten bei 37°C einwirken. Daraufhin wird die Platte ausgeschlagen und dreimal mit PBS-T gewaschen. Dann pipettiert man 100 $\mu$ l des 2. Antikörpers (P0260) in einer Verdünnung von 1:400 mit PBS-T dazu. Nach 45-60 Minuten bei 37°C wird die Platte erneut ausgeschlagen und dreimal mit 200 $\mu$ l PBS-T gewaschen. Für die AEC-Färbung werden 200 $\mu$ l ACE und 10 $\mu$ l H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und 100 $\mu$ l Substrat

hinzu gegeben. Die Reaktion wird gestoppt, indem man die Platte ausklopft und 100 $\mu$ l Wasser hinzu gibt.

Unter der Stereolupe sind in den Microtiterplatten-„wells“ die infizierten Zellen an der zytoplasmatisch lokalisierten braunen Präzipitaten zu erkennen. Die infizierten Zellen werden gezählt und durch die Zahl der infizierten Zellen der Kontrollen geteilt, wodurch man die prozentuale Infektion im Vergleich zu den Kontrollen erhält.

### **2.2.5.5.6. In vitro Test an Reverser Transkriptase (RT)**

Die Aktivität gegenüber Reverser Transkriptase wurde mit einem im Handel erhältlichen RT-Kitt (Reverse Transcriptase Assay, Chemiluminescent by Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) durchgeführt. Das genaue Versuchsprotokoll ist den Anleitungen dieses Test-Kitts zu entnehmen. Anstelle des hier mitgelieferten Enzyms wurde jedoch die Reverse Transkriptase des HIV-1-Vektors (Vicl2dSB) im Vektor selbst getestet (Esimone, pers. Mitteilung). Dabei wurde der Test-Kitt direkt auf den Vektor angewendet und die RT-Aktivität bei Applikation der Verbindung [1] mit Kontrollen ohne Applikation verglichen. Aus Kostengründen (Esimone, pers. Mitteilung) wurde hier jede Konzentration nur einmal getestet. Die Verbindung [1] wurde dabei in den Konzentrationen 0.8 $\mu$ g/ml, 1.6 $\mu$ g/ml und 8 $\mu$ g/ml appliziert.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Isolierte Verbindungen

Zu den isolierten Verbindungen sind die verfügbaren  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren, sowie die Massenspektren im Anhang 5.2. dargestellt.

##### 3.1.1. 3,4-Secodammarane aus der Rinde von *Aglaia ignea*

Die aus dem methanolischen Extrakt der Rinde von *Aglaia ignea* isolierten Triterpene sind in Abbildung 3.1. zusammengefasst.

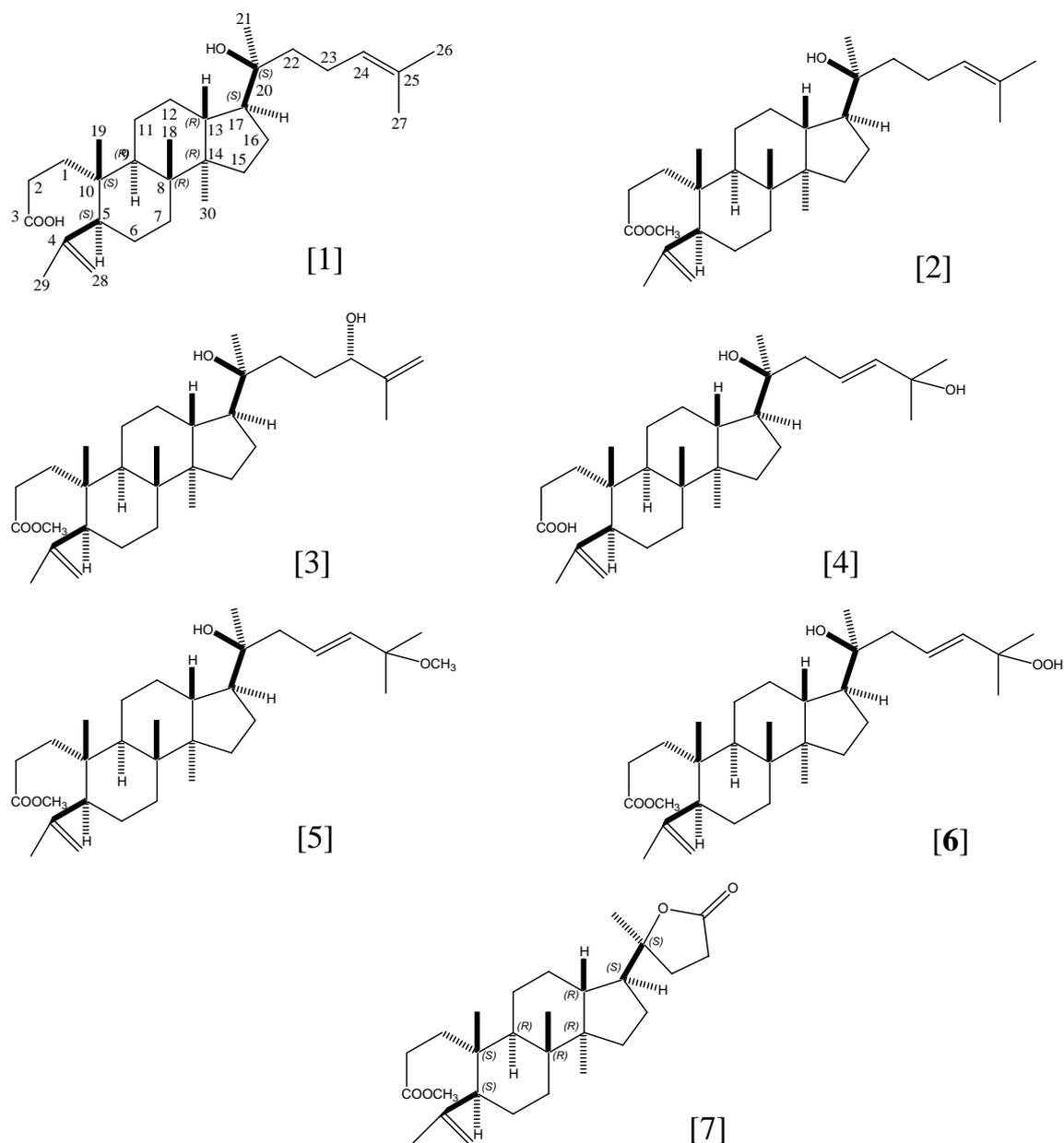


Abbildung 3.1.: 3,4-Secodammarane aus der Rinde von *Aglaia ignea*

Verbindung [1] konnte in farbloser, öliger Konsistenz gewonnen werden. Das EIMS zeigt den Molekülpeak bei  $m/z$  440. Im HREIMS ergibt sich ein Wert bei  $m/z$  440.36749. Dieses Ion entspricht der Summenformel  $C_{30}H_{48}O_2$  (berechnet  $m/z$  440.3654).

Für die optische Drehung wurde bei diesem Derivat ein  $[\alpha]_D^{20}$  -Wert von  $+19.0^\circ$  ( $c$  0.30,  $CHCl_3$ ) gefunden.

Die Betrachtung des Kohlenstoff-Spektrums indiziert die Existenz von 30 Kohlenstoffatomen (siehe Tabelle 3.1.). Unter Zuhilfenahme des Protonen- und DEPT-Spektrums lassen sich sieben Methylsingulets, elf Methylen- und fünf Methingruppen identifizieren. Daneben sind sieben quartäre Kohlenstoffe zu finden.

Aus der Zahl der Kohlenstoffe und Wasserstoffe sowie aus den chemischen Verschiebungen zweier Kohlenstoffe bei  $\delta_C$  179.8 und 75.6 für eine Carboxylgruppe bzw. eine Hydroxylgruppe kann auf das Vorliegen von drei Sauerstoffatomen im Molekül geschlossen werden. Die tatsächliche Summenformel der Verbindung [1] lautet folglich  $C_{30}H_{50}O_3$ .

Der beobachtete Wert für den Molekülpeak bei  $m/z$  440 lässt sich somit zurückzuführen auf die Eliminierung eines Moleküls Wasser und spricht für das Vorliegen einer Hydroxylgruppe am Kohlenstoff mit der chemischen Verschiebung von  $\delta_C$  75.6. Diese Fragmentierung unter Abspaltung einer Hydroxylgruppe ist für triterpenoide Verbindungen wie (18*S*)-18-Hydroxydammar-21-en bekannt [Yamashita *et al.* 1998].

Ausgehend von den HMBC-Korrelationen der Methylsingulets im hohen Feld (siehe Abbildung 3.2.), namentlich  $H_3$ -18 zu den Kohlenstoffen C-7, C-8, C-9 und C-14, sowie  $H_3$ -19 zu C-1, C-5, C-9 und C-10, sowie  $H_3$ -30 zu C-8, C-13, C-14 und C-15 (siehe Abbildung 3.2 und Tabelle 3.1.) lässt sich auf das Dammaran-Grundgerüst der Verbindung [1] schließen (siehe Abbildung 3.3.).

# Ergebnisse

**Tabelle 3.1.: NMR-Datentabelle der Verbindungen [1], [2] und [3]**

Position	[1] <sup>a</sup>			[2] <sup>a</sup>			[3] <sup>a</sup>		
	$\delta_C$	$\delta_H$ (J Hz)	HMBC	$\delta_C$	$\delta_H$ (J Hz)	HMBC	$\delta_C$	$\delta_H$ (J Hz)	HMBC
1	34.3	A 1.62 m B 1.62 m	2, 3, 5, 9, 10, 19 2, 3, 5, 9, 10, 19	34.3	A 1.62 m B 1.62 m		34.4	A 1.62 m B 1.62 m	2 2
2	28.3	A 2.35 m B 2.17 m	1, 2, 3, 10 1, 2, 3, 10 (w)		A 2.35 m B 2.17 m		28.4	A 2.35 m B 2.17 m	1, 3 1, 3
3	179.8			174.6			174.6		
4	147.5			147.5			147.5		
5	50.8	1.98 dd (2.8, 12.6)	1, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 19, 28, 29	50.8	1.98 dd (2.8, 12.6)		50.7	1.98 dd (2.5, 12.6)	4, 10
6	24.6	A 1.82 m B 1.36 m	4, 5, 7, 8, 10 4, 5, 7, 8, 10		A 1.82 m B 1.36 m		24.6	A 1.82 m B 1.36 m	
7	33.9	A 1.51 m B 1.22 m	5 (w), 6, 8, 9 (w), 14 (w), 18 5, 6, 8, 9, 14 (w), 18	33.9	A 1.51 m B 1.22 m		33.8	A 1.51 m B 1.24 m	
8	40.1			40.1			40.0		
9	41.1	1.50 m	1, 5 (w), 8, 10, 11, 12, 14 (w), 18, 19	41.1			40.9	1.50 m	
10	39.1			39.1			39.1		
11	22.1	A 1.40 m B 1.28 m	8 (w), 9, 10 (w), 12, 13 9, 12, 13				22.0	A 1.43 m B 1.28 m	9 9
12	27.5	A 1.82 m B 1.26 m	9, 11, 13, 14, 17 (w) 9, 11, 13, 14				27.4	A 1.82 m B 1.26 m	
13	42.4	1.64 m	12, 14, 17, 30	42.4			42.4	1.65 m	
14	50.7			50.7			50.7		
15	31.2	A 1.44 m B 1.08 m	14, 16, 17, 30 13, 14, 16, 17, 30	31.2	A 1.44 m B 1.08 m		31.2	A 1.43 m B 1.10 m	
16	24.8	A 1.73 m B 1.47 m	13, 14, 15, 17, 20, 22 13, 15, 17, 20		A 1.73 m B 1.47 m		24.8	A 1.73 m B 1.47 m	
17	49.7	1.72 m	12, 13, 14 (w), 15, 16, 20, 22	49.7			50.0	1.75 m	
18	15.4	0.99 s	7, 8, 9, 14, <b>18</b>		0.99 s	7, 8, 9, 14	15.3	1.00 s	7, 8, 9, 14
19	20.2	0.86 s	1, 2, 5, 9, 10, <b>19</b>		0.86 s	1, 5, 9, 10	20.1	0.85 s	1, 5, 9, 10
20	75.6			75.6			75.0		
21	25.4	1.14 s	17, 20, <b>21</b> , 22, 23 (w)		1.14 s	17, 20, 22	25.4	1.15 s	17, 20, <b>21</b>
22	40.6	A 1.45 m B 1.45 m	17, 20, 21, 23, 24 17, 20, 21, 23, 24	40.6	A 1.45 m B 1.45 m		36.7		
23	22.6	A 2.05 m B 2.05 m	20, 22, 24, 25 20, 22, 24, 25		A 2.05 m B 2.05 m		29.2		
24	124.7	5.10 t	21, 22, 23, 27	124.7	5.10 t		76.5	4.04 m	
25	131.7			131.7			147.6		
26	23.8	1.68 s	24, 25, <b>26</b> , 27	23.8	1.68 s	24, 25, 27	110.8	A 4.96 br s B 4.84 br s	24, 25 24
27	17.8	1.63 s	24, 25, 26 (w), <b>27</b>	17.8	1.63 s	24, 25, 26	29.2	1.73 s	24
28	113.5	A 4.85 br s B 4.66 br s	4, 5, 10 (w), <b>28</b> , 29 4, 5, 10, <b>28</b> , 29	113.5	A 4.85 br s B 4.66 br s	5 5	113.4	A 4.84 br s B 4.66 br s	5 5
29	23.2	1.72 s	4, 5, 6 (w), 10 (w), 28		1.72 s	4, 5, 28	23.2	1.74 s	
30	16.4	0.89 s	8, 13, 14, 15, <b>30</b>		0.89 s	8, 13, 14, 15	16.3	0.89 s	8, 13, 14, 15
3-OCH <sub>3</sub>					3.66 s	3	51.6	3.66 s	3

<sup>a</sup>CDCl<sub>3</sub>; <sup>b</sup>MeOH; (w): schwache Korrelation; Fettdruck: Direktkorrelation  
Die Zuordnung erfolgte über 2D-NMR-Daten (COSY, HMQC, HMBC)

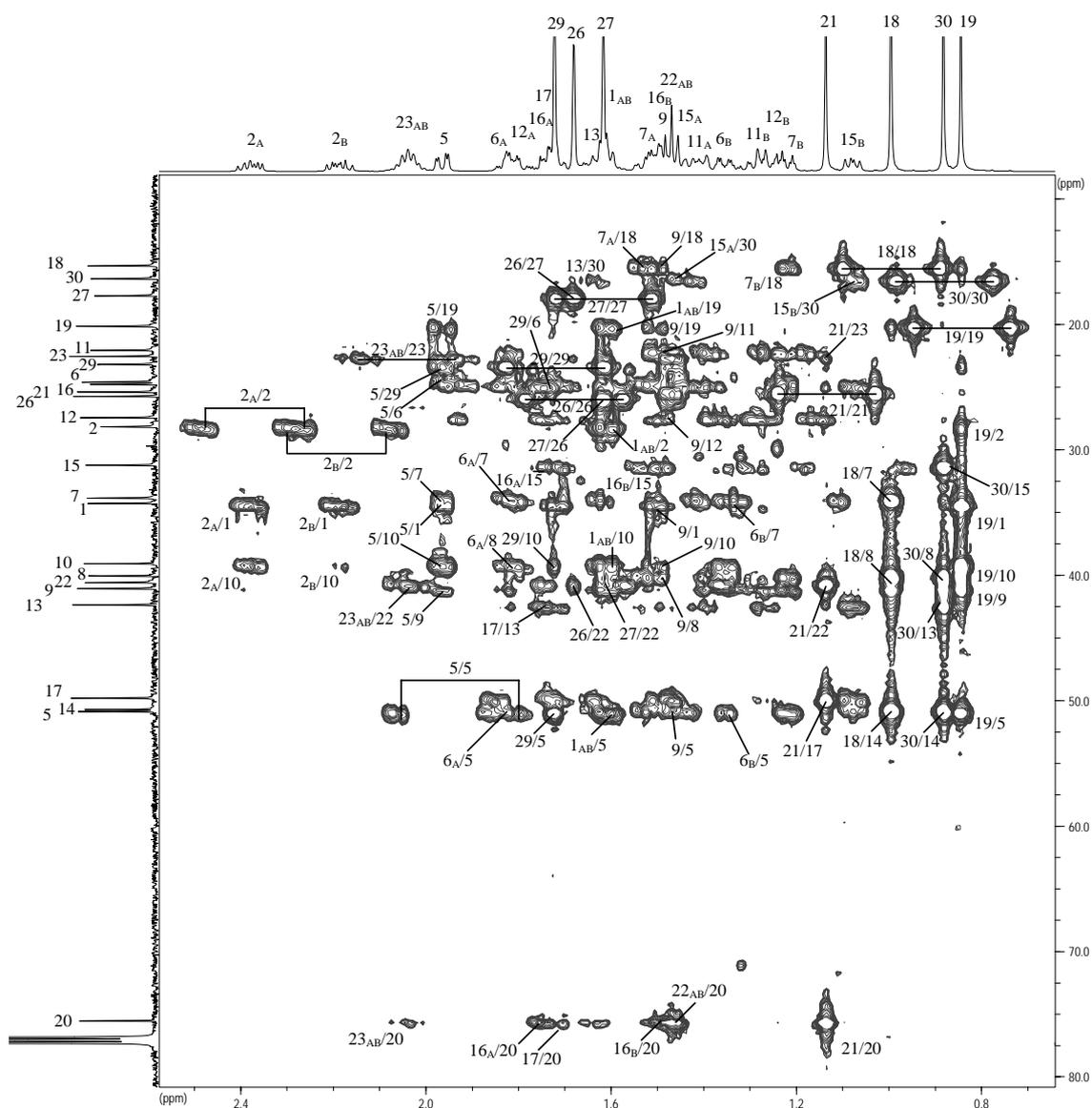
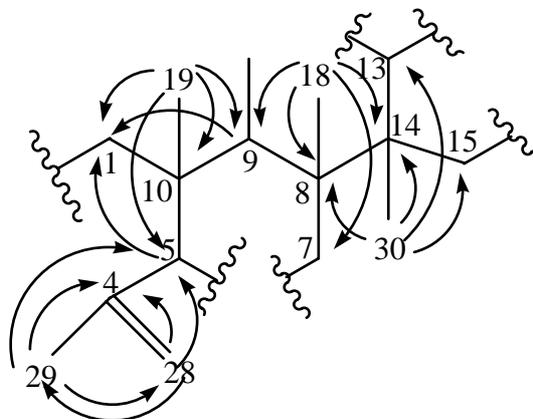


Abbildung 3.2.: HMBC-Korrelationen der Verbindung [1] im hohen Feld

Im Protonenspektrum tauchen bei  $\delta_H$  4.85 und 4.66 die Signale einer Exomethylengruppe auf. Die Exomethylengruppe lässt sich durch das DEPT- und HMQC-Spektrum verifizieren. Das entsprechende Kohlenstoffsignal liegt bei  $\delta_C$  113.5. Die chemische Verschiebung der Methylgruppe H<sub>3</sub>-29 ( $\delta_H$  1.72) indiziert die Nachbarschaft einer Doppelbindung. Im HMBC-Spektrum zeigt dieses Methylsingulett eine Korrelation zum Kohlenstoff der Exomethylengruppe (siehe Abbildung 3.4.). H<sub>3</sub>-29 und die Exomethylensignale korrelieren mit dem quartären Kohlenstoffatom C-4, welcher mit  $\delta_C$  147.5 eine entsprechende Tieffeldverschiebung zeigt. Die Methylgruppe H<sub>3</sub>-29 und die Exomethylengruppe H<sub>2</sub>-28 lassen sich

über die HMBC-Korrelationen mit dem Dammaran-Grundgerüst über die Korrelation mit dem Kohlenstoff C-5 verknüpfen (siehe Abbildungen 3.3. und 3.4.).



**Abbildung 3. 3.: HMBC-Korrelationen der Dammaran-Substruktur von Verbindung [1]**

Die Methylgruppe H<sub>3</sub>-29 und die Exomethylengruppe am Kohlenstoff C-4 deuten auf eine 3,4-Secokonstellation der Verbindung [1] hin.

Die Methylenprotonen H<sub>2</sub>-1<sub>AB</sub> ( $\delta_{\text{H}}$  1.62) sowie H-2<sub>A</sub> und H-2<sub>B</sub> ( $\delta_{\text{H}}$  2.35 und 2.17) lassen sich durch die HMBC-Korrelationen (siehe Abbildung 3.2.) definieren. Man findet die Korrelationen der Methylgruppe H<sub>3</sub>-19 und der Methinprotonen H-5 und H-9 mit C-1, welches sich über das HMQC-Spektrum dem Methylenprotonenpaar H<sub>2</sub>-1<sub>AB</sub> zuordnen lässt. Die Methylenprotonen an C-1 zeigen umgekehrt die Korrelationen zu den entsprechenden Kohlenstoffen des Dammarangrundgerüsts (siehe Tabelle 3.1.). Ausgehend von H<sub>2</sub>-1<sub>AB</sub> lassen sich zudem HMBC-Korrelationen zu dem Triplett in Position 2 und zu dem Kohlenstoff mit einer chemischen Verschiebung von  $\delta_{\text{C}}$  179.8 (C-3) erkennen (siehe Abbildung 3.2. und 3.5.).

Das COSY-Spektrum (Abbildung 3.6.) zeigt ein isoliertes Spinsystem für die Methylenprotonen in Position 1 und 2 und bestätigt so die postulierte Partialstruktur (siehe Abbildung 3.5.).

## Ergebnisse

Die chemische Verschiebung des Kohlenstoffs C-3 mit  $\delta_C$  179.8 deutet auf die Existenz einer Carbonsäurefunktion hin. So ergibt sich eine Propionsäure-Partialstruktur, die über C-10 mit dem Dammaran-Grundgerüst in Verbindung steht (siehe Abbildung 3.5.).

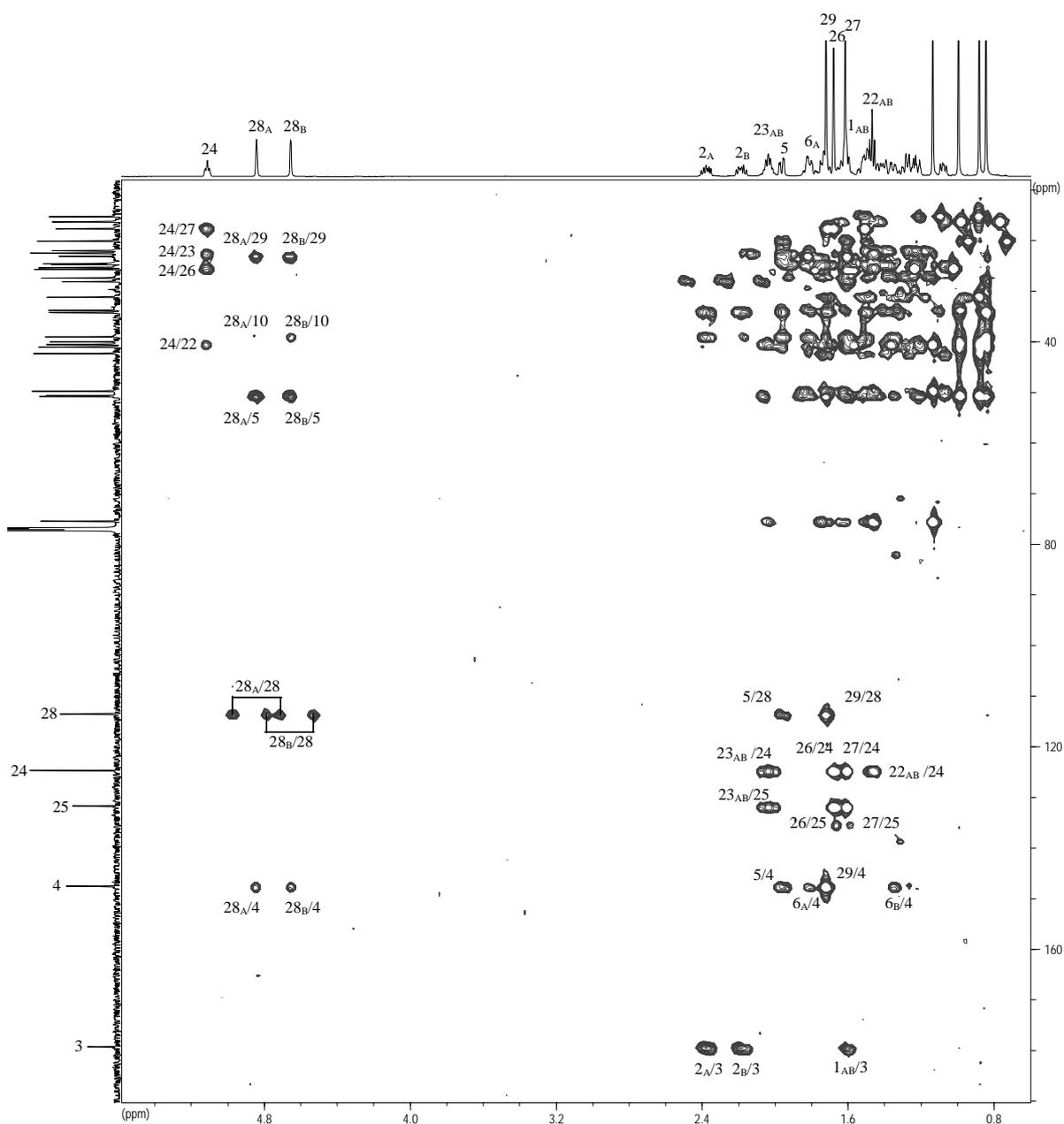
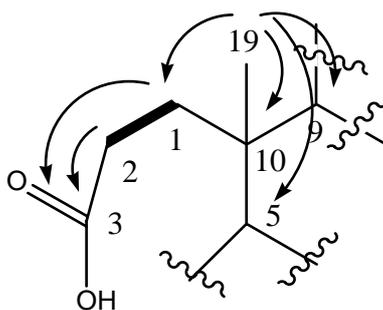


Abbildung 3.4.: HMBC-Korrelationen der Verbindung [1]



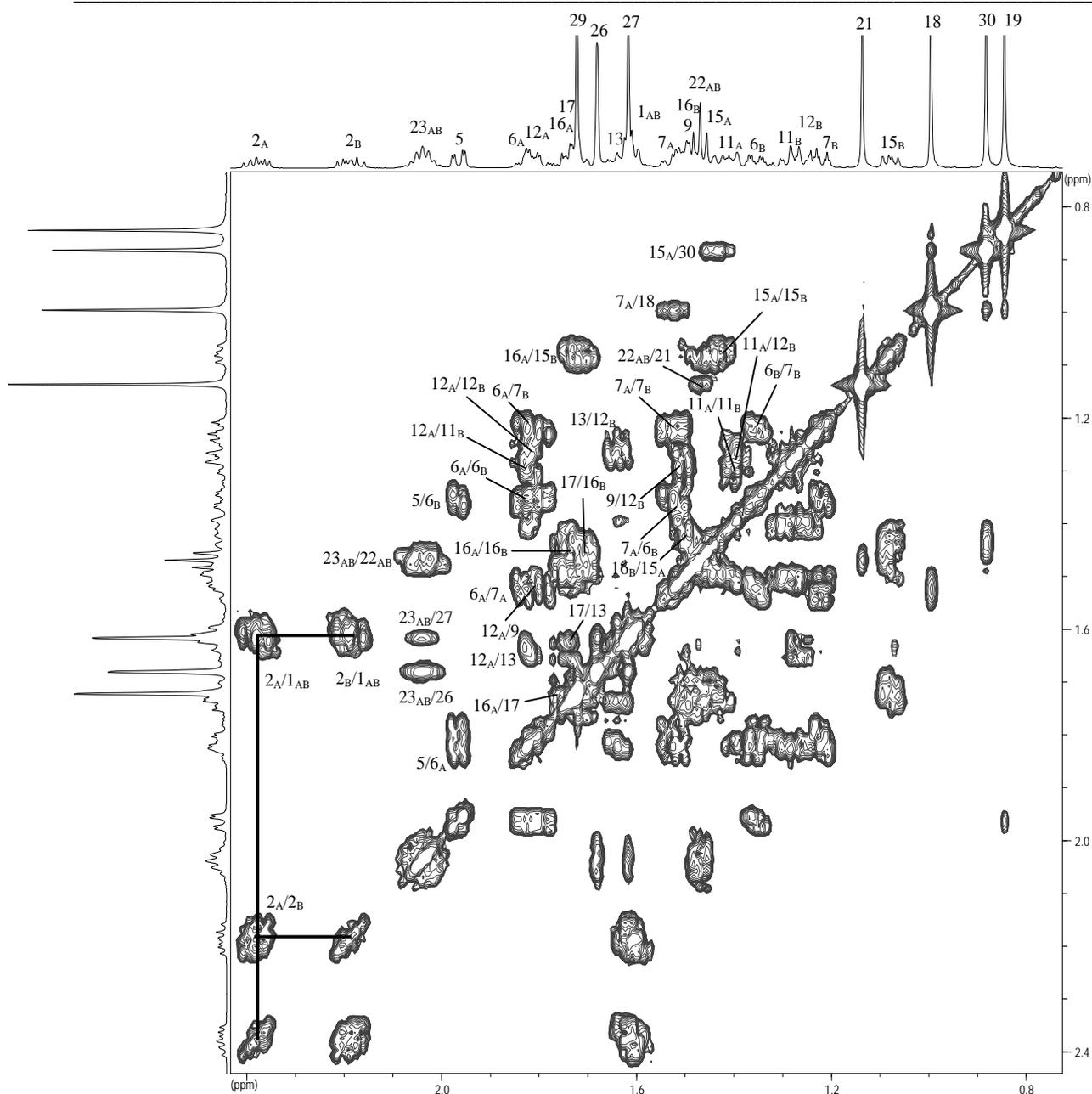
**Abbildung 3.5.: Propionsäure-Partialstruktur der Verbindung [1] mit wichtigen HMBC-Korrelationen und Spinsystem (Fettdruck)**

Die sorgfältige Untersuchung der COSY- und HMBC-Korrelationen ermöglicht schließlich die Zuordnung der verbleibenden Signale, d.h. H<sub>2</sub>-6, H<sub>2</sub>-11, H<sub>2</sub>-12 und H<sub>2</sub>-16 und damit den Ringschluß der Ringe B, C und D (siehe Abbildungen 3.2. und 3.6.). So lassen sich beispielsweise ausgehend von dem Doppelduplett H-5 die Korrelationen zu den beiden Methylenprotonen H-6<sub>A</sub> und H-6<sub>B</sub> im COSY-Spektrum identifizieren, die wiederum mit den Methylenprotonen H-7<sub>A</sub> und H-7<sub>B</sub> entsprechende Kreuzsignale liefern (siehe Abbildung 3.6.). Ein weiteres abgeschlossenes Spinsystem bilden die Methylenprotonen H<sub>2</sub>-11 und H<sub>2</sub>-12, die über die Methinprotonen in Position 13 und 17 und weiter über H<sub>2</sub>-16 bis hin zu den Methylenprotonen H<sub>2</sub>-15 in Verbindung stehen. Damit ist die Grundstruktur dieses 3,4-Secodammaranes bewiesen.

<sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-Daten anderer Dammarane aus der Literatur stimmen im Falle der Methylgruppen H<sub>3</sub>-18 und H<sub>3</sub>-30 gut mit denen der Verbindung [1] überein [Qiu *et al.* 2001; Hisham *et al.* 1996; siehe auch Yamashita *et al.* 1998 und Lee *et al.* 2001]. Während aber C-19 ( $\delta_C$  20.1) eine deutliche Verschiebung ins tiefe Feld, verglichen mit Werten aus der Literatur ( $\delta_C$  15.6) zeigt [Qiu *et al.* 2001; Hisham *et al.* 1996]. Dagegen sind die gemessenen Werte in guter Übereinstimmung mit Verschiebungswerten von 3,4-Seco-Verbindungen [Kennelly *et al.* 1995; Mohamad *et al.* 1999a].

Auch die Partialstruktur der Seitenkette am Kohlenstoff C-17 kann ausgehend von den HMBC-Korrelationen der verbleibenden Methylgruppensignale abgeleitet werden.

## Ergebnisse



**Abbildung 3.6.: COSY-Korrelationen im hohen Feld von Verbindung [1]**

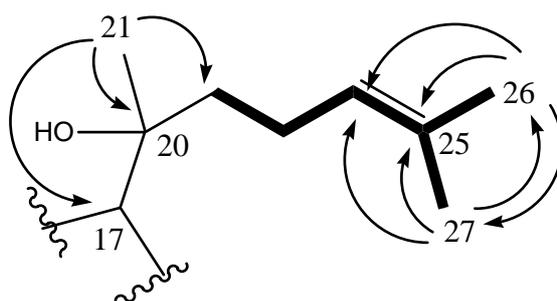
Die Methylgruppe H<sub>3</sub>-21 bei  $\delta_{\text{H}}$  1.14 zeigt eine Korrelation im HMBC-Spektrum zu C-20 ( $\delta_{\text{C}}$  75.6) (siehe Abbildung 3.2.), dessen chemische Verschiebung auf die Existenz einer Hydroxylgruppe hindeutet. Die <sup>3</sup>J-Korrelation zu C-17 belegt die Verknüpfung zum Dammaran-Grundgerüst über dieses Kohlenstoffatom, zu welchem im HMBC-Spektrum auch Korrelationen ausgehend von H<sub>2</sub>-15 und H-13 bestehen (siehe Tabelle 3.1.). Darüber hinaus korreliert die Methylgruppe H<sub>3</sub>-21 mit C-22 und sogar, allerdings schwach, mit C-23 (<sup>4</sup>J).

Ausgehend von H<sub>3</sub>-21 lässt sich somit eine weitere Substruktur für einen Teil der Seitenkette ableiten (siehe Abbildung 3.7. und Tabelle 3.1.).

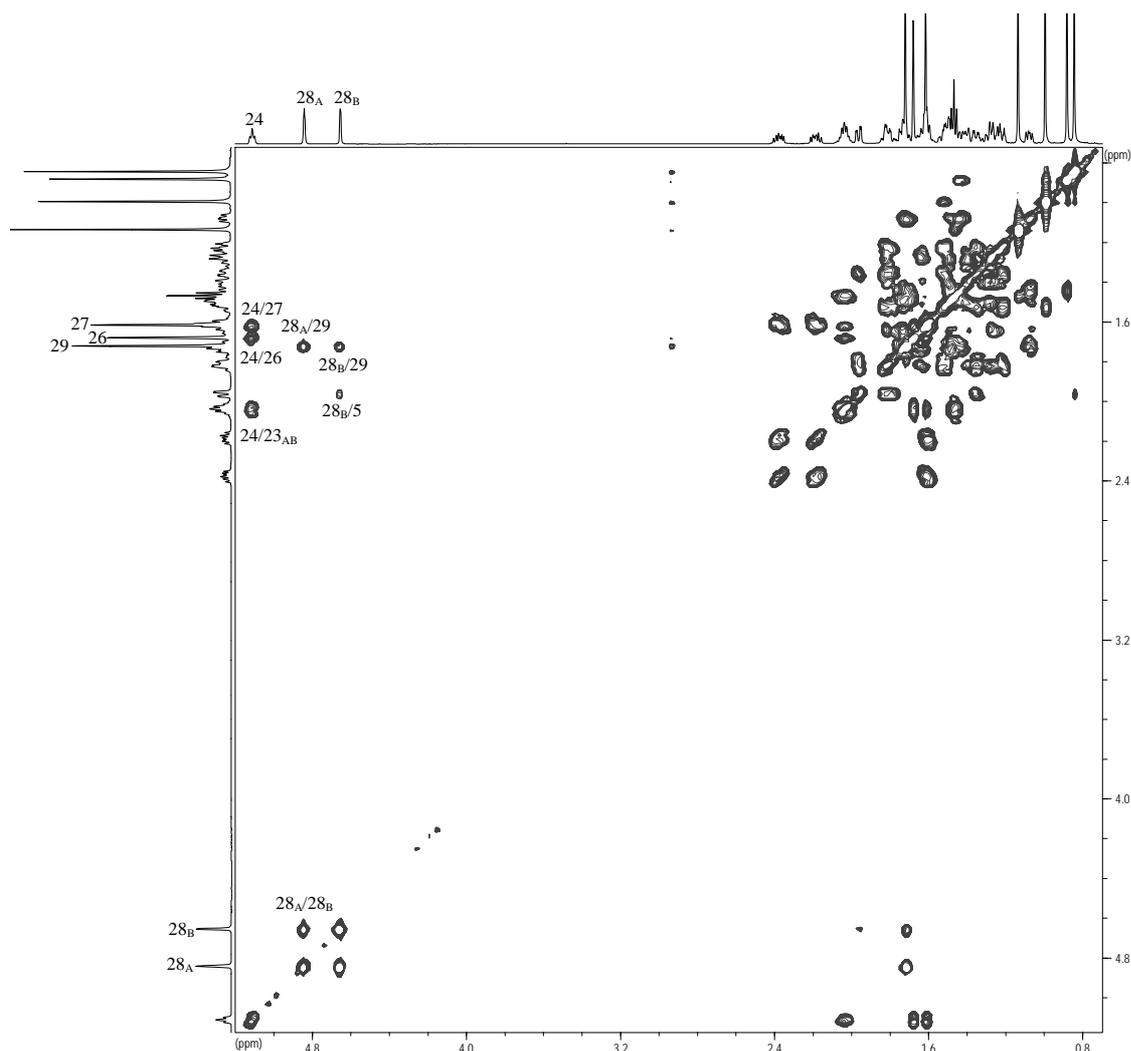
Im COSY-Spektrum (siehe Abbildung 3.6., 3.7. und 3.8.) lässt sich ein Spinsystem ausgehend von den Methylenprotonen H<sub>2</sub>-22 identifizieren, welche über die Methylenprotonen H<sub>2</sub>-23 und mit einem Methintriplett bei  $\delta_{\text{H}}$  5.10 in Verbindung stehen. Dieses Methinproton H-24 zeigt zudem noch „long-range“- Korrelationen zu zwei weiteren Methylgruppen, nämlich H<sub>3</sub>-26 und H<sub>3</sub>-27 ( $\delta_{\text{H}}$  1.68 und 1.63).

Für diese geminalen Methylgruppen lässt sich im HMBC-Spektrum die gegenseitige Kopplung erkennen (siehe Abbildung 3.2. und Abbildung 3.7.). Die Korrelation mit Kohlenstoffen bei  $\delta_{\text{C}}$  131.7 (C-25) und  $\delta_{\text{C}}$  124.7 (C-24) (siehe Abbildung 3.4.), sowie die Tieffeldverschiebung der Methylprotonen-Signale indizieren eine  $\Delta^{24,25}$ -Doppelbindung.

Ein EIMS-Fragment von  $m/z$  109 ist ebenfalls bezeichnend für die postulierte Seitenkette [van der Doelen *et al.* 1998]. Formal lässt sich dieses Fragment durch die Eliminierung der Hydroxylgruppe und die Ausbildung einer Exomethylengruppe anstelle der Methylgruppe in Position 21 ableiten. Die Struktur der Seitenkette ist hinsichtlich der chemischen Verschiebungen in vollständiger Übereinstimmung mit Literaturdaten [Jiang *et al.* 1999, Hilpisch *et al.* 1997].



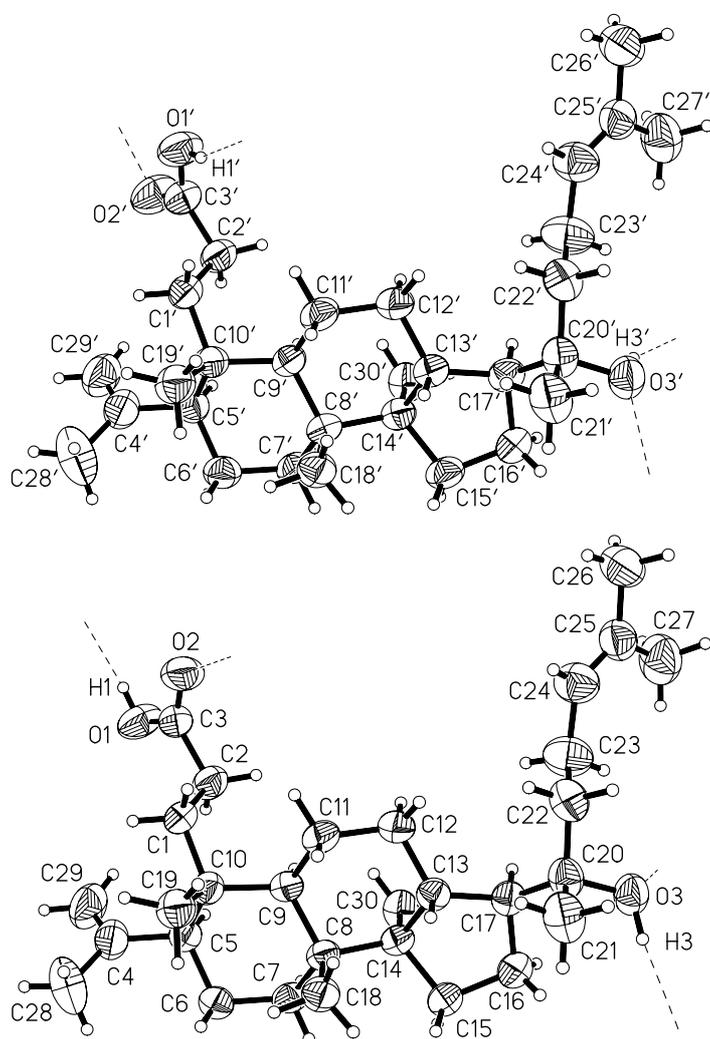
**Abbildung 3.7.: HMBC-Korrelationen der Methylgruppen und Spinsystem (Fettdruck) der Seitenkette von Verbindung [1]**



**Abbildung 3.8.: COSY-Korrelationen im tiefen Feld von Verbindung [1]**

Die Konfiguration am Kohlenstoff C-20 kann durch Literaturvergleich ermittelt werden. Hier lassen sich Beispiele für beide Konfigurationen finden [z.B. Yamashita *et al.* 1998, Jiang *et al.* 1999]. Aussagekräftig sind im Falle der postulierten Seitenkette die Werte der chemischen Verschiebungen der Kohlenstoffe in Position 21 und 22, die in guter Übereinstimmung mit (20*S*)-20-Hydroxydammar-24-en sind (die Bezifferung in der zitierten Literatur ist inkorrekt, was dort zu der Bezeichnung (18*S*)-18-Hydroxydammar-21-en führt) [Vgl. Yamashita *et al.* 1998]. Die genannte Verbindung zeigt mit C-21 ( $\delta_C$  25.4) and C-22 ( $\delta_C$  40.5) fast exakt dieselben Verschiebungswerte, die für Verbindung [1] bei  $\delta_C$  25.4 bzw. 40.6 liegen. Dagegen weichen die Werte des entsprechenden (*R*)-Isomeres mit Werten von  $\delta_C$  23.6 für C-21 und  $\delta_C$  41.8 für C-22 deutlich von den gefundenen Werten ab. Somit muss Verbindung [1] das 20-*(S)*-Isomer darstellen [Vgl. Yamashita *et al.* 1998].

Durch Umkristallisation aus Methanol konnten geeignete Kristalle für die Röntgenstrukturanalyse der Verbindung [1] erhalten werden, wodurch die relative Stereochemie bestätigt werden kann. Die farblosen Kristalle zeigen ein orthorhombisches Kristallsystem mit planarem Habitus und eine Anpassungsgüte von  $S=1.039$ . Die Daten zu der Röntgenstrukturanalyse der Verbindung [1] sind dem Anhang 5.1. zu entnehmen. Die Abbildung 3.9. zeigt die relative Konfiguration der Verbindung [1]. Die Struktur liegt im Kristallverband in zwei Konformeren vor, die sich bezüglich der Orientierungen der Carboxylgruppe in Position 3 und der Hydroxylgruppe an C-20 unterscheiden (siehe Abbildung 3.9.).



**Abbildung 3.9.: Röntgenkristallstruktur der Verbindung [1]**

Aufgrund biogenetischer Erwägungen kann davon ausgegangen werden, dass es sich bei den abgebildeten Strukturen auch um die absolute Konfiguration handelt, da sämtliche bisher bekannten Dammarane die entsprechende Konfiguration aufweisen.

Geht man von der 20(*S*)-Konfiguration aus, so ist die Stereochemie am Kohlenstoff C-17 ebenfalls (*S*), wie man in der Röntgenstruktur erkennen kann (siehe unten; Abbildung 3.9.). In analoger Weise lassen sich auch die Konfigurationen an den übrigen Stereozentren ableiten, die in Abbildung 3.1. gezeigt sind. Auf dieser Basis (in Verbindung mit den erhaltenen <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Daten) lässt sich auch für alle anderen 3,4-Seco-Verbindungen ([**2**]-[**7**] und [**8ab**]), die in dieser Arbeit isoliert wurden diese Konfiguration annehmen.

Bei der Verbindung [**1**] handelt es sich um die (20*S*)-Hydroxy-3,4-seco-4(28),24-dammaradien-3-carbonsäure, auch bekannt als Dammarenolsäure [z.B. Mills & Werner 1955; Rao *et al.* 1975, Poehland *et al.* 1987]. Rivero-Cruz *et al.* [2004] beschreiben dieses Derivat später ebenfalls für die Blätter von *Aglaia ignea* (syn. *A. rubiginosa*). Zum Zeitpunkt des Erstellens dieser Arbeit war diese Substanz noch nicht für *Aglaia ignea* beschrieben. In der Literatur liegen außerdem bisher weder vollständige NMR-Daten noch eine Kristallstruktur vor.

Für die Verbindung [2], eine weiße, ölige Substanz, ist ebenfalls nur das  $[M-18]^{\bullet+}$ -Fragment bei  $m/z$  454 im GCEIMS zu finden. Für die optische Drehung wurde ein  $[\alpha]_D^{20}$ -Wert von  $+2.6^\circ$  ( $c$  0.1,  $\text{CHCl}_3$ ) gefunden.

Das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum dieser Verbindung unterscheidet sich von dem der Dammarenolsäure durch ein zusätzliches Singulett bei  $\delta_{\text{H}}$  3.66 (3H). Dieses Methoxysignal zeigt im HMBC-Spektrum eine Korrelation zu C-3 (siehe Tabelle 3.1.) und deutet darauf hin, dass es sich bei Verbindung [2] um den Methylester der Verbindung [1] handelt.

Im Gegensatz zur Dammarenolsäure ist das Signal für C-3 deshalb hochfeldverschoben ( $\delta_{\text{C}}$  174.6). Bei den weiteren im Rahmen dieser Arbeit isolierten Methylestern finden sich die entsprechenden chemischen Verschiebung (vgl. Verbindungen [5], [6] und [7]).

Die übrigen zu identifizierenden NMR-Signale der Verbindung [2] entsprechen denen der Dammarenolsäure [1] (siehe Tabelle 3.1.), wobei die Zuordnung der Protonen anhand des COSY-Spektrums und die der C-Atome durch das HMBC-Spektrum bestätigt werden (siehe Tabelle 3.1.).

Somit handelt es sich bei Verbindung [2] um die bekannte Verbindung Methylammarenolat aus *Cabrlea eichleriana* (Meliaceae) [Mills & Werner 1955, Rao *et al.* 1975].

Als farblose, etwas ölige Substanz wurde auch Verbindung [3] gewonnen. Auch hier ist mit  $m/z$  470.3765 im EIMS (berechneter Wert: 470.3760 für  $C_{31}H_{50}O_3$ ) nur das Molekülion nach Wasser-Eliminierung zu finden. Im FABMS kann allerdings das Molekülion unter Addition von Natrium bei  $m/z$  511 identifiziert werden. Die Summenformel der Verbindung [3] lautet demzufolge  $C_{31}H_{52}O_4$ .

Der  $[\alpha]_D^{20}$ -Wert für die Verbindung [3] liegt bei  $+26.7^\circ$  ( $c$  0.34,  $CHCl_3$ ).

Das Dammarangrundgerüst gleicht dem des Methylammarenolats (Verbindung [2]). Die chemischen Verschiebungen des Grundgerüsts unterscheiden sich erwartungsgemäß nicht wesentlich von der Dammarenolsäure und dem Methylammarenolat (Verbindungen [1] und [2]; siehe Tabelle 3.1.). Wie bei der Verbindung [2] findet man hier das entsprechende Methoxysingulett bei  $\delta_H$  3.66 sowie den Kohlenstoff C-3 bei  $\delta_C$  174.6 (siehe Tabelle 3.1.), womit das Vorliegen des Methylesters anstelle der freien Säure (siehe Verbindung [1]) bestätigt wird.

Die Methylgruppe H<sub>3</sub>-21 zeigt wie in den beiden vorher diskutierten Verbindungen Korrelationen mit C-17, C-20 und C-22 (siehe Abbildung 3.10.). Am C-20 befindet sich ebenfalls eine Hydroxylfunktion. Das entsprechende Kohlenstoffsignal taucht bei  $\delta_C$  75.0 auf und weicht nur unwesentlich von den Verschiebungswerten der Dammarenolsäure bzw. des Methylammarenolates ab (siehe Tabelle 3.1.). Die chemische Verschiebung für C-22 deutet dagegen mit einem Wert von  $\delta_C$  36.7 auf eine andere Seitenkette an C-17 dieses Secodammarans hin.

Im Protonenspektrum fallen weitere Signale auf. Zum einen überlappt laut Integration ein zusätzliches Proton bei  $\delta_H$  4.84 mit dem Exomethylenproton H-28<sub>A</sub>. Ein weiteres breites Singulett erscheint bei  $\delta_H$  4.96. Dieses koppelt im COSY-Spektrum mit dem Signal bei  $\delta_H$  4.84 (siehe Abbildung 3.11.). Die Vermutung, dass es sich bei diesen Signalen um die Protonen einer zweiten Exomethylengruppe handelt, wird durch das DEPT- und HMQC-Spektrum bestätigt. Neben dem Signal für C-28 bei  $\delta_C$  113.4 findet man den zweiten Exomethylenkohlenstoff (C-26) bei  $\delta_C$  110.8.

Im HMBC-Spektrum (siehe Abbildung 3.10.) sind sowohl von den Exomethylenprotonen H-26<sub>A</sub> und H-26<sub>B</sub> als auch von einer Methylgruppe (H<sub>3</sub>-27) Korrelationen zu C-25 bei  $\delta_C$  147.6

## Ergebnisse

sowie zu einem Kohlenstoff bei  $\delta_C$  76.5 (C-24) zu finden. Das spricht dafür, dass sich die Exomethylengruppe und die Methylgruppe am Ende der Seitenkette befinden.

Die chemische Verschiebung von C-24 bei  $\delta_C$  76.5 und dessen zugehöriges Multipllett (H-24) indiziert mit einer Verschiebung von  $\delta_H$  4.04 die Nachbarschaft zu einem Heteroatom, offensichtlich einer Hydroxylgruppe, denn auch ein Fragment bei  $m/z$  453 im EIMS, entsprechend der Eliminierung eines weiteren Wassermoleküls, deutet das Vorhandensein einer zweiten Hydroxylgruppe im Molekül an.

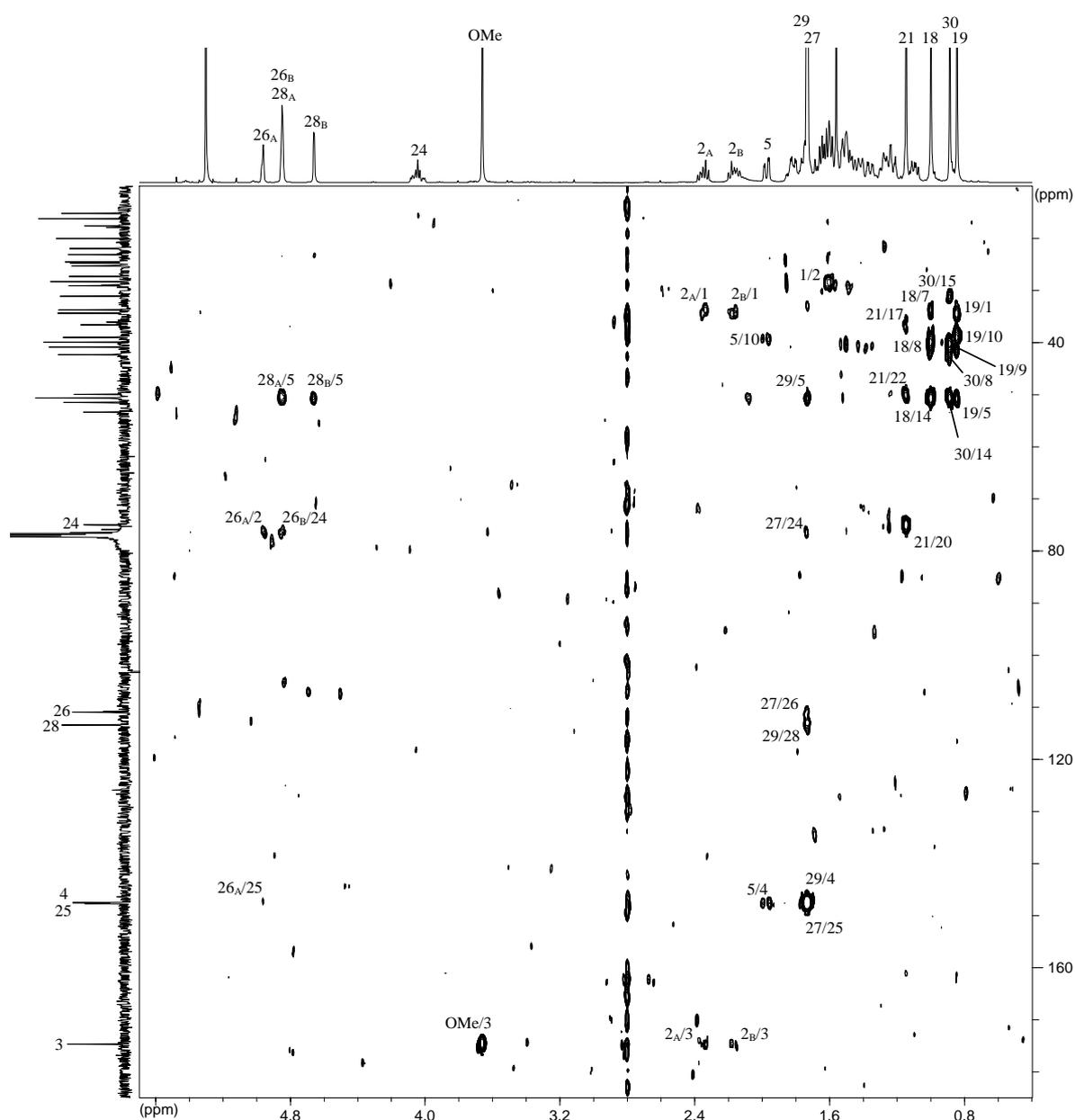


Abbildung 3.10.: HMBC-Korrelationen der Verbindung [3]

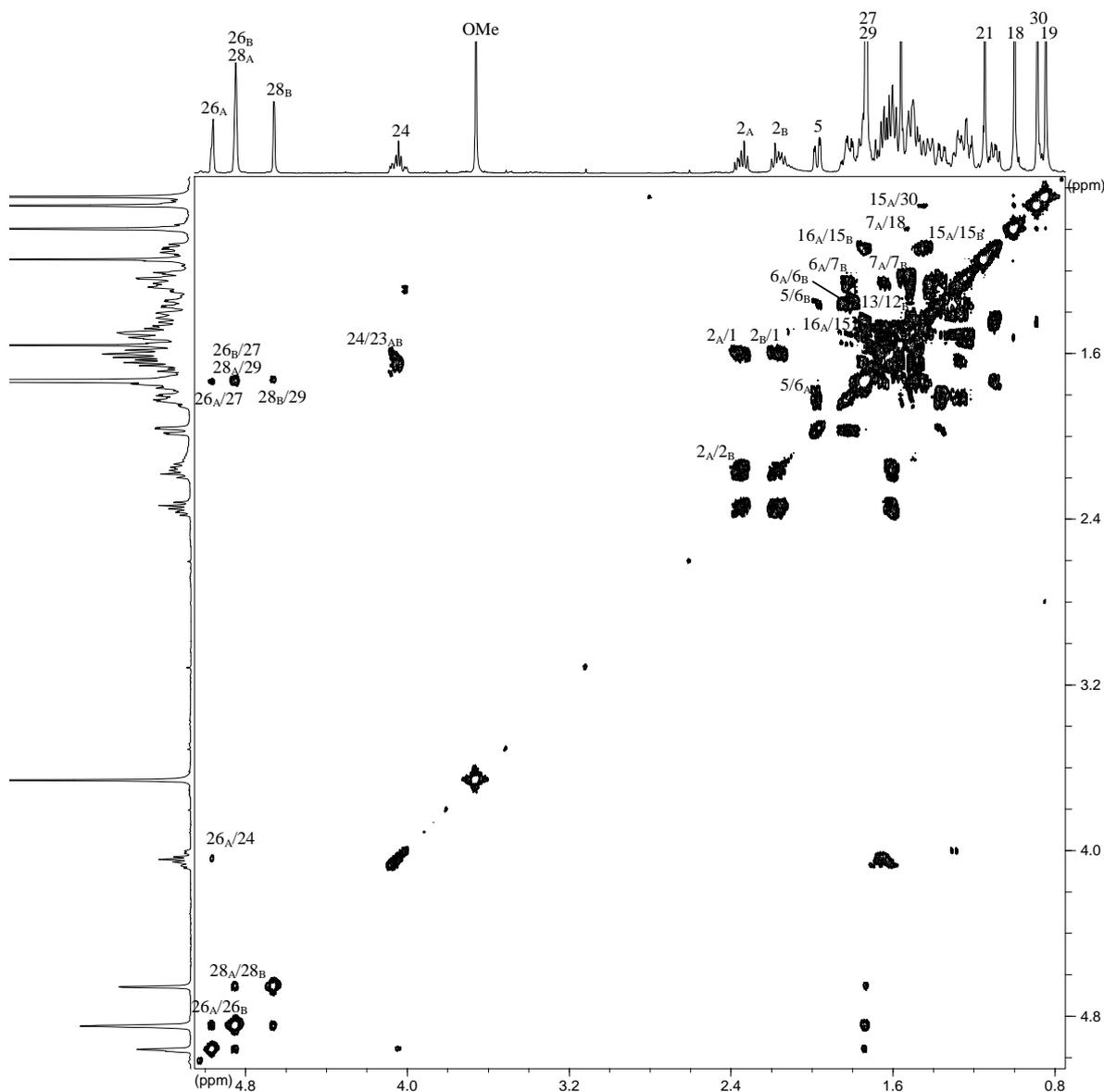
Die beiden Methylsingulets  $H_3-27$  und  $H_3-29$  weisen kaum unterschiedliche chemische Verschiebungen auf ( $\delta_H$  1.73 und  $\delta_H$  1.74), was die Interpretation der Spektren schwieriger gestaltet. Die entsprechenden Kreuzsignale der Korrelationen von  $H-26_A$  mit  $H_3-27$  und  $H-28_B$  mit  $H_3-29$  erscheinen leicht versetzt. Die sich überlappenden Korrelationen zwischen  $H-26_B$  und  $H_3-27$  bzw.  $H-28_A$  und der Methylgruppe  $H_3-29$  lassen sich durch ein intensiveres Kreuzsignal im COSY-Spektrum erkennen (siehe Abbildung 3.11.). Ferner kann man die Korrelation des Methinprotons  $H-24$  mit den Exomethylenprotonen in Position 26 im COSY-Spektrum finden.

Im COSY-Spektrum (siehe Abbildung 3.11.) ist eine Kopplung zwischen  $H-24$  und einem Signal bei ca.  $\delta_H$  1.65 ( $H_2-23$ ) zu sehen. Die postulierten Methylenprotonen liegen im Bereich der publizierten Werte [Vgl. Hilpisch *et al.* 1997], können hier jedoch aufgrund einer Verunreinigung nicht eindeutig zugeordnet werden. Die Methylenprotonen  $H-22_A$  und  $H-22_B$  können im COSY-Spektrum wegen Signalüberlappung ebenfalls nicht sicher detektiert werden.

Auf die Struktur der Seitenkette kann aber aus dem Molekulargewicht geschlossen werden. Dieses lässt sich durch zwei weitere Methylengruppen ( $H_2-22$  und  $H_2-23$ ) erklären.

Bezüglich der Frage nach der Konfiguration in der Position 24 hilft ein Literaturvergleich weiter. Hilpisch *et al.* [1997] stellen zwei Derivate mit der für Verbindung [3] postulierten Seitenkette vor, die sich in der Konfiguration an C-24 unterscheiden. Der Wert für  $H-24$  liegt hier für das (*R*)-Diastereomer bei  $\delta_H$  4.36 und C-24 bei  $\delta_C$  89.8, während die Werte für das (*S*)-Isomer bei  $\delta_H$  4.12 bzw.  $\delta_C$  75.8 liegen. C-23 liegt bei  $\delta_C$  25.0 für die (*R*)- bzw. bei 27.5 bzw. für die (*S*)-Konfiguration und C-25 bei  $\delta_C$  25.0 für die (*R*)- bzw. bei 27.5 bzw. für die (*S*)-Konfiguration. Auch die chemischen Verschiebungen der Protonen und der Kohlenstoff der Exomethylengruppe in Position 26 unterscheiden sich deutlich bei den beiden Stereoisomeren. C-26 liegt bei  $\delta_C$  113.7 bzw. 110.6 und für  $H_2-26$  treten ein Signal bei  $\delta_H$  5.02 (2H) bzw. zwei Signale bei  $\delta_H$  4.96 und 4.84 für die (*R*)- bzw. (*S*)-Konfiguration auf. Wie ein Vergleich mit der Tabelle 3.1. zeigt, belegen erhaltenen NMR-Daten eindeutig, dass Verbindung [3] das 24(*S*)-Isomer darstellt.

Wie sich in übereinstimmenden chemischen Verschiebungen (siehe Tabelle 3.1.) und auch im Vergleich mit Literaturdaten zeigt [Yamashita *et al.* 1998, Jiang *et al.* 1999, Hilpisch *et al.* 1997], stimmt die relative Stereochemie in allen weiteren chiralen Zentren der Verbindung [3] mit denen der zuvor diskutierten Verbindungen überein.



**Abbildung 3.11.: COSY-Korrelationen der Verbindung [3]**

Somit handelt es sich bei der Verbindung [3] um den Methylester der bekannten Verbindung (20*S*,24*S*)-20,24-dihydroxy-3,4-secodammara-4(28),25-dien-3-carbonsäure [Aoki *et al.* 1988; Aoki *et al.* 1990]. Der Methylester der genannten Verbindung ist bisher noch nicht beschrieben worden. Somit stellt [3] einen neuen Naturstoff dar.

Für das als farblose, ölige Substanz gewonnene Derivat [4] kann im EIMS ein Peak bei  $m/z$  438 gefunden werden. Im HREIMS ergibt sich ein Wert von  $m/z$  438.3492 (berechnet für  $C_{30}H_{46}O_2$ :  $m/z$  438.3498). Dieses Molekulargewicht entspricht dem Molekülion nach der Eliminierung zweier Wassermoleküle  $[M - 2 \times H_2O]^+$  und indiziert wiederum die Existenz von mindestens zwei Hydroxylgruppen im Molekül. Im FABMS kann dagegen das Pseudomolekülion  $[M+Na]^+$  bei  $m/z$  497 gefunden werden. Damit ergibt sich die Summenformel  $C_{30}H_{50}O_4$  für die native Verbindung.

Die Bestimmung der optischen Drehung ergibt hier einen  $[\alpha]_D^{20}$ -Wert von  $+24.1^\circ$  (c 0.78,  $CH_3OH$ ).

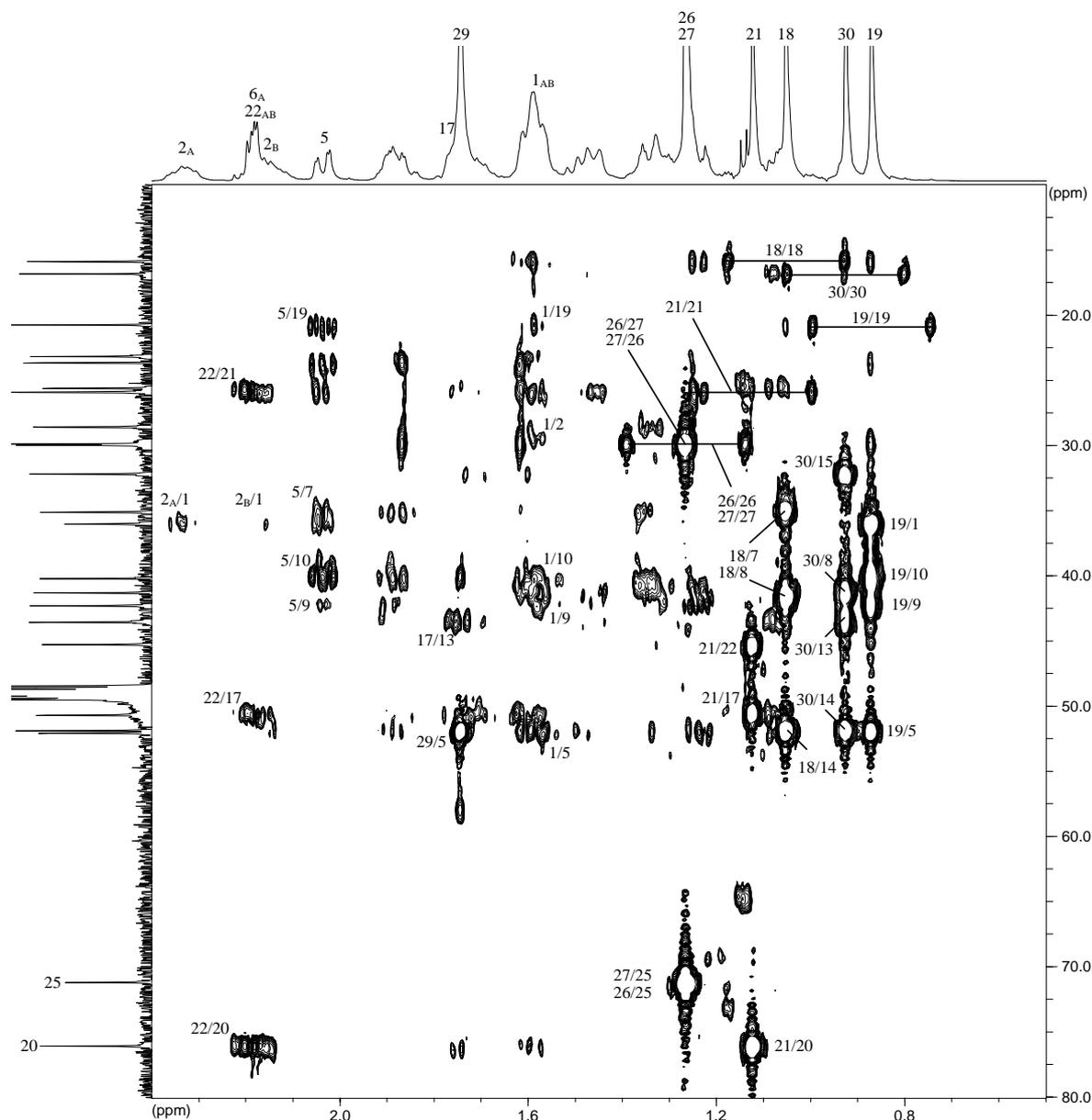
Die NMR- Messungen wurden aufgrund der besseren Löslichkeit dieser polaren Verbindung [4] im Unterschied zu den bisher beschriebenen Verbindungen in deuteriertem Methanol durchgeführt.

Im Protonenspektrum fallen im Vergleich zu den zuvor diskutierten Derivaten im tiefen Feld vor allem zwei weitere Signale auf, ein Multiplett bei  $\delta_H$  5.66 und ein Duplett bei  $\delta_H$  5.61. Die chemische Verschiebung der Protonen, wie auch die der zugehörigen Kohlenstoffe bei  $\delta_C$  125.5 und  $\delta_C$  139.3 deuten auf eine Doppelbindung in der Seitenkette hin.

Dagegen treten bei  $\delta_H$  4.85 und 4.70 die breiten Singulets der Exomethylengruppe auf, wie bei den anderen Derivaten. Die chemische Verschiebung des Exomethylenkohlenstoffs mit einem Wert von  $\delta_C$  113.9 weicht ebenfalls trotz der Messung in Methanol statt Chloroform nur unwesentlich von den Werten der Verbindungen [1]-[3] ab. Auch die chemischen Verschiebungen der Methylgruppen  $H_{3-18}$ ,  $H_{3-19}$ ,  $H_{3-29}$  und  $H_{3-30}$  liegen im Bereich der Werte der anderen Derivate und sprechen somit für dieselbe Grundstruktur.

Wie bei den anderen Derivaten zeigt die Methylgruppe  $H_{3-19}$  im HMBC-Spektrum (siehe Abbildung 3.12. und Tabelle 3.3.), neben der Direktkopplung und schwächeren  $^4J$ -Korrelationen, Kreuzsignale mit C-1, C-5, C-9 und C-10,  $H_{3-18}$  mit C-7, C-8, C-9 und C-14 und  $H_{3-30}$  mit C-8, C-13, C-14 und C-15. Die Methylgruppe  $H_{3-29}$  korreliert mit der Exomethylengruppe (C-4 und C-28) und lässt sich über C-5 mit der durch die Methylgruppe  $H_{3-19}$  definierten Substruktur verknüpfen (siehe Abbildung 3.12. und 3.14.). Die

entsprechenden Werte der chemischen Verschiebungen der Kohlenstoffe unterscheiden sich von den in Chloroform gemessenen nur unwesentlich (weniger als 2 ppm).

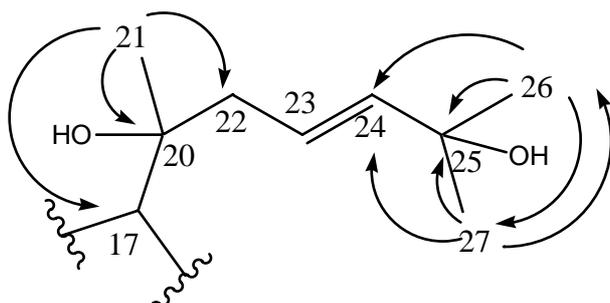


**Abbildung 3.12.: HMBC-Korrelationen im tiefen Feld von Verbindung [4]**

Die Verschiebung des Kohlenstoffes C-3 bei  $\delta_C$  178.9 spricht für eine unveresterte Carboxylgruppe wie im Falle von Verbindung [1]. Die Grundstruktur dieses Derivates entspricht also der der vorhergehenden Verbindungen, wobei die Unterschiede wieder in der Seitenkette an C-17 zu suchen sind.

Der Integration zufolge sind im Protonenspektrum zwei weitere überlappende Methylgruppen bei  $\delta_{\text{H}}$  1.27 ( $\text{H}_3$ -26 und  $\text{H}_3$ -27) zu identifizieren. Die entsprechenden Kohlenstoffe zeigen mit  $\delta_{\text{C}}$  30.0 für beide Kohlenstoffe eine ungewöhnliche chemische Verschiebung. Es handelt sich bei  $\text{H}_3$ -26 und  $\text{H}_3$ -27 um geminale Methylgruppen. Diese Methylgruppen zeigen im HMBC-Spektrum Korrelationen mit zwei Kohlenstoffen bei  $\delta_{\text{C}}$  71.2 (C-25) und 142.1 (C-24). Die chemische Verschiebung des Kohlenstoffs in Position 25 deutet ein Sauerstoffatom bzw. eine Hydroxylgruppe als Substituenten an, während C-24 Teil einer Doppelbindung sein muss.

Während das Spinsystem der Seitenkette wegen der teilweise überlappenden Signale für H-23 und H-24 im COSY-Spektrum schlecht nachzuvollziehen ist, lässt sich die Substruktur gut aus den Korrelationen im HMBC-Spektrum ableiten (siehe Abbildung 3.12., 3.13. und 3.14. und Tabelle 3.2.).



**Abbildung 3.13.: Wichtige HMBC-Korrelationen der Seitenkette von Verbindung [4]**

Wie bei den anderen Verbindungen lässt sich die Seitenkette ausgehend von der Methylgruppe  $\text{H}_3$ -21 mit dem Grundgerüst verknüpfen. Außerdem lässt sich über die HMBC-Korrelation C-22 ermitteln. Die entsprechenden Methylenprotonen  $\text{H}_2$ -22 korrelieren mit den Doppelbindungskohlenstoffen C-23 und C-24.

Die Korrelationen des Methinprotones H-24 ( $\delta_{\text{H}}$  5.61) im HMBC-Spektrum (siehe Abbildung 3.14.) zu den Methylkohlenstoffen C-26 und C-27 und zum quartären Kohlenstoff C-25, sowie die  $^2\text{J}$ -Kopplung mit dem anderen Doppelbindungskohlenstoff C-23 und einem Triplet bei  $\delta_{\text{C}}$  45.3 (C-22) einerseits und die HMBC-Korrelationen von H-23 ( $\delta_{\text{H}}$  5.66) mit den Kohlenstoffen C-22, C-24, C-25 und dem quartären Kohlenstoff C-20 bei  $\delta_{\text{C}}$  76.1 andererseits bestätigen die Struktur der Seitenkette mit der  $\Delta^{23,24}$ -Doppelbindung.

## Ergebnisse

**Tabelle 3.2.: NMR-Datentabelle der Verbindungen [4], [5] und [6]**

Position	[4] <sup>b</sup>			[5] <sup>a</sup>			[6] <sup>a</sup>		
	$\delta_C$	$\delta_H$ (J Hz)	HMBC	$\delta_C$	$\delta_H$ (J Hz)	HMBC	$\delta_C$	$\delta_H$ (J Hz)	HMBC
1	36.1	A 1.58 m	3, 5, 9, 10	34.4	A 1.61 m	2, 3, 5, 9, 10, 19	34.5	A 1.60 m	2, 3, 5, 9, 10, 19
		B 1.58 m	3, 5, 9, 10		B 1.61 m	2, 3, 5, 9, 10, 19		B 1.60 m	2, 3, 5, 9, 10, 19
2	28.6	A 2.34 m	1, 3	28.4	A 2.35 m	1, 3	28.5	A 2.35 m	1, 3
		B 2.14 m	1		B 2.15 m	1, 3		B 2.17 m	1, 3
3	178.9			174.6			174.6		
4	149.0			147.5			147.6		
5	52.1	2.04 dd (2.8, 12.6)	1, 4, 6, 7, 9, 19, 29	50.8	1.98 dd (2.8, 12.6)		50.8	1.98 dd (3.2, 12.6)	4 (w), 10, 19, 28 (w), 29
		A 1.88 m	5, 7, 10		A 1.81 m			A 1.82 dd (3.2, 13.2)	
6	25.7	B 1.34 m	4, 5, 7, 8, 10	24.6	B 1.36 dd (3.3, 13.2)		24.5	B 1.38 m	
7	35.1	A 1.35 m	5, 6, 8, 14, 18	33.8	A 1.52 m		33.9	A 1.52 m	
		B 1.24 m	5, 6, 8, 9, 14, 18		B 1.23 m			B 1.23 m	5 (w)
8	41.3			40.0			40.1		
9	42.3	1.59 m	1, 5, 8, 10, 14, 18, 19	40.9	1.51 m		41.0	1.50 m	8 (w), 11 (w), 18 (w)
10	40.2			39.1			39.2		
11	23.2	A 1.46 m	8	22.0	A 1.42 m		22.1	A 1.42 m	
		B 1.32 m	8, 9, 10, 12		B 1.28			B 1.26 m	
12	28.6	A 1.88 m	9, 14, 17	27.5	A 1.82 m		27.5	A 1.80 m	
		B 1.24 m	9		B 1.26 m			B 1.25 m	
13	43.6	1.60 m	8, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 20	42.4	1.65 m		42.6		
14	51.9			50.7			50.7		
15	32.2	A 1.50 m	8, 14, 16, 30	31.1	A 1.43		31.2	A 1.45 m	
		B 1.09 m	13, 14, 16, 30		B 1.08			B 1.11 m	13 (w)
16	25.9	A 1.74 m	13, 14, 15, 17, 20	24.8	A 1.73		24.9	A 1.75 m	
		B 1.48 m	14		B 1.47			B 1.46 m	
17	50.7	1.74 m	13, 14, 20, 21	49.8	1.74 m		50.2		
18	15.9	1.05 s	7, 8, 9, 14, <b>18</b>	15.4	1.00 s	7, 8, 9, 14, <b>18</b>	15.4	1.01 s	7, 8, 9, 14, <b>18</b> , 30 (w)
19	20.8	0.87 s	1, 4 (w), 5, 9, 10, <b>19</b> , 29 (w)	20.1	0.85 s	1, 5, 9, 10, <b>19</b>	20.2	0.85 s	1, 2 (w), 5, 9, 10, <b>19</b>
20	76.1			74.9		22	75.0		
21	26.0	1.12 s	17, 20, <b>21</b> , 22, 23 (w)	26.0	1.13 s	17, 20, <b>21</b> , 22	26.2	1.14 s	17, 20, <b>21</b> , 22
22	45.3	A 2.22 m	17, 20, 21, 23, 24	43.8	2.22 dd (2.1, 6.9)	17 (w), 20, 21, 24	43.6	A. 2.23 dd (7.3, 11.8)	20, 21, 23, 24
		B 2.22 m	17, 20, 21, 23, 24		2.22 dd (2.1, 6.9)	17 (w), 20, 21, 24		B. 2.23 dd (7.3, 11.8)	
23	123.9	5.66 m	20, 22, 24, 25	125.5	5.63 dt (7.0, 15.8)	22, 24, 25	127.3	5.77 m	
24	142.1	5.61 d (15.8)	20 (w), 22, 23, 25, 26, 27	139.3	5.49 d (15.8)	22, 23, 25, 26, 27	137.3	5.61 d (15.8)	
25	71.2			74.9			82.3	24, 25, <b>26</b> , 27	
26	30.0	1.27 s	23 (w), 24, 25, 27	25.8	1.27 s	24, 25	24.7	1.34 s	24, 25, 26, <b>27</b> , 5, 29
27	30.0	1.27 s	23 (w), 24, 25, 26	25.8	1.27 s	24, 25	24.7	1.35 s	4, 5, 28, <b>29</b>
28	113.9	A 4.85 br s	4, 5, 29	113.4	A 4.84 br s	5, 29	113.5		8, 13, 14, 15, <b>30</b> , <b>OCH<sub>3</sub></b>
		B 4.70 br s	4, 5, 29		B 4.65 d (1.6)	5, 29			
29	23.7	1.74 s	4, 5, 28, <b>29</b>	23.2	1.73 s	4, 5, 28, <b>29</b>	23.3	1.73 s	
30	16.9	0.93 s	8, 13, 14, 15, <b>30</b>	16.3	0.88 s	8, 13, 14, 15, <b>30</b>	16.4	0.89 s	
3-OCH <sub>3</sub>				51.6	3.65 s	3			
25-OCH <sub>3</sub>				49.8	3.15 s	25	51.6	3.66 s	
OOH								7.42 br s	

<sup>a</sup>CDCl<sub>3</sub>; <sup>b</sup>MeOH; (w): schwache Korrelation; Fettdruck: Direktkorrelation

Die Zuordnung erfolgte über 2D-NMR-Daten (COSY, HMQC, HMBC)

Die Kopplungskonstante des Dupletts H-24 mit einem Wert von  $^3J_{H,H} = 15.8$  spricht für die trans-Konfiguration der  $\Delta^{23,24}$ -Doppelbindung.

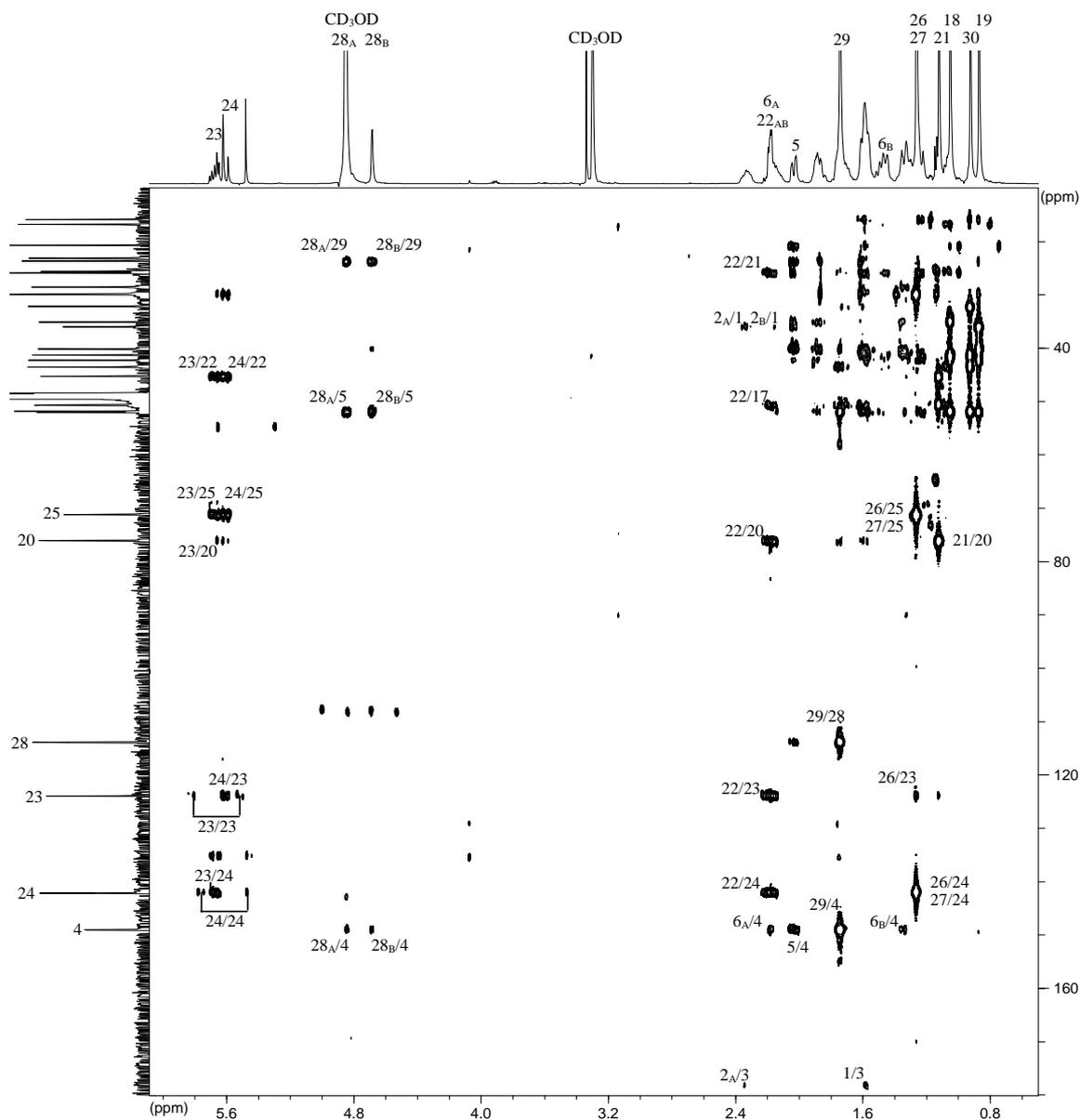


Abbildung 3.14.: HMBC-Korrelationen der Verbindung [4]

Für die Konfiguration an den chiralen Zentren ist zu erwarten, dass sie denen der zuvor diskutierten Derivate entspricht. Die entscheidenden chemischen Verschiebungen weichen nicht wesentlich von denen der anderen Derivate ab. Außerdem stützen biosynthetische Erwägungen diese Annahme.

Bei der Verbindung [4] handelt es sich somit um die (20*S*,23*E*)-20,25-Dihydroxy,3,4-secodammara-4(28),23-dien-carbonsäure. Rivero-Cruz *et al.* [2004] beschreiben dieses Derivat später ebenfalls für *Aglaia ignea* (syn. *A. rubiginosa*). Zur Zeitpunkt der Erstellung dieser Arbeit war das Derivat für diese Art noch nicht beschrieben.

Verbindung [5] wurde als ölige, farblose Substanz isoliert. Auch für dieses Derivat kann im EIMS nur das  $[M-18]^{\bullet+}$ -Fragment nach Wassereliminierung mit  $m/z$  484 ermittelt werden. Im HREIMS ergibt sich ein Wert von  $m/z$  484.3869 (berechnet für  $C_{32}H_{52}O_3$ : 484.3916). Im FABMS kann allerdings auch hier das Pseudomolekülion nach Addition von Natrium mit  $m/z$  525 gefunden werden. Die reale Summenformel dieser Verbindung lautet folglich  $C_{32}H_{54}O_4$ . Ein charakteristisches Fragment im EIMS mit  $m/z$  470 spricht für die weitere Eliminierung von Methanol, was wiederum auf das Vorliegen einer Methoxyfunktion im Molekül hindeutet.

Der Wert für die optische Drehung ( $[\alpha]_D^{20}$ ) liegt bei diesem Derivat bei  $+15.6^\circ$  ( $c$  0.34,  $CHCl_3$ ).

Der Vergleich mit den Daten der Verbindung [4] zeigt eine große Ähnlichkeit der chemischen Verschiebungen für die meisten Signale der beiden Derivate mit Abweichungen im Bereich von  $\pm 1.5$  ppm im  $^{13}C$ -Spektrum (siehe Tabelle 3.2.). Allerdings weichen hier die chemischen Verschiebungen von C-1 ( $\delta_C$  34.4) und C-3 ( $\delta_C$  178.9) stärker ab. Diese Werte sind aber mit denen der Verbindungen [2] und [3] in guter Übereinstimmung und sprechen somit für einen Methylester an C-3. Tatsächlich taucht im  $^1H$ -Spektrum auch das bereits bekannte Methoxysignal bei  $\delta_H$  3.66 auf.

Die HMBC-Korrelationen (siehe Tabelle 3.2.) belegen wie bei den Derivaten [1]-[4] das 3,4-Secodammaran-Grundgerüst der Verbindung [5]. Der Unterschied ist hier folglich erneut in der Seitenkette an C-17 zu suchen.

Im Protonenspektrum treten im tiefen Feld bei  $\delta_H$  5.63 und 5.49, wie auch bei Verbindung [4], zwei Signale auf (H-23 und H-24), die eine Doppelbindung indizieren. Die gegenseitige Kopplung der Signale wird durch eine gemeinsame Kopplungskonstante von  $^3J_{H,H} = 15.8$  sowie durch das COSY-Spektrum bestätigt. Das Signal für H-24 ist aber im Vergleich zu Verbindung [4] hochfeldverschoben (siehe Tabelle 3.2.). Einen weiteren Unterschied findet man bei der Betrachtung der Methylgruppen der Seitenkette. Wenngleich die Werte der chemischen Verschiebungen der Protonen von H<sub>3</sub>-26 und H<sub>3</sub>-27 ( $\delta_H$  1.27) sich bei den beiden Derivaten nicht unterscheiden, so differieren die Werte der hier ebenfalls zusammenfallenden Kohlenstoffe der Methylgruppen mit  $\delta_C$  30.0 bzw. 25.8 für Verbindung [4] bzw. [5] deutlich. Außerdem erscheint anstelle des Signals bei  $\delta_C$  71.2 für C-25 bei Verbindung [5] ein quartärer

Kohlenstoff bei  $\delta_C$  74.9 auf. Des Weiteren tritt, wie schon durch ein entsprechendes Molekülfragment im EIMS angedeutet, bei diesem Derivat tatsächlich ein zweites Methoxysignal bei  $\delta_H$  3.15 auf.

Unter isolierter Betrachtung der Daten der Verbindung [5] stellt sich die Frage nach der Lage der Methoxygruppe., da C-20 und C-25 beide bei  $\delta_C$  74.9 liegen. Eine Vergrößerung des entsprechenden Bereiches im HMBC zeigt die Korrelation des Methoxysignals bei  $\delta_H$  3.15 mit Kohlenstoff C-25. Mit diesem korrelieren auch die geminalen Methylgruppen H<sub>3</sub>-26 und H<sub>3</sub>-27, während die Methylgruppe ein Kreuzsignal mit dem Kohlenstoff C-20 zeigt, der etwas weiter ins tiefe Feld verschoben ist als C-25.

Die finale Entscheidung über die Position der zweiten Methylgruppe liefert der Vergleich mit der vorherigen Verbindung [4]. Der Wert für C-25 ( $\delta_C$  74.9) weicht signifikant von dem der Verbindung [4] ( $\delta_C$  71.2) ab, während die Werte für C-20 bei den beiden Derivaten weitgehend übereinstimmen (siehe Tabelle 3.2.). Die Daten der Methylgruppe H<sub>3</sub>-23 stimmen überein. Die Methoxyfunktion befindet sich also an C-25. Bestätigt wird dieser Befund auch durch den Vergleich mit Daten aus der Literatur. Literaturdaten zufolge bewirkt eine Methoxyfunktion statt einer Hydroxylgruppe eine Hochfeld-Verschiebung um 4 bis 5 ppm [Jiang *et al.* 1999, Rickling & Glombitza 1993 und Valente *et al.* 1994].

Bei dem Secodammaran [5] handelt es sich um einen neuen Naturstoff, um die an den Positionen 3 und 25 zweifach methylierte und bekannte Verbindung (23*E*)-(20*S*)-20,25-dihydroxy-3, 4,-secodammara-4(28),23-dien-3-carbonsäure [4] (siehe oben).

Die Verbindung [6], ebenfalls eine farblose Substanz von öligem Konsistenz, liefert im FABMS das Molekülion unter Addition von Natrium ( $m/z$  527). Da die Substanz instabil ist, konnte keine hochauflösende Massenspektrometrie durchgeführt werden.

Der Wert für die optische Drehung konnte bei diesem Derivat wegen der Instabilität der Verbindung ebenfalls nicht ermittelt werden.

Auch für diese Verbindung sind die Protonen- und Kohlenstoff-NMR-Daten in Übereinstimmung mit dem 3,4-Seco-Dammaran-Grundgerüst (siehe Tabelle 3.2.). Das Methoxysignal bei  $\delta_H$  3.66 bzw.  $\delta_C$  51.6, sowie die Verschiebung des Kohlenstoffs C-3 ( $\delta_C$  174.6) bestätigen wieder die Methylesterfunktion im geöffneten Ring A des Secodammarans.

Bei diesem Derivat, wie bei den beiden zuvor diskutierten Verbindungen [4] und [5], tritt eine  $\Delta^{23,24}$  Doppelbindung auf. Die HMBC-Korrelationen deuten auf eine Seitenkette vergleichbar mit den vorherigen beiden Verbindungen hin (siehe Tabelle 3.2.). Hier weichen die Werte für die chemischen Verschiebungen im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum bei C-23, C-24, C-26, C-27 und v.a. bei C-25 allerdings signifikant von den Werten der Verbindungen [4] und [5] ab (siehe Tabelle 3.2.). Die chemische Verschiebung des Kohlenstoffs C-25 beträgt 82.3 ppm, während sie bei Derivat [4], welches eine Hydroxylgruppe in Position 25 trägt mit einer chemischen Verschiebung von  $\delta_C$  71.2 deutlich weiter hochfeld verschoben ist. Diese Unterschiede lassen sich durch eine Hydroperoxidgruppe anstelle der Hydroxylgruppe an Kohlenstoff C-25 erklären. Die Verschiebungswerte stimmen mit denen vergleichbarer Hydroperoxide überein [Yoshikawa *et al.* 1992, Cabrera *et al.* 1996, Kato *et al.* 1996, Yoshikawa *et al.* 1997, Jiang *et al.* 1999, Lee *et al.* 2001].

Als ein weiterer Beleg für eine Hydroperoxidfunktion am C-25 kann ein breites Singulett bei  $\delta_H$  7.42 für ein austauschbares Proton gewertet werden, welches ebenfalls mit Literaturangaben konform ist [z.B. Jiang *et al.* 1999].

Bei der Verbindung [6] handelt es sich somit ebenfalls um einen neuen Naturstoff, den (23*E*)-(20*S*)-20,hydroxy-25-hydroperoxy-3,4,-secodammara-4(28),23-dien-3-carbonsäure-methylester. Ein Secodammaran mit dieser Seitenkette und einer Hydroperoxidgruppe am Kohlenstoff C-25 ist bisher nicht beschrieben worden.

Das Derivat [7], eine farblose Substanz öliger Konsistenz, liefert im HRESIMS mit  $m/z$  445.3387 (berechnet für  $C_{28}H_{44}O_4$ :  $m/z$  445.3318) das Molekülion.

Der  $[\alpha]_D^{20}$ -Wert liegt für Verbindung [7] bei  $+29.0^\circ$  (c 0.10,  $CHCl_3$ ).

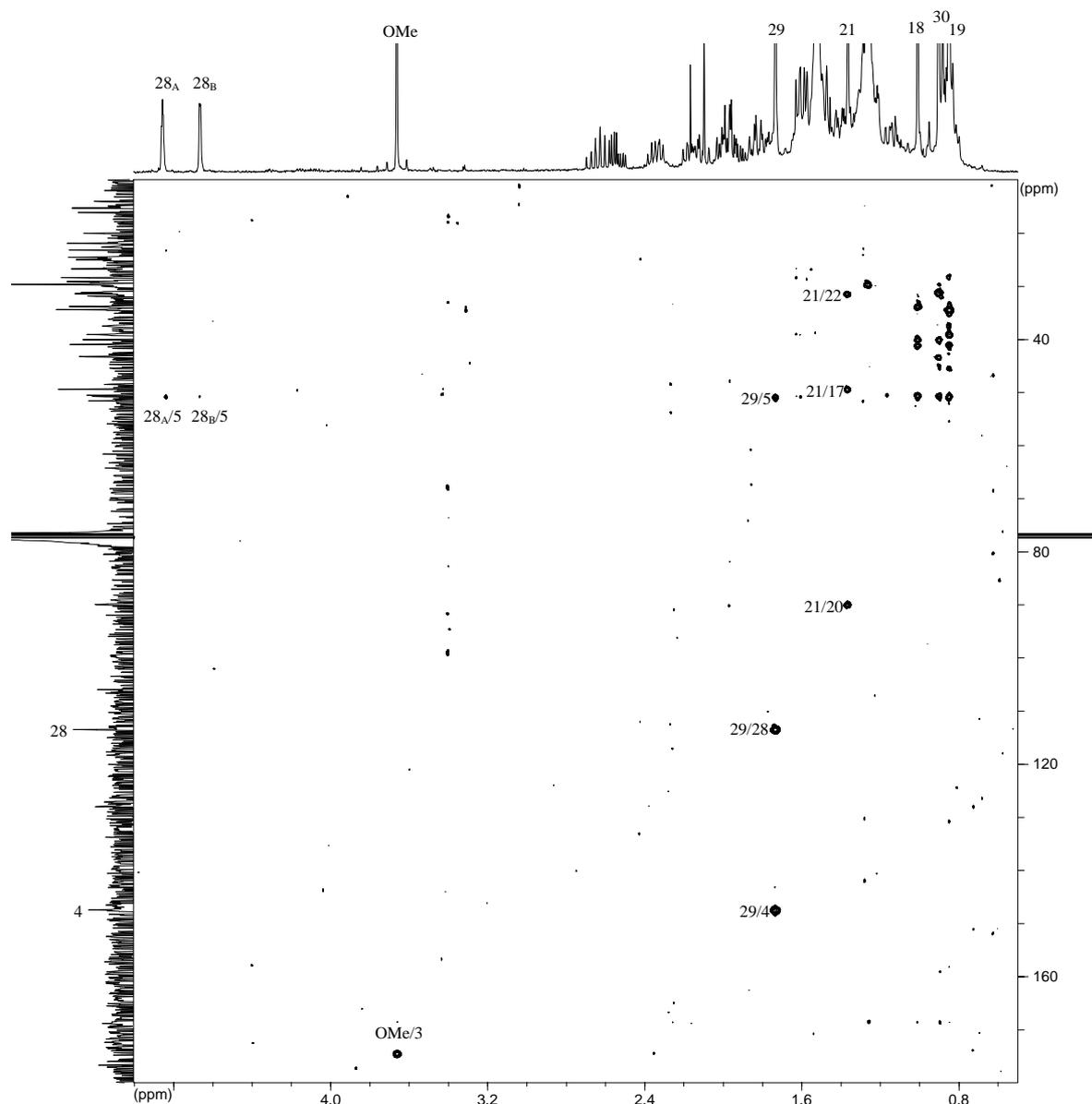
Auch für diese Verbindung lässt sich anhand der Verschiebungen der Protonen und Kohlenstoffe, sowie der HMBC-Korrelationen (siehe Abbildung 3.15.) der Methylgruppen das 3,4-Secodammaran-Grundgerüst mit der Methylesterfunktion in Position C-3 postulieren (siehe Tabelle 3.3.). Nur der Kohlenstoff in Position 13 ( $\delta_C$  43.4) weicht etwas von den Daten der anderen, ebenfalls in  $CDCl_3$  gemessenen Derivate ( $\delta_C$  42.4) ab, ist aber im Einklang mit der Literatur zu der gefundenen Struktur [Hilpisch *et al.* 1997].

Im Gegensatz zu den anderen Derivaten sind bei Verbindung [7] nur fünf Methylsignale bei Resonanzen von  $\delta_H$  1.00, 0.84, 1.36, 1.73 and 0.90 für  $H_{3-18}$ ,  $H_{3-19}$ ,  $H_{3-21}$ ,  $H_{3-29}$  und  $H_{3-30}$  zu finden. Im  $^1H$ -NMR-Spektrum tauchen bei  $\delta_H$  2.65 und 2.53 zwei Multipletts auf, die sich im COSY-Spektrum als Methylengruppe erweisen, die mit einer weiteren Methylengruppe koppelt (siehe Abbildung 3.16.). Die entsprechenden Methylenprotonen resonieren bei  $\delta_H$  2.10 bzw. 1.94. Die Methylengruppen  $H_{2-23}$  und  $H_{2-22}$  bilden ein isoliertes Spinsystem.

Die einzige, nicht dem Grundgerüst zuzuordnende Methylgruppe ( $H_{3-21}$ ) ist mit  $\delta_H$  1.36 im Vergleich zu den bisher diskutierten Derivaten mit Werten um  $\delta_H$  1.14 deutlich ins tiefe Feld verschoben (siehe Tabellen 3.1. und 3.2.).  $H_{3-21}$  zeigt im HMBC (siehe Abbildung 3.15.) Korrelationen zu Kohlenstoffen mit  $\delta_C$  49.5,  $\delta_C$  90.0 und  $\delta_C$  31.6 für C-17, C-20 und C-22.

Die Tieffeldverschiebungen der Kohlenstoffe C-20 und C-22 sowie die chemische Verschiebung der Methylgruppe  $H_{3-21}$  sind konform mit dem postulierten Ring, wie eine Literatursuche zeigt [Hilpisch *et al.* 1997]. Der Lactonring am Kohlenstoff in Position C-17 wird auch durch ein Molekülfragment von  $m/z$  99 im GCMS-Spektrum belegt [vgl. auch Singh & Aalbersberg 1992]. Dieses Fragment bildet das stärkste Signal.

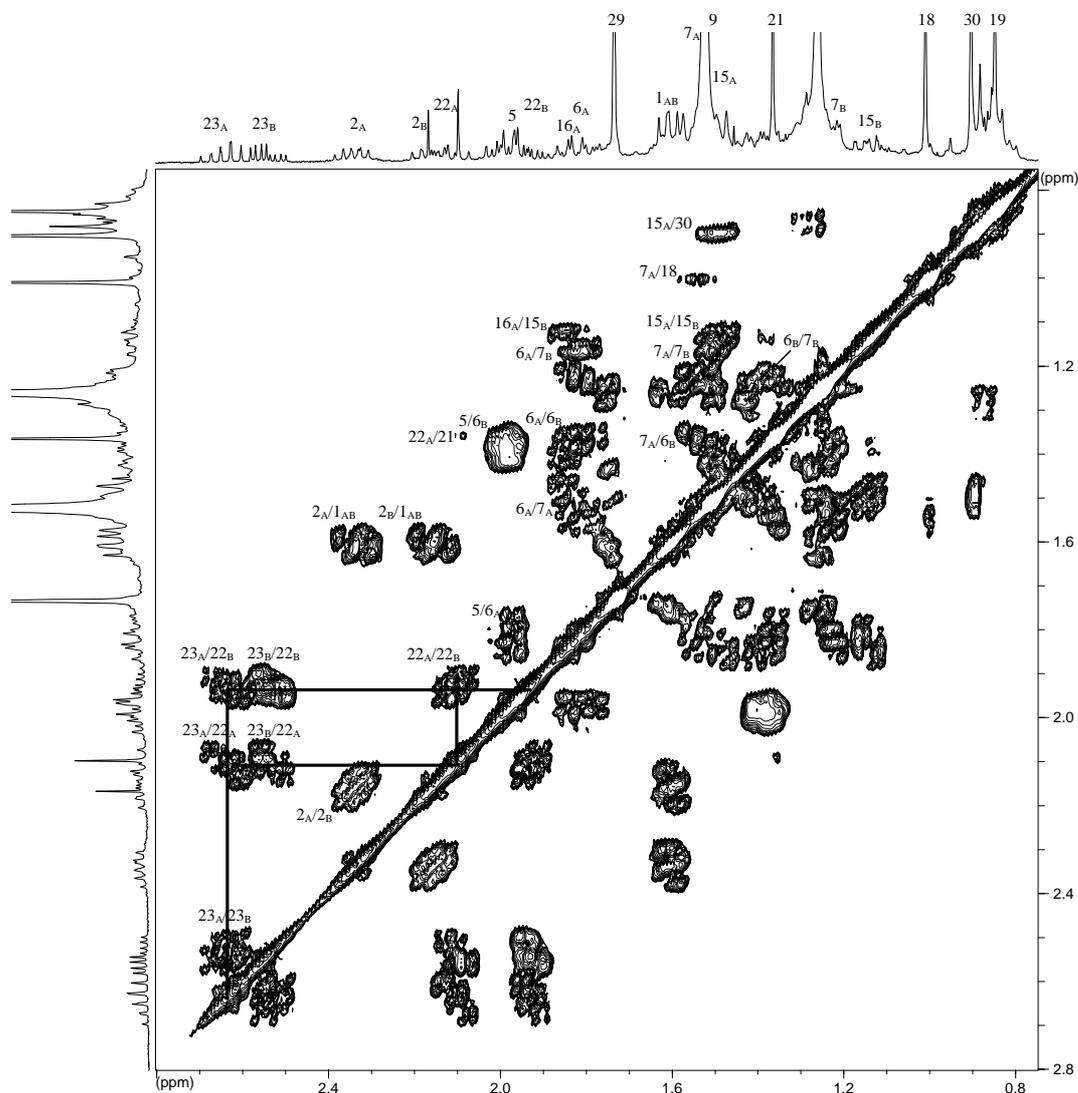
Die Kohlenstoffe C-23 und C-24 können wegen der geringen zur Verfügung stehenden Substanzmenge nicht ermittelt werden.



**Abbildung 3.15.: HMBC-Korrelationen der Verbindung [7]**

Auf die Frage nach der Stereochemie in Position 20 gibt ebenfalls die Literatur Antwort. Yamashita *et al.* [1998] haben beide Isomere eines Dammarans mit geschlossenem Ring A und ohne Sauerstoffsubstituent an C-3, aber mit dem für Verbindung [7] gefundenen Lactonring in der Seitenkette, beschrieben. Die Autoren nennen die chemische Verschiebung der Methylgruppe CH<sub>3</sub>-21 als entscheidendes Kriterium zur Festlegung der Konfiguration des

Kohlenstoffs C-20. So ist in der (*R*)-Konfiguration ein Wert bei  $\delta_C$  23.6 und in der (*S*)-Konfiguration ein Wert bei  $\delta_C$  25.5 zu erwarten [Yamashita *et al.* 1998].



**Abbildung 3.16.: COSY-Korrelationen der Verbindung [7] im tiefen Feld**

Bei Verbindung [7] ist keine Korrelation im HMBC-Spektrum zu finden, über welche sich die chemische Verschiebung der Methylgruppe CH<sub>3</sub>-21 definieren lässt. Die Betrachtung der im <sup>13</sup>C gefundenen Kohlenstoffe unter Berücksichtigung der Multiplizitäten (DEPT-Spektrum) zeigt jedoch einen noch nicht über die Grundstruktur definierten Kohlenstoff bei  $\delta_C$  25.5 und legt somit die 20(*S*)-Konfiguration nahe. Des Weiteren kann auch mit dem wahrscheinlichen biosynthetischen Zusammenhang zwischen der Verbindung [7] und den zuvor diskutierten Derivaten argumentiert werden, die alle in der 20(*S*)-Konfiguration vorliegen (siehe auch Diskussion).

## Ergebnisse

Bei dem hier beschriebenen Naturstoff handelt es sich also um den Methylester der Verbindung 20S,24-Epoxy-25,26,27-trisnor-24-oxo-3,4-seco-4(28)-dammaren-3-carbonsäure. Der Methylester ist bisher nur nach artifizierlicher Methylierung bekannt [vgl. Rosenthal *et al.* 1965, Singh & Aalbersberg 1992, Luo *et al.* 2000].

**Tabelle 3.3.: NMR-Datentabelle der Verbindungen [7] aus *Aglaia ignea* und des Substanzgemisches [8ab] aus *Aglaia duppereana***

Position	[7] <sup>a</sup>			[8a] <sup>a</sup>		[8b] <sup>a</sup>		[8ab] <sup>a</sup>
	$\delta_c$	$\delta_H$ (J Hz)	HMBC	$\delta_c$	$\delta_H$ (J Hz)	$\delta_c$	$\delta_H$ (J Hz)	HMBC
1	34.5	A. 1.61 m B. 1.61 m		34.3	A. 1.64 m B. 1.63 m	34.3	A. 1.64 m B. 1.63 m	3
2	28.5 <sup>c</sup>	A. 2.33 m B. 2.16 m		28.0	A. 2.40 m B. 2.23 m	28.0	A. 2.40 m B. 2.23 m	1, 3
3	174.6			178.5		178.5		
4	147.5			147.5		147.5		
5	50.8	1.98 m		50.8	1.99 m	50.8	1.99 m	4, 6, 28
6	29.8 <sup>c</sup>	A. 1.84 m B. 1.38 m		24.1	A. 1.88 m B. 1.35 m	24.1	A. 1.88 m B. 1.35 m	4
7	33.9	A. 1.54 m B. 1.24 m		33.9	A. 1.56 m B. 1.24 m	33.9	A. 1.56 m B. 1.24 m	
8	40.1			40.1		40.1		
9	41.1	1.50 m		41.2	1.54 m	41.2	1.54 m	
10	39.2			39.1		39.1		
11	22.0 <sup>c</sup>	A. 1.43 m B. 1.28 m		22.0	A. 1.42 m B. 1.25 m	22.3	A. 1.42 m B. 1.25 m	
12		A. 1.83 m B. 1.23 m		26.2	A. 1.84 m B. 1.22 m	27.5	A. 1.84 m B. 1.22 m	
13	43.4	1.64 m		43.0	1.68 m	42.9	1.68 m	
14	50.7			50.4		50.4		
15	31.3	A. 1.48 m B. 1.14 m		31.5		31.5		
16	26.8 <sup>c</sup>	A. 1.74 m B. 1.44 m		25.7	A. 1.78 m	24.6	A. 1.78 m	
17	49.5			49.7	1.73 m	49.5	1.73 m	
18	16.2 <sup>c</sup>	1.00 s	7, 8, 9, 14	16.3	1.02 s	16.3	1.00 s	7, 8, 9, 14
19	20.2 <sup>c</sup>	0.84 s	1, 5, 9, 10	20.2	0.86 s	20.2	0.85 s	1, 5, 9, 10
20	90.0			86.6		86.6		
21	25.5	1.36 s	17, 20, 22	26.9	1.15 s	23.5	1.13 s	17, 20, 22
22	31.6	A. 2.10 m B. 1.94 m		34.8	A. 1.93 m B. 2.11 m	35.8	A. 1.70 m B. 1.66 m	
23		A. 2.65 m B. 2.53 m		26.4	A. 2.63 m B. 1.78 m	25.8	A. 1.84 m B. 1.78 m	
24				86.4	3.64 dd (5.0, 9.5)	83.3	3.73 t (7.3)	
25				70.3		71.5		
26				27.9	1.19 s	27.2	1.21 s	24, 25, 27
27				24.3	1.11 s	24.6	1.12 s	24, 25, 26
28	113.5	A 4.85 br s B 4.65 br s		113.5	A. 4.88 br s B. 4.69 br s	113.5	A. 4.88 br s B. 4.69 br s	4, 5, 6, <b>28</b> 5, 6, <b>28</b>
29	23.3 <sup>c</sup>	1.73 s	4, 5, 28	23.2	1.73 s	23.2	1.73 s	4, 5, 28
30	15.4 <sup>c</sup>	0.90 s	8, 13, 14, 15	15.3	0.89 s	15.3	0.89 s	8, 13, 14, 15
OCH <sub>3</sub>		3.65 s	3					

CDCl<sub>3</sub>; <sup>b</sup>MeOH; (w): schwache Korrelation; Fettdruck: Direktkorrelation  
Die Zuordnung erfolgte über 2D-NMR-Daten (COSY, HMBC)

<sup>c</sup> Zuordnung der <sup>13</sup>C-Daten über Literaturvergleich (Singh & Aalbersberg 1992; Roux *et al.* 1998)]

Das Cabralealacton, welches sich von der Verbindung [7] durch einen geschlossenen Ring A und einer Ketofunktion in Position 3, sowie zwei geminalen Methylgruppen in Position 4 unterscheidet, wird von Benosman *et al.* [1994] für die Rinde von *Aglaia leucophylla* beschrieben.

### 3.1.2. 3,4-Secodammarane aus der Wurzel von *Aglaia dupperreana*

Aus der Wurzel von *Aglaia dupperreana* konnte ein H-24-Epimerengemisch ([**8a**] und [**8b**]) von öligler Konsistenz isoliert werden (Abbildung 3.17.).

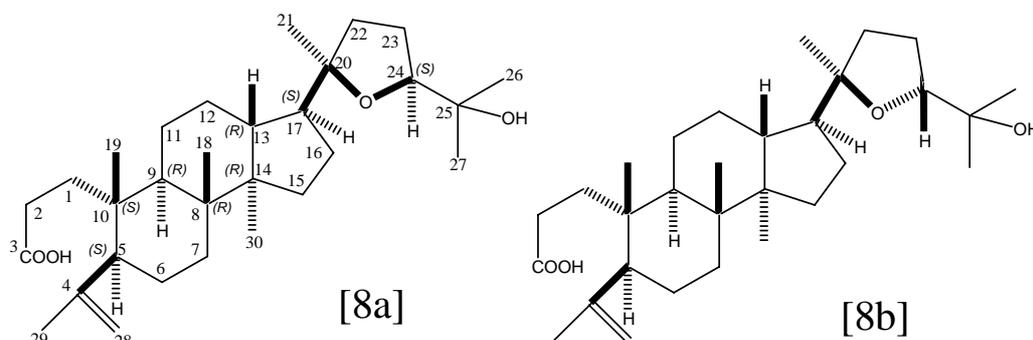


Abbildung 3.17.: Isomere 3,4-Secodammarane aus der Wurzel von *Aglaia dupperreana*

Im ESIMS-Experiment im negativen Modus taucht mit  $m/z$  473.4657 (berechnet für  $C_{30}H_{49}O_4$   $m/z$  473.3631) das erwartete Molekülion auf (berechnet für  $C_{30}H_{50}O_4$   $m/z$  474.3709).

Die Zuordnung der Protonensignale für dieses Derivat erfolgt anhand der HMQC-, HMBC- (siehe Abbildung 3.18.) und COSY-Korrelationen (siehe Abbildung 3.19.) sowie im Vergleich mit den Daten aus der Literatur und denen der anderen 3,4-Secodammarane ([**1**]-[**7**]).

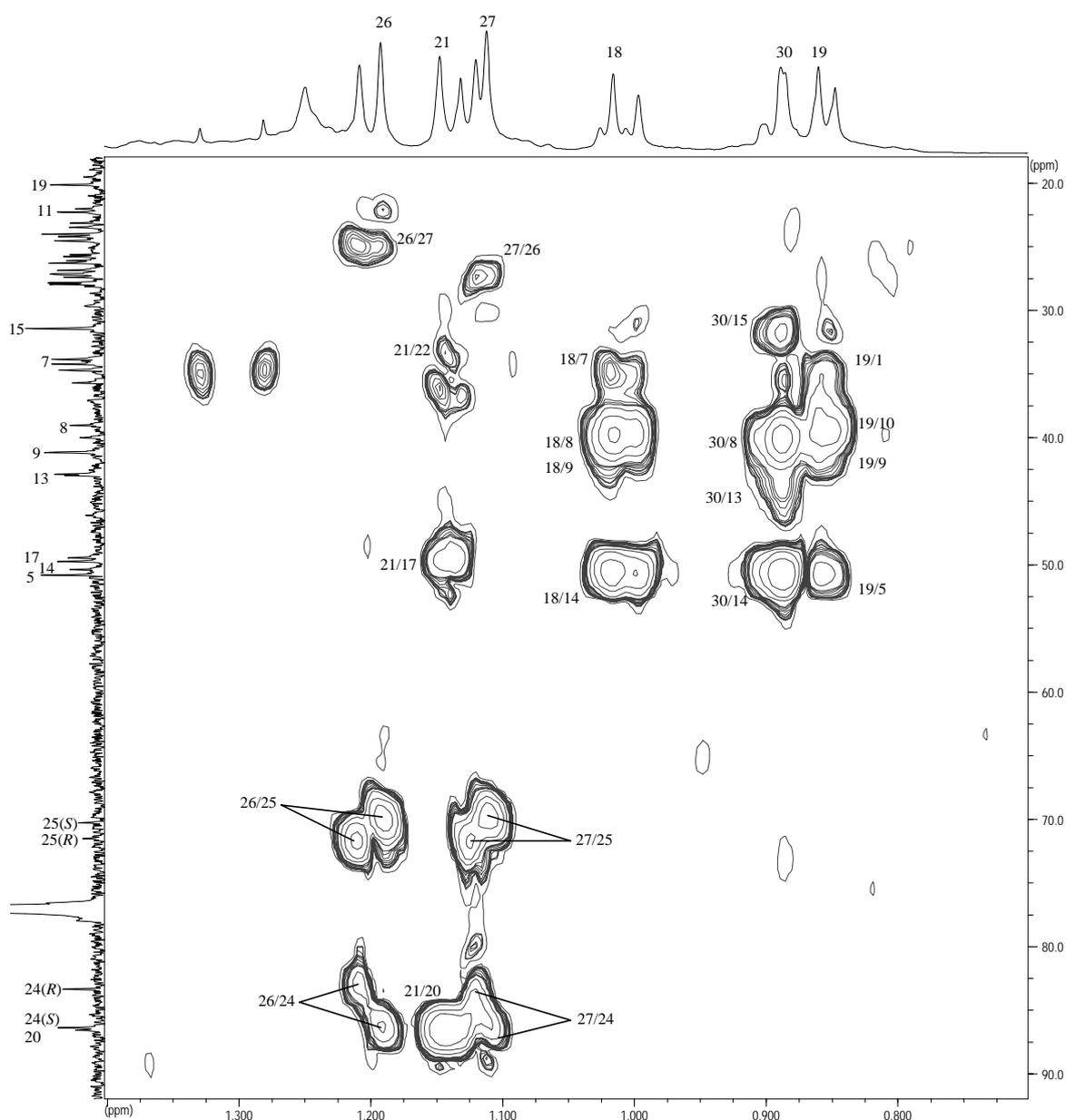
Die genaue Analyse des Protonenspektrums unter Berücksichtigung der Integrale zeigt das Vorliegen von 14 Methylgruppensignalen, von denen zwei bei identischen chemischen Verschiebungen überlappen (siehe Tabelle 3.3.). Die anderen unterscheiden sich um maximal 0.03 ppm. Die Integrale indizieren, dass es sich hier um ein Substanzgemisch im Verhältnis von ungefähr 1.5:1 handelt. Das HMBC-Spektrum (siehe Abbildung 3.18.) mit identischen Korrelationen zu Kohlenstoffen, die für beide Verbindungen bei ähnlichen chemischen Verschiebungen liegen bzw. z.T. überlappen, spricht dafür, dass es sich um Stereoisomere handelt.

Die Methylgruppensignale bei  $\delta_{\text{H}}$  1.02 bzw. 1.00 ( $\text{H}_3\text{-18}$ ),  $\delta_{\text{H}}$  0.86 bzw. 0.85,  $\delta_{\text{H}}$  1.15 bzw. 1.13,  $\delta_{\text{H}}$  1.73 und  $\delta_{\text{H}}$  0.89 ( $\text{H}_3\text{-18}$ ,  $\text{H}_3\text{-19}$ ,  $\text{H}_3\text{-21}$ ,  $\text{H}_3\text{-29}$  und  $\text{H}_3\text{-30}$ ) bei den Verbindungen **[8a]** und **[8b]** decken sich mit den Werten der Verbindung **[7]** und deuten auf das bereits bekannte 3,4-Secodammaran-Grundgerüst hin.

Im tiefen Feld des HMBC (siehe Abbildung 3.18.) sind die zu erwartenden Korrelationen der Methylgruppen des Dammaran-Grundgerüsts ( $\text{H}_3\text{-18}$ ,  $\text{H}_3\text{-19}$ ,  $\text{H}_3\text{-21}$ ,  $\text{H}_3\text{-29}$  und  $\text{H}_3\text{-30}$ ) wie in den beiden zuvor diskutierten Verbindungen **[1-7]** zu finden. Auch die chemische Verschiebung sowohl der Kohlenstoffe (C-28 und C-4) als auch der Protonen ( $\text{H}_2\text{-28}_\text{A}$  und  $\text{H}_2\text{-28}_\text{B}$ ) der Exomethylengruppe stimmen mit denen der anderen 3,4-Secodammarane überein (siehe Tabellen 3.1. bis 3.3.). Daneben sind im COSY-Spektrum die Korrelationen der Exomethylenprotonen  $\text{H}_2\text{-28}_\text{A}$  und  $\text{H}_2\text{-28}_\text{B}$  zueinander und die „long-range“-Korrelation mit der Methylgruppe  $\text{H}_3\text{-29}$  zu erkennen. Im HMBC treten Korrelationen der Methylenprotonen  $\text{H-1}_{\text{AB}}$  sowie  $\text{H-2}_\text{A}$  und  $\text{H-2}_\text{B}$  mit einem Kohlenstoff bei  $\delta_{\text{C}}$  178.5 (C-3) auf und deuten auf das Vorliegen der freien Säuregruppe wie auch bei den Verbindungen **[1]** und **[4]** hin.

Folglich ist anzunehmen, dass es sich bei diesem Derivat ebenfalls um ein Secodammaran handelt, welches sich wie bei den zuvor diskutierten Verbindungen in der Seitenkette an C-17 unterscheidet.

Die beiden Methylgruppensignale für  $\text{CH}_3\text{-21}$  bei  $\delta_{\text{H}}$  1.15 ( $24(S)$ ) und 1.13 ( $24(R)$ ) korrelieren mit Kohlenstoffen bei  $\delta_{\text{C}}$  49.7 ( $24(S)$ ) bzw. 49.5 ( $24(R)$ ) für C-17,  $\delta_{\text{C}}$  86.6 für C-20 sowie  $\delta_{\text{C}}$  34.8 ( $24(S)$ ) bzw. 35.8 ( $24(R)$ ) für C-22. C-17 lässt sich anhand der chemischen Verschiebung zuordnen. Die Werte stimmen mit denen der Verbindung **[7]** überein. Eine Resonanz bei  $\delta_{\text{C}}$  86.6 spricht wiederum für ein Heteroatom in Nachbarschaft des Kohlenstoffes. Allerdings erscheint C-20 etwas weiter im hohen Feld als bei Verbindung **[7]** (siehe Tabelle 3.3.).



**Abbildung 3.18.: HMBC-Korrelationen der Verbindungen [8a] und [8b] im tiefen Feld**

Ausgehend von den beiden verbleibenden geminalen Methylgruppen H<sub>3</sub>-26 und H<sub>3</sub>-27 bei Resonanzen von  $\delta_{\text{H}}$  1.19 und 1.11 (24(S)) bzw.  $\delta_{\text{H}}$  1.21 und 1.12 (24(R)) zeigen sich im HMBC-Spektrum die entsprechenden Kreuzsignale mit der jeweils anderen Methylgruppe und weitere Korrelationen zu Kohlenstoffen bei  $\delta_{\text{C}}$  86.4 und 70.3 (24(S)) bzw.  $\delta_{\text{C}}$  83.3 und 71.5 (24(R)) (C-24 und C-25) (siehe Tabelle 3.3.). Auch die chemischen Verschiebungen dieser Kohlenstoffe sprechen für Sauerstoffsubstituenten in der Nachbarschaft.

Daneben tauchen Doppeldupletts für H-24 bei  $\delta_H$  3.64 für das (*S*)-Epimere ( $J=5.0$  und  $9.5$ ) und als Tripletts bei  $\delta_H$  3.73 für das (*R*)-Epimere ( $J=7.3$ ) auf. Auch die chemischen Verschiebungen dieser Signale indizieren die Nachbarschaft zu Sauerstoffen. Die Zuordnung der Signale zu den beiden Epimeren erfolgt dabei unter Berücksichtigung der Integration der Protonensignale. Das 24(*S*)-Epimere überwiegt mit einem Verhältnis von etwa 1.5:1 in dem vorliegenden Gemisch.

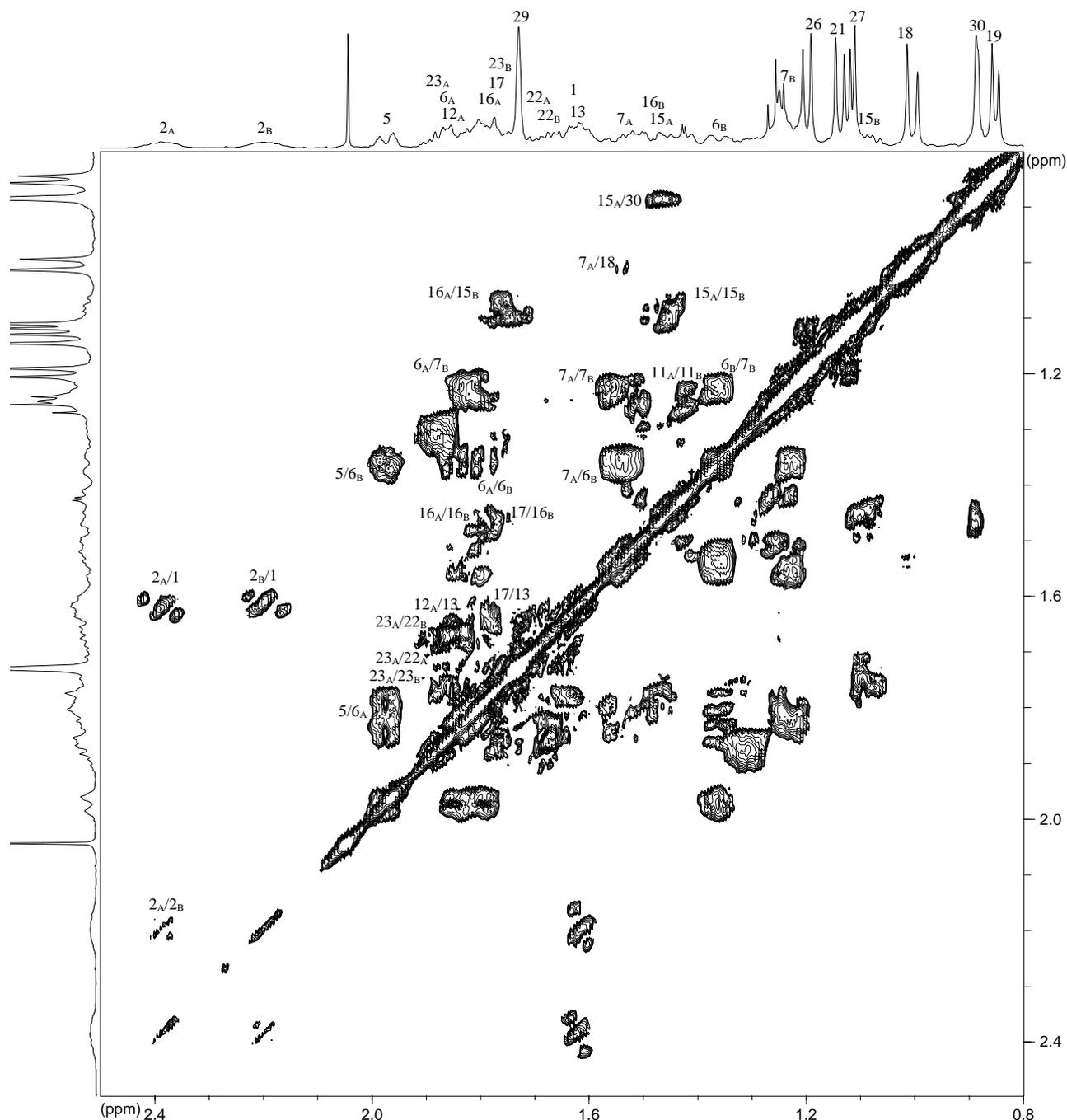


Abbildung 3.19.: COSY-Korrelationen der Verbindungen [8a] und [8b]

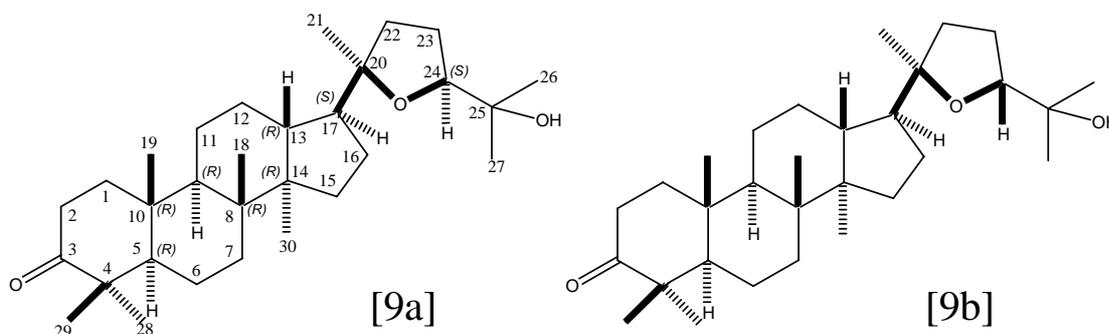
Auch bei dem Epimerengemisch [**8ab**] kann man, wie auch bei den anderen bereits beschriebenen Secodammaranen die 20(*S*) und 17(*S*) Konfiguration [siehe oben und vgl. z.B. mit Lavie *et al.* 1984 und Govindachari *et al.* 1994] finden, was sich durch die entsprechenden chemischen Verschiebungen zeigen lässt (siehe Tabelle 3.3.).

Ein Literaturvergleich mit Daten für Verbindungen dieses Molekulargewichtes aus *Aglaia* und der nahe verwandten Gattung *Dysoxylum* ermöglicht die Identifizierung des Gemisches. Es handelt sich auch hier um 3,4-Secodammarane, die bereits u.a. aus *Dysoxylum*-Arten isoliert wurden und als Shoreasäure (24(*R*) [**8b**]) und Eichleriansäure (24(*S*) [**8a**]) bekannt sind [Govindachari *et al.* 1994, Huang *et al.* 1999]. Mohamad *et al.* (1999b) konnten die beiden Epimere (ebenfalls als Gemisch) aus *Aglaia lawii* gewinnen. Die Eichleriansäure ist bereits für *Aglaia leucophylla* [Benosman *et al.* 1994] bekannt und die Shoreasäure wird später von Rivero-Cruz *et al.* [2004] auch für *A. ignea* beschrieben.

Die chemischen Verschiebungen der Kohlenstoffe im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Experiment stimmen gut mit den Werten aus der Literatur zu den beiden Epimeren überein [Roux *et al.* 1998] (siehe Tabelle 3.3.).

### 3.1.3. Dammarane aus Zweigen von *Aglaia cucculata*

Die Abbildung 3.20. zeigt ein H-24-Isomerengemisch, welches aus den Zweigen von *Aglaia cucculata* isoliert werden konnte.

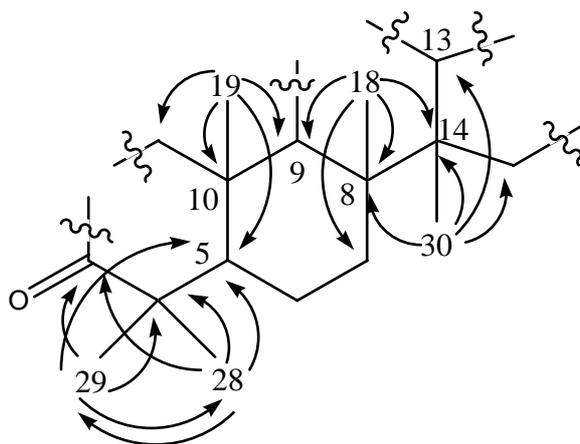


**Abbildung 3.20.: Isomere Dammarane aus Zweigen von *Aglaia cucculata***

Im ESIMS im positiven Modus kann für das Substanzgemisch das Molekülion mit 459.4892 (berechnet für  $C_{30}H_{51}O_3$   $m/z$  459.3838) gefunden werden. Die tatsächliche Summenformel lautet  $C_{30}H_{51}O_3$ .

Die Signale für die Methylgruppen H<sub>3</sub>-18, H<sub>3</sub>-19, H<sub>3</sub>-21, H<sub>3</sub>-26 und H<sub>3</sub>-27 liegen, wie auch schon bei dem Substanzgemisch [8ab] für die beiden Epimere bei unterschiedlichen chemischen Verschiebungen vor (siehe Tabelle 3.4.). Den Integralen zufolge liegen die Substanzen in einem Verhältnis von 1:1.3 vor. Auch die Werte der Kohlenstoffe unterscheiden sich teilweise bei den beiden Derivaten.

Im HMBC-Spektrum lassen sich die Korrelationen der Dammaranstruktur ausgehend von den Methylgruppen identifizieren (siehe Abbildung 3.21. und 3.22.). H<sub>3</sub>-18 ( $\delta_H$  1.01 bzw. 0.99), H<sub>3</sub>-19 ( $\delta_H$  0.94 bzw. 0.93) und H<sub>3</sub>-30 ( $\delta_H$  0.88) zeigen die entsprechenden gemeinsamen Kreuzsignale wie im Falle der bereits diskutierten Verbindungen dieses Strukturtyps (siehe Tabelle 3.4.). H<sub>3</sub>-18 und H<sub>3</sub>-19 korrelieren beide mit C-9, H<sub>3</sub>-18 und H<sub>3</sub>-30 zeigen jeweils mit C-8 und C-14 Korrelationen. Zwei geminale Methylgruppen (H<sub>3</sub>-28 bei  $\delta_H$  1.08 und H<sub>3</sub>-29 bei  $\delta_H$  1.04) koppeln erwartungsgemäß miteinander und mit einem Kohlenstoff bei  $\delta_C$  55.3 (C-5), der ebenfalls mit H<sub>3</sub>-19 ein Kreuzsignal zeigt, wodurch die Position dieser Methylgruppen definiert ist.



**Abbildung 3.21.: Wichtige HMBC-Korrelationen Grundstruktur der Verbindungen [9a] und [9b]**

H<sub>3</sub>-28 und H<sub>3</sub>-29 korrelieren auch mit einem Kohlenstoff bei  $\delta_C$  218.2 (C-3) (siehe Tabelle 3.4.). Diese chemische Verschiebung indiziert eine Carbonylfunktion in dieser Position (C-3) am Ring A. Aus diesen Befunden lässt sich vermuten, dass es sich bei den Verbindungen [8a] und [8b] um gewöhnliche Dammarane mit einem geschlossenen Ring A handelt. Ein COSY-Spektrum zur Identifizierung der Spinsysteme und zur Zuordnung der einzelnen Protonensignale steht für dieses Gemisch nicht zur Verfügung, so dass die Verifizierung mittels Literaturvergleich erfolgen muss [z.B. Govindachari *et al.* 1994].

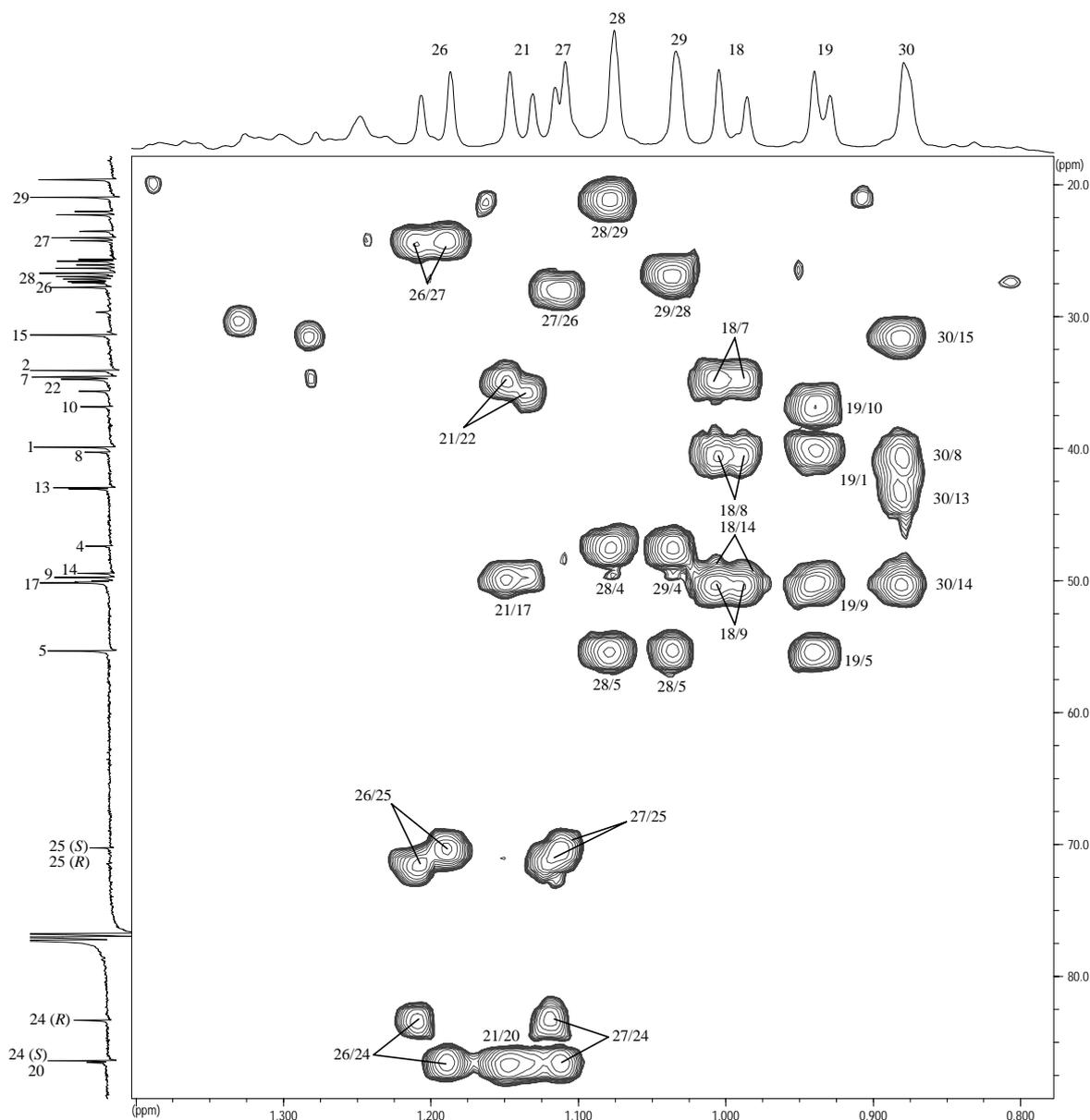
Die chemischen Verschiebungen der verbleibenden Methylgruppen H<sub>3</sub>-21, H<sub>3</sub>-26 und H<sub>3</sub>-27 stimmen gut mit den Daten der Verbindungen [8a] und [8b] überein und lassen auf die entsprechende Seitenkette schließen (vgl. Tabelle 3.3. und 3.4.). Die Methylgruppe H<sub>3</sub>-21 bei  $\delta_H$  1.15 (24(*S*)) bzw.  $\delta_H$  1.13 (24(*R*)) korreliert im HMBC (siehe Abbildung 3.21.) mit einem Kohlenstoff bei  $\delta_C$  50.2. Hier handelt es sich um den Kohlenstoff C-17, dessen chemische Verschiebung den Werten der anderen Dammarane entspricht. Auch die beiden geminalen Methylgruppen H<sub>3</sub>-26 und H<sub>3</sub>-27 liefern vergleichbare Werte und die entsprechenden Korrelationen im HMBC (siehe Abbildung 3.22.) zu den Kohlenstoffen C-24 und C-25. Die Methinsignale für H-24 tauchen mit vergleichbaren Kopplungskonstanten, Multiplizitäten und chemischen Verschiebungen wie bei den vorherigen Verbindungen auf.

Tabelle 3.4.: NMR-Datentabelle der Verbindungen [9a] und [9b] aus *Aglaia cucculata*

Position	24 (S) <sup>a</sup>		24 (R) <sup>a</sup>		HMBC
	$\delta_C$	$\delta_H$ (J Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ (J Hz)	
1	39.9		39.9		1, 2, 3, 5, 10, 19 19
2	34.1		34.1		1, 3 1, 3, 10
3	218.2		218.2		
4	47.4		47.4		
5	55.3		55.3		6
6	19.7		19.7		
7	34.6		34.6		
8	40.3		40.3		
9	49.8		49.5		7
10	36.9		36.9		
11	21.0		21.0		
12	26.8		26.7		
13	43.0		43.1		16, 20
14	50.0		50.0		
15	31.4		31.4		30
16	25.8		25.7		
17	50.2		50.2		
18	16.1	1.01 s	16.0	0.99 s	7, 8, 9, 14
19	15.2	0.94 s	15.2	0.93 s	1, 5, 9, 10
20	86.5		86.4		
21	27.2	1.15 s	23.5	1.12 s	17, 20, 22
22	34.8		35.7		21, 24
23	27.0		25.4		
24	86.4	3.64 dd (5.0, 9.5)	83.3	3.73 t (7.3)	
25	70.3		71.4		
26	27.8	1.19 s	27.5	1.21 s	24, 25, 27
27	24.1	1.11 s	24.3	1.12 s	24, 25, 26
28	26.7	1.08 s	27.0	1.08 s	3, 4, 5, 29
29	22.3	1.04 s	22.1	1.04 s	3, 4, 5, 28
30	16.3	0.88 s	16.4	0.88 s	8, 13, 14, 15

<sup>a</sup>CDCl<sub>3</sub>; <sup>b</sup>MeOH; (w): schwache Korrelation; Fettdruck: Direktkorrelation;  
Die Zuordnung erfolgte über HMBC-Daten

Die Stereochemie entspricht der der beiden Epimere [8a] und [8b]. Die Substanz liegt folglich in der 20(S)- und 17(S)-Konfiguration vor. Wie im Falle der beiden epimeren Secodammarane unterscheiden sich die beiden Derivate nur bezüglich der Stereochemie an der Position 24. Die Werte der chemischen Verschiebungen der Verbindungen [9a] und [9b] unterscheiden sich nicht wesentlich von diesen Derivaten (vgl. Tabelle 3.3. und 3.4.).



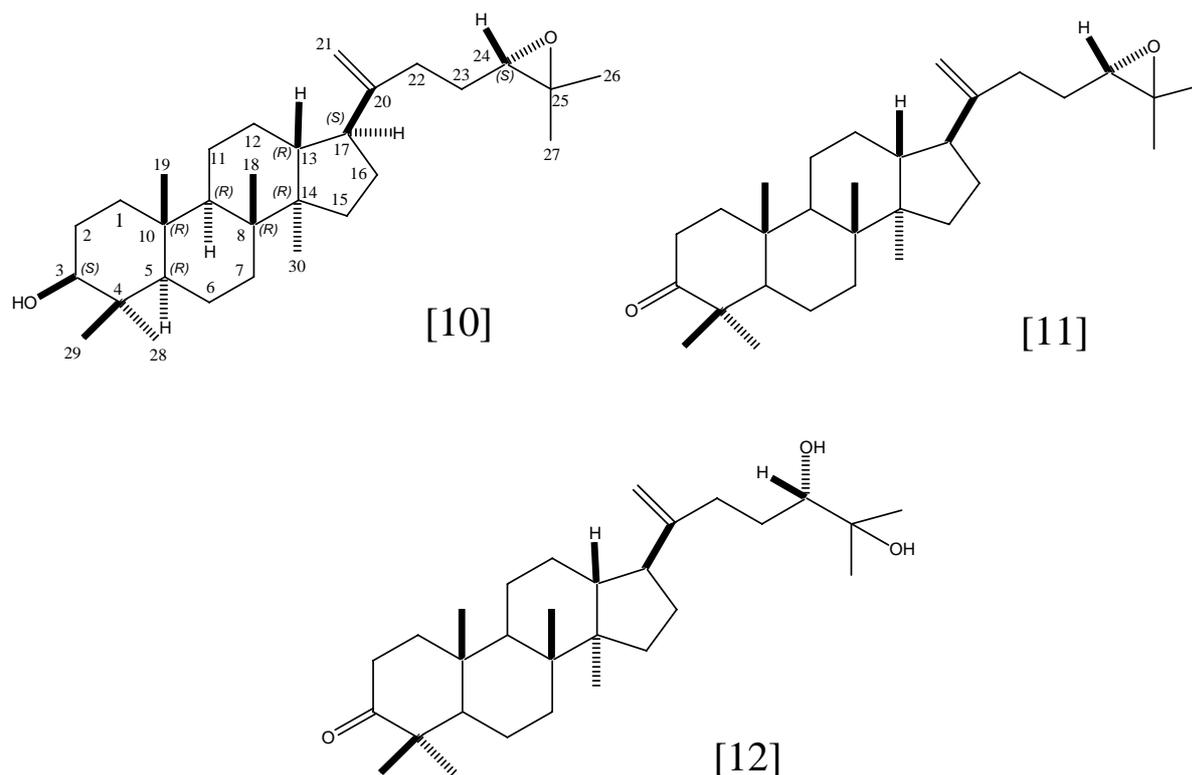
**Abbildung 3.22.:** HMBC-Korrelationen der Methylgruppen der Verbindungen [9a] und [9b]

Bei dem Epimerengemisch [9a] und [9b] handelt es sich folglich um die bekannte Verbindungen Cabraleon (24(S)) bzw. Ocotillon (24(R)) [Tanaka & Yahara 1978; siehe auch Rao *et al.* 1975, Lavie *et al.* 1984, Govindachari *et al.* 1994, Fuchino *et al.* 1996, Huang *et al.* 1999, Mohamad *et al.* 1999b]. Diese unterscheiden sich von den Verbindungen [8a] und [8b] im Ring A. Hier ist der Ring A geschlossen und die Strukturen tragen eine Ketofunktion in Position 3. Beide Derivate sind bereits aus *A. leucophylla* bekannt [Benosman *et al.* 1994]. Ocotillon wurde später von Rivero-Cruz *et al.* [2004] auch für *A. ignea* beschrieben.

Die  $^{13}\text{C}$ -Daten (siehe Tabelle 3.4.) der beiden Epimere sind im Einklang mit Literaturangaben [Tanaka & Yahara 1978]. Die Protonensignale des 24(*S*)-Isomers stimmen ebenfalls gut mit den Daten in Hisham *et al.* [1996] überein, die das 3-OH-Derivat dieses Isomers beschreiben.

### 3.1.4. Dammarane aus den Blättern von *Aglaia duppereana*

Außer den bereits beschriebenen Dammaranen konnten noch drei weitere Dammarane aus den Blättern von *A. duppereana* als Reinsubstanzen gewonnen werden (Abbildung 3.23.).



**Abbildung 3.23.:** Dammarane aus den Blättern von *Aglaia duppereana*

Im FABMS im positiven Modus der Verbindung [10] erscheint das [M+Na] bei  $m/z$  465 bzw. das [M+H] bei  $m/z$  443. Der  $[\alpha]_D^{20}$ -Wert liegt hier bei  $+23.9^\circ$  ( $c$  0.30,  $\text{CHCl}_3$ ).

Im  $^{13}\text{C}$ -NMR tauchen 30 Kohlenstoffe auf (siehe Tabelle 3.5.), welche sich mit Hilfe des DEPT-NMR und Protonenspektrums sieben Methylsingulets, elf Methylengruppen, fünf Methingruppen und sieben quartären Kohlenstoffen zuordnen lassen. Ein Methylensignal erscheint bei  $\delta_{\text{C}}$  108.2 und indiziert somit eine Exomethylengruppe. Die Summenformel für dieses Derivat lässt sich folglich mit  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$  ableiten.

## Ergebnisse

Zwei Methylgruppen bei Resonanzen von  $\delta_H$  0.98 und 0.77 ( $H_3$ -28 und  $H_3$ -29) zeigen im HMBC (siehe Abbildung 3.24.) eine Korrelation zu einem Kohlenstoff bei  $\delta_C$  79.3. Die chemische Verschiebung dieses Kohlenstoffes (C-3) spricht ein Kohlenstoffatom, das einen Hydroxylsubstituenten trägt. Da  $H_3$ -28 und  $H_3$ -29 ferner zwei weitere gemeinsame Kreuzsignale bei  $\delta_C$  39.4 und 56.3 (C-4 und C-5) aufweisen und zudem miteinander korrelieren, muss es sich um eine geminale Methylgruppe handeln. Die Zuordnung der Methylsignale zu den jeweiligen Kohlenstoffen erfolgt durch das HMQC.

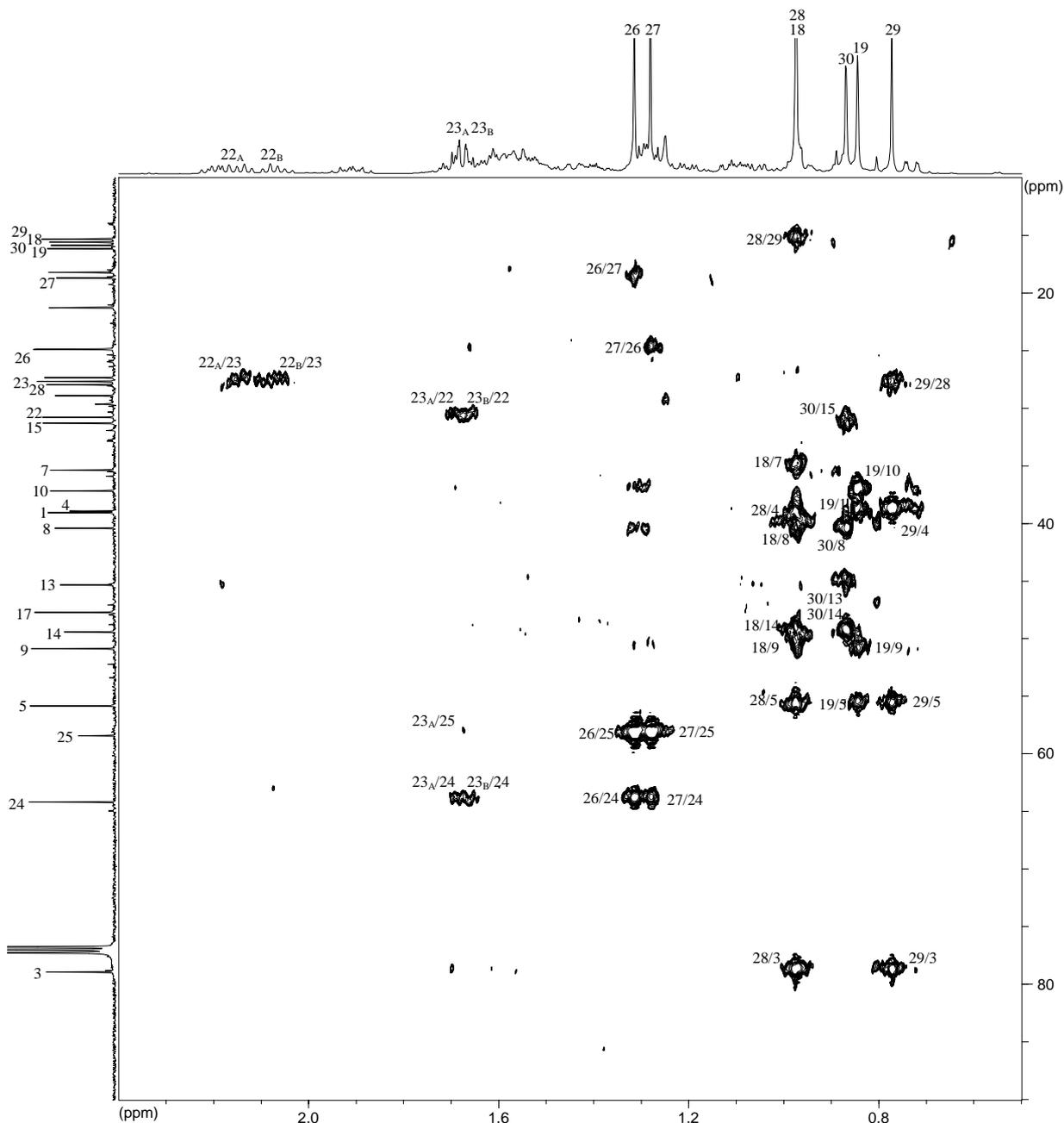
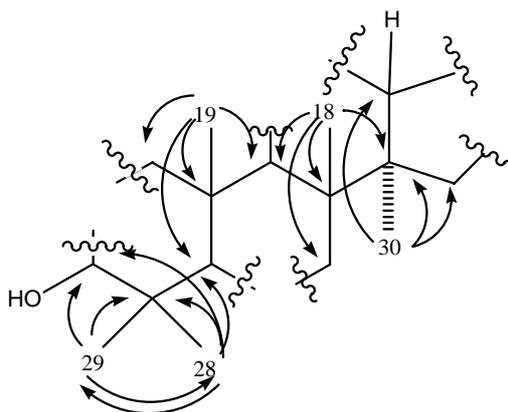


Abbildung 3.24.: HMBC-Korrelationen der Verbindung [10] im tiefen Feld

Zu C-5 zeigt auch ein weiteres Methylsingulett bei  $\delta_{\text{H}}$  0.85 (H<sub>3</sub>-19) eine Korrelation. Diese Methylgruppe wiederum teilt ein gemeinsames Kreuzsignal mit der Methylgruppe H<sub>3</sub>-18, die bei  $\delta_{\text{H}}$  0.98 (C-9) mit der Methylgruppe H<sub>3</sub>-28 zusammen fällt. Zwei weitere Korrelationen dieser Methylgruppe ergeben auch mit H<sub>3</sub>-30 ein Kreuzsignal. Dieses Muster ist im Einklang mit dem Dammarangrundgerüst, wie auch schon bei den vorherigen Verbindungen. Alle Korrelationen der Methylgruppen des Grundgerüsts sind in Abbildung 3.25. aufgezeigt.



**Abbildung 3.25.: HMBC-Korrelationen der Methylgruppen der Verbindung [10]**

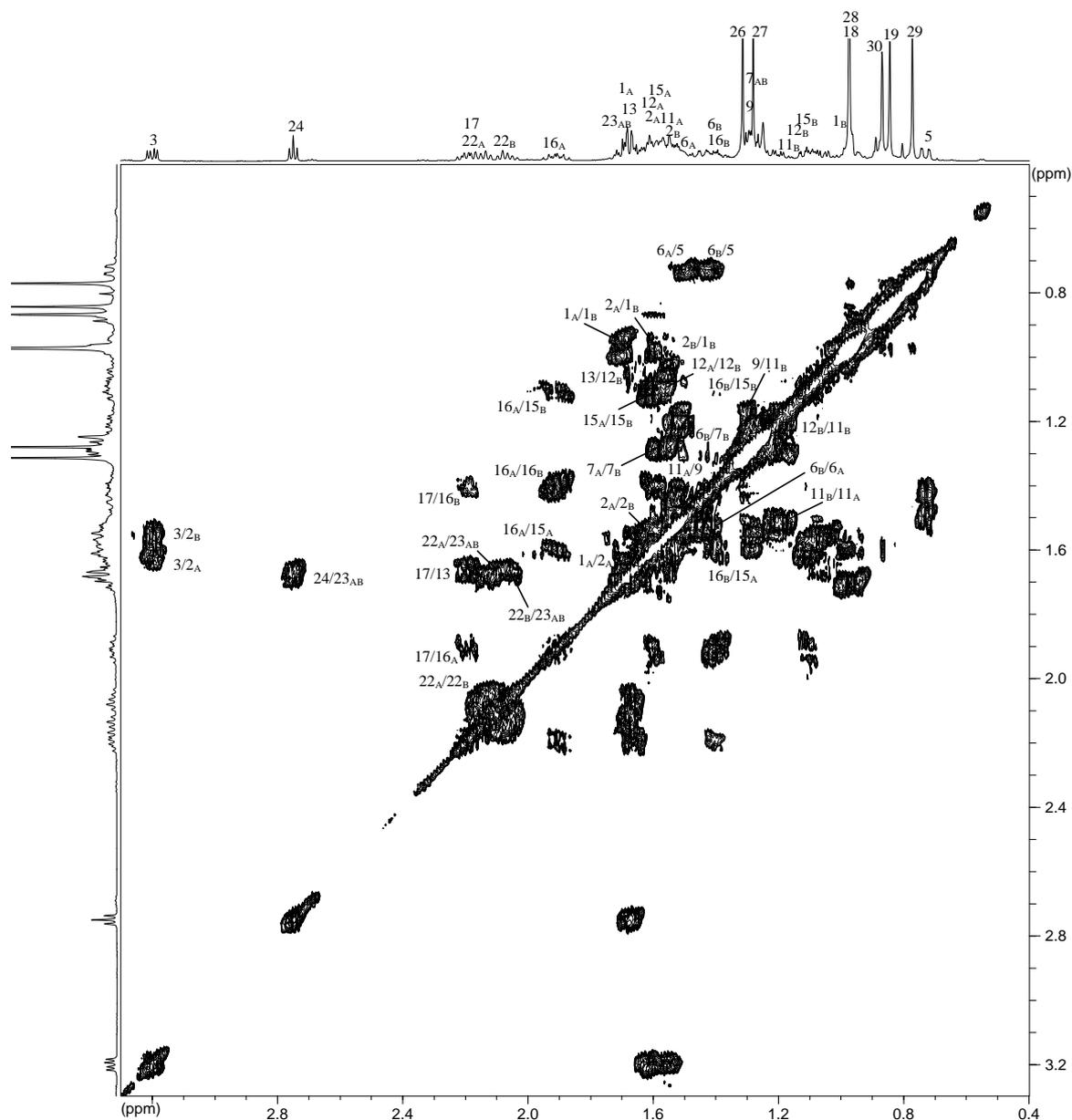
Über die COSY-Korrelationen der Methylengruppen (siehe Abbildung 3.26.) lassen sich die Ringe A, B, C und D des Grundgerüsts zuordnen. Im COSY-Spektrum sind die Kreuzsignale entsprechender Spinsysteme (H<sub>2</sub>-1, H<sub>2</sub>-2, H-3; H-5, H<sub>2</sub>-6, H<sub>2</sub>-7; H-9, H<sub>2</sub>-11, H<sub>2</sub>-12, H-13, H-17, H<sub>2</sub>-16, H<sub>2</sub>-15) zu sehen.

Ausgehend von den verbleibenden Methylgruppen bei  $\delta_{\text{H}}$  1.32 und 1.28 (H<sub>3</sub>-26 und H<sub>3</sub>-27) lässt sich die Struktur der Seitenkette erkennen. Die Methylgruppen zeigen im HMBC (siehe Abbildung 3.24.) ebenfalls eine geminale Kopplung und die zu erwartenden Korrelationen zu zwei weiteren, gemeinsamen Kohlenstoffen bei  $\delta_{\text{C}}$  64.6 und 58.8 für die Kohlenstoffe C-24 und C-25. Die chemische Verschiebung dieser Kohlenstoffe spricht für die Nachbarschaft eines Sauerstoffes. Unter Berücksichtigung der Summenformel und des Molekulargewichtes dieses Derivates ist anzunehmen, dass sich in dieser Position eine Epoxidfunktion befindet.

Das zu dem Kohlenstoff bei  $\delta_{\text{C}}$  64.6 zugehörige Methinproton (H-24) bei  $\delta_{\text{H}}$  2.75, ein Triplet, korreliert im COSY-Spektrum (siehe Abbildung 3.26.) mit zwei Methylenprotonen (H<sub>2</sub>-23<sub>A</sub>

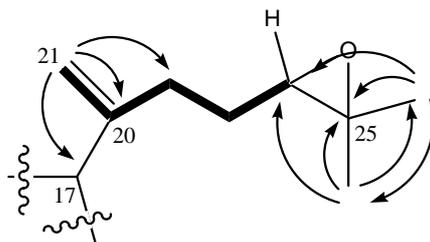
und H-23<sub>B</sub>) bei  $\delta_{\text{H}}$  1.67 (2H). Die Sequenz wird bestätigt durch die HMBC-Korrelation von H-24 mit C-23, der sich im HMQC-Spektrum als das zugehörige Triplet definieren lässt (siehe Tabelle 3.5.). Des Weiteren korrelieren die Methylenprotonen H<sub>2</sub>-23 mit C-24 und C-25 ( $\delta_{\text{C}}$  64.6 und 58.8), sowie einem weiteren Kohlenstoff bei  $\delta_{\text{C}}$  31.2. Die Methylenprotonen H<sub>2</sub>-23 zeigen ferner im COSY-Spektrum eine Korrelation mit den olefinischen Protonen einer sich anschließenden Methylengruppe (H-22<sub>A</sub> und H-22<sub>B</sub> bei  $\delta_{\text{H}}$  2.14 und 2.07), die sich anhand des HMQC-Spektrums dem Signal bei  $\delta_{\text{C}}$  31.2 (C-22) zuordnen lässt. Auch hier lassen sich im HMBC-Spektrum die entsprechenden Korrelationen zwischen den Protonen- und Kohlenstoffsignalen der Positionen 22 und 23 identifizieren (Abbildung 3.24. bzw. Tabelle 3.5.). Das Spinsystem der Seitenkette erstreckt sich über die Doppelbindung der Exomethylenfunktion bis zu den Protonen H<sub>2</sub>-21 (siehe Abbildungen 3.26. und 3.27.).

Ausgehend von den Protonen der Exomethylengruppe (H<sub>2</sub>-21<sub>A</sub> und H<sub>2</sub>-21<sub>B</sub> bei  $\delta_{\text{H}}$  4.77 und 4.71) findet man im HMBC-Spektrum ein Kreuzsignal mit C-17 ( $\delta_{\text{C}}$  48.2), welcher über die Information aus dem COSY- und HMQC-Spektrum definiert ist. Über diesen Kohlenstoff kann die Seitenkette mit dem Grundgerüst verknüpft werden. Des Weiteren korreliert H<sub>2</sub>-21 mit C-22 und mit dem quartären Kohlenstoff C-20 bei  $\delta_{\text{C}}$  152.3, zu welchem auch Kreuzsignale ausgehend von beiden Methylengruppen in den Positionen 22 und 23 bestehen. An diesem quartären Kohlenstoff (C-20) sitzt die Exomethylengruppe, deren Protonen (H<sub>2</sub>-21<sub>A</sub> und H<sub>2</sub>-21<sub>B</sub> bei  $\delta_{\text{H}}$  4.77 und 4.71) im HMBC ebenfalls Korrelationen mit den Kohlenstoffen C-20 und C-22 aufweisen. Ein Kreuzsignal für den Kohlenstoff C-17 tritt bei  $\delta_{\text{C}}$  48.2 auf.



**Abbildung 3.26.: COSY-Korrelationen der Verbindung [10] im tiefen Feld**

Die Abbildung 3.27. zeigt die wichtigsten HMBC-Korrelationen, sowie das Spinsystem der Seitenkette von Verbindung [10].



**Abbildung 3.27.: Die wichtigsten HMBC-Korrelationen und das Spinsystem (Fettdruck) der Verbindung [10]**

Leong & Harrison [1999] liefern die chemischen Verschiebungen für Dammara-20,24-dien-3 $\beta$ -ol. Dieses Derivat unterscheidet sich von Verbindung [10] nur durch die  $\Delta^{24,25}$ -Doppelbindung anstelle der Epoxidfunktion in der Seitenkette. Die dort veröffentlichten Daten sind in sehr guter Übereinstimmung für die hier gefundenen Werte des Grundgerüsts. Bei Leong & Harrison [1999] weichen die Werte für C-1, C-2, C-3 und C-4 mit  $\delta_C$  39.1, 27.1, 79.0 und 39.0 maximal 0.7 ppm von den Werten für Verbindung [10] ab. Für ein Dammaran mit 3 $\alpha$ -OH dieser Grundstruktur liefern Hisham *et al.* [1996] für die Kohlenstoffe 1 bis 4 die Werte  $\delta_C$  33.6, 25.3, 76.2 und 37.6. Dieser Literaturvergleich mit den eigenen Daten (siehe Tabelle 3.5.) zeigt, dass es sich bei Derivat [10] um eine 3 $\beta$ -ol-Verbindung handeln muss. Auch die  $^{13}\text{C}$ -Daten bei Asakawa *et al.* [1977] bestätigen die 3 $\beta$ -OH-Stereochemie.

Im Hinblick auf die Konfiguration der Grundstruktur lässt sich aufgrund biogenetischer Erwägungen eine Stereochemie annehmen, wie sie auch bei den zuvor diskutierten Verbindungen vorliegt (siehe Abbildung 3.20.). Demnach liegen die Stereozentren in der 3(*S*), 5(*R*), 8(*R*), 9(*R*), 10(*R*), 13(*R*), 14(*R*), 17(*S*)-Konfiguration vor.

Della Greca *et al.* [1994] geben für zwei 24,25-Epoxyderivate mit unterschiedlicher Konfiguration an C-24 die chemischen Verschiebungen an. Die betreffenden Verbindungen unterscheiden sich in der Seitenkette nur dadurch von Verbindung [10], dass sie anstelle der Epoxidfunktion eine Methylgruppe an C-20 tragen. Dabei unterscheidet sich die chemische Verschiebung der Protonen H-24 der beiden Derivate nicht ( $\delta_H$  2.70). Auch die Werte der Kohlenstoff-Verschiebungen unterscheiden sich nicht sehr stark. Die Autoren geben für C-23, C-24 und C-25 Werte von  $\delta_C$  26.0 bzw. 25.7,  $\delta_C$  65.0 bzw. 64.8 und  $\delta_C$  58.0 bzw. 58.4 für das 24(*R*) bzw. 24(*S*)-Epimer an. Die eigenen Werte für Verbindung [10] liegen bei  $\delta_C$  28.1, 64.6

## Ergebnisse

und 58.8 (C-23, C-24 und C-25). Der Wert von H-24 liegt bei  $\delta_H$  2.75. Damit könnten die Werte für Verbindung [10] für das 24(S)-Epimer sprechen. Die große Differenz der Werte für C-23 allerdings spricht dafür, dass die Exomethylengruppe hier noch einen Einfluss auf die chemische Verschiebung hat.

Die vorliegende Struktur ist bereits als Aglaiol aus den Bättern von *Aglaiia odorata* bekannt [Shiengthong *et al.* 1965, 1974, Boar *et al.* 1973, 1977]. Auch hier wird die entsprechende Verbindung in der 24(S)-Konfiguration beschrieben [Boar *et al.* 1977]. Die Unterschiede in den NMR-Daten sind allerdings zu schwach, um sich hier eindeutig auf eine Stereochemie an diesem Stereozentrum festzulegen.

**Tabelle 3.5.: NMR-Datentabelle der Verbindungen [10], [11] und [12] aus *Aglaiia duppereana***

Position	[10]			[11]			[12]		
	$\delta_C$	$\delta_H$ (J Hz)	HMBC	$\delta_C$	$\delta_H$ (J Hz)	HMBC	$\delta_C$	$\delta_H$ (J Hz)	HMBC
1	39.5	A. 1.69 m B. 0.95 m		39.9	A. 1.93 m B. 1.45 m	2, 5 2	39.9	A. 1.93 m B. 1.45 m	2, 5, 10 2, 5
2	27.8	A. 1.62 m B. 1.55 m		34.1	A. 2.50 m B. 2.42 m	1 1	34.1	A. 2.50 m B. 2.42 m	1 1
3	79.3	3.20 dd (5.0, 11.7)		218.2			218.2		
4	39.4			47.4			47.4		
5	56.3	0.73 dd (1.9, 12.0)		55.3	1.39 m	6, 7, 9, 10, 19, 28	55.3	1.39 m	6, 10, 19
6	18.7	A. 1.53 m B. 1.42 m		19.6	+	5, 8 5, 8	19.6	+	8 8
7	35.8	A. 1.60 m B. 1.29 m		34.7	A. 1.54 m B. 1.34 m		34.7	A. 1.59 m B. 1.32 m	
8	40.9			40.3			40.3		
9	51.3	1.30 m		50.9	1.42 m	8, 10, 18, 19	50.2	1.42 m	10
10	37.6			36.9			36.9		
11	21.7	A. 1.52 m B. 1.20 m		21.8	A. 1.54 m B. 1.24 m		21.8	A. 1.54 m B. 1.24 m	
12	29.4*	A. 1.56 m B. 1.17 m		28.9*	A. 1.58 m B. 1.09 m		29.1*	A. 1.58 m B. 1.09 m	
13	45.8	1.67 m		45.5	1.70 m		45.7	1.71 m	
14	49.9			49.4			49.4		
15	31.7	A. 1.61 m B. 1.12 m		31.3	A. 1.61 m B. 1.14 m		31.5	A. 1.61 m B. 1.14 m	
16	25.4*	A. 1.90 m B. 1.40 m		24.9*	A. 1.92 m B. 1.42 m		24.9*	A. 1.95 m B. 1.47 m	
17	48.2	2.19 m		47.7	2.22 m		47.7	2.20 m	
18	16.0	0.98 s	7, 8, 9, 14	15.3	1.01 s	7, 8, 9, 14	15.3	1.01 s	7, 8, 9, 14
19	16.6	0.85 s	1, 5, 9, 10	16.0	0.94 s	1, 5, 9, 10	16.1	0.92 s	1, 5, 9, 10
20	152.3			151.8			152.7		
21	108.2	A. 4.77 br s B. 4.71 d (1.6)	17, 20, 22 17, 20, 22	107.9	A. 4.78 br s B. 4.72 d (1.6)	17, 20, 22 17, 20, 22	107.8	A. 4.72 br s B. 4.67 d (1.3)	17, 20, 22 17, 20, 22
22	31.2	A. 2.14 m B. 2.07 m	20, 23 20, 23	30.8	A. 2.21 m B. 2.10 m	20, 21, 23 20, 21, 23	31.3	A. 2.26 m B. 2.04 m	
23	28.1	A. 1.67 m B. 1.67 m	20, 22, 24, 25 20, 22, 24, 25	27.7	A. 1.69 m B. 1.69 m	22, 24 22, 24	30.0	A. 1.64 m B. 1.46 m	
24	64.6	2.75 t (6.3)	23	64.2	2.75 t (6.3)	23	78.3	3.34 dd (1.9, 10.7)	
25	58.8			58.4			73.2		
26	25.3	1.32 s	24, 25, 27	24.9	1.32 s	24, 25, 27	26.5	1.20 s	24, 25, 27
27	19.2	1.28 s	24, 25, 26	18.8	1.28 s	24, 25, 26	23.2	1.17 s	24, 25, 26
28	28.4	0.98 s	3, 4, 5, 29	26.7	1.08 s	4, 5, 29	26.7	1.08 s	4, 5, 29
29	15.8	0.77 s	3, 4, 5, 28	21.0	1.04 s	4, 5, 28	21.0	1.03 s	4, 5, 28
30	16.3	0.87 s		15.8	0.88 s	8, 13, 14, 15	15.8	0.87 s	8, 13, 14, 15

Messung in  $CDCl_3$ . Die Zuordnung erfolgt über 2D-NMR-Daten (COSY, HMQC, HMBC); \*Signale austauschbar; +Keine Zuordnung möglich wegen Signalüberlappung

Für die Verbindung [11] ergibt sich im EIMS ein Molekulargewicht bei  $m/z$  440. Im FABMS ist das [M+H] bei  $m/z$  441 und das [M+Na] bei  $m/z$  463 zu finden. Damit unterscheidet sich die Verbindung [11] von dem vorherigen Derivat [10] um zwei Masseneinheiten. Der  $[\alpha]_D^{20}$  Wert von Verbindung [11] beträgt  $+53.3^\circ$  ( $c$  0.10,  $\text{CHCl}_3$ ).

Auch hier zeigt das  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum 30 Kohlenstoffe (siehe Tabelle 3.5.). Nach den Informationen aus dem DEPT- und  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum lassen sich auch hier sieben Methylgruppen, elf Methylengruppen (darunter eine Exomethylengruppe), fünf (statt sechs bei Verbindung [10]) Methingruppen und dafür sieben quartäre Kohlenstoffatome identifizieren. Demzufolge kann auf die Summenformel  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_2$  geschlossen werden.

Ein Kohlenstoff bei  $\delta_c$  218.2 (C-3) indiziert eine Carbonylfunktion. Im Vergleich zur Verbindung [10] fehlt hier das Signal für das Methinproton H-3. Diese Befunde, zusammen mit der Massendifferenz von 2 amu deuten darauf hin, dass es sich bei dem Derivat [11] um das 3-Keto-Derivat der Verbindung [10] handelt.

Wie im Falle der vorherigen Verbindung [10] finden sich die entsprechenden HMBC-Korrelationen eines Dammaran-Grundgerüsts (siehe Tabelle 3.5.). Lediglich die chemischen Verschiebungen unterscheiden sich, was im Einklang mit der Carbonylgruppe in Position 3 ist. Dieser Einfluss auf die Werte der chemischen Verschiebungen der Grundstruktur wird für Verbindung [12] (siehe unten) - ebenfalls ein 3-Ketoderivat - anhand des COSY-Spektrums gezeigt (siehe Abbildung 3.28).

Die Daten der Seitenkette entsprechen denen der Verbindung [10] und bestätigen die  $\Delta^{24,25}$ -Epoxid-Struktur des Derivats [11] (siehe Tabelle 3.5.). Auch die Stereochemie gleicht der der vorherigen Verbindung, was sich in den Übereinstimmungen der chemischen Verschiebungen manifestiert (siehe Tabelle 3.5.).

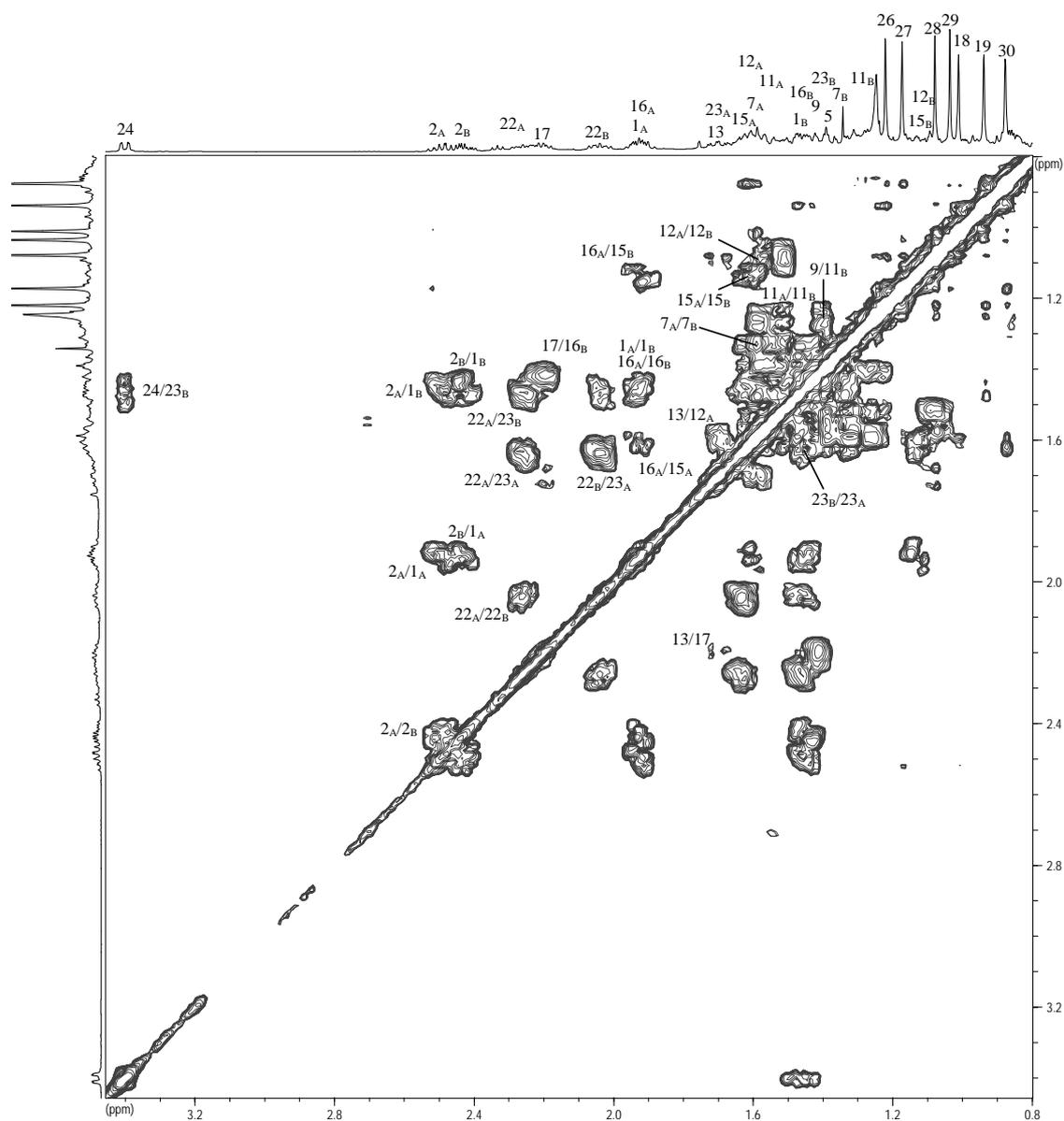
Diesen Befunden zufolge handelt es sich also bei Verbindung [11] um das 24,25-Epoxydammarn-20-en-3-on. Auch dieses Derivat ist bereits für die Blätter von *A. odorata* beschrieben [Boar & Damps 1977]. Hier wird allerdings nach Reduktion und Acetylierung des Extraktes und anschließende Isolierung des Aglaiol-Acetats auf das Keton geschlossen.

Für die Verbindung **[12]** liegt ein FABMS mit einem Wert bei  $m/z$  481 für das  $[M+Na]$  vor. Damit unterscheidet sich dieses Derivat von der zuvor diskutierten Verbindung um 18 Masseneinheiten. Der  $[\alpha]_D^{20}$ -Wert liegt bei diesem Derivat bei  $+15.7^\circ$  ( $c$  0.10,  $CHCl_3$ ).

Das  $^{13}C$ -NMR-Spektrum in Verbindung mit dem DEPT- und  $^1H$ -NMR-Spektrum zeigt auch hier 30 Kohlenstoffe (siehe Tabelle 3.5.), darunter ebenfalls sieben Methylgruppen, elf Methylengruppen, fünf Methinprotonen, sowie sieben quartäre Kohlenstoffe. Die Summenformel ist folglich  $C_{30}H_{50}O_3$ .

Die HMBC-Korrelationen der Methylgruppen H<sub>3</sub>-18, H<sub>3</sub>-19 und H<sub>3</sub>-30 (siehe Tabelle 3.5.) deuten wie bei den beiden Derivaten **[10]** und **[11]** auf ein Dammaran-Grundgerüst hin. Auch hier finden sich zwei geminale Methylgruppen mit Korrelationen zu den Kohlenstoffen in den Positionen 4 und 5. Die chemischen Verschiebungen mit  $\delta_C$  47.4 bzw. 55.3 entsprechen denen der Verbindung **[11]**. Ein Kohlenstoff bei  $\delta_C$  218.2 ist ebenfalls im Einklang mit dem vorherigen Derivat und weist auf eine Carbonylgruppe in der Position 3 hin. Auch die anderen Daten stimmen mit denen der Verbindung **[11]** überein (siehe Tabelle 3.5.).

Die Abbildung 3.28. zeigt das COSY-Spektrum der Verbindung **[12]**, anhand dessen sich die Spinsysteme nachvollziehen lassen. Die Zuordnung der Methinprotonen H-5, H-9, H-13 und H-17 sowie der Methylenprotonen H<sub>2</sub>-1, H<sub>2</sub>-2, H<sub>2</sub>-7 und H<sub>2</sub>-15 erfolgen über das HMQC-Spektrum, nachdem die entsprechenden Kohlenstoffatome über die HMBC-Korrelationen zugeordnet wurden. Im COSY-Spektrum lassen sich schließlich die übrigen Protonen finden. Ausgehend von H-5 erstreckt sich ein Spinsystem über H<sub>2</sub>-6 bis H<sub>2</sub>-7. Über H-9 oder ausgehend von H-13 lassen sich die Methylenprotonen H<sub>2</sub>-11 und H<sub>2</sub>-12 definieren und H<sub>2</sub>-16 lässt sich anhand der Korrelationen mit H-17 und H<sub>2</sub>-15 erschließen.



**Abbildung 3.28.: COSY-Korrelationen der Verbindung [12] im tiefen Feld**

Die Methylenprotonen H<sub>2</sub>-1 (bei  $\delta_{\text{H}}$  1.93 und 1.45) und H<sub>2</sub>-2 (bei  $\delta_{\text{H}}$  2.50 und 2.42) sind gegenüber den Werten des 3-OH-Dammarans ins tiefe Feld verschoben. Sehr deutlich tieffeldverschoben erscheint auch H-5 bei  $\delta_{\text{H}}$  1.39 im Vergleich zur 3-OH-Verbindung mit einem entsprechenden Wert bei  $\delta_{\text{H}}$  0.73.

Die Verbindung [12] unterscheidet sich vom vorherigen Derivat in der Seitenkette. Die zwei geminalen Methylgruppen H<sub>3</sub>-26 und H<sub>3</sub>-27 tauchen hier bei Resonanzen von  $\delta_{\text{H}}$  1.16 bzw. 1.11 auf und korrelieren mit Kohlenstoffen bei  $\delta_{\text{C}}$  78.3 bzw. 73.2 (C-24 und C-25). Das

Methinproton H-24 erscheint als Doppelduplett bei  $\delta_{\text{H}}$  3.34. Die Daten der Protonen- und Kohlenstoff-Verschiebungen, sowie das Molekulargewicht, welches um 18 Masseneinheiten größer ist als bei der Verbindung [11] indizieren zwei Hydroxylgruppen in den Positionen 24 und 25 anstatt der Epoxidfunktion.

Die Stereochemie an C-5, C-8, C-9, C-10, C-13, C-14 und C-17 der Verbindung [12] entspricht wieder der der Verbindungen [10] und [11], wie die entsprechenden chemischen Verschiebungen zeigen (siehe Tabelle 3.5.). Doch bleibt hier die Konfiguration an C-24 zu klären. Della Greca *et al.* [1994] beschreiben zwei C-24-Epimere, die sich von der Verbindung [12] nur dadurch unterscheiden, dass die Exomethylengruppe in der Seitenkette durch eine Methylgruppe ausgetauscht ist. Dabei liegt der Wert des 24(*R*)-Epimers bei  $\delta_{\text{C}}$  79.6 und der des 24(*S*)-Epimers mit  $\delta_{\text{C}}$  78.8 etwas weiter im hohen Feld [Della Greca *et al.* 1994]. Die chemische Verschiebung des C-25 und die der Methylkohlenstoffe C-26 und C-27 und auch C-23 zeigen kaum bzw. keine Unterschiede. Bei Verbindung [12] resoniert C-24 bei  $\delta_{\text{C}}$  78.3. Diese chemische Verschiebung könnte folglich für das Vorliegen des 24(*S*)-Epimers sprechen. Auch hier ist es aber aufgrund der geringen Unterschiede in der chemischen Verschiebung der beiden Epimere nicht möglich sich eindeutig auf eine Stereochemie festzulegen.

Es handelt sich bei der Verbindung [12] demnach um das 24,25-Dihydroxy-5 $\alpha$ -dammar-20-en-3-on, welches ebenfalls bereits für die Blätter von *A. odorata* beschrieben ist [Boar & Damps 1977]. Der gefundene  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -Wert weicht von dem in der Literatur ab. Dort ergab sich ein Wert von +89° (CHCl<sub>3</sub>) im Vergleich zu dem hier gefundenen Wert von + 15.7°.

### 3.1.5. Cycloartane aus *Aglaia*-Arten.

Die Auftrennung der Hexan-Extrakte der Arten *Aglaia euphoroides* und *A. tsangii* lieferte drei Cycloartane (Abbildung 3.29.). Aus den Blättern von *Aglaia tsangii* stammen das Derivat [14] und die 29-Nor-Verbindung [15]. Das andere 29-Norcycloartan, Verbindung [13], wurde aus Blättern der Art *Aglaia euphoroides* isoliert.

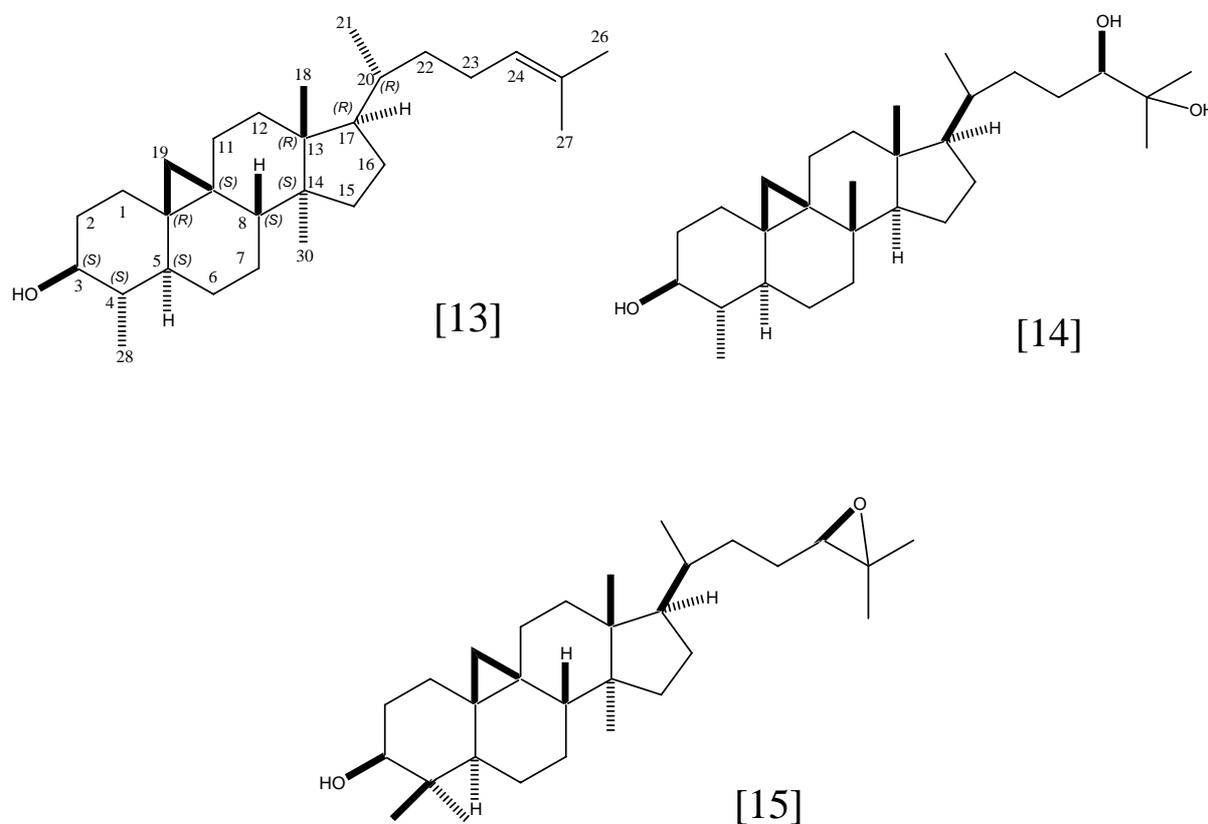


Abbildung 3.29.: Cycloartane aus den Blättern von *Aglaia euphoroides* [13] und *A. tsangii* [14 und 15]

Bei der Diskussion der Strukturaufklärung soll hier, trotz sich widersprechender Angaben in der Literatur auch innerhalb der Gruppe der Cycloartane eine einheitliche Bezifferung der einzelnen Derivate herangezogen werden, um die Vergleichbarkeit der Derivate untereinander zu gewährleisten. Bei der Entscheidung für die verwendete Nummerierung wird den aktuellen

---

Empfehlungen der IUPAC-Nomenklatur Rechnung getragen (siehe [www.chem.qmul.ac.uk/iupac/sectionF](http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/sectionF)).

Für die Verbindung **[13]** tritt im EIMS ein Signal für  $m/z$  412 auf. Der  $[\alpha]_D^{20}$ -Wert beträgt  $-0.1^\circ$  ( $c$  0.10,  $\text{CHCl}_3$ ).

Das  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum zeigt 29 Kohlenstoffatome (siehe Tabelle 3.6.). Mit Hilfe der Informationen aus den DEPT- und  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren lassen sich sechs Methyl-, elf Methylen- und sieben Methingruppen, sowie fünf quartäre Kohlenstoffe feststellen. Zwei der Methylsignale treten als Dupletts auf. Aus diesen Informationen wurde eine Summenformel von  $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$  abgeleitet.

Im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum fallen zwei Methylen-Dupletts weit im hohen Feld bei  $\delta_{\text{H}}$  0.38 und 0.14 auf. Die chemische Verschiebung spricht für eine Cyclopropan-Substruktur, wie sie in Cycloartanen nach Eliminierung einer Methylgruppe in Position 4 vorliegt [z.B. Nyemba *et al.* 1990]. Die Dupletts zeigen eine Kopplungskonstante von  $J=3.8$  für die geminale Kopplung mit dem jeweiligen anderen Methylenproton.

Im HMBC-Spektrum (siehe Abbildung 3.30.) zeigen die Methylenprotonen ( $\text{H}_2$ -19) sechs Korrelationen (siehe Tabelle 3.6.), was mit einem Cyclopropanring eines Cycloartans in Einklang ist [Nyemba *et al.* 1990].  $\text{H}_2$ -19 korreliert mit den Kohlenstoffen C-1, C-5, C-8, C-9, C-10 und C-11 (siehe Tabelle 3.6.).

Wie das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum zeigt, überlappen bei nahezu der gleichen chemischen Verschiebung ( $\delta_{\text{H}}$  0.98 bzw.  $\delta_{\text{H}}$  0.89) jeweils ein Methylduplett mit einem Methylsingulett ( $\text{H}_3$ -28 mit  $\text{H}_3$ -18 und  $\text{H}_3$ -21 mit  $\text{H}_3$ -30). Für die Methylgruppen liegen auch die jeweiligen Direktkorrelationen im HMBC vor (siehe Abbildung 3.30.), wodurch sich die entsprechenden Kohlenstoffe definieren lassen (siehe Tabelle 3.6.). An den HMBC-Korrelationen ist allerdings zu erkennen, dass das Methylduplett  $\text{H}_3$ -28 ( $J_{\text{H,H}} = 6.3$  Hz) etwas weiter im hohen Feld resoniert (siehe Abbildung 3.30.). Dieses teilt mit den Cyclopropan-Protonen ( $\text{H}_2$ -19) ein gemeinsames Kreuzsignal bei  $\delta_{\text{C}}$  43.4 (siehe Abbildungen 3.30. und 3.31.). Die Multiplizität von  $\text{H}_3$ -28 indiziert eine C-4-Nor-Verbindung, bei der die ursprünglich vorhandene Methylgruppe ( $\text{H}_3$ -29) eliminiert wurde.

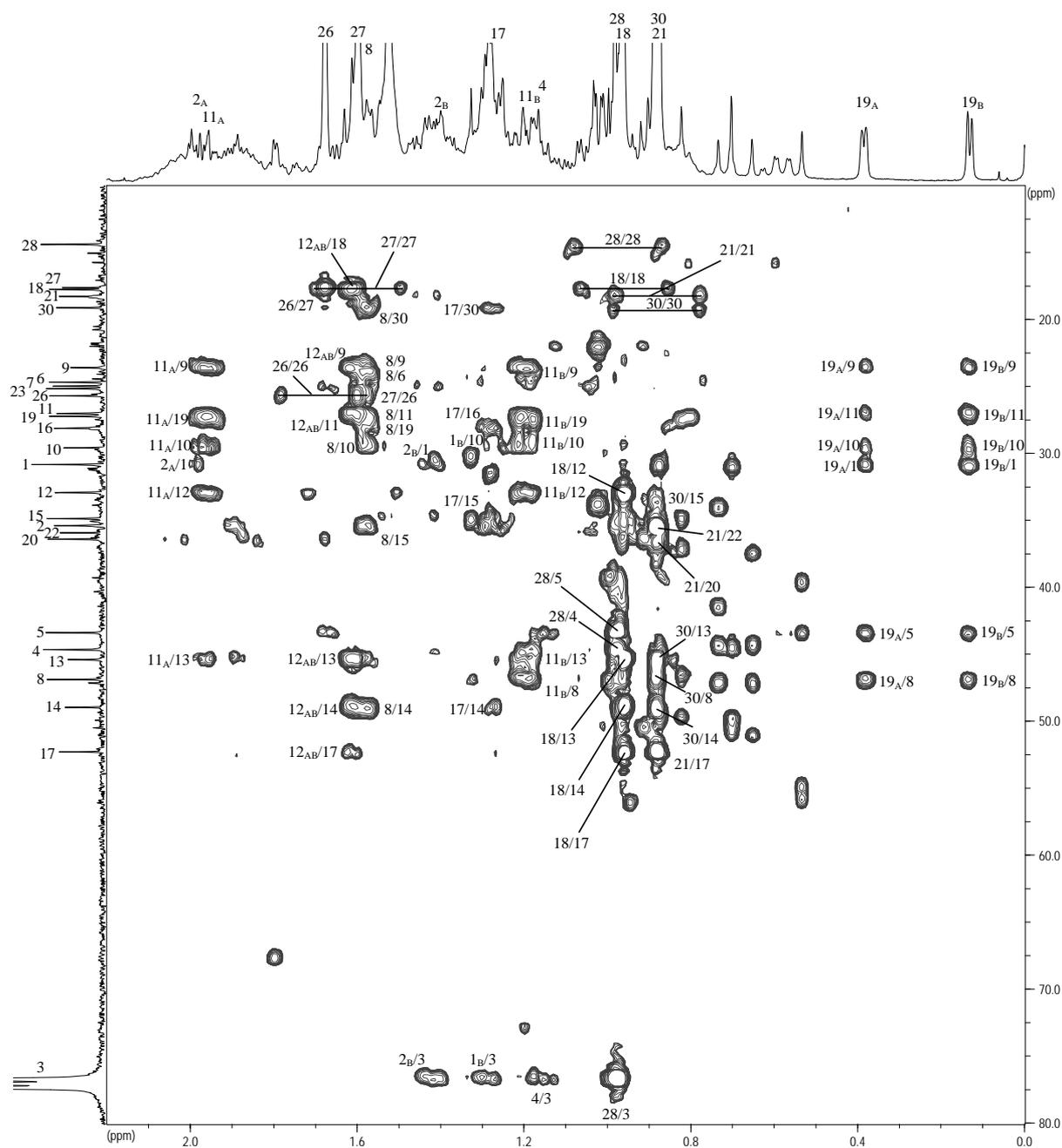


Abbildung 3.30.: HMBC-Korrelationen der Verbindung [13] im tiefen Feld

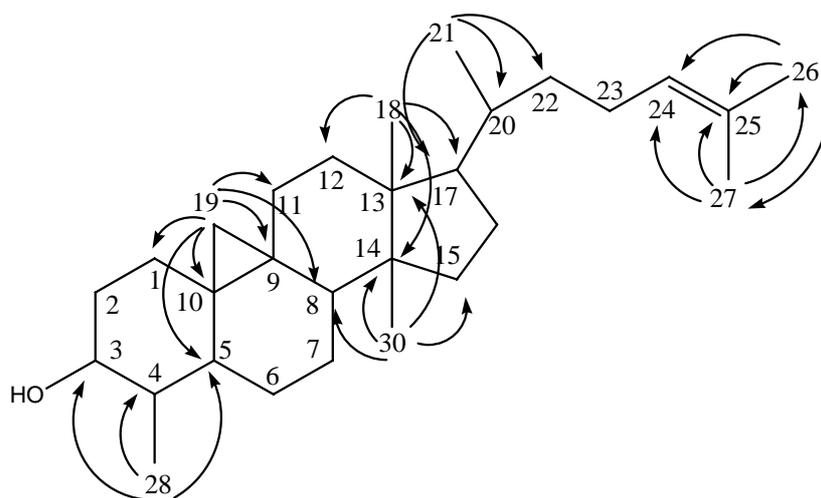
Eine der beiden bei  $\delta_{\text{H}}$  0.89 überlappenden Methylsignale weist eine Korrelation mit einem Kohlenstoff bei  $\delta_{\text{C}}$  46.9 (C-8) auf, mit welchem ebenfalls H<sub>2</sub>-19 ein Kreuzsignal liefert. In diesem Fall kann anhand der Verschiebungsdifferenz nicht zwischen den Korrelationen des Methyldupletts und des Methylsinguletts unterschieden werden. Geht man aber davon aus, dass es sich bei dieser Verbindung um ein Cycloartan handelt, dann lässt sich die gemeinsame Korrelation mit der Methylengruppe H<sub>2</sub>-19 nur ausgehend von H<sub>3</sub>-30 erklären.

Bei dem Duplett kann es sich nur um die Methylgruppe in Position 20 handeln (H<sub>3</sub>-21), da sich die übrigen Methylgruppen bei Cycloartanen an C-13 und C-14 befinden, wo diese Multiplizität ausgeschlossen ist. Das Singulett bei  $\delta_{\text{H}}$  0.98 (H<sub>3</sub>-18) zeigt drei gemeinsame Korrelationen mit den Signalen bei  $\delta_{\text{H}}$  0.89. Bei diesen Kohlenstoffen (bei  $\delta_{\text{C}}$  45.4 und 49.0) muss es sich um C-13 und C-14 handeln, zu denen auch H<sub>3</sub>-30 Korrelationen zeigt und um C-17, zu welchem auch ausgehend von H<sub>3</sub>-21 eine Korrelation zu erwarten ist. Bei C-13 und C-14 handelt es sich um quartäre Kohlenstoffe, die sich durch das DEPT-Spektrum von C-17, einem Triplet, unterscheiden lassen. Bei der verbleibenden Korrelation ausgehend von H<sub>3</sub>-18 kann es sich nur noch um die mit C-12 handeln. Bei den übrigen Kohlenstoffen, zu denen ausgehend von den Signalen bei  $\delta_{\text{H}}$  0.89 Kreuzsignale auftauchen, handelt es sich um C-15, C-20 und C-22. Ein Vergleich mit Literaturdaten ermöglicht die Zuordnung der Kohlenstoffe [vgl. Nyemba *et al.* 1990].

Das Methylduplett H<sub>3</sub>-28 zeigt eine Korrelation zu einem Kohlenstoff bei  $\delta_{\text{C}}$  77.3 mit dem dazugehörigen Protonensignal bei  $\delta_{\text{H}}$  3.21 (ein ddd) (siehe Abbildungen 3.30. und 3.31.). Die chemischen Verschiebungen sprechen für das Vorliegen einer Hydroxylgruppe in dieser Position (C-3). Eine weitere Korrelation besteht mit einem Kohlenstoff bei  $\delta_{\text{C}}$  44.7 (C-4).

Im COSY-Spektrum (siehe Abbildung 3.32.) sind die Korrelation der Methylgruppe zu dem entsprechenden Methinproton H-4 bei  $\delta_{\text{H}}$  1.18 zu finden. Daneben findet man auch die Korrelation zwischen den benachbarten Methinprotonen H-3 und H-4. Diese Evidenzen bestätigen eine 29-Nor-Konstellation im Ring A dieses Cycloartan-Derivates. Die chemische Verschiebung der Methylenprotonen in Position 19 deutet ebenfalls auf nur eine Methylgruppe am Kohlenstoff C-4 hin [Nyemba *et al.* 1990]. Ausgehend von H-3 lässt sich das Spinsystem über H<sub>2</sub>-2 nach H<sub>2</sub>-1 und über H-4 bis H-8 verfolgen. Das als H-6<sub>B</sub> zu identifizierende Signal erscheint bei  $\delta_{\text{H}}$  0.58 in der Multiplizität eines Dupletts vom Quartet (dq) mit Kopplungskonstanten von  $J=2.9$  und  $12.5$ . Diese Aufspaltung lässt sich durch entsprechende Kopplungskonstanten zwischen H-6<sub>B</sub> und H-5, H-6<sub>B</sub> und H-6<sub>A</sub> sowie zwischen H-6<sub>B</sub> und H-7<sub>A</sub> erklären (jeweils ca. 12.5 Hz). Die kleine Kopplungskonstante tritt zwischen H-6<sub>B</sub> und H-7<sub>B</sub> auf (2.9 Hz).

Auch die anderen beiden Spinsysteme des Grundgerüsts (H<sub>2</sub>-11 bis H<sub>2</sub>-12 und H<sub>2</sub>-15 bis H-17) können im COSY-Spektrum nachvollzogen werden (siehe Abbildung 3.32.).



**Abbildung 3.31.: HMBC-Korrelationen der Methylgruppen und der Methylengruppe H<sub>2</sub>-19 von Verbindung [13] im tiefen Feld**

Über die Korrelationen im HMBC-Spektrum sowohl der Methylgruppe H<sub>3</sub>-18, als auch der Methylgruppe H<sub>3</sub>-21 mit dem Kohlenstoff C-17 lässt sich die Seitenkette mit dem Cycloartan-Grundgerüst verknüpfen.

Das Methylduplett H<sub>3</sub>-21 zeigt im COSY-Spektrum (Abbildung 3.32.) eine Korrelation zu einem Signal bei  $\delta_{\text{H}}$  1.38 (H-20). Dieses wiederum weist die zu erwartenden Korrelationen mit H-17 und zu den sich im Spinsystem anschließenden Protonen der Seitenkette auf.

Im tieferen Feld bei  $\delta_{\text{H}}$  1.68 und 1.61 treten zwei weitere Methylsinguletts auf, die im HMBC-Spektrum neben den direkten Korrelationen jeweils gegenseitig sowie mit zwei weiteren Kohlenstoffen ( $\delta_{\text{C}}$  125.3 und 130.9) korrelieren. Demzufolge handelt es sich um zwei geminale Methylgruppen (H<sub>3</sub>-26 und H<sub>3</sub>-27), die sich aufgrund der chemischen Verschiebung an einer Doppelbindung ( $\Delta^{24, 25}$ ) befinden müssen. Das entsprechende Methinproton H-24 erscheint bei  $\delta_{\text{H}}$  5.10.

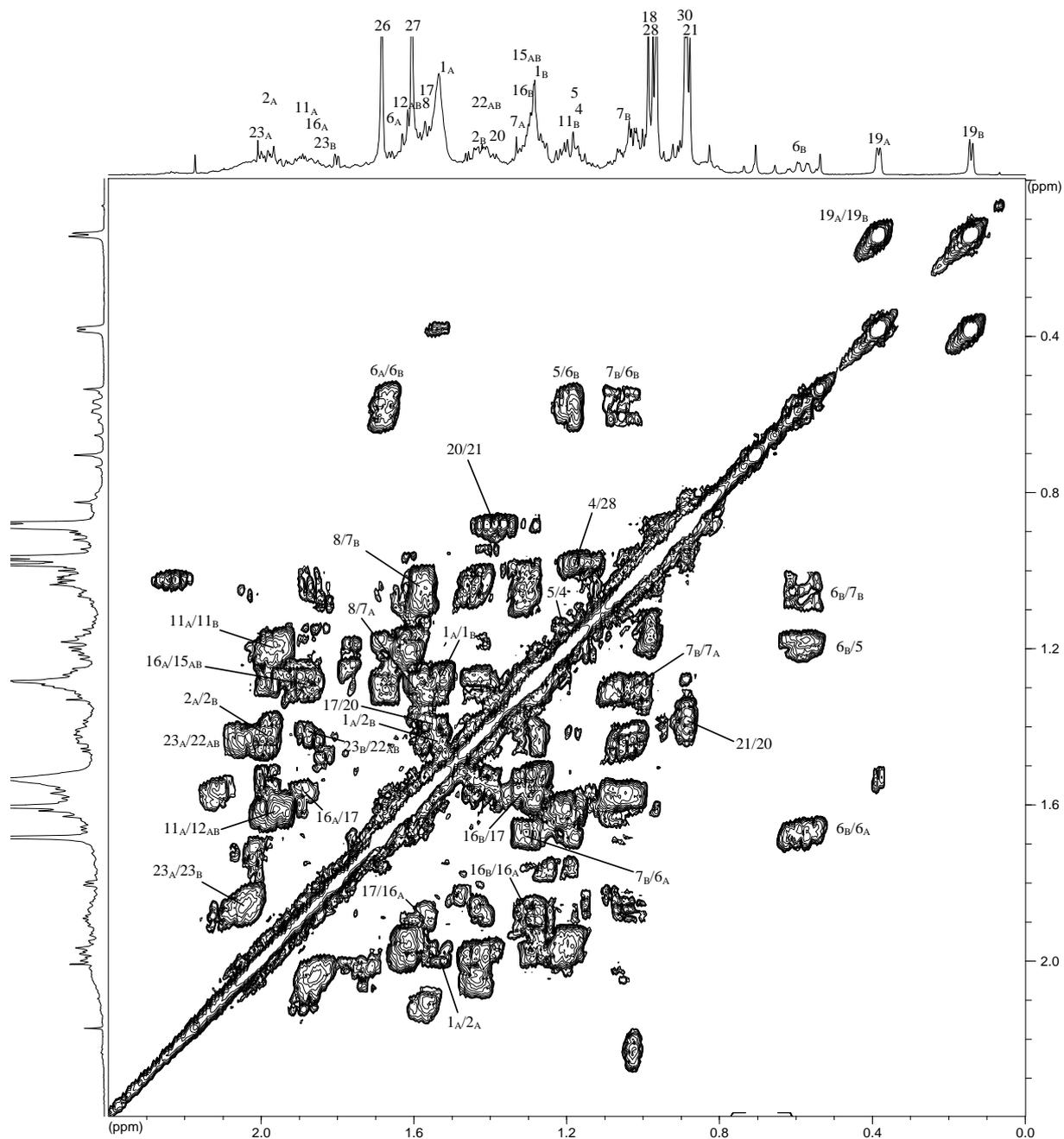


Abbildung 3.32.: COSY-Korrelationen der Verbindung [13]

Das COSY-Spektrum (siehe Abbildung 3.32.) zeigt neben den longrange-Korrelationen über die Doppelbindung von H-24 zu H<sub>3</sub>-26 und H<sub>3</sub>-27 auch Kreuzsignale mit den benachbarten Methylenprotonen H-23<sub>A</sub> und H-23<sub>B</sub>, welche wiederum mit H<sub>2</sub>-22 koppeln.

Diese Befunde in Kombination mit dem Molekulargewicht deuten auf das 29-Nor-cycloartenol hin.

Die Daten der chemischen Verschiebungen im  $^{13}\text{C}$ -NMR (siehe Tabelle 3.6.) stimmen gut mit den Werten aus der Literatur für 31-Nor-cycloartenol (nach der hier verwendeten Nomenklatur 29-Norcycloartenol) überein [vgl. Nyemba *et al.* 1990]. Allerdings weicht die Zuordnung der Daten in der Literatur für die Kohlenstoffe teilweise von der hier mittels HMBC-Korrelationen belegten Zuordnung ab. So sind hier die Werte der chemischen Verschiebungen von C-12 und C-15 und die von C-7 und C-11 im Vergleich zu den Angaben bei Nyemba *et al.* [1990] vertauscht (siehe Tabelle 3.6.). Da die hier vorliegende Benennung auf zweidimensionalen NMR-Experimenten beruht, während den zitierten Arbeiten Literaturvergleiche zugrunde liegen, muss die Zuordnung in der Literatur revidiert werden. Das hat auch Gültigkeit für die Daten bei Ohmoto *et al.* [1982], Della Greca *et al.* [1994] und Cantrell *et al.* [1996], wo ebenfalls inkorrekt zugeordnet ist (siehe Tabelle 3.6.). Im Einklang mit der vorliegenden Arbeit sind die Daten bei Akihisa *et al.* [1998], denen ebenfalls 2D-Experimente zugrunde liegen.

Zur Beantwortung der Frage nach der Stellung der Hydroxylgruppe in Position 3 kann ein Literaturvergleich herangezogen werden. Mohamad *et al.* [1997] beschreiben ein Nor-Cycloartan mit einer  $3\beta$ -OH-Gruppe. Die Werte für die Kohlenstoffe C-1 bis C-5 liegen hier bei  $\delta_{\text{C}}$  31.8, 35.4, 77.0, 44.7 bzw. 45.3. H-3 resoniert bei  $\delta_{\text{H}}$  3.12. Die  $3\alpha$ -Epimere weisen dagegen Werte bei  $\delta_{\text{C}}$  26.8, 33.0, 72.3, 41.0 bzw. 37.9 für die Kohlenstoffe C-1 bis C-5 auf und  $\delta_{\text{H}}$  3.83 für H-3 auf [Akihisa *et al.* 1998]. Damit unterscheiden sich die chemischen Verschiebungen der Derivate mit der  $3\beta$ -OH-Gruppe stark vom  $3\alpha$ -Epimer. Die für Verbindung **[13]** gefundenen Werte liegen bei  $\delta_{\text{C}}$  30.9, 36.0, 77.3, 44.7 bzw. 43.4 und für H-3 bei  $\delta_{\text{H}}$  3.21 (siehe Tabelle 3.6.) und sprechen eindeutig für ein Cycloartan- $3\beta$ -ol-Derivat [vgl. Mohamad *et al.* 1997].

Die Stereochemie der Grundstruktur ist in der Abbildung 3.29. abgebildet. In der Natur variiert die absolute Konfiguration an den jeweiligen Stereozentren nicht. Deshalb soll hier nicht näher auf die Stereochemie in diesen Positionen eingegangen werden. Dieser Sachverhalt lässt sich auch auf die anderen Cycloartanderivate (**[14]** und **[15]**) übertragen.

**Tabelle 3.6.: NMR-Datentabelle der Verbindungen [13], [14] und [15] aus *Aglaia euphoroides* und *Aglaia tsangii***

Position	[13]				[14]				[15]			
	$\delta_C$	$\delta_C$ (Lit.) <sup>a</sup>	$\delta_H$ (J/Hz)	HMBC	$\delta_C$	$\delta_C$ (Lit.) <sup>b</sup>	$\delta_H$ (J/Hz)	HMBC	$\delta_C$	$\delta_C$ (Lit.) <sup>c,d</sup>	$\delta_H$ (J/Hz)	HMBC
1	30.9	30.8	A. 1.53 m B. 1.27 m		30.8	30.8	A. 1.54 m B. 1.27 m		32.0	32.0/32.0	A. 1.57 m B. 1.25 m	
2	35.4	34.7	A. 1.99 m B. 1.43 m		34.8	34.9	A. 1.97 m B. 1.40 m		30.4	30.4/30.4	A. 1.77 m B. 1.58 m	
3	77.3	76.3	3.21 ddd (5.1, 8.8, 10.7)		76.6	76.5	3.23 ddd (5.1, 9.5, 11.4)		78.9	78.9/78.8	3.28 m	
4	44.7	44.4	1.18 m		44.6	41.6	1.17 m		40.5	40.5/40.5		
5	43.4	43.3	1.19 m		43.3	43.4	1.19 m		47.2	47.1/48.0	1.30 m	
6	24.7	24.7	A.1.67 m B. 0.58 dq (2.9, 12.5)		24.7	24.7	A.1.68 m B. 0.57 dq (3.0, 12.5)		21.2	21.1/21.1	A. 1.60 m B. 0.79 m	
7	25.0	28.0*	A.1.31 m B. 1.06 m		28.1	28.1*	A.1.32 m B. 1.06 m		28.2	28.1/28.2*	A. 1.33 m B. 1.07 m	
8	46.9	46.8	1.57 m	6, 9, 10, 11, 14, 19, 30	46.9	46.9	1.58 m		48.0	48.0/47.1	1.50 m	
9	23.6	23.4			23.2	23.5			20.0	20.0/20.0		
10	29.6	29.5			30.3	29.4			26.0	26.0/26.0		
11	27.1	25.1*	A.1.97 m B.1.19 m	9, 10, 12, 19 8, 9, 10, 12, 13, 19	25.2	25.1*	A. 1.97 m B. 1.20 m		26.1	26.1/26.1*	A. 2.00 m B. 1.11 m	
12	33.0	35.3*	A. 1.61 m B. 1.61 m	9, 11, 13, 14, 18 9, 11, 13, 14, 18	32.9	35.4*	A. 1.59 m B. 1.59 m		32.9	35.6/35.5*	A. 1.62 m B. 1.62 m	
13	45.4	45.2			44.6	45.4			45.4	45.3/45.3		
14	49.0	48.8			48.9	48.9			48.9	48.8/48.8		
15	34.9	32.8*	A. 1.28 m B. 1.28 m	16, 30 16, 30	35.3	32.9*	A. 1.34 m B. 1.34 m		35.6	32.8/32.9*	A. 1.34 m B. 1.34 m	
16	28.2	26.9*	A. 1.88 m B. 1.29 m	14, 15	27.3	27.0*	A. 1.93 m B. 1.30 m		26.5	26.5/26.4*	A. 1.91 m B. 1.29 m	
17	52.3	52.2	1.56 m		52.3	52.3	1.59 m		52.3	52.3/52.1	1.57 m	
18	17.8	17.7	0.98 s	12, 13, 14, 17, <b>18</b>	17.8	17.9	0.99 s	12, 13, 14, 17	18.1	18.0/18.0	0.97 s	13, 14
19	27.3	27.1	A. 0.38 d (3.8) B. 0.14 d (3.8)	1, 5, 8, 9, 10 1, 5, 8, 9, 10, 11	27.0	27.2	A. 0.38 d (3.8) B. 0.14 d (3.8)	1, 5, 8, 10 1, 5, 8, 9, 10	29.9	29.9/29.9	A. 0.55 d (3.8) B. 0.33 d (3.8)	
20	36.4	36.3	1.38 m		36.4	36.4	1.40 m		36.0	36.0/35.8	1.45 m	
21	18.3	18.2	0.89 d (6.3)	17, 20, <b>21</b> , 22	18.5	18.5	0.91 d (6.5)	17, 20, 22	18.2	18.2/18.3	0.89 d (6.3)	20
22	36.0	35.8	A. 1.44 m B. 1.44 m		33.9	33.6			33.0	32.8/32.9	+	
23	25.2	25.7	A. 2.04 m B. 1.86 m		28.7	28.8	A. 1.15 m B. 1.15 m		26.2	26.0/25.6	A. 1.59 m B. 1.47 m	
24	125.3	125.2	5.10 m	26, 27	79.7	79.6	3.32 dd (1.0, 10.5)		65.0	65.0/64.8	2.69 t (6.3)	
25	130.9	130.7			73.1	73.1			58.1	58.0/58.4		
26	25.7	24.8	1.68 s		26.6	23.3	1.24 s	24, 25, 27	25.0	24.9/24.9	1.31 s	24, 25
27	17.7	17.7	1.61 s		23.2	26.5	1.19 s	24, 25, 26	18.7	18.6/18.7	1.27 s	24, 25
28	14.4	14.4	0.98 d (6.3)	3, 4, 5, <b>28</b>	14.4	19.1*	1.01 d (6.5)	3, 4, 5	25.5	19.3*/25.4	0.97 s	3, 4
29									14.0	14.0/14.0	0.81 s	3, 4, 5
30	19.2	19.0	0.89 s	8, 13, 14, 15, <b>30</b>	19.2	14.4*	0.91 s	8, 13, 14, 15	19.4	25.4*/19.3	0.89 s	8, 13, 14

Messung in CDCl<sub>3</sub>. Die Zuordnung erfolgte über 2D-NMR-Daten (COSY, HMQC, HMBC) und durch Literaturvergleich; <sup>a</sup>[Nyemba *et al.* 1990]; <sup>d</sup>[Ohmoto *et al.* 1982]; <sup>c</sup>[Della Greca *et al.* 1994]; <sup>d</sup>[Cantrell *et al.* 1996]; \*Zuordnung inkorrekt; + Zuordnung wegen Signalüberlappung nicht möglich

Das ESIMS liefert im Falle der Verbindung [14] das Quasimolekülion bei  $m/z$  464, entsprechend dem  $[M+NH_4]^+$ . Außerdem ist das  $[2M+NH_4]^+$  mit  $m/z$  910 zu finden. Somit lässt sich für Verbindung [14] ein Molekulargewicht von  $m/z$  446 postulieren.

Der Drehwert  $[\alpha]_D^{20}$  beträgt  $-0.1^\circ$  ( $c$  0.10,  $CHCl_3$ ).

Aus dem  $^{13}C$ -NMR-Spektrum unter Zuhilfenahme der HMBC-Korrelationen lassen sich auch bei diesem Derivat 29 Kohlenstoffe identifizieren (siehe Tabelle 3.6.). Anhand der NMR-Daten in Verbindung mit dem Molekulargewicht lässt sich für Verbindung [14] die Summenformel  $C_{29}H_{50}O_3$  postulieren.

Im  $^1H$ -NMR erscheinen ebenfalls sechs Methylgruppen mit chemischen Verschiebungen und Multiplizitäten, die sich kaum von denen der Verbindung [13] unterscheiden. Auch bei Verbindung [14] treten im hohen Feld bei  $\delta_H$  0.38 und 0.14 die Methylenprotonen des Cyclopropanringes  $H_{2-19A}$  und  $H_{2-19B}$  in Erscheinung und die chemische Verschiebung von C-3 (Zuordnung über die HMBC-Korrelation des Methyldupletts  $H_3-28$ ) spricht auch hier für einen Hydroxylsubstituenten mit derselben Konfiguration wie bei Verbindung [13].

Diese Evidenzen sprechen zusammen mit den anderen HMBC-Korrelationen (siehe Tabelle 3.6.) der Methylgruppen und der Methylenprotonen in Position 19 für dieselbe Grundstruktur dieses Cycloartans, wie sie auch bei Verbindung [13] zu finden ist.

Im Vergleich zum Derivat [13] sind allerdings die beiden Methylsingulets bei  $\delta_H$  1.24 und 1.19 ( $H_3-26$  und  $H_3-27$ ) sowie die durch HMBC-Korrelationen definierten Kohlenstoffatome C-24 ( $\delta_C$  79.7) und C-25 ( $\delta_C$  73.1) deutlich hochfeldverschoben. Diese Befunde sprechen für die Anwesenheit von zwei Hydroxylgruppen an C-24 und C-25.

Das Methinproton H-24 erscheint als Doppelduplett bei  $\delta_H$  3.32. Im Falle einer  $\Delta^{24,25}$  Epoxidgruppe wäre für dieses Proton ein Wert von c.a.  $\delta_H$  2.7 zu erwarten, wie z.B. von Vishnoi *et al.* [1988] für Cycloartane mit einer entsprechenden Seitenkette aus *Aglaia roxburghiana* gefunden (siehe auch De Pascual *et al.* [1987] und Verbindung [15] unten). Die zwei Hydroxylgruppen sind ferner im Einklang mit dem ermittelten Molekulargewicht für [14].

Zur Bestimmung der Konfiguration an C-24 können wie im Fall der Verbindung [12] die von Della Greca *et al.* [1994] veröffentlichten Daten herangezogen werden. Anders als bei Verbindung [12] liegt der Wert der chemischen Verschiebung von C-24 bei  $\delta_C$  79.6 und entspricht somit dem für das 24(*R*)-Isomere beschriebenen Wert. Auch bei Inada *et al.* [1997] finden sich mit  $\delta_C$  79.7 (C-24), 73.2 (C-25) und  $\delta_H$  3.29 (H-24) vergleichbare Angaben für die 24(*R*)-Konfiguration.

Es handelt sich bei der Verbindung [14] also um den bekannten Naturstoff 4 $\alpha$ ,14-Dimethyl-9,19-cyclocholestan-3 $\beta$ ,24 $\alpha$ ,25-triol [Ohmoto *et al.* 1982]. Der Vergleich der  $^{13}\text{C}$ -Daten mit den veröffentlichten Werten bestätigt die postulierte Struktur (siehe Tabelle 3.6.), wobei aufgrund der vorliegenden HMBC-Daten die Zuordnung der Kohlenstoffe C-12 und C-15 sowie C-28 und C-30 revidiert werden muss. Das 24, 25-Epoxid dieser Verbindung ist bereits aus *A. roxburghiana* bekannt [Vishnoi *et al.* 1988].

Im EIMS lässt sich für Verbindung [15] das Molekülion bei  $m/z$  442 identifizieren. Für  $[\alpha]_D^{20}$  wurde ein Wert von  $+22.6^\circ$  ( $c$  0.10,  $\text{CHCl}_3$ ) ermittelt.

Die Informationen aus dem  $^{13}\text{C}$ -, DEPT- und  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum indizieren hier 30 Kohlenstoffe, darunter sieben Methylgruppen (also eine mehr als in den vorherigen beiden Derivaten [13] und [14]), elf Methylengruppen, sechs Methingruppen und sechs quartäre Kohlenstoffatome (siehe Tabelle 3.6.), woraus in Verbindung mit dem Molekulargewicht  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$  als Summenformel abgeleitet werden kann.

Auch bei diesem Derivat handelt es sich um ein Cycloartan. Im hohen Feld bei  $\delta_{\text{H}}$  0.55 und 0.33 treten zwei Dupletts auf, welche im COSY-Spektrum (siehe Abbildung 3.33.) die entsprechende Kreuzkorrelation sowie eine Kopplungskonstante von  $J_{\text{H,H}}=3.8$  zeigen. Die chemischen Verschiebungen dieser Methylenprotonen ( $\text{H-19}_\text{A}$  und  $\text{H-19}_\text{B}$ ) weichen allerdings deutlich von denen der Verbindungen [13] und [14] ab. Dort liegen die entsprechenden Signale bei Resonanzen von  $\delta_{\text{H}}$  0.38 und 0.14. Diese relative Tieffeldverschiebung ist im Einklang mit dem Auftreten zweier geminaler Methylgruppen am Kohlenstoff C-4. Tatsächlich finden sich im HMBC-Korrelationen zweier Methyldupletts bei  $\delta_{\text{H}}$  0.97 und 0.81 (hier  $\text{H}_3\text{-29}$  und  $\text{H}_3\text{-30}$ , siehe De Pascual *et al.* [1987]) mit dem Kohlenstoff C-3. Dessen chemische Verschiebung von  $\delta_{\text{C}}$  78.9 und dem entsprechenden Methinproton bei  $\delta_{\text{H}}$  3.28 indiziert auch in diesem Derivat das Vorliegen einer Hydroxylgruppe in Position 3, welche in der  $\beta$ -Konfiguration vorliegt. Die Daten der chemischen Verschiebungen von H-3 und C-3 stimmen mit den Literaturdaten für dieses Epimer überein [De Pascual *et al.* 1987]. Im Gegensatz zu den Nor-Derivaten ([13] und [14]) erscheint hier das Signal für  $\text{H-6}_\text{B}$  mit  $\delta_{\text{H}}$  0.79 deutlich weiter tieffeld verschoben. Dort resoniert dieses Proton bei  $\delta_{\text{H}}$  0.57 bzw. 0.58. Die Multiplizität ist hier wegen Signalüberlappung nicht zu bestimmen.

Im HMBC-Spektrum lassen sich auch für dieses Derivat die Korrelationen ausgehend von den Methylgruppen finden, die die Cycloartan-Grundstruktur definieren (siehe Tabelle 3.6.). Die Werte der chemischen Verschiebungen der Methylgruppen  $\text{H}_3\text{-18}$ ,  $\text{H}_3\text{-21}$  und  $\text{H}_3\text{-30}$  (letztere wird in der Literatur als  $\text{H}_3\text{-28}$  bezeichnet [De Pascual *et al.* 1987, Della Greca *et al.* 1994]) sind im Einklang mit den Werten der beiden Verbindungen [13] und [14]. Auch die von Cantrell *et al.* [1996] publizierten Werte bestätigen die Übereinstimmung.

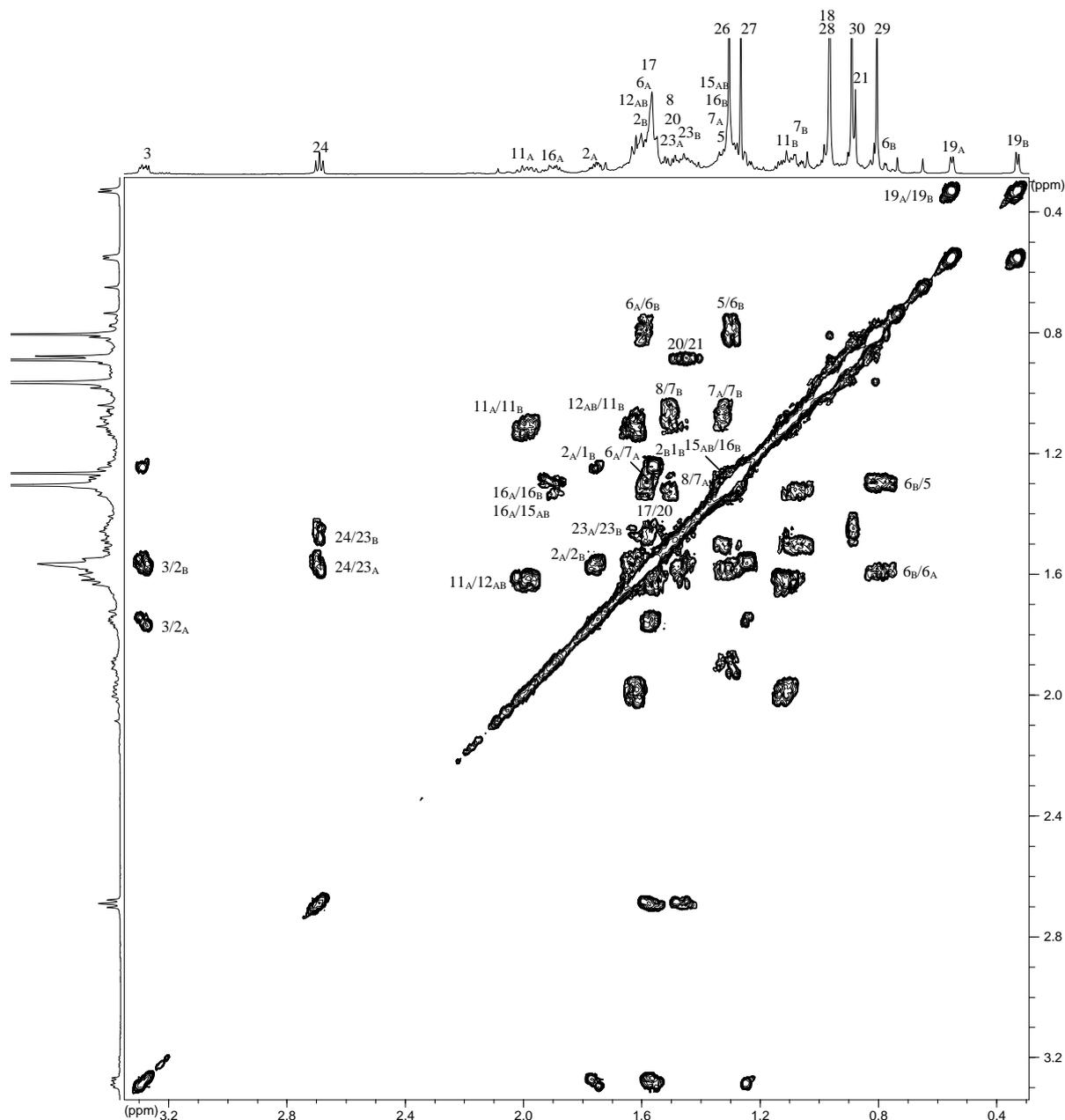


Abbildung 3.33.: COSY-Spektrum der Verbindung [15]

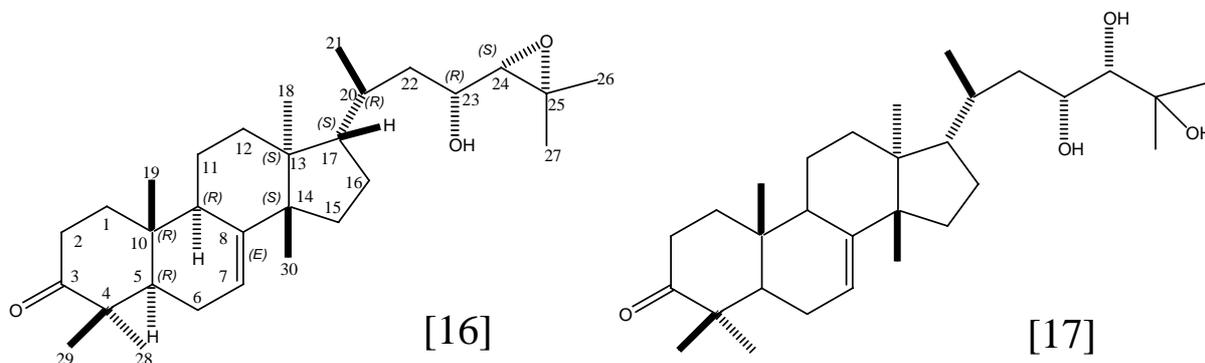
Die beiden geminalen Methylgruppen der Seitenkette H<sub>3</sub>-26 und H<sub>3</sub>-27 ergeben im Falle der Verbindung [15] Resonanzen bei  $\delta_{\text{H}}$  1.27 und 1.31 und unterscheiden sich somit von den anderen beiden Derivaten, was einen Unterschied in der Seitenkette impliziert.

Im HMBC-Spektrum (siehe Tabelle 3.6.) tauchen Kreuzsignale zwischen diesen Methylgruppen und jeweils zwei Kohlenstoffen bei  $\delta_C$  65.0 und 58.1 Kreuzsignale auf. Es handelt sich um das Duplett C-24 und das Singulett C-25. Das Proton H-24 liegt als Triplett bei einer chemischen Verschiebung von  $\delta_H$  2.69 vor. Die aufgeführten chemischen Verschiebungen sprechen für eine  $\Delta^{24,25}$ -Epoxidstruktur der Verbindung [15] (24,25-Epoxy-cycloartenol) und sind in guter Übereinstimmung mit der Literatur [De Pascual *et al.* 1987, Vishnoi *et al.* 1988, Della Greca *et al.* 1994, Cantrell *et al.* 1996]. De Pascual *et al.* [1987] geben für C-24 zwei Kohlenstoff-Verschiebungen an, die dem dort vorliegenden 24-OH-Epimerengemisch Rechnung tragen. Die Werte für die 24(R) und 24(S)-Konfiguration unterscheiden sich mit  $\delta_C$  32.8 bzw. 32.6 für C-22,  $\delta_C$  26.0 bzw. 25.7 für C-23,  $\delta_C$  65.0 bzw. 64.8 für C-24 und  $\delta_C$  58.0 bzw. 58.4 für C-25. Verbindung [15] liegt demnach in der 24(R)-Konfiguration vor (vgl. Tabelle 3.6.).

Für die Hydroxylgruppe in Position 3 der Grundstruktur sind beide Konfigurationen in der Literatur beschrieben [Della Greca *et al.* 1994, Inada *et al.* 1997]. Die chemische Verschiebung des C-3 ist im Fall der Verbindung [15]  $\delta_C$  78.9. Denselben Wert finden Inada *et al.* [1997] und Della Greca *et al.* [1994] für das  $\beta$ -OH-Isomere. Für das  $\alpha$ -OH-Stereoisomere dagegen beschreiben die Autoren einen Wert von  $\delta_C$  77.1 [Inada *et al.* 1997]. Somit muss Verbindung [15] das  $\beta$ -OH-Isomer darstellen. Identisch ist auch der Wert der chemischen Verschiebung des Protonensignales mit  $\delta_H$  3.28, welchen Cantrell *et al.* [1996] für das  $\beta$ -OH-Isomere gefunden haben. Das COSY-Spektrum (Abbildung 3.33.) zeigt analog zu dem der Verbindung [13] die Spinsysteme des Cycloartans.

### 3.1.6. Tirucallane aus den Zweigen von *Aglaia cucullata*

Die Abbildung 3.34. stellt zwei Tirucallan-Triterpene aus den Zweigen von *Aglaia cucullata* dar.



**Abbildung 3.34.:** Tirucallane aus den Zweigen von *Aglaia cucullata*

Für Verbindung [16] ergibt sich im EIMS das Molekülion mit  $m/z$  456 vor. Diese Verbindung zeigt einen  $[\alpha]_D^{20}$ -Wert von  $-18.0^\circ$  ( $c$  0.10,  $\text{CHCl}_3$ ).

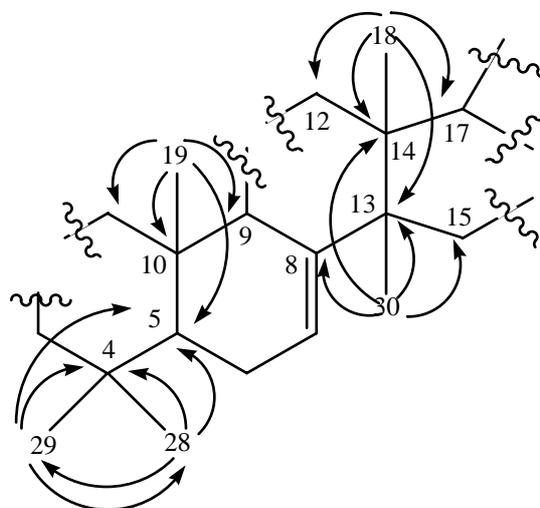
Das  $^{13}\text{C}$ - und das DEPT-NMR-Spektrum gemeinsam mit dem  $^1\text{H}$ -NMR-Experiment indizieren das Vorliegen von 30 Kohlenstoffen (siehe Tabelle 3.7.), darunter sieben Methylsingulets, ein Methylduplett, acht Methylengruppen, acht Methingruppen, sowie sieben quartären Kohlenstoffatomen. In Verbindung mit dem Molekulargewicht lassen diese Befunde auf eine Summenformel von  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$  schließen.

Eine Methylgruppe ( $\text{H}_3$ -19 bei  $\delta_{\text{H}}$  1.00) teilt mit den beiden im HMBC-Spektrum als geminal zu identifizierenden Methylgruppen  $\text{H}_3$ -28 und  $\text{H}_3$ -29 (bei  $\delta_{\text{H}}$  1.05 und 1.11) die Korrelation mit einem Kohlenstoff bei  $\delta_{\text{C}}$  52.3 (C-5). Über diese drei Methylgruppen lassen sich auch die Kohlenstoffe C-1, C-9 und C-10 (ausgehend von  $\text{H}_3$ -19) sowie C-4 (ausgehend von  $\text{H}_3$ -28 und  $\text{H}_3$ -29) definieren (siehe Tabelle 3.7.). Die Methylgruppen bei  $\delta_{\text{H}}$  0.81 und 1.02 ( $\text{H}_3$ -18 und  $\text{H}_3$ -30) zeigen beide im HMBC-Spektrum gemeinsame Kreuzsignale bei  $\delta_{\text{C}}$  43.6 und 51.2 für C-13 und C-14 (siehe Abbildung 3.35. und 3.36.). Eine Korrelation von  $\text{H}_3$ -30 mit einem Signal bei  $\delta_{\text{C}}$  145.7 (C-8) deutet eine Doppelbindung im Grundgerüst an. Das dazugehörige



Die genannten HMBC-Korrelationen der Methylgruppen sprechen für ein Tirucallan-Grundgerüst. (siehe Abbildung 3.35. und 3.36.). Zusätzlich kann ein Vergleich der chemischen Verschiebungen mit den zuvor diskutierten Verbindungen herangezogen werden (Vgl. Tabelle 3.5. und 3.7.). So unterscheiden sich beispielsweise die Werte für C-1 bis C-5 und C-10 des Rings A von Verbindung [11] oder [12] kaum von den Daten für [16]. Auch die Kohlenstoffe der Methingruppen in den Positionen 9, 13 und 17 zeigen vergleichbare chemische Verschiebungen und lassen sich so gut zuordnen. Schließlich bestätigt ein Literaturvergleich die Grundstruktur (siehe Tabelle 3.7.) [Su *et al.* 1990, Itokawa *et al.* 1992].

Bei  $\delta_{\text{H}}$  0.96 findet sich ein Methylduplett ( $\text{H}_3$ -21) mit einer Kopplungskonstanten von  $J_{\text{H,H}}=5.6$  Hz mit HMBC-Korrelationen zu den Kohlenstoffen C-20 und C-22 ( $\delta_{\text{C}}$  33.5 und 40.7) und zu Kohlenstoff C-17 ( $\delta_{\text{C}}$  53.3). Über die letztere lässt sich die Seitenkette mit dem Grundgerüst verknüpfen (siehe Abbildung 3.35.).



**Abbildung 3.36. Wichtige HMBC-Korrelationen des Tirucallan-Grundgerüsts der Verbindungen [16] und [17]**

Zwei weitere Methylsingulets bei  $\delta_{\text{H}}$  1.32 und 1.33 ( $\text{H}_3$ -26 und  $\text{H}_3$ -27), zeigen im HMBC-Spektrum jeweils zwei Korrelationen zu Kohlenstoffen bei  $\delta_{\text{C}}$  68.4 und 60.3 (C-24 und C-25), sowie zueinander. Es handelt sich folglich ebenfalls um geminale Methylgruppen (siehe

Abbildung 3.35.). Die chemischen Verschiebungen von C-24 und C-25 belegen die Nachbarschaft von Sauerstoffatomen. Das zugehörige Methinproton H-24 resoniert bei  $\delta_{\text{H}}$  2.66 und erscheint als ein Duplett. Dies lässt darauf schließen, dass sich bei Verbindung [16] eine weitere Methingruppe in Position 23 befindet, was im COSY-Spektrum (siehe Abbildung 3.38.) durch eine Korrelation von H-24 zu einem Signal weit im tiefen Feld bei  $\delta_{\text{H}}$  3.57 (H-23) bestätigt wird. Auch letzterer Wert spricht für die Nachbarschaft eines Sauerstoffatoms. Das Signal für H-23 lässt sich durch das HMQC-Spektrum einem Kohlenstoff bei  $\delta_{\text{C}}$  69.2 (C-23) zuordnen, der im HMBC-Spektrum mit H-24 die korreliert (siehe Abbildung 3.37.). Im COSY-Spektrum erscheinen bei  $\delta_{\text{H}}$  1.65 und 1.41 (H<sub>2</sub>-22) schließlich zwei weitere Kreuzsignale für H-23.

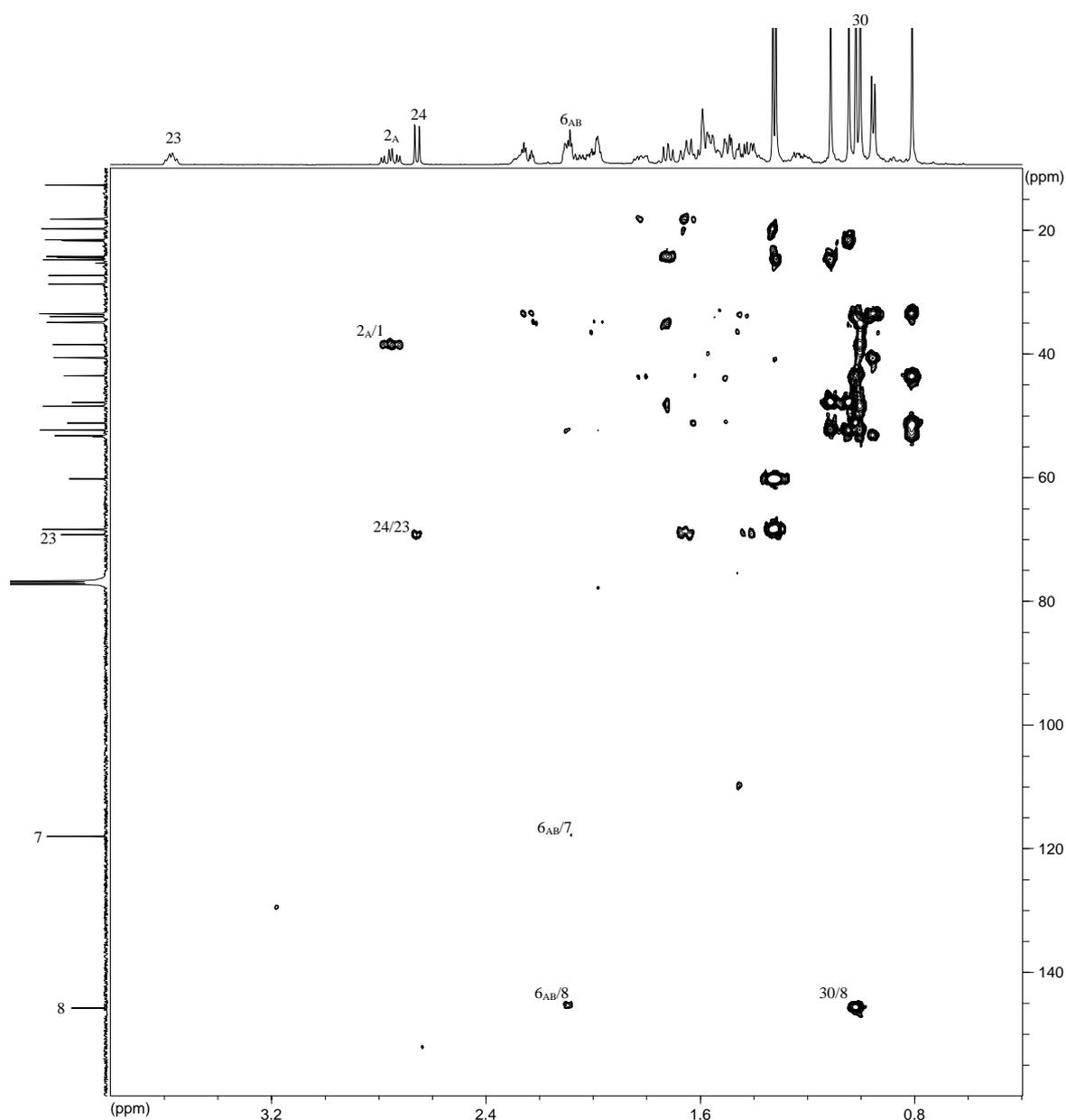


Abbildung 3.37. HMBC-Korrelationen der Verbindung [16] im tiefen Feld

Aus diesen Daten ergibt sich die Anwesenheit von Sauerstoffsubstituenten sowohl an C-23, C-24 und C-25. Ein Vergleich mit der Summenformel ergibt, dass es sich um eine Hydroxyfunktion sowie eine Epoxidpartialstruktur handeln muss. Ihre Position kann aus den chemischen Verschiebungen der Protonen H-23 und H-20 abgeleitet werden; die Tieffeldverschiebung von H-23 im Vergleich zu H-24 belegt, dass sich das Epoxid an C-24 und C-25 befinden muss.

Die postulierte  $\Delta^{24,25}$ -Epoxidfunktion ist im Einklang mit spektralen Daten für entsprechend substituierte Derivate in der Literatur [vgl. z.B. Itokawa *et al.* 1992].

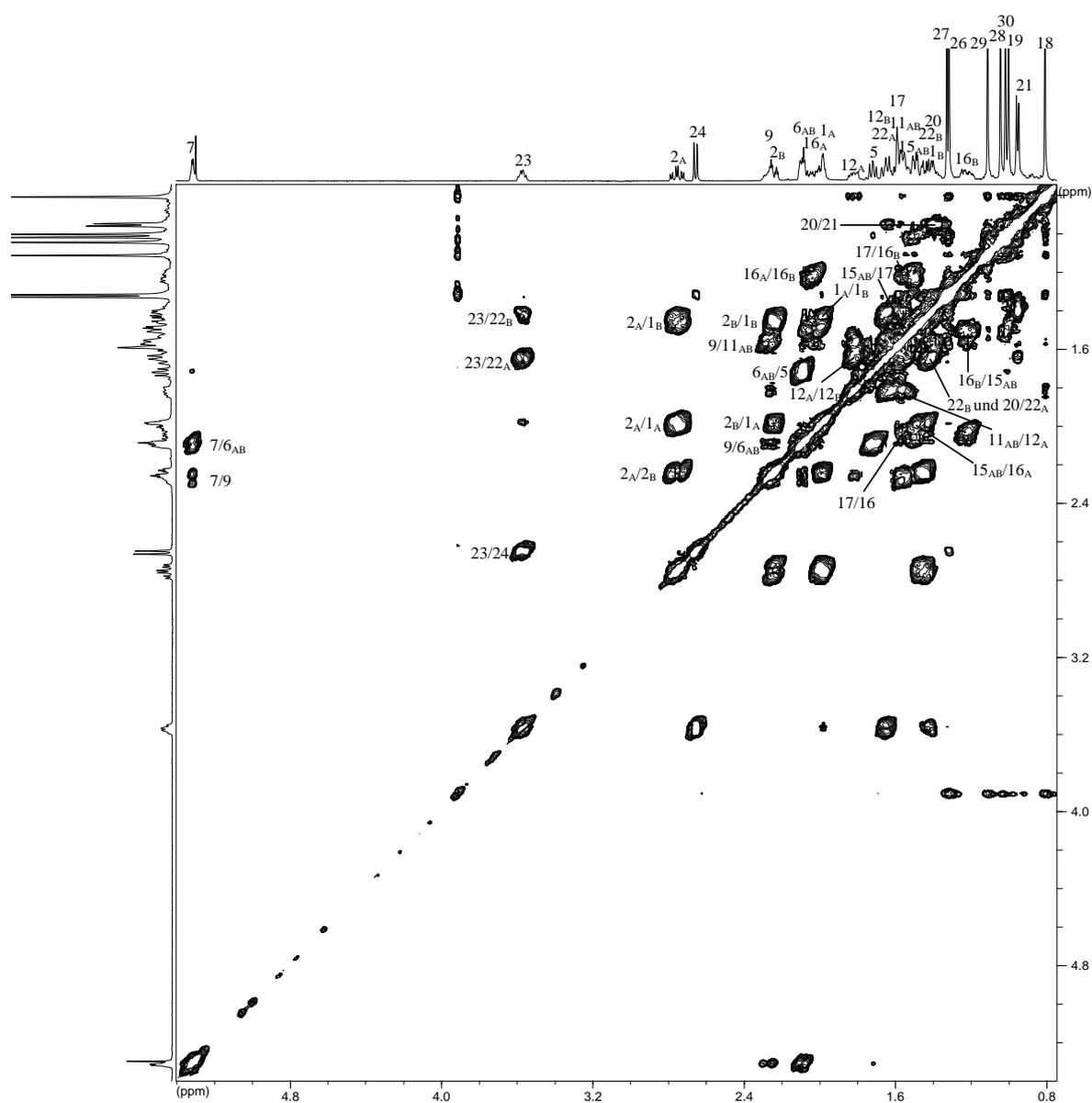


Abbildung 3.38.: COSY-Korrelationen der Verbindung [16]

## Ergebnisse

Auch die Korrelationen von H<sub>3</sub>-21 und H<sub>2</sub>-22 zu H-20 und von H-20 zu H-17 lassen sich im COSY-Spektrum nachvollziehen. Das Methinproton H-7 zeigt neben der Korrelation zu H<sub>2</sub>-6 ( $\delta_{\text{H}}$  2.10, 2H) auch ein Kreuzsignal mit H-9. Diese „long-range“-Korrelation erklärt sich durch die  $\Delta^{7,8}$ -Doppelbindung. Darüber hinaus ist sogar eine homoallylische Kopplung von H-9 zu H<sub>2</sub>-6 zu finden (siehe Abbildung 3.38.).

**Tabelle 3.7.: NMR-Datentabelle der Verbindungen [16] und [17] aus *Aglaia cucculata***

Position	[16]				[17]			
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$ (Lit.) <sup>*</sup>	$\delta_{\text{H}}$ (J/Hz)	HMBC	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$ (Lit.) <sup>*</sup>	$\delta_{\text{H}}$ (J/Hz)	HMBC
1	38.5	38.6	A. 1.99 m B. 1.45 m		38.5	38.5	A 1.99 m B 1.47 m	
2	34.9	34.9	A. 2.78 ddd (5.7; 14.5; 20.2) B. 2.22 m	1	34.9	34.9	A 2.75 ddd (5.7; 14.5; 20.2) B 2.25 m	1 10
3	216.9	216.8			217.0	217.0		
4	47.9	47.9			47.9	43.5		
5	52.3	52.4	1.74 m	4, 6, 10	52.3	52.3	1.72 t (8.8)	4, 6, 10
6	24.4	24.4	A. 2.10 m B. 2.10 m		24.4	24.3	A 2.10 m B 2.10 m	7, 8 7, 8
7	118.0	116.0	5.31 m		118.0	117.9	5.31 m	
8	145.7	145.7			145.8	145.7		
9	48.5	48.5	2.27 m		48.4	48.4	2.27 m	
10	35.0	35.0			35.0	35.0		
11	18.3	18.3	A. 1.59 m B. 1.59 m		18.3	18.3	A. 1.59 m B. 1.59 m	
12	34.0	34.0	A. 1.84 m B. 1.64 m		33.8	34.0	A. 1.84 m B. 1.64 m	
13	43.6	43.6			43.5	47.8		
14	51.2	51.2			51.2	51.2		
15	33.6	33.7	A. 1.48 m B. 1.48 m		34.0	33.8	A. 1.48 m B. 1.48 m	
16	28.8	28.8	A. 2.04 m B. 1.22 m		28.5	28.4	A. 2.00 m B. 1.32 m	
17	53.3	53.3	1.58 m		53.8	53.8	1.51 m	
18	21.8	21.8	0.81 s	12, 13, 14, 17	22.0	22.0	0.82 s	12, 13, 14, 17
19	12.8	12.8	1.00 s	1, 5, 9, 10	12.8	12.7	1.00 s	1, 5, 9, 10
20	33.5	33.6	1.41 m		33.7	33.7	1.42 m	
21	19.8	19.8	0.96 d (5.7)	17, 20, 22	18.9	18.9	0.93 d (6.3)	17, 20, 22
22	40.7	40.7	A. 1.65 m B. 1.41 m		40.5	40.5	A 1.87 m B 1.19 m	23 23
23	69.2	69.3	3.57 m		69.7	69.7	4.12 dd (4.4; 8.8)	
24	68.4	66.4	2.66 d (8.2)		74.9	75.1	3.17 brs	
25	60.3	60.2			74.3	74.3		
26	19.9	19.8	1.32 s	24, 25, 27	26.2	26.2	1.31 s	24, 25, 27
27	24.9	24.9	1.33 s	24, 25, 26	27.5	27.3	1.32 s	24, 25, 26
28	24.5	24.6	1.05 s	4, 5, 29	24.5	24.5	1.05 s	4, 5, 29
29	21.6	21.6	1.11 s	4, 5, 28	21.6	21.5	1.11 s	4, 5, 28
30	27.4	27.4	1.02 s	8, 13, 14, 15	27.4	27.3	1.02 s	8, 13, 14, 15
OH							2.61 brs	

Messung in CDCl<sub>3</sub>. Die Zuordnung erfolgte über 2D-NMR-Daten

\* [Itokawa et al. 1992] (CDCl<sub>3</sub>)

Diesen Befunden zufolge handelt es sich bei der Verbindung [16] um die bekannte Verbindung Niloticin. Die <sup>13</sup>C-NMR-Daten (siehe Tabelle 3.7.) sind in sehr guter Übereinstimmung mit den Werten aus der Literatur [Su *et al.* 1990, Itokawa *et al.* 1992]. Su *et al.* [1990] liefern Daten einer Kristallstrukturanalyse, aus denen die relative Stereochemie

ersichtlich ist. Hier liegen die NMR-Daten der Kohlenstoffe C-20, C-21, C-22, C-23, C-24 und C-25 bei  $\delta_C$  33.57, 19.91, 40.72, 69.27, 68.47 und 60.28. Diese Werte entsprechen den für [16] gefundenen Daten (siehe Tabelle 3.7.). Daher ist anzunehmen, dass an den Stereozentren von [16] jeweils die bei Su *et al.* [1990] beschriebene Konfiguration vorliegt. Demnach handelt es sich bei der vorliegenden Verbindung um das 24(*S*),25-Epoxy-23(*R*)-hydroxytirucallan-3-on. Die Konfiguration an C-17 ist (*S*), die an C-20 (*R*).

Die Zuordnung der im COSY-Spektrum gefundenen Protonensignale (weder Su *et al.* noch Itokawa *et al.* geben  $^1\text{H}$ -NMR-Daten an) ist im Einklang mit Literaturdaten zu Dyvariabilin E aus *Dysoxylum variabile* [Liu *et al.* 2001], welches sich vom Niloticin nur durch eine zusätzliche Hydroxylgruppe an C-2 unterscheidet. Diese Hydroxylgruppe wirkt sich insbesondere auf deren Methylenprotonen-Verschiebung H<sub>2</sub>-1 und H<sub>2</sub>-2 sowie auf H-9 aus. Die anderen Werte unterscheiden sich kaum, obwohl die Autoren in deuteriertem Aceton gemessen haben, statt des hier verwendeten Chloroforms.

Für die Verbindung [17] lässt sich anhand des EIMS das Molekulargewicht von 474 ableiten. Hier ergab die Messung einen  $[\alpha]_D^{20}$ -Wert von  $-50.8^\circ$  (*c* 0.10, CHCl<sub>3</sub>). Die Analyse der  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren ergibt, dass die Summenformel C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O<sub>4</sub> lauten muss.

Die HMBC-Korrelationen für das Grundgerüst entsprechen denen der Verbindung [16] (siehe Tabelle 3.7.). Auch die HMBC-Korrelationen ausgehend vom Methyl-Duplett H<sub>3</sub>-21 gleichen, mit nur unwesentlich abweichenden chemischen Verschiebungen, denen der Verbindung [16] (siehe Tabelle 3.7.).

Die chemische Verschiebung des Kohlenstoffs C-23 ( $\delta_C$  69.7) weicht ebenfalls kaum von derjenigen der vorherigen Verbindung ab und indiziert auch hier das Vorliegen einer Hydroxylgruppe. Die Resonanzen der beiden Kohlenstoffe C-24 und C-25 ( $\delta_C$  74.9 und 74.3) sind gegenüber denen der Verbindung [16] deutlich ins tiefe Feld verschoben. Im HMBC-Spektrum (siehe Tabelle 3.7.) lassen sich auch hier die beiden geminalen Methylgruppen H<sub>3</sub>-26 und H<sub>3</sub>-27 mit den entsprechenden Korrelationen zu den Kohlenstoffen in Position 24 und 25 identifizieren.

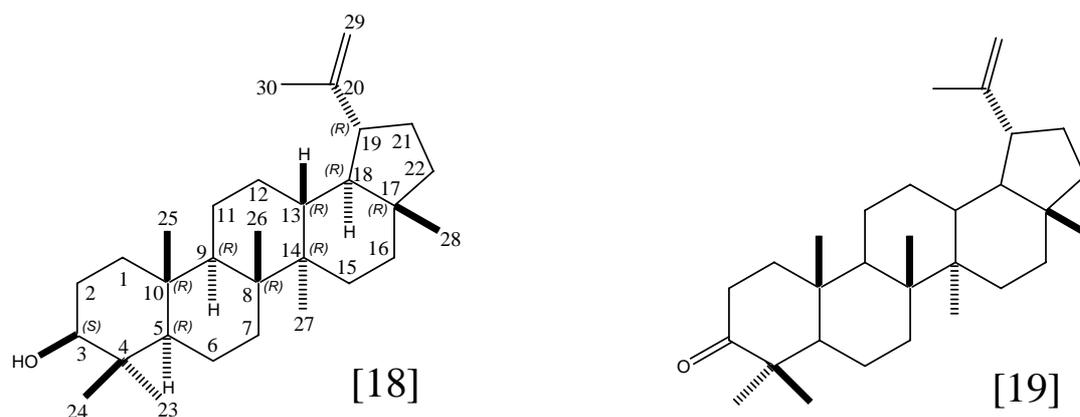
Sowohl die chemische Verschiebung der beiden Kohlenstoffe, als auch die Differenz im Molekulargewicht zwischen den beiden Verbindungen [16] und [17] von 18 amu spricht für das Vorliegen zweier Hydroxylgruppen an den Kohlenstoffen C-24 und C-25 bei Verbindung [17] anstatt der entsprechenden Exoxidbrücke bei Verbindung [16].

Im COSY-Spektrum treten für das Tirucallan-Grundgerüst die entsprechenden Korrelationen auf, wie sie in Abbildung 3.38. für Verbindung [16] gezeigt sind. Dagegen ist ausgehend vom Methinproton H-24 die zu erwartende Korrelation mit H-23 ( $\delta_{\text{H}}$  4.12) nicht zu sehen. H-24 tritt bei  $\delta_{\text{H}}$  3.17 als breites Singulett in Erscheinung. Zu sehen ist allerdings die Korrelation dieses Methinprotons mit der Hydroxylgruppe bei  $\delta_{\text{H}}$  2.61.

Demnach handelt es sich bei der Verbindung [17] um das Piscidinol A und die Werte der chemischen Verschiebung im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum (siehe Tabelle 3.7.) sind im Einklang mit Literaturdaten zu dieser Verbindung [Itokawa *et al.* 1992]. Allerdings wird hier ein Wert von  $\delta_{\text{C}}$  43.5 statt 47.9 für C-4 angegeben. Da aber beim Derivat [16] dieser Wert bei  $\delta_{\text{C}}$  47.9 liegt, handelt es sich vermutlich um einen Schreibfehler in der Publikation.

### 3.1.7. Lupane aus den Blättern von *Aglaia tsangii*

Die beiden Lupan-Triterpene (Abbildung 3.39.) wurden aus dem Blattextrakt von *Aglaia tsangii* isoliert.



**Abbildung 3.39.:** Lupane aus den Blättern von *Aglaia tsangii*

Verbindung [18] liefert im EIMS eine Molekülmasse von  $m/z$  426. Für  $[\alpha]_D^{20}$  konnte hier ein Wert von  $+31.1^\circ$  ( $c$  0.10,  $\text{CHCl}_3$ ) ermittelt werden.

Die Informationen aus dem  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ - und DEPT-NMR-Experiment zeigen das Vorhandensein von 30 Kohlenstoffatomen (siehe Tabelle 3.8.), die sich sieben Methyl-, elf Methylen- und sechs Methingruppen zuschreiben lassen. Bei den verbleibenden sechs Signalen im  $^{13}\text{C}$ -NMR handelt es sich um quartäre Kohlenstoffe. Aus diesen Informationen in Verbindung mit der Molekülmasse lässt sich eine Summenformel von  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$  ableiten.

Ausgehend von den Methylgruppen lassen sich mit Hilfe der HMBC-Korrelationen drei Substrukturen finden (siehe Abbildung 3.40. und 3.41.).

Die beiden Methylgruppen bei  $\delta_{\text{H}}$  0.97 und 0.76 ( $\text{H}_3$ -23 und  $\text{H}_3$ -24) korrelieren miteinander und jeweils mit drei weiteren Kohlenstoffen (nach dem DEPT-Spektrum einem Singulett und zwei Dupletts), was ihre geminale Stellung zueinander belegt. Eines der beiden Dupletts bei  $\delta_{\text{C}}$  79.1 (C-3) muss aufgrund der chemischen Verschiebung eine Hydroxylgruppe tragen, das andere bei  $\delta_{\text{C}}$  55.4 (C-5) liefert neben den Korrelationen mit  $\text{H}_3$ -23 und  $\text{H}_3$ -24 auch eine

Korrelation mit der Methylgruppe H<sub>3</sub>-25 bei  $\delta_{\text{H}}$  0.83 (siehe Abbildung 3.40). Diese Methylgruppe wiederum zeigt neben den Korrelationen zur Methylengruppe in Position 1 ( $\delta_{\text{C}}$  38.8) sowie zum quartären Kohlenstoff in Position 10 ( $\delta_{\text{C}}$  37.3) ein gemeinsames Kreuzsignal mit der Methylgruppe H<sub>3</sub>-26, namentlich C-9 bei  $\delta_{\text{C}}$  50.6. Daneben korreliert H<sub>3</sub>-26 mit der Methylengruppe C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  34.4) und mit zwei Kohlenstoffsingulets (C-13 und C-14), zu denen auch die Methylgruppe H<sub>3</sub>-27 ( $\delta_{\text{H}}$  0.94) Kreuzsignale aufweist. Ausgehend von letzterer lassen sich schließlich die Korrelationen zu dem Kohlenstoff in Position 13 ( $\delta_{\text{C}}$  38.2) und dem in Position 15 ( $\delta_{\text{C}}$  27.5) im HMBC-Spektrum identifizieren (siehe Abbildung 3.40.).

Eine weitere Substruktur (siehe Abbildung 3.41.) ergibt sich aus der Korrelation der Methylgruppe H<sub>3</sub>-30 zu den Kohlenstoffen C-20 und C-29 ( $\delta_{\text{C}}$  151.0 und 109.4), deren chemische Verschiebung eine Exomethylengruppe anzeigt. Letztere lässt sich auch im DEPT-Spektrum nachweisen. Die entsprechenden Exomethylenprotonen ergeben Resonanzen bei  $\delta_{\text{H}}$  4.57 und 4.49. Bei dem Proton H-29<sub>B</sub> ist neben der geminalen Kopplung mit H-29<sub>A</sub> ( $J_{\text{H,H}}=2.5$ ) sogar die „long-range“-Kopplung mit der Methylgruppe H<sub>3</sub>-30 oder mit dem Methinproton H-19 aufgelöst ( $J_{\text{H,H}}=1.3$ ).

Eine dritte Substruktur (siehe Abbildung 3.41.) ergibt sich aus den Korrelationen der Methylgruppe H<sub>3</sub>-28 ( $\delta_{\text{H}}$  0.79) zu den Kohlenstoffen C-16 (Triplett), C-17 (Singulett), C-18 (Duplett) und C-22 (Triplett) bei Resonanzen von  $\delta_{\text{C}}$  35.7, 43.1, 48.4 und 40.1.

Die Literatursuche nach den beschriebenen Substrukturen (siehe Abbildung 3.41.), in Verbindung mit der gefundenen Molekülmasse bei  $m/z$  426 führt zu dem Ergebnis, dass es sich bei Verbindung [18] um das bekannte Lupanderivat Lupeol handelt. Wie Tabelle 3.8. zeigt, bestätigt ein Vergleich der chemischen Verschiebungen im <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum mit von Fuchino *et al.* [1995] veröffentlichten Werten diese Annahme.

Im HMQC- und COSY-Spektrum (siehe Abbildung 3.42.) lassen sich einige Protonen zuordnen. Ausgehend von dem im HMQC-Spektrum zu identifizierenden H-19 erkennt man die Korrelation zu H-18 (welches ebenfalls im HMQC-Spektrum zu ermitteln ist), sowie zu H-21<sub>A</sub> und H-21<sub>B</sub>. Auch die Methinsignale für H-5 und H-9 erhält man aus dem HMQC-Spektrum und damit ausgehend von H-5 die beiden Methylenprotonen H<sub>2</sub>-6. Die COSY-Korrelationen von H-3 definieren die Protonen der Methylengruppe H<sub>2</sub>-2. Die entsprechenden Werte der chemischen Verschiebungen der identifizierten Protonensignale sind der Tabelle

3.8. zu entnehmen. Für die anderen Protonen ließ das COSY-Experiment keine eindeutigen Zuordnungen zu.

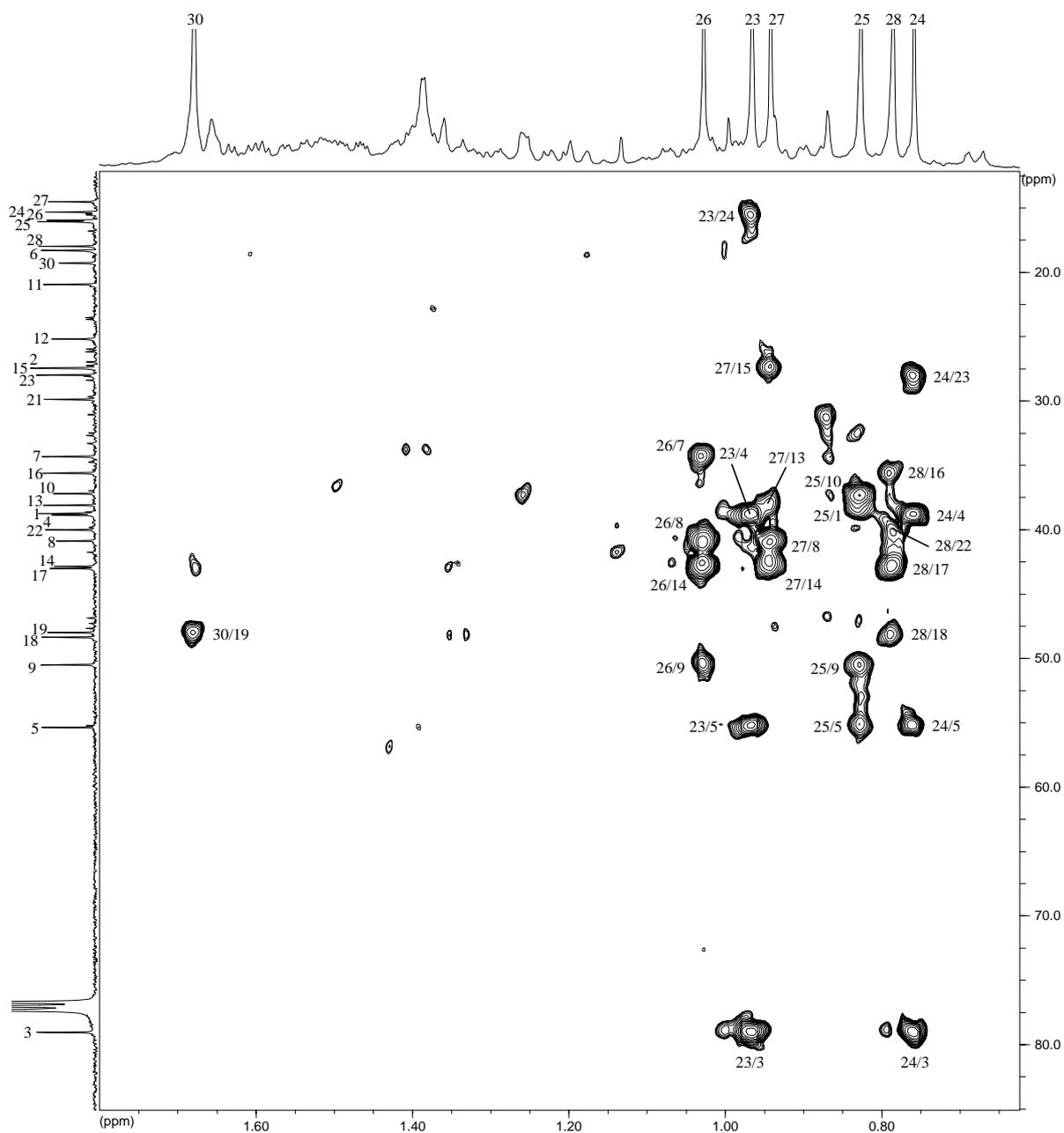


Abbildung 3.40.: HMBC-Korrelationen der Verbindung [18] im tiefen Feld

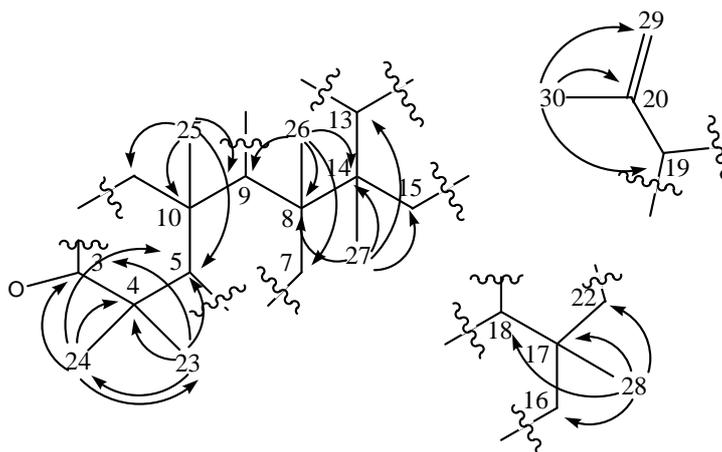


Abbildung 3.41.: Substrukturen abgeleitet von den HMBC-Korrelationen der Methylgruppen von Verbindung [18].

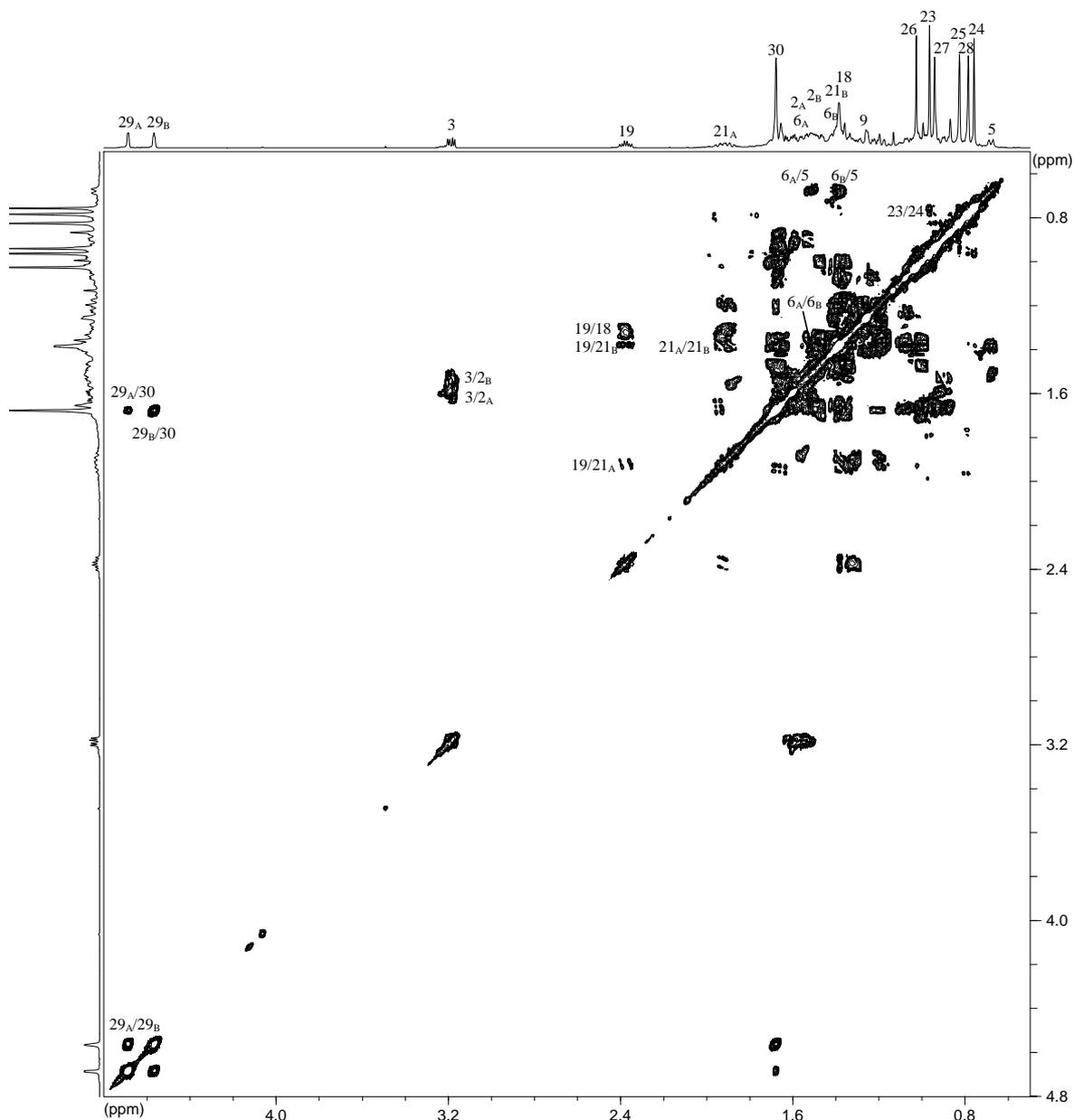


Abbildung 3.42.: COSY-Korrelationen der Verbindung [18]

**Tabelle 3.8.: NMR-Datentabelle der Verbindungen [18] und [19] aus *Aglaia tsangii***

Position	[18]				[19]			
	$\delta_C$	$\delta_C$ (Lit.)*	$\delta_H$ (J Hz)	HMBC	$\delta_C$	$\delta_C$ (Lit.)*	$\delta_H$ (J Hz)	HMBC
1	38.8	38.7			39.7	39.6		
2	27.5	27.5	A. 1.59 m B. 1.51 m		34.2	34.1		
3	79.1	79.0	3.19 dd (5.0, 11.4)		218.1	217.9		
4	38.9	38.9			47.4	47.3		
5	55.4	55.3			55.0	54.9		
6	18.4	18.4	A. 1.51 m B. 1.39 m		19.8	19.7		
7	34.4	34.3			33.7	33.6		
8	40.9	40.9			40.9	40.8		
9	50.6	50.5		10	49.9	49.8		
10	37.3	37.2			37.0	36.9		
11	21.0	21.0			21.6	21.6		
12	25.3	25.2			25.3	25.1		
13	38.2	38.1			37.0	37.4		
14	42.9	42.9			43.0	42.8		
15	27.5	27.5			27.5	27.4		
16	35.7	35.6			35.6	35.6		
17	43.1	43.0			43.0	43.0		
18	48.4	48.4	1.32 m		49.3	48.3		
19	48.1	48.0	2.38 ddd (5.7, 10.7, 16.4)		48.0	47.9		
20	151.0	151.0			150.9	150.8		
21	30.0	29.9	A. 1.91 m B. 1.38 m		29.9	29.8		
22	40.1	40.0			40.0	40.0		
23	28.1	28.0	0.97 s	3, 4, 5, 24	26.7	26.6	1.07 s	4
24	15.4	15.4	0.76 s	3, 4, 5, 23	21.1	21.0	1.02 s	4
25	16.2	16.1	0.83 s	1, 5, 9, 10	16.0	15.9	0.93 s	10
26	16.1	16.0	1.03 s	7, 8, 9, 10	15.9	15.8	1.07 s	8, 14
27	14.6	14.6	0.94 s	8, 13, 14, 15	14.5	14.5	0.97 s	8, 14
28	18.1	18.0	0.79 s	16, 17, 18, 22	18.1	18.0	0.80 s	17
29	109.4	109.3	A. 4.49 d (2.5) B. 4.57 d (2.5)	19, 20, 29	109.4	109.4	A. 4.69 d (1.9) B. 4.57 brs	
30	19.4	19.3	1.68 s	19, 20, 29	19.4	19.3	1.68 s	20

Messung in CDCl<sub>3</sub>. Die Zuordnung erfolgte über 2D-NMR-Daten

\* [Fuchino *et al.* 1995] (CDCl<sub>3</sub>)

Hinsichtlich der relativen (sowie der absoluten) Stereochemie von [18] kann aufgrund der nahezu identischen <sup>13</sup>C-NMR-Daten davon ausgegangen werden, dass sie mit den in Abbildung 3.39. gezeigten Konfigurationen für Lupeol übereinstimmt [vgl. Fuchino *et al.* 1995].

Für die Verbindung [19] kann im EIMS-Experiment eine Molekülmasse von 424 ermittelt werden, zwei Masseneinheiten weniger als für das vorhergehende Derivat [18]. Anhand der bei [18] aufgezeigten Kriterien ergibt sich die Summenformel zu  $C_{30}H_{48}O$ . Der  $[\alpha]_D^{20}$ -Wert liegt für dieses Derivat bei  $+14.4^\circ$  ( $c$  0.10,  $CHCl_3$ ).

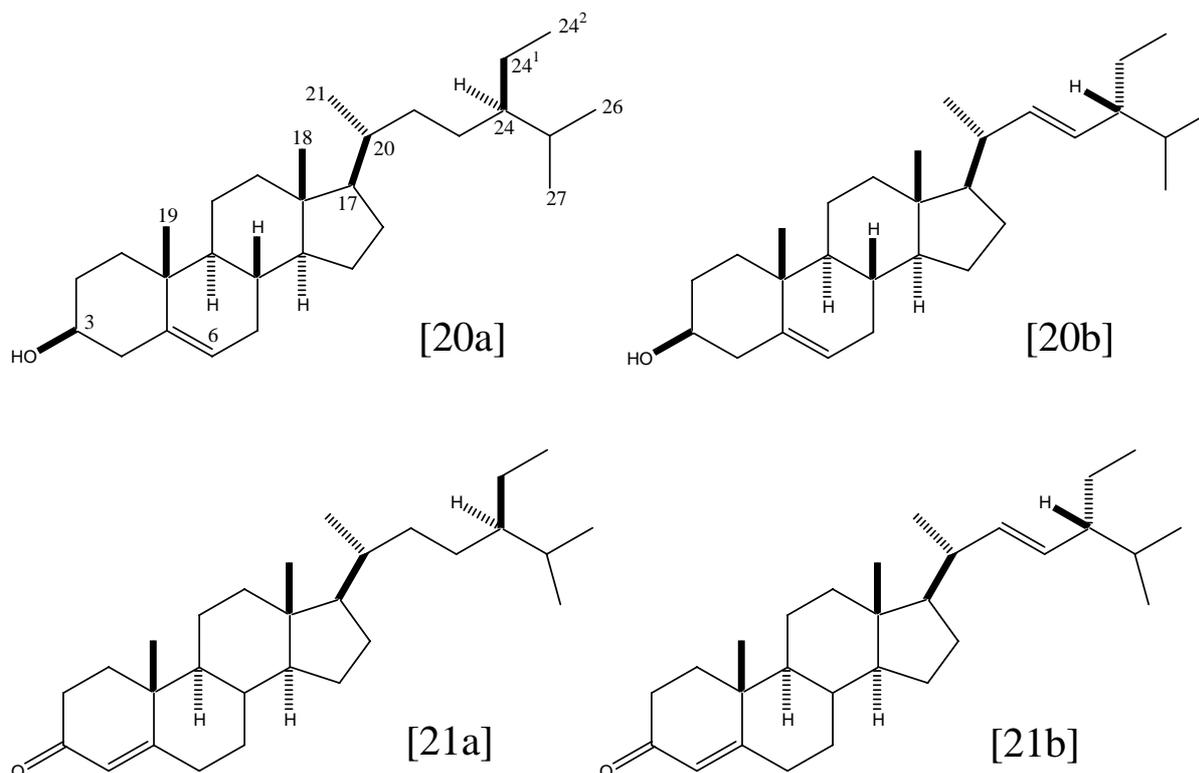
Die Analyse der analog zum Vorgehen bei [18] ermittelten  $^{13}C$ -NMR-Daten (siehe Tabelle 3.8.) ergibt Unterschiede hauptsächlich für Ring A, d.h. die Positionen 2, 3, 4, 23 und 24. Dabei ergibt sich der größte Unterschied für C-3 ( $\delta_C$  218.1 bei [19] im Vergleich zu  $\delta_C$  79.1 bei [18]). Da im  $^1H$ -NMR-Spektrum gleichzeitig kein Signal für H-3 erscheint, muss bei [19] die Hydroxylfunktion an C-3 zur Carbonylgruppe oxidiert sein.

Somit handelt es sich bei [19] um das Derivat Lup-20(29)-en-3-on (Lupeon) [Hisham *et al.* 1995]. Die  $^{13}C$ -NMR-Daten sowie die in der Literatur verfügbaren  $^1H$ -NMR-Daten für dieses in der Natur weit verbreitete Derivat zeigen eine gute Übereinstimmung (siehe Tabelle 3.8.) [Hisham *et al.* 1995]. Die 2D-NMR-Daten (HMBC- und COSY-Spektrum) bestätigen die Identität.

Auch hier kann man davon ausgehen, dass [19] hinsichtlich der relativen und der absoluten Stereochemie mit Lupeol identisch ist und die in Abbildung 3.39. gezeigten Konfigurationen aufweist.

### 3.1.8. Steroide aus den Zweigen von *Aglaia pleuroptiris*

Aus den Zweigen von *Aglaia pleuroptiris* konnten zwei Steroidgemische [20ab] und [21ab] isoliert werden (Abbildung 3.43.).



**Abbildung 3.43.: Steroide aus den Zweigen von *Aglaia pleuroptiris***

Das Substanzgemisch [20a] und [20b] liefert im EIMS zwei Molekülonen mit einer Differenz von zwei Masseneinheiten bei  $m/z$  414 und  $m/z$  412.

Im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Experiment lassen sich 47 getrennte Signale identifizieren (siehe Tabelle 3.9.). Das Molekulargewicht und auch das relativ übersichtliche Protonenspektrum legen nahe, dass es sich um zwei ähnliche Derivate handelt, die sich durch das Fehlen bzw. Vorhandensein einer Doppelbindung unterscheiden. Im APT-Spektrum (siehe Anhang 5.2.) lassen sich die Multiplizitäten der jeweiligen Kohlenstoffe erkennen.

Die Signale bei  $\delta_C$  140.8 und 121.7 (C-5 und C-6) indizieren eine Doppelbindung in beiden Molekülen. Ein entsprechendes Methintriplett erscheint bei  $\delta_H$  5.35 im Protonenspektrum. Ein Multiplett bei  $\delta_H$  3.52 (H-3) im  $^1H$ -NMR-Spektrum und  $^{13}C$ -NMR-Signale mit unterschiedlicher Intensität bei  $\delta_C$  71.8 und 71.4 (jeweils C-3) sprechen für eine Methingruppe mit einer Hydroxylgruppe.

Für eines der beiden Derivate tauchen im Protonenspektrum zwei Multipletts bei  $\delta_H$  5.03 und 5.15 für eine zusätzliche Doppelbindung im Molekül auf. Die entsprechenden Kohlenstoffsignale erscheinen bei  $\delta_C$  129.3 und 138.3 (C-22 und C-23) in geringerer Intensität als die beiden gemeinsamen Doppelbindungskohlenstoffe C-5 und C-6.

Die Literaturrecherche unter der Berücksichtigung der Molekulargewichte, der Substrukturen und der  $^{13}C$ -Daten führt zur Identifizierung der beiden Steroide als Stigmast-5-en-3-ol ( $\beta$ -Sitosterol) [**20a**] und Stigmasta-5,22-dien-3-ol [**20b**] [Gaspar *et al.* 1996] mit der  $\Delta^{22,23}$ -Doppelbindung in der Seitenkette. Die Daten (siehe Tabelle 3.9.) stimmen gut mit denen der Literatur überein. Dabei können für das Grundgerüst die durch Iida *et al.* [1987] für 6-Methyl-Cholestenol veröffentlichten Werte herangezogen werden. Hier wird der Einfluss der Methylgruppe in Position 6 auf die chemische Verschiebung der Kohlenstoffe gezeigt, so dass es möglich ist, die Werte des Cholest-5-en-3-ols mit den Werten für die Derivate [**20a**] und [**20b**] zu vergleichen. Die bei beiden Verbindungen leicht abweichenden Tabellenwerte für die C-Atome des Grundgerüsts sind austauschbar, d.h. nicht eindeutig [**20a**] und [**20b**] zuzuordnen.

Für das zweite Gemisch [**21ab**] aus *Aglaia pleuroptiris* konnten die Molekulargewichte  $m/z$  412 und  $m/z$  410 gefunden werden, die im Vergleich zu [**20ab**] jeweils um 2 amu geringer sind.

Hier erscheinen im  $^{13}\text{C}$ - bzw. APT-Spektrum 45 getrennt Kohlenstoffsignale. Wie bei dem vorherigen Gemisch [**20ab**] besitzen die beiden Derivate gemeinsame Kohlenstoffsignale (siehe Tabelle 3.9.), so dass auch hier davon ausgegangen werden kann, dass sich beide durch eine fehlende bzw. vorhandene Doppelbindung unterscheiden.

Ein Kohlenstoffsignal bei  $\delta_{\text{C}}$  199.8 (C-3) indiziert eine Carbonylfunktion. Auch hier kann durch Resonanzen bei  $\delta_{\text{C}}$  123.8 und 171.8 auf die Präsenz einer Doppelbindung in den Molekülen geschlossen werden. Ein Methinsingulett bei  $\delta_{\text{H}}$  5.72 für das Doppelbindungsproton des Kohlenstoffdupletts spricht für ein isoliertes Proton ohne die Nachbarschaft eines weiteren Methinprotons bzw. einer Methylengruppe wie im Falle der Verbindungen [**20ab**].

Eine  $\Delta^{22,23}$ -Doppelbindung wird hier für Verbindung [**21b**], wie im Fall der Verbindung [**20b**] durch entsprechende chemische Verschiebungen von  $\delta_{\text{C}}$  129.5 und 138.1 für die Kohlenstoffe C-22 und C-23, bzw. von  $\delta_{\text{H}}$  5.03 und 5.15 für die jeweiligen Methinprotonen angezeigt.

Die Literaturrecherche liefert hier ebenfalls unter Berücksichtigung der Molekülmassen und der  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten (siehe Tabelle 3.9.), sowie der aufgrund der chemischen Verschiebungen zu postulierenden strukturellen Merkmale die Identität der beiden Verbindungen [**21a**] und [**21b**]. Es handelt sich um die beiden Steroide Stigmast-4-en-3-on und Stigmasta-4,22-dien-3-on.

Die Literatur [Iida *et al.* 1987] ist auch hier im Einklang mit den gefundenen Werten für das Grundgerüst (siehe Tabelle 3.9.).

Für die gezeigten Steroide ist die Stereochemie bekannt und entspricht der in der Abbildung 3.43 dargestellten Konfiguration.

Tabelle 3.9.: NMR-Datentabelle der Gemische [20a] und [20b] bzw. [21a] und [21b] aus

*Aglaia pleuroptiris*

	[20a]	[20b]	[21a]	[21b]
Position	$\delta_C$	$\delta_C$	$\delta_C$	$\delta_C$
1	37.3	37.3	35.7*	35.9*
2	31.7	31.7	33.9	33.9
3	71.8*	71.4*	199.8	199.8
4	42.3	42.3	123.8	123.8
5	140.8	140.8	171.8	171.8
6	121.7	121.7	33.0	33.0
7	32.1	32.1	32.1	32.1
8	31.9	31.9	35.6	35.6
9	50.2*	50.1*	53.8	53.8
10	36.5	36.5	38.8*	38.6*
11	20.2	20.2	21.0	21.0
12	39.8*	39.1*	39.6*	39.5*
13	42.3	42.3	42.4	42.4
14	56.8*	56.9*	55.9	55.9
15	24.3*	24.4*	24.2*	24.3*
16	28.3*	28.8*	28.2*	28.9*
17	56.0	56.0	56.0*	56.1*
18	11.9*	12.1*	12.0*	12.3*
19	19.8*	19.4*	17.4	17.4
20	36.2	40.5	36.1	40.5
21	18.7	21.1	18.7	21.0
22	34.0	138.3	34.0	138.1
23	26.1	129.3	26.1	129.5
24	45.8	51.3	45.8	51.2
25	29.2	31.9	29.1	31.9
26	19.8	21.2	19.8	21.2
27	19.1	19.0	19.0	19.0
24 <sup>1</sup>	23.1	25.4	23.1	25.4
24 <sup>2</sup>	12.0	12.3	12.0	12.2

Messung in CDCl<sub>3</sub>. \*Werte zwischen [20a] und [20b] bzw. [21a] und [21b] austauschbar.

Kimura *et al.* [1995] vergleichen die chemischen Verschiebungen der Seitenketten-Kohlenstoffe C-20 bis C-27 von Steroiden mit der Seitenkette der Verbindungen [20a] bzw. [21a]. Der Unterschied zwischen den Werten für das 24(R) bzw. 24(S)-Isomere ist mit  $\delta_C$  36.1 bzw. 36.2 für C-20,  $\delta_C$  18.7 bzw. 18.8 für C-21,  $\delta_C$  33.9 für C-22,  $\delta_C$  26.1 bzw. 26.4 für C-23,  $\delta_C$  45.8 bzw. 46.1 für C-24,  $\delta_C$  23.1 bzw. 23.0 für C-24<sup>1</sup>,  $\delta_C$  12.0 bzw. 12.3 für C-24<sup>2</sup>,  $\delta_C$  29.1 bzw. 28.9 für C-25,  $\delta_C$  19.8 bzw. 19.6 für C-26 und  $\delta_C$  19.0 für C-27 für keine der Positionen sehr ausgeprägt. Dennoch sprechen die eigenen Werte für die Derivate [20a] und [20b] (siehe Tabelle 3.9.) ausnahmslos für die 24(R)-Konfiguration [vgl. auch Arai *et al.* 1998].

Monaco & Previtera [1991] beschreiben Daten für die Seitenkette mit der  $\Delta^{22,23}$ -Doppelbindung und einer 24(*S*)-Konfiguration. Auch diese Daten mit Werten von  $\delta_C$  40.5, 21.1, 138.4, 129.1, 51.3, 31.9, 21.3, 19.0, 25.4 und 12.2 (C-20, C-21, C-22, C-23, C-24, C-25, C-26, C-27, C-24<sup>1</sup> und C-24<sup>2</sup>) stimmen gut mit den Werten für **[20b]** bzw. **[21b]** überein. Es ist daher nicht anzunehmen, dass bei diesen Derivaten eine andere Stereochemie in Position 24 als bei **[20a]** und **[21a]** vorliegt. Da sich die Priorität durch Einführung einer Doppelbindung in der Seitenkette ändert, entspricht die 24(*R*)-Konfiguration der Derivate **[20a]** und **[21a]** der 24(*S*)-Konfiguration der Steroide **[20b]** und **[21b]**.

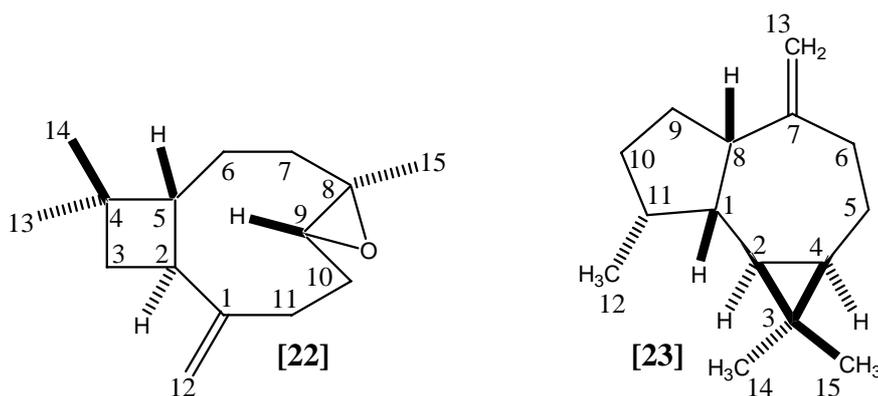
In Übereinstimmung mit den postulierten Strukturen **[20a]** und **[21a]** sind auch die zu identifizierenden Protonensignale H-3, H-6 und die Methylgruppen H<sub>3</sub>-18, H<sub>3</sub>-19 und H<sub>3</sub>-21 ( $\delta_H$  3.52 m, 3.52 m, 0.69 s, 1.01 s und 0.92 d (6.6)) [vgl. Della Greca *et al.* 1990]. Die eigenen Werte liegen bei  $\delta_H$  3.52, 5.35, 0.70, 1.01 und 0.92. Die anderen Methylsignale sind wegen Überlappung nicht eindeutig zuzuordnen.

Somit ist davon auszugehen, dass die relative (und die absolute) Stereochemie der vier Steroide **[20a]**-**[21b]** den Angaben in Abbildung 3.43. entspricht.

Von den genannten Verbindungen wurde das  $\beta$ -Sitosterol **[20a]** von Rivero-Cruz *et al.* [2004] ebenfalls für *A. ignea* nachgewiesen. Zum Zeitpunkt der Erstellung dieser Arbeit lag die zitierte Literatur noch nicht vor.

### 3.1.9. Sesquiterpene aus *Aglaia*-Arten

Von den in Abbildung 3.44. dargestellten Verbindungen konnte [22] aus der Rinde von *Aglaia ignea* sowie aus Zweigen von *A. cucculata* und *A. roxburghiana* und Verbindung [23] aus den Wurzeln von *Aglaia duppereana* isoliert werden.



**Abbildung 3.44. Sesquiterpene aus *Aglaia*-Arten (nur die relative Stereochemie wurde ermittelt)**

Verbindung [22] ist eine farblose Substanz, die im GCEIMS ein Molekülion bei  $m/z$  220 liefert. für die Summenformel  $C_{15}H_{24}O$  ergibt. Für diese Verbindung konnte kein  $[\alpha]_D^{20}$  – Wert bestimmt werden, da die Substanz in Chloroform instabil ist und sich zersetzt hat. Bei der vorherigen Messung in Dichlormethan blieb die Verbindung stabil.

Die Informationen aus den  $^1H$ -,  $^{13}C$ - und DEPT-NMR-Experimenten indizieren das Vorliegen von drei Methylgruppen, sechs Methylenfunktionen (darunter eine Exomethylengruppe), drei Methingruppen sowie drei quartären Kohlenstoffen (siehe Tabelle 3.10). Aus diesen Angaben ergibt sich bereits eine partielle Summenformel von  $C_{15}H_{24}$ , so dass bis zu gemessenem Molekülion formal lediglich 16 amu fehlen. Die endgültige Summenformel von  $C_{15}H_{24}O$  für [22], die vier Doppelbindungsäquivalente (1 Exomethylen, 3 Ringe, davon ein Epoxid) bedingt, wird auch die Präsenz von zwei C-Atomen bestätigt, die aufgrund ihrer chemischen Verschiebung  $\delta_C$  60.2 (C-8) und 64.2 (C-9) sauerstoffsubstituiert sein müssen.

Die beiden Methylsingulets bei  $\delta_H$  0.99 und 0.97 ( $H_3$ -13 und  $H_3$ -14) zeigen im HMBC-Spektrum neben den Direktkorrelationen Korrelationen zueinander und zu drei gemeinsamen



Bei  $\delta_H$  4.96 und 4.84 tauchen die beiden Dupletts für die Exomethylenprotonen auf (H-12<sub>A</sub> und H-12<sub>B</sub>). Die entsprechenden Kohlenstoffe finden sich bei Resonanzen von  $\delta_C$  113.2 (C-12) und 153.0 (C-1) (siehe Abbildung 3.46.). Das HMBC zeigt ausgehend von den Exomethylenprotonen noch zwei weitere Korrelationen zu einem Duplett bei  $\delta_C$  49.5 (C-2) und zu einem Tripletts bei  $\delta_C$  30.6 (C-11).

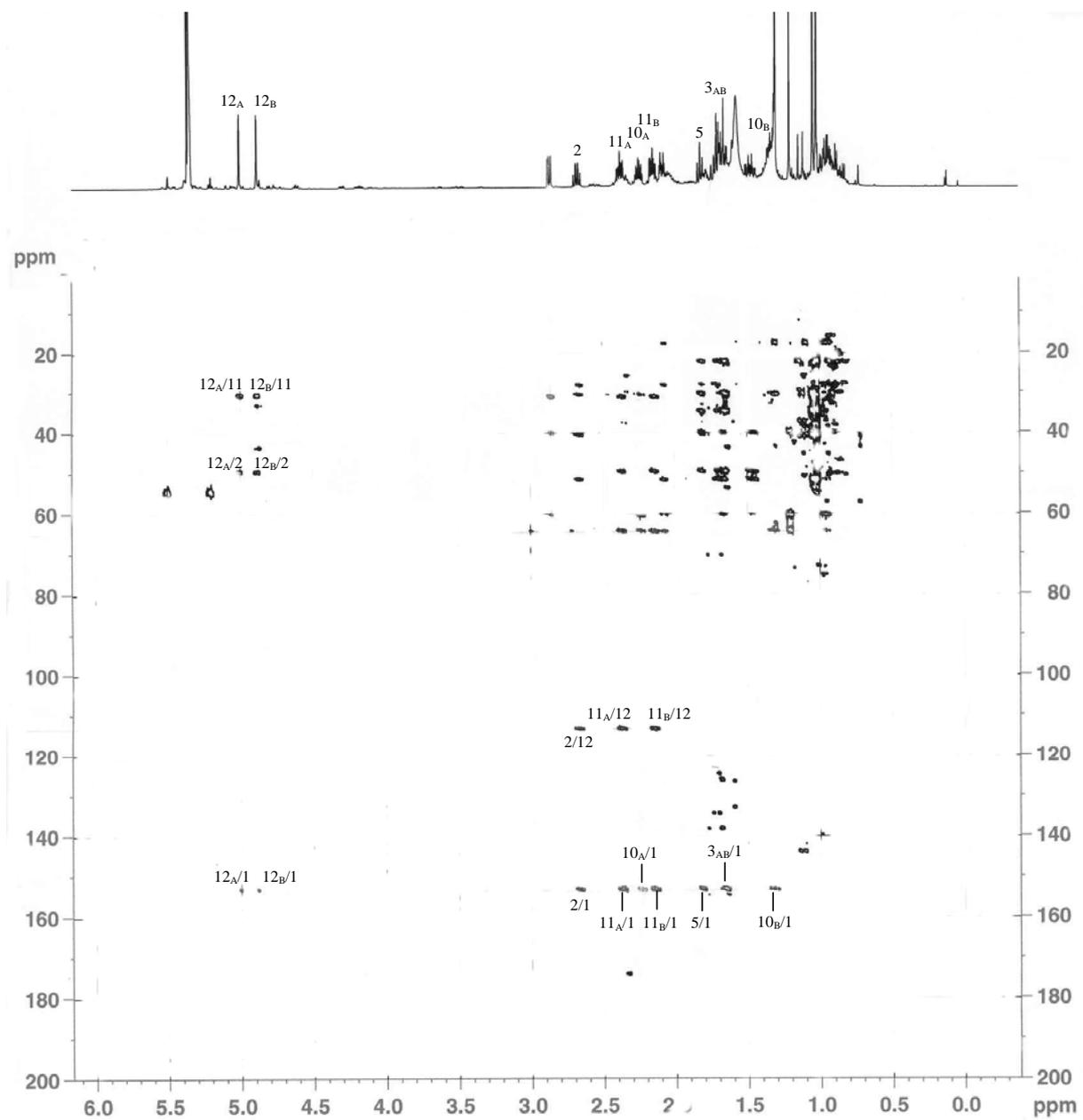


Abbildung 3.46.: HMBC-Korrelationen der Verbindung [22]

Das COSY-Spektrum (siehe Abbildung 3.47.) zeigt zwei Spinsysteme. Ausgehend vom Methin H-9 findet man Korrelationen zu den Methylenprotonen H-10<sub>A</sub> und H-10<sub>B</sub>. Diese zeigen neben der geminalen Kopplung Korrelationen zu den Methylenprotonen H-11<sub>A</sub> und H-11<sub>B</sub>.



Abbildung 3.47.: COSY-Korrelationen der Verbindung [22]

Ein zweites Spinsystem zeigt ausgehend von dem Methinproton H-2 Korrelationen, sowohl mit den beiden Methylenprotonen H-3<sub>A</sub> und H-3<sub>B</sub>, als auch zu dem Methinproton in Position 5. H-5 koppelt ferner mit den beiden Methylenprotonen H-6<sub>A</sub> und H-6<sub>B</sub>, die ihrerseits neben der geminalen Kopplung eine Korrelation mit den Methylenprotonen H-7<sub>A</sub> und H-7<sub>B</sub> aufweisen (siehe Abbildung 3.47.).

Die beiden Spinsysteme sind allerdings nicht isoliert sondern stehen über „long-range“-Korrelationen zu den Exomethylenprotonen (H-12<sub>A</sub> zu H-2 sowie H<sub>2</sub>-12 zu H<sub>2</sub>-11) in Kontakt (siehe Abbildung 3.47.).

**Tabelle 3.10.: NMR-Datentabelle der Verbindung [22] aus *Aglaia cucculata*, *Aglaia ignea* und *Aglaia roxburghiana***

Position	$\delta_C^a$	$\delta_C^b$	$\delta_C$ (Lit.) <sup>a,*</sup>	$\delta_H$ (J Hz) <sup>a</sup>	$\delta_H$ (J Hz) <sup>b</sup>	HMBC <sup>b</sup>
1	151.8	153.0	151.8			
2	48.7	49.5	48.7	2.66 br dd (9.5, 9.5, 18.9)	2.62 br dd (9.6, 9.7, 18.6)	1, 3, 5, 6, 11, 12
3	39.7	40.6	39.8	A. 1.70 m B. 1.63 m	A. 1.66 m B. 1.60 m	2, 4, 5, 13, 14 2, 4, 5, 13, 14
4	34.0	34.7	34.1			
5	50.7	51.6	50.8	1.76 t (10.1)	1.77 t (10.0)	2, 4, 6, 7, 13, 14
6	27.2	28.0	27.2	A. 1.65 m B. 1.44 m	A. 1.62 m B. 1.42 m	2, 4, 5, 7, 8 2, 5, 7, 8
7	39.1	40.0	39.2	A. 2.10 m B. 0.97 m	A. 2.03 m B. 0.92 m	5, 6, 8, 9, 15 6, 8, 9, 15
8	59.8	60.2	59.8			
9	63.8	64.2	63.7	2.88 dd (4.4, 10.7)	2.81 dd (4.2, 10.6)	7, 8, 9, 10
10	30.2	31.1	30.3	A. 2.25 m B. 1.33 m	A. 2.20 m B. 1.28 m	1, 8, 9, 11 1, 9, 11
11	29.8	30.6	29.8	A. 2.34 m B. 2.11 m	A. 2.33 m B. 2.10 m	1, 2, 9, 10, 12 1, 2, 9, 10, 12
12	112.8	113.2	112.8	A. 4.98 d (1.3) B. 4.86 d (1.3)	A. 4.96 d (1.3) B. 4.84 d (1.3)	
13	21.6	22.2	21.7	1.01 s	0.99 s	3, 4, 5, 13, 14
14	29.9	30.3	29.9	0.99 s	0.97 s	3, 4, 5, 13, 14
15	17.0	17.6	17.0	1.20 s	1.15 s	7, 8, 9, 15

Messung in <sup>a</sup>CDCl<sub>3</sub> bzw. <sup>b</sup>CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Die Zuordnung erfolgt über 2D-NMR-Daten (COSY, HMBC); Fettdruck: Direktkorrelation; \* Heymann *et al.* [1994]

Es handelt es sich demzufolge um das aus verschiedenen Pflanzen bekannte  $\beta$ -Caryophyllene-8,9-Oxide [Heymann *et al.* 1994, Hinkley *et al.* 1994, Thebtaranonth *et al.* 1995]. Auch für *A. leucophylla* wurde diese Verbindung bereits beschrieben [Benosman *et al.* 1994]. Die übereinstimmenden NMR-Daten in deuteriertem Chloroform sowie die HMBC-Korrelationen bestätigen die postulierte Struktur [Heymann *et al.* 1994] (siehe Tabelle 3.10.). Der Diskussion der Strukturaufklärung von Verbindung [22] liegen jedoch z.T. die Ergebnisse der

Messungen in deuteriertem Dichlormethan zu Grunde, da die Substanz im „sauren“ Chloroform nicht stabil ist und sich relativ schnell zersetzt (Daten siehe Tabelle 3.10.).

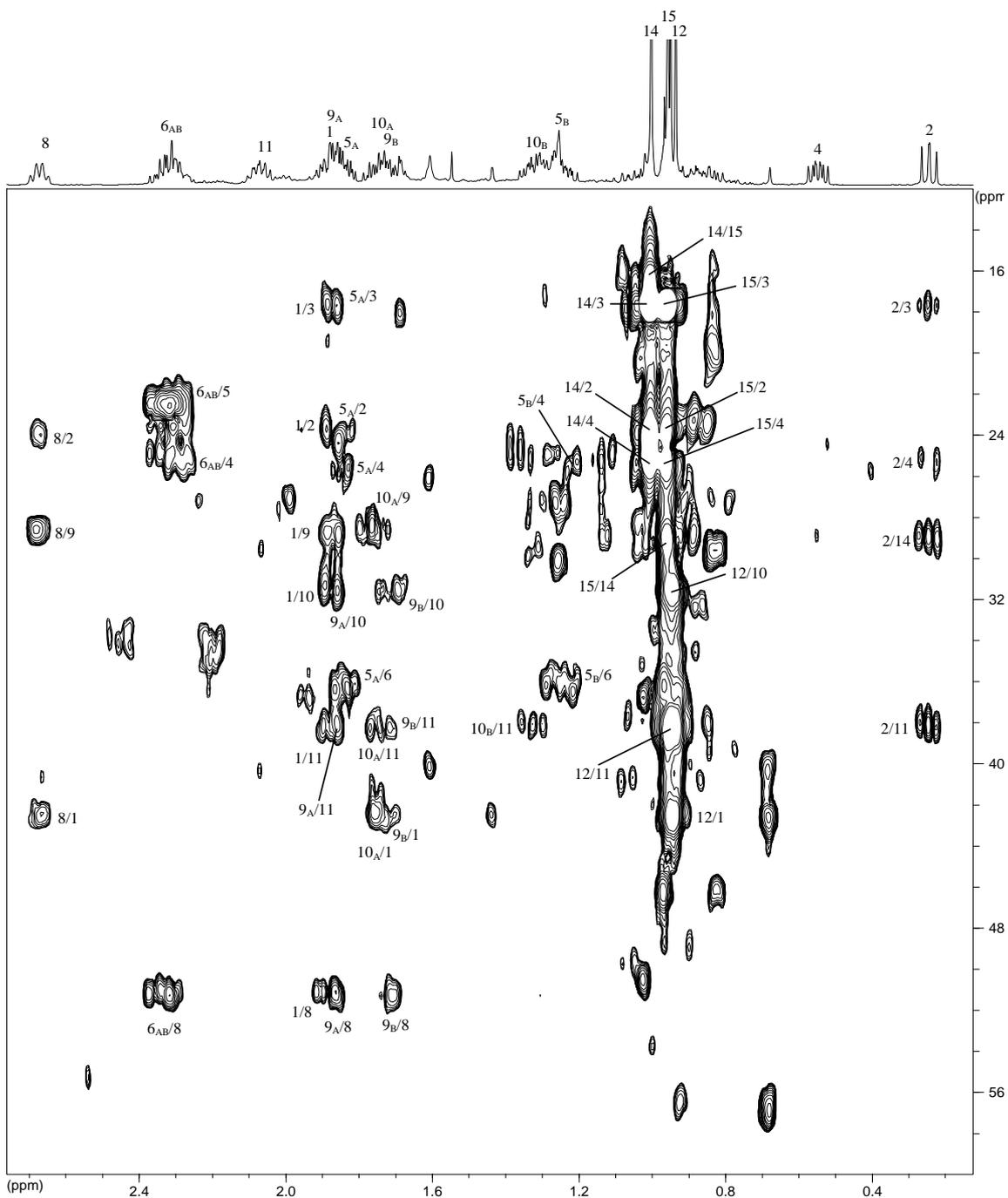
Die Übereinstimmung der für Verbindung [22] gefundenen NMR-Daten mit den bei Heymann *et al.* [1994] publizierten Daten (siehe Tabelle 3.10.) rechtfertigt die Annahme, dass beide Verbindungen dieselbe relative Stereochemie aufweisen (siehe Abbildung 3.44.).

Verbindung [23] konnte als eine bei Raumtemperatur flüssige, relativ flüchtige Substanz isoliert werden. Auch für dieses Derivat konnte kein  $[\alpha]_D^{20}$ -Wert bestimmt werden, da die Substanz wie Verbindung [22] ebenfalls in Chloroform instabil ist und sich zersetzt hat.

Im ESIMS lässt sich das Molekülion entsprechend der Summenformel  $C_{15}H_{24}$  im positiven Modus mit  $m/z$  205.2029 (berechnet für  $C_{15}H_{25}$ : 205.1956) finden. Allerdings war das Molekül zum Zeitpunkt der Messung bereits zu einem großen Teil zersetzt (siehe Anhang 5.2.). Die Summenformel bedingt vier Doppelbindungsäquivalente (für eine Exomethylengruppe und drei Ringe).

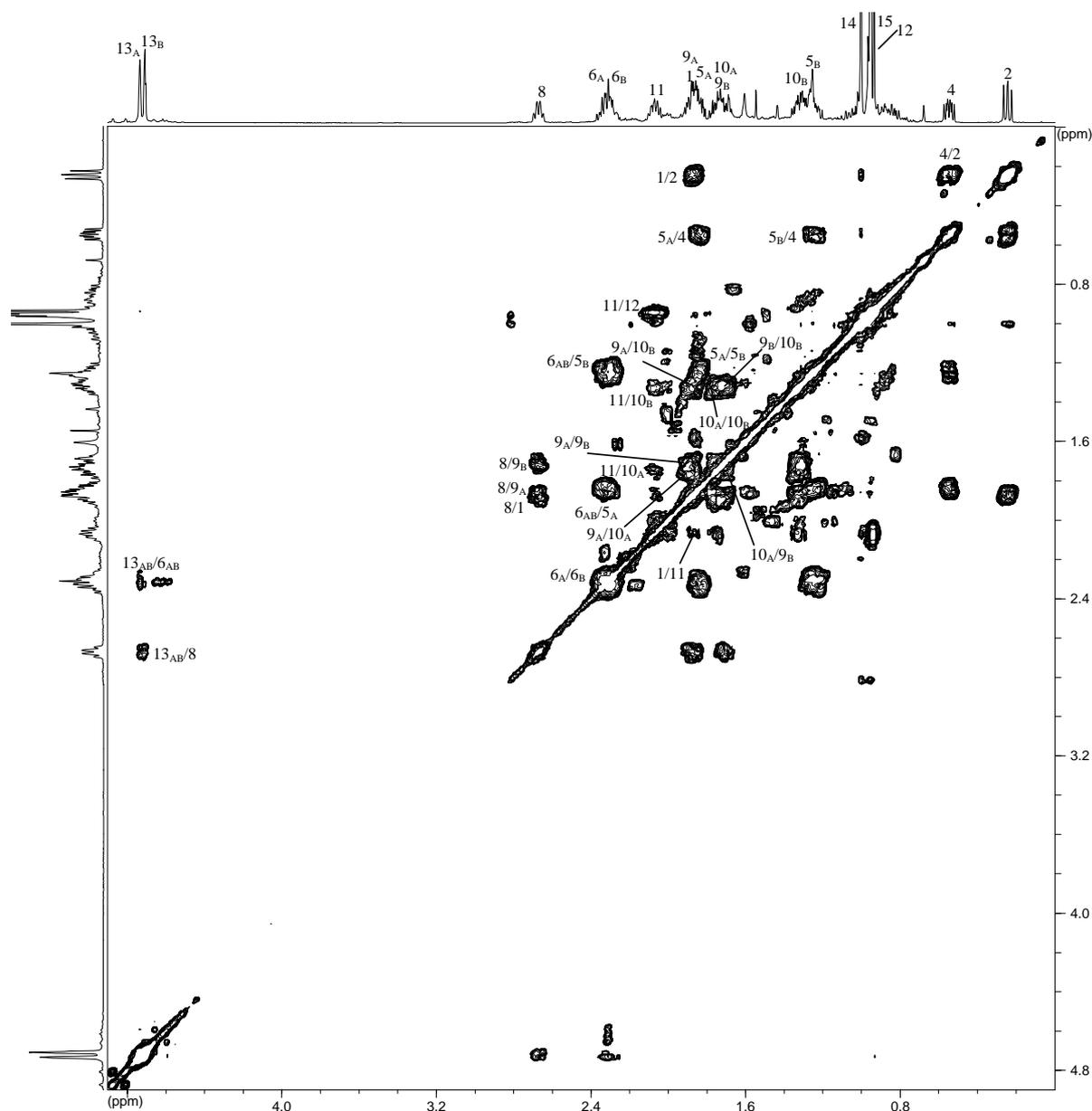
Bei dieser Verbindung treten zwei Methylsingulets ( $H_3$ -14 und  $H_3$ -15) bei  $\delta_H$  1.00 und 0.96 auf, die im HMBC-Spektrum (siehe Abbildung 3.48.) Korrelationen zueinander und zu jeweils drei weiteren Kohlenstoffen bei  $\delta_C$  24.1, 25.3 und 17.7 (C-2, C-3 und C-4) zeigen. Es handelt sich demzufolge um geminale Methylgruppen. Der Kohlenstoff in Position 3 ist ein Singulett. Die beiden Methinprotonen H-2 und H-4 erscheinen weit im hohen Feld bei Resonanzen von  $\delta_H$  0.25 und 0.55. Im COSY-Spektrum korrelieren beide miteinander ( $J_{H,H}=9.5$ ) (siehe Abbildung 3.49.). Die chemische Verschiebung weit im hohen Feld sowie die HMBC-Korrelationen der geminalen Methylgruppen sprechen für eine Cyclopropanstruktur.

Eine weitere Methylgruppe ( $H_3$ -15) erscheint bei  $\delta_H$  0.94 als Duplett mit einer Kopplungskonstante von  $J_{H,H}=6.9$  Hz. Diese korreliert mit einem Multipllett (H-11) bei  $\delta_H$  2.08 (siehe Abbildung 3.49.). Im HMBC-Spektrum tauchen Korrelationen zu drei Kohlenstoffen auf (siehe Abbildung 3.48), dem Duplett in Position 11 ( $\delta_C$  38.1), einem weiteren Duplett in Position 1 ( $\delta_C$  42.5) sowie einem Tripllett in Position 10 ( $\delta_C$  31.7).



**Abbildung 3.48.: HMBC-Korrelationen der Verbindung [23] im tiefen Feld**

Anhand von Resonanzen bei  $\delta_{\text{H}}$  4.73 und 4.71 für H-13<sub>A</sub> und H-13<sub>B</sub> im <sup>1</sup>H-NMR lässt sich eine Exomethylengruppe identifizieren. Die chemischen Verschiebungen der dazugehörigen Kohlenstoffe finden sich bei  $\delta_{\text{C}}$  109.9 und 153.3 für C-13 und C-7 (siehe entsprechende Korrelationen im HMBC; Abbildung 3.50.). Im HMBC-Spektrum finden sich darüber hinaus Korrelationen zu einem Duplett bei  $\delta_{\text{C}}$  51.3 (C-8) und zu einem Triplet bei  $\delta_{\text{C}}$  36.1 (C-6).



**Abbildung 3.49.: COSY-Korrelationen der Verbindung [23] im tiefen Feld**

Im COSY-Spektrum (siehe Abbildung 3.49.) ist ein einziges Spinsystem zu identifizieren, welches sich zudem über „long-range“-Korrelationen zur Exomethylengruppe von H-8 bzw. H-6 zu einem Ring schließen lässt. Ausgehend von H-8 findet man die Korrelation mit den Methylenprotonen H-9<sub>A</sub> und H-9<sub>B</sub>, die auch die entsprechende geminale Kopplung aufweisen. Diese wiederum korrelieren mit den Methylenprotonen H-10<sub>A</sub> und H-10<sub>B</sub>. Das Methinmultiplett H-11 fügt sich mit Korrelationen zu H-10<sub>A</sub> und H-10<sub>B</sub>, zu der benachbarten Methylgruppe H<sub>3</sub>-15 und zu dem Methinproton H-1 in das Spinsystem ein (diese Korrelation ist nur in einer tieferen Schnittebene des COSY-Spektrums zu sehen, nicht aber in der

## Ergebnisse

Abbildung 3.49.). H-1 korreliert wiederum mit H-8. Des Weiteren koppelt H-1 mit dem Methinproton in Position 2 und verknüpft so die Struktur mit dem bereits postulierten Cyclopropanring. Über die Korrelation mit H-4, welches seinerseits mit den Methylenprotonen H-5<sub>A</sub> und H-5<sub>B</sub> benachbart ist, lässt sich das Spinsystem weiter verfolgen. Die Methylenprotonen in Position 5 korrelieren schließlich mit der Methylengruppe in Position 6 und komplettieren so das Spinsystem.

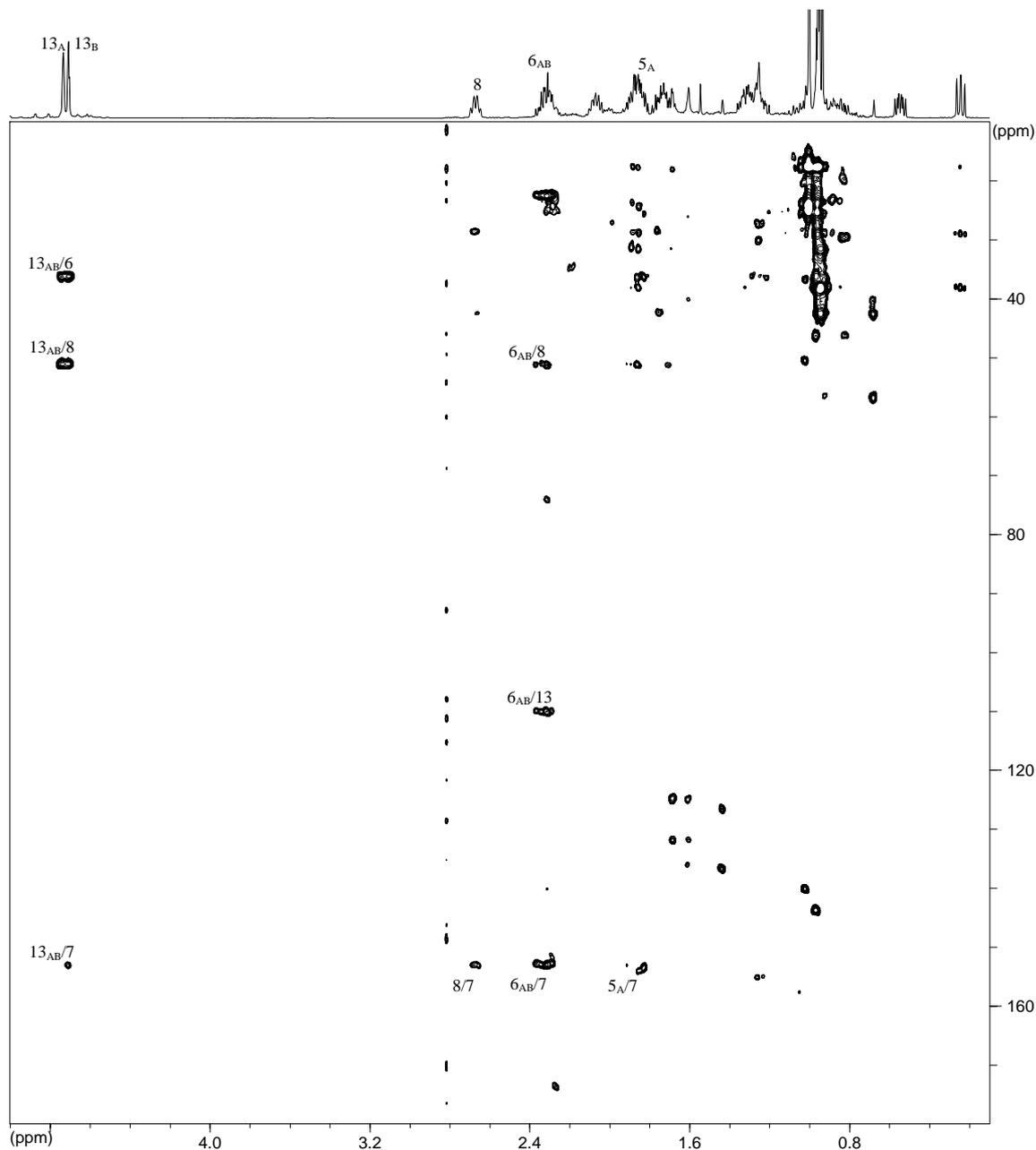


Abbildung 3.50.: HMBC-Korrelationen der Verbindung [23]

**Tabelle 3.11.: NMR-Datentabelle der Verbindung [23] aus *Aglaia duppereana***

Position	$\delta_C^a$	$\delta_C$ (Lit.) <sup>a,*</sup>	$\delta_H$ (J Hz) <sup>a</sup>	$\delta_H$ (Lit.) <sup>a,*</sup>	HMBC
1	42.4	42.2	1.87 m	1.86	2, 3, 8, 9, 10, 11
2	24.1	23.6	0.25 dd (9.5, 10.7)	0.24	3, 4, 11, 14
3	17.7	17.2			
4	25.3	24.9	0.55 ddd (6.3, 9.5, 11.0)	0.55	
5	22.7	22.2	A. 1.84 m B. 1.24 m	1.84 ( $\alpha$ ) 1.24 ( $\beta$ )	2, 3, 4, 6 4, 6
6	36.1	35.8	A. 2.35 m B. 2.30 m	2.34 ( $\alpha$ ) 2.28 ( $\beta$ )	4, 5, 7, 8, 12 4, 5, 7, 8, 12
7	153.3	152.3			
8	51.3	50.8	2.67 br dd (8.2, 16.1)	2.65	1, 2, 7, 9
9	28.6	28.3	A. 1.89 m B. 1.73 m	1.88 1.73	8, 10, 11 1, 8, 10, 11
10	31.7	31.3	A. 1.73 m B. 1.33 m	1.73 ( $\beta$ ) 1.32 ( $\alpha$ )	1, 9, 11 11
11	38.1	37.9	2.08 m	2.07	
12	16.4	16.4	0.94 d (6.9)	0.94	1, 10, 11
13	109.9	109.8	A. 4.73 br s B. 4.71 br s	4.74 4.71	6, 7, 8 6, 7, 8
14	29.0	28.7	1.00 s	1.01	2, 3, 4, 15
15	16.1	15.9	0.96 s	0.96	2, 3, 4, 14

Messung in  $^a\text{CD}_2\text{Cl}_2$ . Die Zuordnung erfolgte über 2D-NMR-Daten (COSY, HMBC); \* Faure *et al.* [1991]

Diesen Befunden zufolge handelt es sich bei der Verbindung [23] um das Alloaromadendrene [Faure *et al.* 1991]. Die eigenen NMR-Daten sowie die beobachteten HMBC- und COSY-Korrelationen sind im Einklang mit den Daten zur postulierten Struktur (siehe Tabelle 3.11.).

### 3.1.10. Rocaglamide aus der Rinde von *Aglaia ignea*

Aus der mit Ethylacetat-Phase extrahierten Rinde von *A. ignea* konnten vier Rocaglamid-Derivate isoliert werden [24-27] (siehe Tabelle. 3.12., Abbildung 3.51.).

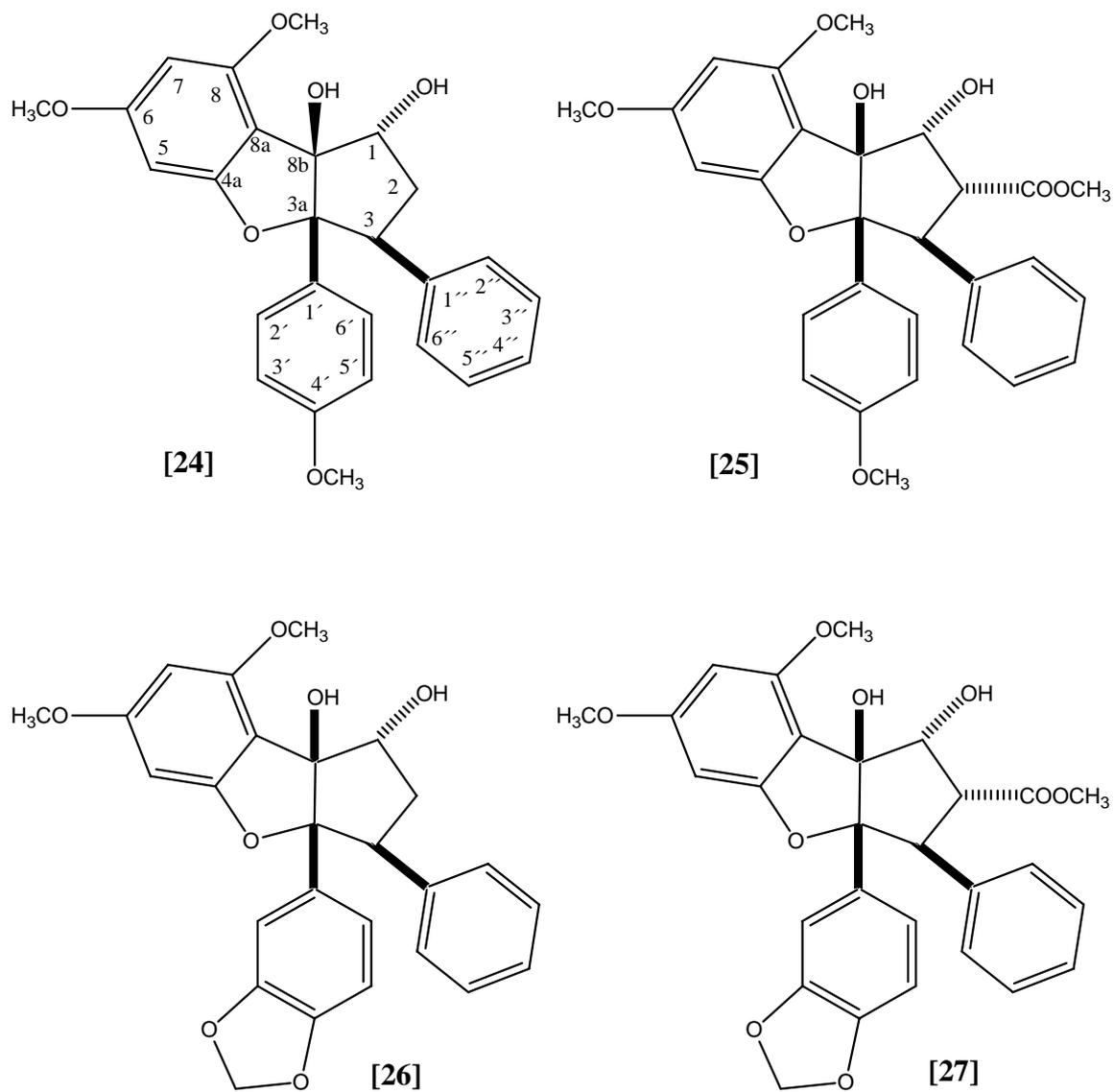


Abbildung 3.51.: Rocaglamid-Derivate aus der Rinde von *A. ignea*

Alle Derivate lassen sich mit Hilfe typischer UV-Spektren, durch das Molekulargewicht und durch den Vergleich mit Literaturdaten (siehe Tabelle 3.12.) bekannten Verbindungen zuordnen.

**Tabelle 3.12.: NMR-Datentabelle der Verbindung [24], [25], [26] und [27] aus *Aglaia ignea***

	[24]		[25]		[26]		[27]	
Position	$\delta_H$ (J Hz) <sup>a</sup>	$\delta_H$ (Lit.) <sup>b,*</sup>	$\delta_H$ (J Hz) <sup>a</sup>	$\delta_H$ (Lit.) <sup>b,*</sup>	$\delta_H$ (J Hz) <sup>a</sup>	$\delta_H$ (Lit.) <sup>b,**</sup>	$\delta_H$ (J Hz) <sup>a</sup>	$\delta_H$ (Lit.) <sup>b,**</sup>
1	4.63 br d (6.3)	4.82 d (6.0)	4.75 m <sup>+</sup>	5.02 dd (1.6, 6.8)	4.58 br d (6.3)	4.79 br d (6.1)	4.80 m <sup>+</sup>	5.02 d (6.6)
2	$\alpha$ . 2.71 ddd (6.3, 13.9, 13.9) $\beta$ . 1.99 ddd (1.3, 6.3, 13.9)	$\alpha$ . 2.75 ddd (6.0, 13.7, 14.0) $\beta$ . 2.21 ddd (1.5, 6.5, 13.7)	$\beta$ . 3.90 dd (6.3, 13.9)	3.91 dd (6.8, 14.4)	$\alpha$ . 2.68 ddd (6.3, 12.0, 14.2) $\beta$ . 1.98 ddd (1.3, 6.3, 12.0)	a. 2.74 ddd (6.1, 12.2, 14.0) b. 2.21 ddd (1.5, 6.6, 12.2)	3.90 dd (6.3, 14.5)	$\beta$ . 3.92 dd (6.6, 14.2)
3	3.85 dd (6.3, 13.9)	4.02 dd (6.5, 14.0)	4.17 d (13.9)	4.32 d (14.4)	3.84 dd (6.6, 14.2)	4.01 dd (6.6, 14.0)	4.19 d (14.5)	4.33 d (14.2)
5	6.21 d (1.9)	6.30 d (2.0)	6.21 d (1.9)	6.29 d (2.4)	6.18 d (1.9)	6.28 d (2.0)	6.21 d (1.9)	6.30 d (2.0)
7	6.12 d (1.9)	6.16 d (2.0)	6.09 d (1.9)	6.13 d (2.4)	6.09d (1.9)	6.15 d (2.0)	6.10 d (1.9)	6.14 d (2.0)
2'	7.04 d (8.8)	7.12 d (8.8)	7.03 d (8.8)	7.11 d (8.8)	6.56 d (1.9)	6.71 d (1.8)	6.58 d (1.9)	6.72 d (1.8)
3'	6.55 d (8.8)	6.68 d (8.8)	6.55 d (8.8)	6.68 d (8.8)				
5'	6.55 d (8.8)	6.68 d (8.8)	6.55 d (8.8)	6.68 d (8.8)	6.43 d (8.2)	6.59 d (1.8)	6.46 d (8.2)	6.61 d (8.8)
6'	7.04 d (8.8)	7.12 d (8.8)	7.03 d (8.8)	7.11 d (8.8)	6.62 dd (1.9, 8.2)	6.69 dd (1.8, 8.2)	6.65 dd (1.9, 8.2)	6.70 dd (1.8, 8.8)
2'', 6''	6.92 m	7.00 m	6.82 m	6.88 m	6.92 m	7.03 m	6.86 d (6.9)	6.94 m
3'', 4'', 5''	6.99 m	7.11 m	6.94 m	7.07 m	6.97 m	7.12 m	6.97 m	7.11 m
OCH <sub>3</sub> -6	3.80 s	3.92 s	3.75 s	3.88 s	3.76 s	3.90 s	3.76 s	3.89 s
OCH <sub>3</sub> -8	3.75 s	3.85 s	3.76 s	3.84 s	3.72 s	3.84 s	3.75 s	3.85 s
OCH <sub>3</sub> -4'	3.59 s	3.72 s	3.58 s	3.71 s				
COOCH <sub>3</sub>			3.55 s	3.65 s			3.56 s	3.67 s
OCH <sub>2</sub> O					5.76 br s	5.85 s	5.70 d (1.3)	5.86 s (2H)
							5.71 d (1.3)	

Messungen in <sup>a</sup>CD<sub>3</sub>OD bzw. <sup>b</sup>CDCl<sub>3</sub>; <sup>+</sup>Werte beruhen auf COSY-Korrelationen

\* Ishibashi *et al.* [1993]; \*\* Cui *et al.* [1997]

Bei der ersten Verbindung [24] mit einer Molekülionenmasse von  $m/z$  434 im EIMS handelt es sich um das bereits bekannte Rocaglaol [Ishibashi *et al.* 1993].

Im <sup>1</sup>H-Spektrum erscheinen die Singulets der beiden Methoxygruppen in Position 6 bzw. 8 des Ringes A dicht beieinander (bei  $\delta_H$  3.80 und 3.75 ppm), während das Singulett der Methoxygruppe am C-4' des Rings B bei  $\delta_H$  3.59 ppm in Erscheinung tritt. Im aromatischen Bereich zeigen die Dupletts der beiden Protonen H-5 und H-7 des Rings A die zu erwartende Metakopplung (1.9 Hz). Die fünf aromatischen Protonen des Rings C erscheinen als zwei Multipletts bei 6.99 ppm (für H-2'', H-6'') und 6.92 ppm (H-3'', H-4'', H-5''). Die Protonen H-2'/H-6' und H-3'/H-5' erscheinen als AA'BB'-Spinsystem bei  $\delta_H$  7.04 und 6.55. Im Cyclopentanring erscheint das Proton H-1 in  $\beta$ -Stellung (axial) als Duplett mit einer Kopplungskonstante von 6.3 Hz für die Kopplung mit dem Proton H-2 $\beta$ . Die kleine Kopplungskonstante mit dem ebenfalls axialständigen Proton H-2 $\beta$  ist nicht zu sehen, wird

aber durch die Verbreiterung des Signals für H-1 angedeutet. Die beiden Protonen H-2 $\alpha$  und H-2 $\beta$  zeigen eine geminale Kopplung (13.9 Hz). Mit Proton H-3 zeigt Proton H-2 $\alpha$  eine trans-Kopplung (äquatorial-äquatorial; 13.9 Hz) und mit Proton H-2 $\beta$  eine cis-Kopplung (äquatorial-axial); 6.3 Hz).

Das Rocaglamid-Derivat [25] stellt das Methylrocaglat [Ishibashi *et al.* 1993] dar.

Das EIMS ergibt eine Molekülionenmasse von  $m/z$  492. Im Vergleich zum Rocaglaol befindet sich hier am C-2 des Cyclopentanrings statt einer Methylengruppe in  $\alpha$ -Stellung eine Carbonsäure-methylestergruppe (COOCH<sub>3</sub>). Die zugehörige Methoxyfunktion erscheint im <sup>1</sup>H-Spektrum als Singulett bei 3.55 ppm. Während das Signal für das Proton H-1 durch das Lösungsmittelsignal verdeckt ist, zeigt das Protonenduplett für H-2 $\beta$  die cis-Kopplung mit Proton H-1 (6.3 Hz) und die trans-Kopplung mit dem Proton H-3 (13.9 Hz), welches hier im Gegensatz zum Rocaglaol nur als Duplett auftritt.

Verbindung [26] konnte als das 4'-Demethoxy-3',4'-methylendioxyrocaglaol identifiziert werden. Dieses Rocaglaol-Derivat mit einer Molekülionenmasse von  $m/z$  448 im EIMS und der Summenformel C<sub>26</sub>H<sub>24</sub>O<sub>7</sub> ist ebenfalls bereits beschrieben worden [Cui *et al.* 1997].

Ausgehend vom Rocaglaol ist bei dieser Verbindung die paraständige Methoxygruppe am Ring B durch eine Methylendioxygruppe ersetzt. Diese erscheint im <sup>1</sup>H-Spektrum als Singulett mit einer chemischen Verschiebung von 5.76 ppm. Proton H-6' tritt erwartungsgemäß als Doppelduplett mit einer ortho-Kopplung zu H-5' (8.2 Hz) und einer meta-Kopplung zu H-2' auf.

Verbindung [27] ist wie Verbindung II ein Rocaglamid-Derivat mit einer Methylendioxy-Gruppe am Ring B des Grundgerüsts. Es handelt sich um das 4'-Demethoxy-3',4'-methylendioxy-methyl-rocaglat [Cui *et al.* 1997].

Diese Verbindung weist eine Molekülionenmasse von  $m/z$  506 im EIMS auf. Ausgehend von Verbindung [26] findet sich hier am C-2 eine zusätzliche Carbonsäuremethylestergruppe wie auch bei Verbindung [25].

Bei Verbindung [27] konnten die beiden Dupletts der Methylendioxy-Protonen im  $^1\text{H}$ -Spektrum aufgelöst werden, während die beiden Protonen bei Verbindung [26] lediglich als Singulett bei gleicher chemischer Verschiebung auftauchen.

Die gefundenen massenspektrometrischen Daten und  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren der vier gefundenen Rocaglamide sind also im Einklang mit den Daten aus der Literatur [Ishibashi *et al.* 1993, Cui *et al.* 1997] zu diesen bekannten Derivate.

### 3.1.11. Lignane aus der Rinde von *Aglaia ignea*

Abbildung 3.52. zeigt zwei stereoisomere Lignane vom Aryltetralin-Typ [28] und [29], die aus der Ethylacetatphase der Rinde von *A. ignea* isoliert werden konnten.

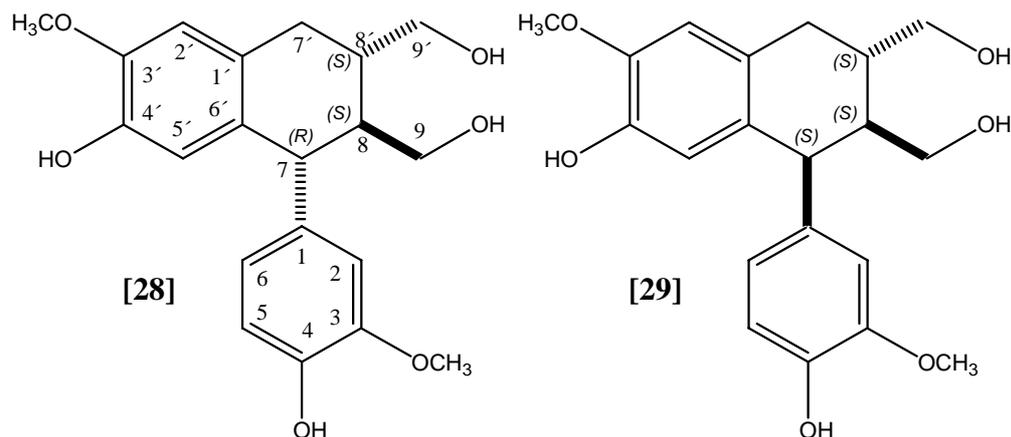


Abbildung 3.52.: Stereoisomere Lignane aus der Rinde von *A. ignea*

Die beiden Verbindungen zeigen ein Moleküllion bei  $m/z$  360 im EIMS. Die  $^{13}\text{C}$ - und  $^1\text{H}$ -NMR-Daten sind in der Tabelle 3.13. zusammengestellt. Die Verbindung [28] weist einen  $[\alpha]_D^{20}$ -Wert von  $-32$  ( $0.2$ ;  $\text{CH}_3\text{OH}$ ) und der Drehwert der Verbindung [29] konnte mit  $+21$  ( $0.08$ ;  $\text{CH}_3\text{OH}$ ) bestimmt werden.

Im aromatischen Bereich des  $^{13}\text{C}$ -Spektrums der Verbindung [28] finden sich 20 Kohlenstoffsignale. Die Integrale aus dem  $^1\text{H}$ -NMR und das DEPT- bzw. HMQC-Spektrum deuten auf zwei Methoxygruppen bei  $\delta_{\text{H}}$  3.85 und 3.82 bzw. bei  $\delta_{\text{C}}$  56.5 für beide Kohlenstoffsignale (gemessen in  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) hin. Des Weiteren lassen sich acht Signale Methingruppen und drei Signale Methylengruppen zuordnen. Die verbleibenden sieben Kohlenstoffe sind quartär. Aus den NMR-Daten und der Molekülmasse ergibt sich eine Summenformel von  $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6$ .

Die Existenz von 12 Signalen im Bereich zwischen  $\delta_{\text{C}}$  ca.110 und 150 deutet auf zwei Aromaten hin. Im aromatischen Bereich erscheinen 5 Protonen. Ein Duplett bei  $\delta_{\text{H}}$  6.78 (H-5) zeigt eine Orthokopplung mit einer entsprechenden Kopplungskonstante von  $J_{\text{H,H}}=7.9$

(gemessen in CD<sub>3</sub>OD). Im COSY-Spektrum (siehe Abbildung 3.53.) lässt sich das benachbarte Proton (H-6), ein Doppelduplett bei  $\delta_H$  6.61 identifizieren. Dieses wiederum zeigt die Metakopplung zu einem Duplett bei  $\delta_H$  6.72 (H-2) mit der entsprechenden Kopplungskonstante von  $J_{H,H}=2.0$ . Den Protonen können im HMQC die entsprechenden Kohlenstoffe bei  $\delta_C$  116.0, 123.2 und 113.9 (C-5, C-6, C-2) zugeordnet werden.

**Tabelle 3.13.: NMR-Datentabelle der Verbindung [28] und [29] aus *Aglaia ignea***

Position	$\delta_C^b$	$\delta_C(\text{Lit.})^{c,*}$	[28]			[29]
			$\delta_H$ (J Hz) <sup>a</sup>	$\delta_H$ (J Hz) <sup>b</sup>	HMBC <sup>b</sup>	$\delta_H$ (J Hz) <sup>a</sup>
1	138.7	138.5				
2	113.9	114.0	7.04 d (1.9)	6.72 d (2.0)	3, 4, 6, 7	7.24 d (1.9)
3	149.1	148.9				
4	145.3	145.8				
5	116.0	116.0	7.17 d (8.2)	6.78 d (7.9)	1, 3, 5	7.13 d (8.2)
6	123.2	123.1	6.95 dd (1.9, 8.2)	6.61 dd (2.0, 8.1)	2, 4, 7	6.90 dd (1.9, 7.6)
7	48.1	48.0	4.36 d (10.7)	3.78 m	1, 2, 6, 8, 1', 5', 6'	4.78 d (5.0)
8	48.1	48.0	2.33 m	176 m	9	2.64 m
9	62.4	62.5	A. 4.23 dd (2.5, 10.7) B. 3.91 dd (4.4, 10.7)	A. 3.66 m B. 3.40 dd (4.1, 11.2)	7, 8, 8' 7, 8, 8'	A. 4.18 dd (6.9, 10.7) B. 3.97 dd (7.6, 10.7)
1'	134.2	134.1				
2'	112.5	112.4	6.87 br s	6.23 br s	3', 4', 6', 7'	6.89 br s
3'	147.0	147.1				
4'	145.1	145.1				
5'	117.4	117.3	6.95 br s	6.17 br s	1', 3', 4', 7	7.07 br s
6'	129.1	129.0				
7'	33.6	33.5	A. 3.22 dd (10.7, 15.1) B. 3.11 dd (4.4, 15.1)	A. 2.76 d (7.7) B. 2.76 d (7.7)	1', 2', 6', 8', 9', 8 1', 2', 6', 8', 9', 8	A. 3.23 dd (5.7, 17.0) B. 3.09 dd (10.1, 16.4)
8'	40.1	40.1	2.57 m	1.98 m		2.54 m
9'	66.0	66.0	A. 4.19 m B. 4.19 m	A. 3.69 m B. 3.64 m	7', 8, 8' 7', 8, 8'	A. 4.04 m B. 4.04 m
OCH <sub>3</sub> -3	56.5	56.4	3.77 s	3.85 s	3	3.77 s
OCH <sub>3</sub> -3'	56.5	56.4	3.52 s	3.82 s	3'	3.64 s

<sup>a</sup>Messung in Pyridin, <sup>b</sup>Messung in CD<sub>3</sub>OD, <sup>c</sup>Messung in CDCl<sub>3</sub> und CD<sub>3</sub>OD  
Zuordnung der Signale über 2D-NMR-Experimente; \* [Urones *et al.* 1987] Zuordnung z.T. revidiert.

Die Protonen H-2 und H-6 zeigen im HMBC-Spektrum eine Korrelation zu einem Kohlenstoff im nichtaromatischen Bereich bei  $\delta_C$  48.1 (C-7). Die verbleibenden Korrelationen (siehe Tabelle 3.13.) der Protonen H-2, H-5 und H-6 definieren die anderen Kohlenstoffe des Aromaten. Sowohl H-2 als auch H-5 korrelieren mit einem Kohlenstoff bei  $\delta_C$  149.1 (C-3), mit welchem auch das Signal der Methoxygruppe bei  $\delta_H$  3.52 ein Kreuzsignal zeigt. Das Duplett H-5 liefert ein Kreuzsignal mit einem Kohlenstoff bei  $\delta_C$  138.7 (C-1). Zu einem Kohlenstoff bei  $\delta_C$  145.3 (C-4) bestehen Korrelationen ausgehend von H-2 und H-6.

Das zweite Methoxysignal bei  $\delta_H$  3.77 zeigt im HMBC-Spektrum ebenfalls ein Kreuzsignal mit einem Kohlenstoff im aromatischen Bereich bei  $\delta_C$  147.0 (C-3'). Die verbleibenden zwei aromatischen Protonen bei  $\delta_H$  6.87 und 6.95 erscheinen als Singulett. Im COSY-Spektrum lässt sich eine schwache Korrelation dieser beiden Protonen erkennen. Diese Befunde belegen

die para-Anordnung dieser beiden Protonen (H-2' und H-5'). Die zugehörigen Kohlenstoffe (C-2' und C-5') können anhand des HMQC-Spektrums ermittelt werden (siehe Tabelle 3.13.). Die übrigen Kohlenstoffe dieses aromatischen Ringes lassen sich anhand der Korrelationen von H-2' und H-5' bestimmen. H-5' zeigt Kreuzsignale mit Kohlenstoffen bei  $\delta_C$  134.2 (C-1') und  $\delta_C$  145.1 (C-4'), mit welchem auch H-2' korreliert. H-2' koppelt daneben mit einem Kohlenstoff bei  $\delta_C$  129.1 (C-6').

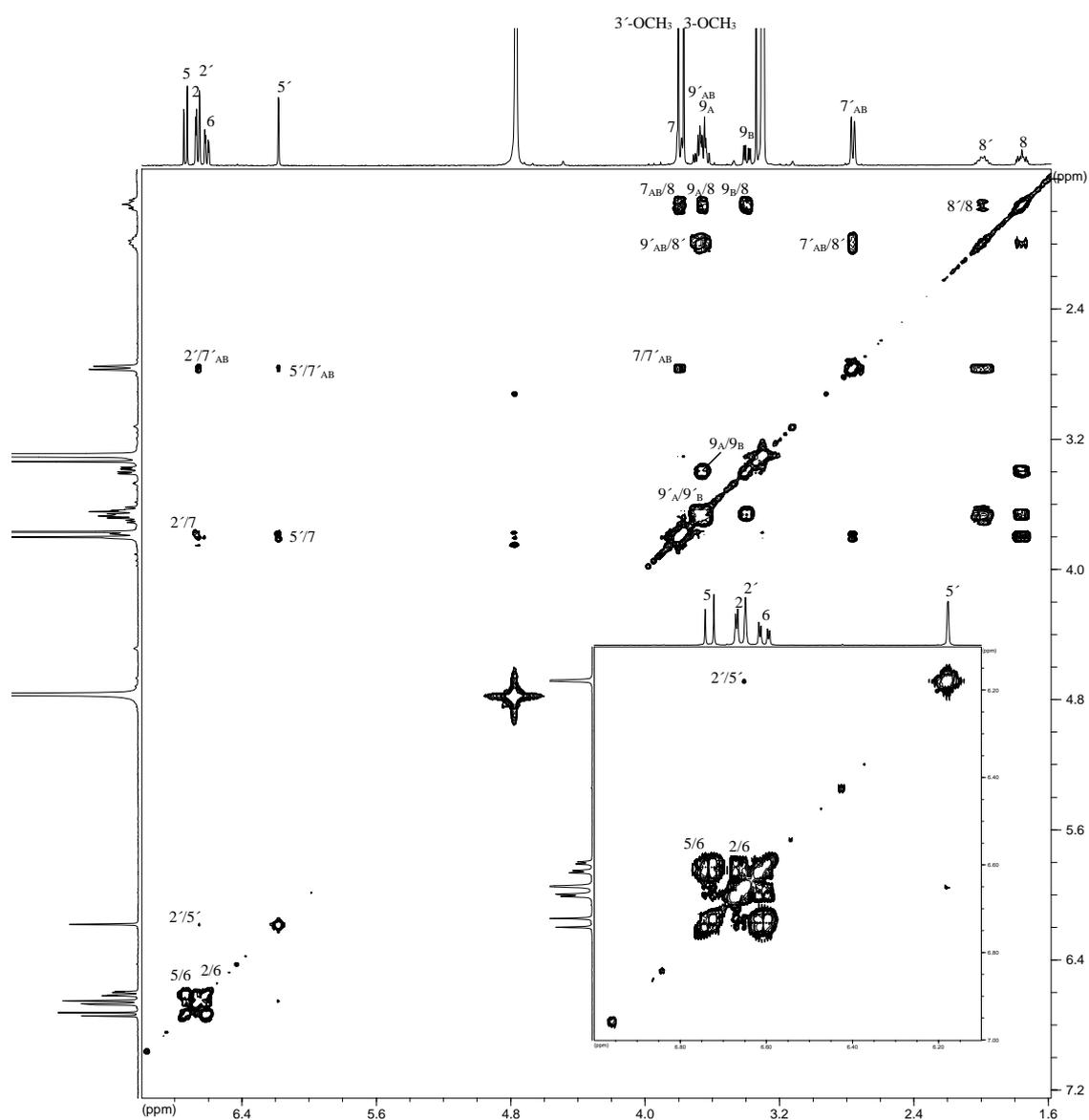
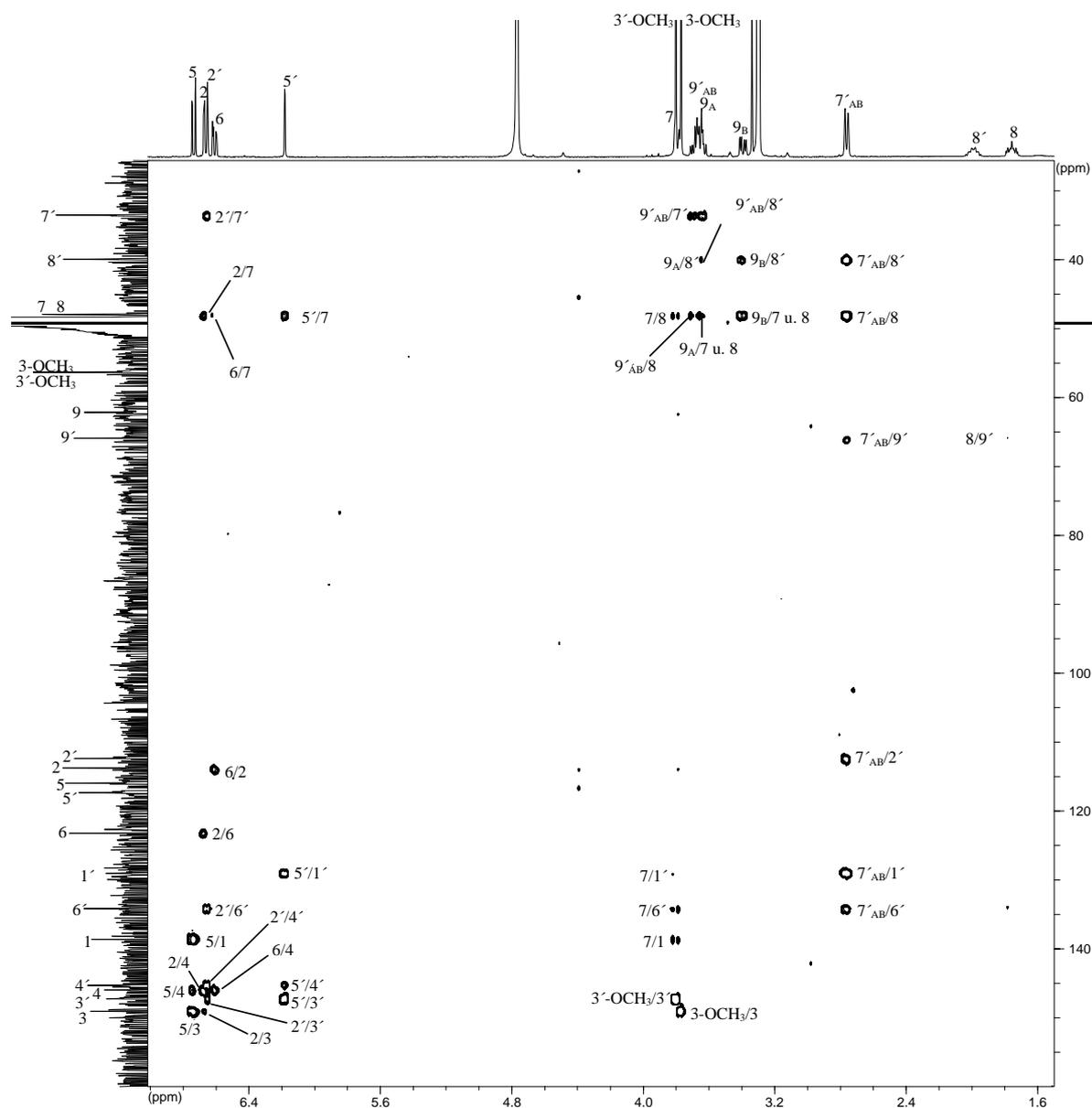


Abbildung 3.53.: COSY-Spektrum der Verbindung [28]

Für beide aromatischen Protonen, H-2' und H-5', lassen sich im HMBC-Spektrum auch Korrelationen mit Kohlenstoffen im nichtaromatischen Bereich identifizieren. H-5' korreliert dabei mit dem Kohlenstoff bei  $\delta_C$  48.1 (C-7), mit welchem auch die meta-ständigen Protonen

## Ergebnisse

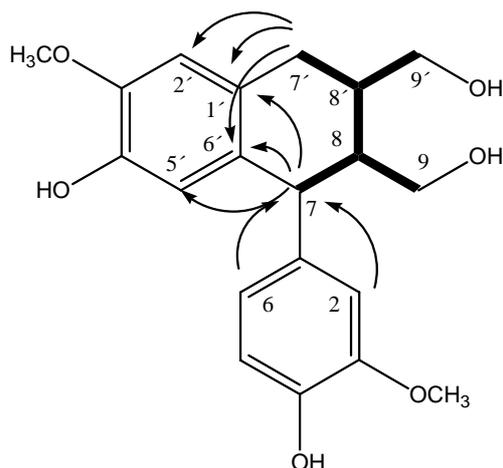
H-2 und H-6 korrelieren. H-2' koppelt mit einem Signal bei  $\delta_C$  33.6. Das DEPT-Spektrum zeigt, dass es sich hierbei um eine Methylengruppe handelt. Die Methylenprotonen (H<sub>2</sub>-7') erscheinen bei der Messung in CD<sub>3</sub>OD als Duplett bei  $\delta_H$  2.76 (2H).



**Abbildung 3.54.: HMBC-Korrelationen der Verbindung [28]**

Über C-7, ein Duplett, stehen die beiden Aromaten in Kontakt, wie die Korrelationen von H-2, H-6 und H-5' belegen. Das zugehörige Methinproton H-7 erscheint bei  $\delta_H$  3.78, wo es mit den Methoxysignalen zusammen fällt.

Im COSY-Spektrum (siehe Abbildung 3.53.) findet sich ein Kreuzsignal von H-7 mit einem Multipllett bei  $\delta_H$  1.76 (H-8), ein Methinproton. Dieses wiederum koppelt mit einem weiteren Methinmultipllett bei  $\delta_H$  1.98 (H-8') und den beiden Protonen einer Methylengruppe (H<sub>2</sub>-9) mit Signalen bei  $\delta_H$  3.66 und 3.40. H-8' zeigt im COSY-Spektrum Korrelationen zu zwei Methylenprotonen bei  $\delta_H$  3.69 und 3.64 (H<sub>2</sub>-9') und zu den Methylenprotonen H<sub>2</sub>-7' bei  $\delta_H$  2.76. Damit ergibt sich die in der Abbildung 3.55. gezeigte Substruktur.



**Abbildung 3.55.: Wichtige HMBC- und COSY-Korrelationen (Fettdruck) der nichtaromatischen Protonen der Verbindung [28]**

Im HMBC-Spektrum (siehe Abbildung 3.54.) finden sich, sowohl ausgehend von H-7, als auch ausgehend von H<sub>2</sub>-7' Korrelationen zu den aromatischen Kohlenstoffen C-1' und C-6' (siehe Abbildung 3.55.). Die sich anhand der COSY-Korrelationen ergebende Substruktur lässt sich durch die HMBC-Korrelationen bestätigen (siehe Abbildung 3.54. und Tabelle 3.13.).

Die zu den Methylenprotonen H<sub>2</sub>-9 und H<sub>2</sub>-9' gehörenden Kohlenstoffe erscheinen bei  $\delta_C$  62.4 bzw. 66.0 und indizieren durch die chemische Verschiebung die Nachbarschaft zu Hydroxylgruppen in diesen Positionen.

Da nur 5 Protonen im aromatischen Bereich auftauchen und nur die quartären Kohlenstoffe C-6' und C-1' durch die Verbindung zu den Kohlenstoffen C-7' bzw. C-7 belegt sind, müssen sich an den beiden Aromaten neben den Methoxygruppen und aufgrund des Molekulargewichtes noch zwei weitere Hydroxylgruppen an den Aromaten befinden.

Damit ist die Struktur der Verbindung [28] bis auf die Stellung der Hydroxyl- und Methoxygruppen aufgeklärt. Die Tatsache, dass H-2 und H-6 HMBC-Korrelationen zu C-7 und H-2, H-5 und die Methoxygruppe 3-OCH<sub>3</sub> zu C-3 zeigen und H-6 kein Kreuzsignal mit C-3 ergibt, spricht für die meta-Stellung der Methoxygruppe bzw. die para-Stellung der Hydroxylgruppe. Eindeutig bestätigen lässt sich die Stellungsisomerie jedoch nur durch die ROESY-Korrelationen (hier gemessen in Pyridin; siehe Abbildung 3.56.). Die Methoxygruppe korreliert mit Proton H-2 und nicht mit Proton H-5. Auch hinsichtlich der Stellung der Methoxygruppe 3'-OCH<sub>3</sub> gibt das ROESY-Spektrum Klarheit. H-7'<sub>B</sub> korreliert mit H-2' und H-2' zeigt ein Kreuzsignal mit 3'-OCH<sub>3</sub>. Die Hydroxylgruppen befinden sich folglich in den Positionen 4 bzw. 4' in para-Stellung. Unabhängig von den Befunden aus dem HMBC-Spektrum beweist das ROESY-Spektrum die Stellung der Methoxygruppen. Die aufgrund der Kopplung nachweislich zu einem Ringsystem gehörenden Protonen H-2 und H-6 zeigen beide eine Korrelation zu H-7, nicht aber H-5. Das zeigt, dass H-2 und H-6 in ortho-Stellung und H-5 in meta-Stellung liegen müssen. Im anderen Aromaten sind H-2' und H-5' eindeutig definiert durch ihre ROESY-Korrelationen zu H<sub>2</sub>-7' bzw. H-7.

Die relative Stellung der Protonen H-7 und H-8 ist im Fall der Verbindung [28] axial-axial, wofür eine Kopplungskonstante von 10.7 Hz spricht (Messung in Pyridin; siehe Tabelle 3.13.). Ein Kreuzsignal zwischen H-7 und H-8' im ROESY-Spektrum zeigt die Konfiguration in Position 8' relativ zu der in Position 7. Damit ist die relative Stereochemie der Verbindung [28] geklärt.

Diesen Befunden zufolge handelt es sich bei Verbindung [28] um das 4,4',9,9'-Tetrahydroxy-3',5-dimethoxy-2,7'-cyclolignan, bekannt als Ent-Isolariciresinol [Urones *et al.* 1987] oder um das Enantiomere Isolariciresinol. Die chemischen Verschiebungen der Kohlenstoffe sind im Einklang mit der Literatur, wie die Tabelle 3.13. zeigt. Die absolute Konfiguration des aus *Reseda suffruticosa* bekannten Ent-Isolariciresinol [Urones *et al.* 1987] ist 7(*R*), 8(*S*), 8'(*S*). Das entsprechende Molekül mit der 7(*S*), 8(*R*), 8'(*R*)-Konfiguration, das Isolariciresinol, ist aus *Araucaria angustifolia* bekannt [Fonseca *et al.* 1978]. Hier wird ein positiver  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -Wert (+ 68°; (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) angegeben. Das Enantiomere dagegen zeichnet sich durch einen negativen  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -Wert (- 53.8°; CH<sub>3</sub>OH) aus. Für die Verbindung [28] ließ sich ein  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -Wert von - 32° (0.2; CH<sub>3</sub>OH) finden. Demnach handelt es sich um das Ent-Isolariciresinol mit der 7(*R*), 8(*S*), 8'(*S*)-Konfiguration. Die Zuordnungen der Kohlenstoffsignale müssen aufgrund der 2D-

NMR-Befunde teilweise im Vergleich zu Literaturangaben revidiert werden [Urones *et al.* 1987].

Bemerkenswert ist, dass bei der Messung in Pyridin das Proton H-2' weiter im hohen Feld erscheint als H-5' und umgekehrt bei der Messung in CD<sub>3</sub>OD (siehe Tabelle 3.13.). Die HMBC-Korrelationen einerseits und die ROESY-Korrelationen andererseits bestätigen jedoch jeweils die Zuordnung der beiden Protonen. Im ROESY-Spektrum (gemessen in Pyridin) erscheinen die Kreuzsignale von H-2' mit der Methoxygruppe und von H-5' mit H-7. Im HMBC (gemessen in CD<sub>3</sub>OD) zeigt H-5' die Korrelation zu C-7.

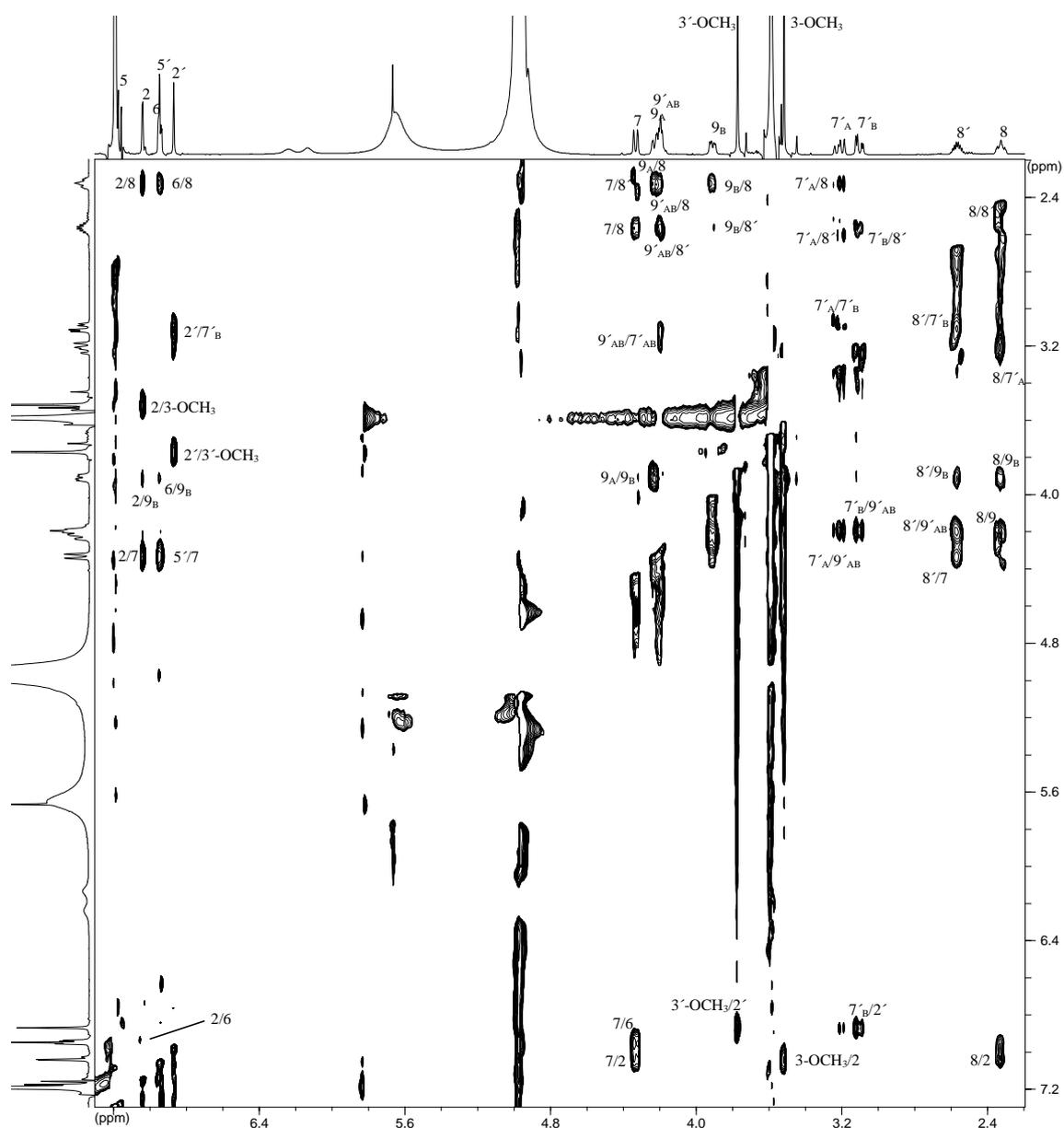


Abbildung 3.56.: ROESY-Korrelationen der Verbindung [28]

Bei dem anderen Derivat, Verbindung [29], ebenfalls mit einem Massenpeak bei  $m/z$  360 treten auch zwei Methoxysignale ( $\delta_{\text{H}}$  3.77 und 3.64) auf (gemessen in Pyridin; siehe Tabelle 3.13.). Im COSY-Spektrum lassen sich die entsprechenden Korrelationen identifizieren, wie sie in der Abbildung 3.53. für Verbindung [28] gezeigt sind.

Demzufolge muss es sich bei der Verbindung [29] um ein Stereoisomer oder ein Stellungsisomer der Verbindung [28] handeln. Für diese Verbindung ergab die Messung der optischen Drehung einen positiven Wert ( $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 21^{\circ}; 0.08; \text{CH}_3\text{OH}$ ).

Das Proton H-2 taucht im Vergleich zur Verbindung [28] tieffeld von H-5 auf. Da das Duplett H-5 entsprechend der ortho-Kopplung mit H-6 eine Kopplungskonstante von  $J_{\text{H,H}}=8.2$  zeigt und die des Protons H-2  $J_{\text{H,H}}=1.9$  für die meta-Kopplung beträgt, ist die Zuordnung aber eindeutig.

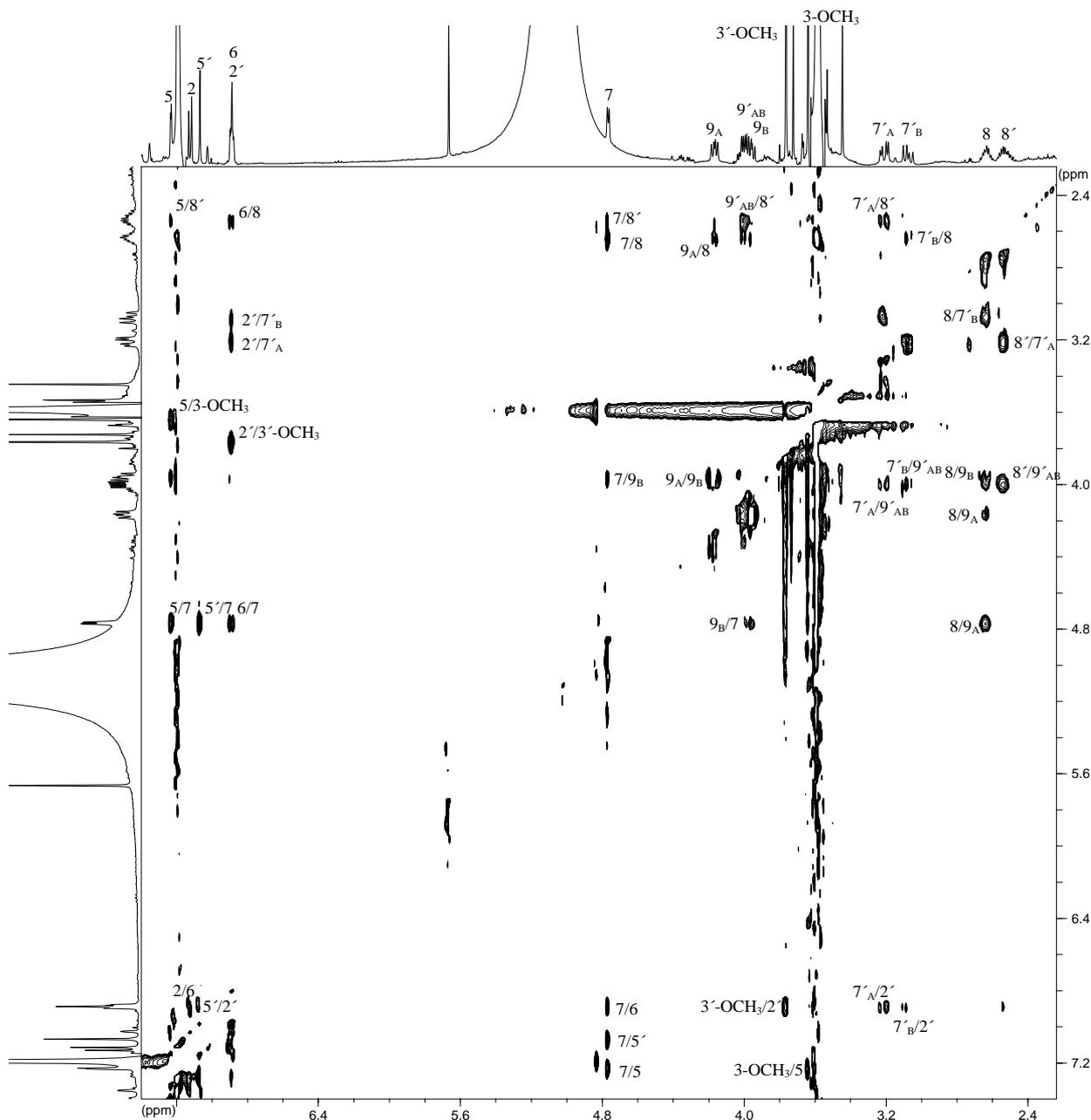
Die Abbildung 3.57. zeigt das ROESY-Spektrum für dieses Derivat. Wie schon bei Verbindung [28] findet man im ROESY-Spektrum die Korrelation von H-2 zu 3-OCH<sub>3</sub> und H-2' mit der Methoxygruppe 3'-OCH<sub>3</sub>. Wie bei dem vorherigen Derivat treten auch hier die Korrelationen von H-2 und H-6, die aufgrund der Kopplungskonstanten zu einem Ringsystem gehören, zu H-7 auf. Damit lässt sich auch hier ausschließen, dass die Methoxygruppe in der ortho-Stellung zu finden ist. Das Proton in der meta-Stellung (H-5) zeigt kein Kreuzsignal mit H-7. H-5' zeigt auch hier eine Korrelation mit H-7, während H-2' mit H-7'<sub>A</sub> koppelt, wodurch die Stellung von H-2' und H-5' eindeutig belegt ist, was wiederum die Positionen der Methoxysignale an C-3 und C-3' beweist.

Diese Befunde zeigen, dass es sich bei Verbindung [29] um ein Stereoisomer der Verbindung [28] handeln muss.

H-7 zeigt hier, im Gegensatz zur Verbindung [28] ( $J_{\text{H,H}}=10.7$ ) eine Kopplungskonstante von  $J_{\text{H,H}}=5.0$  Hz. Damit müssen H-7 und H-8 beide die gleiche Orientierung aufweisen ( $\alpha$  oder  $\beta$ ). Damit ist die 7(*S*), 8(*R*), 8'(*S*)- (bzw. 7(*R*), 8(*S*), 8'(*R*))-Konfiguration ausgeschlossen.

Da sich Verbindung [29] von [28] hinsichtlich der physikalischen Eigenschaften unterscheidet können hier nur noch zwei Diastereomere (bzw. deren jeweiligen Enantiomere) vorliegen,

also die 7(*S*), 8(*S*), 8'(*R*)- (bzw. 7(*R*), 8(*R*), 8'(*S*)-)-Konfiguration oder die 7(*S*), 8(*S*), 8'(*S*)- (bzw. 7(*R*), 8(*R*), 8'(*R*)-)-Konfiguration.

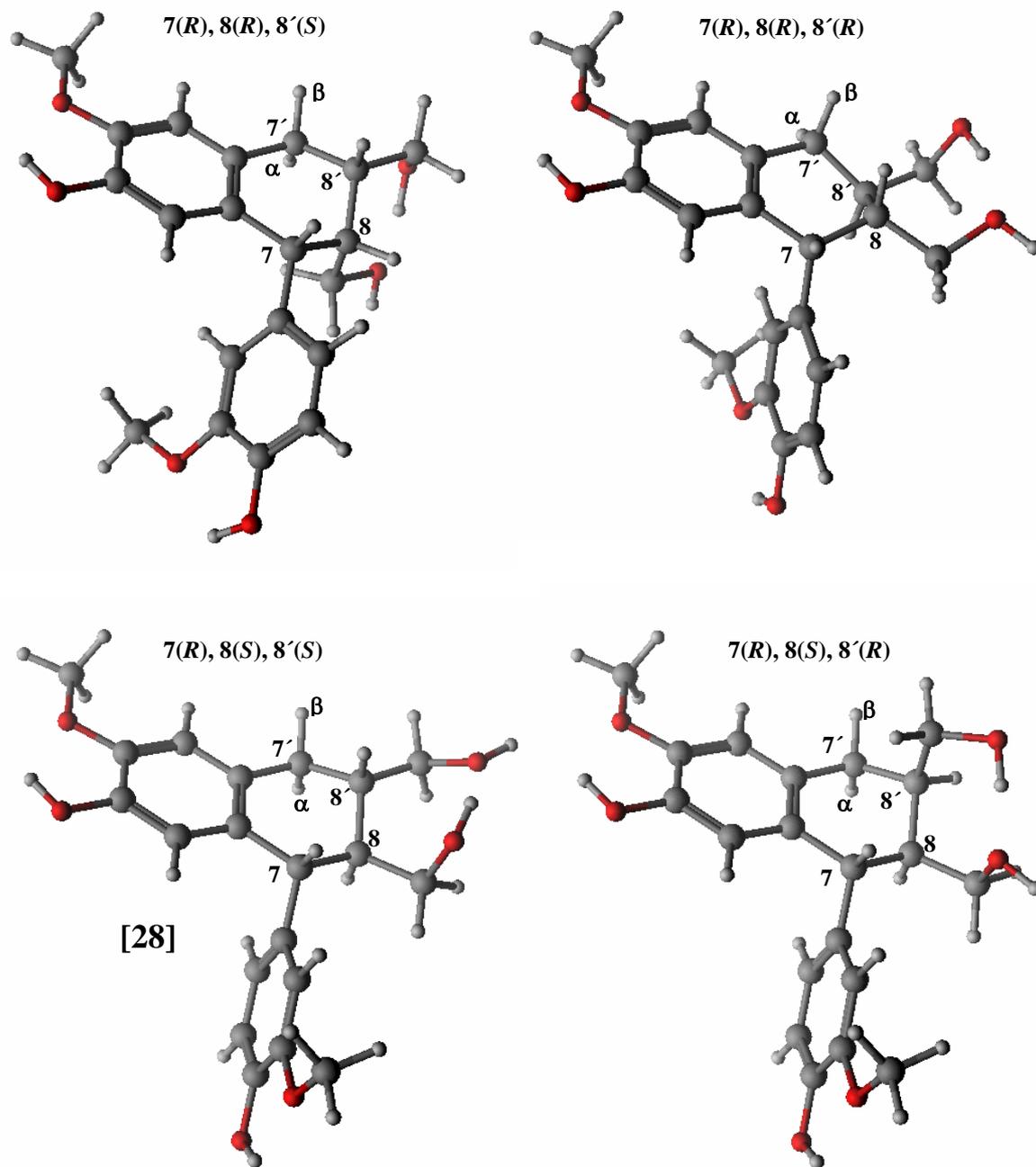


**Abbildung 3.57.: ROESY-Korrelationen der Verbindung [29]**

Im ROESY-Spektrum findet man keine Korrelation zwischen H-7 und H-8', wie bei Verbindung [28], während andere NOEs mit H-7 zu sehen sind (siehe Abbildung 3.57).

Das „Molecular Modelling“ liefert für die vier möglichen Diastereomere bei der vorliegenden Stellungsisomerie nach einer stochastischen Konformationssuche mit Hilfe des Programmes

MOE unter Verwendung des Kraftfeldes MMFF9+ [Gill 1981] die energetisch günstigsten Konformere (siehe Abbildung 3.58.).



**Abbildung 3.58.: Durch „Molecular Modelling“ (Kraftfeldmethode) ermittelte energetisch günstigste Konformere der vier möglichen Diastereomere**

Generell wurden zur Klärung der Konfiguration die Protonenabstände der Protonen an den Stereozentren und die jeweiligen Diederwinkel verwendet (siehe Tabelle 3.14.).

**Tabelle 3.14.: Gegenüberstellung der aufgrund des „Molecular Modelling“ gefundenen Protonenabstände [Å] und der dadurch zu erwartenden ROESY-Korrelationen (NOE) sowie die gefundenen Bindungswinkel und die dadurch zu erwartenden Kopplungskonstanten [Hz] für die möglichen Diastereomere.**

[28] (7(R), 8(S), 8'(S))							
Protonenabstand [Å]	Korrelation	NOE (erwartet)	NOE (vorhanden)	Korrelation	Bindungswinkel	J (erwartet) [Hz]	J (gemessen) [Hz]
2.60	7↔8'	+	+	7↔8	167°	ca. > 9	10.7
2.47	8↔7'α	+	+	8↔8'	170.8°	ca. > 9	?
	8↔7'β	-	-	8'↔7'α	178.7°	ca. > 9	10.7
				8'↔7'β	60.9°	ca. < 7	4.4
7(R), 8(R), 8'(S)							
Protonenabstand [Å]	Korrelation	NOE (erwartet)	NOE (vorhanden)	Korrelation	Bindungswinkel	J (erwartet) [Hz]	J (gemessen) [Hz]
2.35	7↔8'	+	-	7↔8	50.8°	ca. < 7	5.0
3.82	8↔7'α	-	+	8↔8'	-66.0°	ca. < 7	?
4.27	8↔7'β	-	-	8'↔7'α	174.0°	ca. > 9	10.1
				8'↔7'β	56.5°	ca. < 7	5.7
7(R), 8(R), 8'(R)							
Protonenabstand [Å]	Korrelation	NOE (erwartet)	NOE (vorhanden)	Korrelation	Bindungswinkel	J (erwartet) [Hz]	J (gemessen) [Hz]
3.79	7↔8'	-	-	7↔8	-47.1°	ca. < 7	5.0
3.87	8↔7'α	-	+	8↔8'	-169.6°	ca. > 9	?
2.53	8↔7'β	+	-	8'↔7'α	-167.9°	ca. > 9	10.1
				8'↔7'β	-51.1°	ca. < 7	5.7
7(R), 8(S), 8'(R)							
Protonenabstand [Å]	Korrelation	NOE (erwartet)	NOE (vorhanden)	Korrelation	Bindungswinkel	J (erwartet) [Hz]	J (gemessen) [Hz]
3.87	7↔8'	-	-	7↔8	168.6°	ca. > 9	5.0
2.42	8↔7'α	+	+	8↔8'	-61.4°	ca. < 7	?
3.64	8↔7'β	-	-	8'↔7'α	50.6°	ca. < 7	10.1
				8'↔7'β	-66.0°	ca. < 7	5.7

Die in etwa zu erwartende Kopplungskonstanten [J] ergibt sich aus der Karplus-Kurve; +: Korrelation; -: keine Korrelation. Bei Abständen > 3.0 Å ist kein NOE-Effekt zu erwarten.

Für das Ent-Isolariciresinol [28] lassen sich für das energetisch günstigste Konformer aufgrund der Protonenabstände (siehe Tabelle 3.14.) ROESY-Korrelationen zwischen den Protonen H-7 und H-8' und zwischen H-8 und H-7'<sub>α</sub> erwarten, die im Spektrum tatsächlich auftreten (siehe Abbildung 3.56.). Nach den Diederwinkeln für dieses Konformer sind für die Kopplungen zwischen H-7 und H-8 genauso wie zwischen H-8' und H-7'<sub>α</sub> nach der Karplus-Kurve Kopplungskonstanten von  $J > 9$  Hz zu erwarten. Für die Kopplung von H-8' mit H-7'<sub>β</sub> ist dagegen eine Konstante von  $J < 7$  zu erwarten. Auch mit dieser Vorhersage stimmen die gefundenen Daten überein. Das Resultat der theoretischen Berechnungen steht somit im Einklang mit den experimentellen Daten der Verbindung [28].

Die aus den anderen energetisch günstigsten Konformeren der verbleibenden drei möglichen Diastereomere abgeleiteten Werte für die Protonenabstände und Diederwinkel lassen sich schließlich mit den Korrelationen im ROESY-Spektrum (siehe Abbildung 3.59.) bzw. den Kopplungskonstanten für das Derivat [29] abgleichen (siehe Tabelle 3.14.).

Im Fall der 7(*R*), 8(*R*), 8'(*S*)-Konfiguration stehen die anhand des Modells postulierten Protonenabstände im Widerspruch zu den für die Verbindung [29] im ROESY-Spektrum sichtbaren NOE-Effekten. Das Konformere für die 7(*R*), 8(*S*), 8'(*R*)-Konfiguration weicht hinsichtlich der zu erwartenden Kopplungskonstanten von den Werten für das Derivat [29] ab.

Eine vollständige Übereinstimmung der experimentell beobachteten NOE-Effekte und Kopplungskonstanten mit dem theoretischen Modell ergibt sich ausschließlich im Falle der 7(*R*), 8(*R*), 8'(*R*)-konfigurierten Verbindung. Daraus lässt sich ableiten, dass alle drei Asymmetriezentren von Verbindung [29] dieselbe absolute Konfiguration besitzen. Es handelt sich folglich bei [29] um das Stereoisomer der Verbindung [28] in der 7(*S*), 8(*S*), 8'(*S*)- oder 7(*R*), 8(*R*), 8'(*R*)-Konfiguration. Beide Enantiomere sind in der Literatur noch nicht beschrieben. Es handelt sich daher unabhängig von der absoluten Konfiguration um einen neuen Naturstoff.

### 3.2. GCMS-Screening verschiedener *Aglaia*-Extrakte

Für die triterpenoiden Verbindungen, sofern sie sich als GC-gängig erwiesen, wurde eine Methode entwickelt, mit der diese sich in den Hexan-Rohextrakten der verschiedenen *Aglaia*-Arten nachweisen lassen. Vor allem konnten so die Triterpensäuren und Verbindungen mit Hydroxylgruppen z.T. nach Methylierungsreaktion mit TMSH in den Rohextrakten detektiert werden.

Die Tabelle 3.16. zeigt die Ergebnisse des GC-Screenings der verschiedenen *Aglaia*-Extrakte. Die Retentionszeiten der gefundenen Signale im Chromatogramm sind in Übereinstimmung mit den Werten der getesteten Reinsubstanzen. Die Tabelle 3.15. zeigt die Massenspektrometriedaten der isolierten Triterpene, einschließlich der Fragmente aus dem GCMS-Screening, sowie die Fragmente beim EIMS, ESIMS und FABMS mit Direkteinlass.

Für die Zweige von *Aglaia cucculata* tauchen bei 42.7 min die Signale für das Verbindungsgemisch [9ab] auf. Die beiden Derivate [16] und [17] lassen sich auch als Reinsubstanzen selbst nach Derivatisierung nicht detektieren, und können deshalb auch im Rohextrakt nicht gefunden werden.

Die Blätter von *Aglaia duppereana* liefern die Verbindungen [10], [11] und [12]. Alle drei Derivate sind auch mittels GCMS bei 41.3 min, 40.7 min und 47.1 min im Hexan-Rohextrakt nachweisbar.

Das Substanzgemisch [8ab] taucht im Hexan-Rohextrakt der Wurzeln von *Aglaia duppereana* mit einer Retentionszeit von 39.7 min auf.

Der Rohextrakt der Blätter von *Aglaia euphoroides* liefert bei 34.9 min das Signal für das Derivat [13].

Von den Verbindungen, die aus *Aglaia ignea* isoliert wurden, sind in den Hexan-Rohextrakten die Derivate [1], [3], [4] und [7] nachzuweisen. Das Hydroperoxyderivat konnte nicht getestet werden, da es nicht stabil ist.

## Ergebnisse

Das Methylierungsprodukt der Verbindung [1] erscheint bei einer Retentionszeit von 40.1 min. Für die Verbindung [3] erscheint im Rohextrakt das Signal bei 45.8 min. Für die reine Verbindung [4] ergeben sich im Chromatogramm nach der Derivatisierung mit TMSH drei Signale bei 25.9 min, 40.4 min und 42.9 min vermutlich für die verschiedenen Derivatisierungsprodukte. Die zwei intensiveren Signale bei 25.9 min und 40.4 min lassen sich auch im Hexan-Rohextrakt detektieren. Das Signal für die Verbindung [7] taucht im Extrakt bei 41.4 min auf.

**Tabelle 3.15.: Daten der Massenspektrometrie für die isolierten Triterpene**

Verbindung	Retentionszeit [min]	m/z	GCMS (+TMSH)	MS (EI, ESI, FAB)
[1]	40.1 (+TMSH)	458	454, 385, 343, 341, 303, 249, 217, 189, 175, 161, 149, <b>109</b> , 69	<b>EI:</b> 440, 397, 371, 359, 329, 289, 235, 205, 164, 127, <b>109</b> , 95, 69
[2]	40.1	472	454, 385, 343, 341, 303, 249, 217, 189, 175, 161, 149, <b>109</b> , 69	<b>EI:</b> 429, 376, 355, 335, 288, 254, 225, 197, 183, 125, 97, 71, 57
[3]	45.8	488	371, 341, 327, 289, 281, 253, 207, 187, 157, 139, <b>125</b> , 85	<b>FAB:</b> <b>511</b> , 453, 393, 329, 249, 176, 125, 91
[4] (I)	25.9	474	345, 301, 275, 154, 135, 107, 81, 55	<b>FAB:</b> 497, 455, 439, 375, 357, 307, 289, 235, 203, 176, <b>154</b> , 136, 107, 77
[4] (II)	40.4		389, 371, 345, 275, 263, 233, 207, 175, 147, 113, 95, <b>82</b>	
[4] (III)	42.9		281, 253, 233, 207, 191, 163, 147, 135, 107, 95, <b>82</b> , 67	
[5]	43.7	502	389, 371, 345, 307, 289, 263, 233, 207, 175, 149, 121, 95, <b>82</b>	<b>FAB:</b> 525, 513, 453, 389, 371, 329, 263, 121, 91
[6]	-	504		<b>FAB:</b> 527, 511, 453, 429, 371, 343, 307, 289, 237, 193, 161, 154, 136, 107, <b>77</b>
[7]	41.4	444	363, 357, 313, 281, 253, 207, 193, 154, 133, 107, <b>99</b>	<b>ESI:</b> 445
[8ab]	39.7	474	429, 411, 371, 343, 305, 281, 237, 207, 189, 161, <b>143</b> , 125, 93	<b>ESI:</b> 473
[9ab]	42.7	458	443, 399, 381, 357, 313, 281, 245, 219, 205, 161, <b>143</b> , <u>125</u> , 95	<b>EI:</b> 443, 422, 399, 357, 337, 284, 253, 221, 205, 169, <u>143</u> , 97, 84 <b>ESI:</b> 459
[10]	41.3	442	341, 315, 299, 281, 247, 229, 207, 189, 147, 135, 107, 81	<b>FAB:</b> 465, 443, 425, 351, 329, 229, 154, 77
[11]	40.7	440	440, 369, 354, 313, 245, 219, 205, 163, 126, 95, 67	<b>FAB:</b> 463, 441, 349, 329, 245, 136, 77 <b>EI:</b> 440, 419, 402, 369, 315, 284, 256, 245, 205, 163, 149, 97, 71
[12]	47.1	458	357, 313, 281, 253, 245, 205, 177, 163, 135, 107, 81, <b>59</b>	<b>FAB:</b> 481, 451, 349, 329, 301, 245, 154, 136, 77
[13]	34.9	412	412, 397, 379, 254, 201, 175, 145, 119, 95, <b>69</b>	<b>EI:</b> 412, 397, 343, 328, 286, 271, 245, 220, 205, 177, 149, 121, 109, 95, 69
[14]	-	446		<b>ESI:</b> 445, 429, 411, 391
[15]	43.3	442	409, 381, 355, 302, 281, 253, 207, 175, 147, 119, 95	<b>EI:</b> 442, 424, 409, 381, 355, 313, 302, 269, 227, 203, 175, 143, 95, 69
[16]	-	456	384, 369, 351, 325, 311, 309, 297, 271, 243, 213, 187, 173, 145, 119, 91, 79	<b>EI:</b> 456, 441, 423, 384, <b>369</b> , 351, 325, 283, 271, 219, 191, 161, 143, 95, 69
[17]	-	474		<b>EI:</b> 474, 441, 423, 383, <b>369</b> , 351, 325, 311, 271, 245, 205, 161, 133, 121, 95
[18]	39.2	426	426, 315, 281, 234, 207, 189, 147, 121, 95, 81	<b>EI:</b> 426, 411, 393, 344, 315, 299, 257, 234, <b>218</b> , 207, 189, 175, 147, 135, 121, 109, 95, 81
[19]	38.6	424	424, 381, 368, 341, 313, 271, 205, 189, 149, 121, 95, 67	<b>EI:</b> 424, 409, 381, 368, 313, 250, 245, 232, 218, 205, 189, 177, 161, 149, 135, 121, 109, 95, 84, 69

Fettdruck indiziert die Basispeaks

Im Hexan-Rohextrakt aus den Zweigen von *Aglaiia pleuroptiris* sind die Steroide [20a], [21a] und [21b] zu finden. Das Derivat [20b] lässt sich dagegen nicht im Rohextrakt nachweisen. Für die beiden Reinsubstanzgemische [20ab] und [21ab] erscheinen bei 37.1 min, 35.5 min, 40.7 min und 39.0 min alle vier Signale im Chromatogramm mit den entsprechenden Massenspektren, inklusive der Peaks für die tatsächlichen Molekulargewichte.

In den Blättern von *Aglaiia tsangii* tauchen die Signale für die Verbindungen [15], [18] und [19] bei 43.3 min, 39.2 min und 38.6 min auf. Das Derivat [14] lässt sich augenscheinlich nicht derivatisieren und damit auch nicht im Rohextrakt nachweisen.

Neben dem Nachweis der einzelnen Verbindungen, die auch aus den jeweiligen *Aglaiia*-Extrakten isoliert wurden, konnten verschiedene Derivate auch in anderen Extrakten nachgewiesen werden (siehe Tabelle 3.16.).

In den Zweigen von *Aglaiia chittagonga* konnten mit dieser Methode das Secodammaran [3] und das Steroid [20a] nachgewiesen werden. Die Zweige von *A. cordata* beinhalten die beiden Dammaran-Gemische [8ab] und [9ab], das Nor-Cycloartan [13], das Lupeol [18] und ebenfalls das Steroid [20a]. Die Zweige von *A. cuculata* lieferten neben den auch aus diesem Extrakt isolierten Verbindungen noch das Secodammaran [3], das Lupeol [18] und das Steroidgemisch [20ab]. In der Rinde von *A. dasyclada* ließen sich die Secodammarane [3], [4], [7], [8ab], sowie das Dammarangemisch [9ab] nachweisen. Während die Blätter von *A. dupperiana* neben dem Secodammaran [3] auch die aus dieser Pflanze isolierten Dammarane ([10], [11] und [12]) und die beiden Lupane [18] und [19] zeigen, lässt sich in den Blüten sowie den Zweigen dieser *Aglaiia*-Art nur das Secodammaran [3] finden. Im Hexan-Extrakt der Wurzeln lassen sich neben dem aus diesem Extrakt isolierten Secodammaran-Gemisch [8ab] auch noch die Secodammarane [3], [4] und [7] sowie das Dammarangemisch [9ab] finden. Die Blätter von *A. euphoroides* besitzen nach den Ergebnissen des GCMS-Screenings neben dem aus diesem Extrakt gewonnenen Nor-Cycloartan [13] das Cycloartan [15] und das Steroid [20b]. Neben den aus dieser Art isolierten Secodammaranen finden sich in der Rinde von *A. ignea* auch das Dammarangemisch [9ab] und das Steroid [20a] in detektierbarer Konzentration. Auch in der Rinde von *A. macrocarpa* ist das Steroid [20a] neben dem Secodammarangemisch [8ab] nachweisbar. In den Blättern von *A. odorata* finden sich die Dammarane [9ab], [10], [11] und [12]. Die Zweige von *A. perviridis* beinhalten das

Ergebnisse

**Tabelle 3.16.: Ergebnisse des GCMS-Screenings der *Aglai*a-Extrakte**

Hexan Extrakt	[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[7]	[8ab]	[9ab]	[10]	[11]	[12]	[13]	[14]	[15]	[16]	[17]	[18]	[19]	[20a]	[20b]	[21a]	[21b]
<i>A. chittagonga</i> Zweige	-	-	X (90%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X (12%)	-	-	-
<i>A. cordata</i> Zweige	-	-	-	-	-	-	X (38%)	X (87%)	-	-	-	X (50%)	-	-	-	-	X (22%)	-	X (38%)	-	-	-
<i>A. cucullata</i> Zweige	-	-	X (91%)	-	-	-	-	X (81%)	-	-	-	-	-	-	?	?	X (10%)	-	X (22%)	X (43%)	-	-
<i>A. dasyclada</i> Rinde	-	-	X (14%)	X (91%)	-	X (81%)	X (95%)	X (91%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. duppereana</i> Blätter	-	-	X (91%)	-	-	-	-	-	X (70%)	X (55%)	X (59%)	X (25%)	-	-	-	-	X (37%)	X (25%)	-	-	-	-
<i>A. duppereana</i> Blüten	-	-	X (91%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. duppereana</i> Rinde	-	-	X (49%)	X (91%)	-	X (95%)	X (95%)	X (76%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X (83%)	X (45%)	-	-
<i>A. duppereana</i> Wurzeln	-	-	X (35%)	X (94%)	-	X (91%)	X (91%)	X (91%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X (90%)	X (10%)	-	-
<i>A. duppereana</i> Zweige	-	-	X (64%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. euphoroides</i> Blätter	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X (11%)	-	X (83%)	-	-	-	-	-	X (50%)	-	-
<i>A. euphoroides</i> Früchte	-	-	-	X (47%)	-	-	X (91%)	X (80%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. ignea</i> Rinde	X (95%)	-	X (95%)	X (95%)	-	X (95%)	X (95%)	X (87%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X (52%)	-	-	-
<i>A. macrocarpa</i> Rinde	-	-	-	-	-	-	X (83%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X (27%)	-	-	-
<i>A. odorata</i> Blätter	-	-	-	-	-	-	-	X (27%)	X (43%)	X (49%)	X (74%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. perviridis</i> Zweige	-	-	-	-	-	-	-	X (90%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X (22%)	-	-	-
<i>A. pleuroptiris</i> Zweige	-	-	X (38%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X (38%)	?	X (55%)	X (96%)
<i>A. polysticha</i> Blätter	-	-	-	-	-	-	-	-	X (68%)	X (93%)	X (91%)	-	-	-	-	-	X (35%)	X (27%)	-	-	-	-
<i>A. polysticha</i> Rinde	-	-	X (43%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X (49%)	X (58%)	-	-
<i>A. rivularis</i> Rinde	-	-	X (87%)	X (83%)	-	X (93%)	-	X (59%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. tsangii</i> Blätter	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X (91%)	?	X (93%)	-	-	X (99%)	X (99%)	-	X (49%)	-	-

Die Übereinstimmung der jeweiligen Massenspektren mit denen der Referenzsubstanzen (bestimmt durch die Software) ist in Prozent angegeben.  
Die Retentionszeiten stimmen mit denen der Referenzsubstanzen überein.

Dammarangemisch **[9ab]** und das Steroid **[20a]** in detektierbarer Konzentration. Neben den aus diesem Extrakt isolierten Steroiden ist in den Zweigen von *A. pleuroptiris* das Secodammaran **[3]** nachweisbar. Die Blätter von *A. polysticha* beinhalten die Dammarane **[10]**, **[11]** und **[12]** und die beiden Lupane **[18]** und **[19]**. In der Rinde dieser *Aglaia*-Art dagegen sind die beiden Steroide **[20a]** und **[20b]** und das Secodammaran **[3]** zu finden. Die Rinde von *A. rivularis* zeigt Signale für die Secodammarane **[3]**, **[4]** und **[7]** und das Dammarangemisch **[9ab]**. Die Blätter von *A. tsangii* schließlich zeigen im GCMS-Screening neben den aus diesem Extrakt isolierten Verbindungen zusätzlich Signale für das Nor-Cycloartan **[13]** und das Steroid **[20b]**.

### 3.3. Ergebnisse der Untersuchungen zur biologischen Aktivität

Verschiedene Tests auf eine mögliche biologische Aktivität wurden an einigen der isolierten Naturstoffe durchgeführt. Welche Tests mit welchen Verbindungen durchgeführt wurden, hing dabei von der verfügbaren Substanzmenge und den jeweiligen Gelegenheiten für die Tests in kooperierenden Instituten ab.

#### 3.3.1. Test auf insektizide Aktivität

Auf eine mögliche insektizide Aktivität an *Spodoptera littoralis* konnte nur das Secodammaran [1] getestet werden, welches in großer Menge zur Verfügung stand. 0.5 mg bzw. 1.0 mg wurden der artifiziellen Diät beigemischt. Selbst in dieser relativ hohen Konzentration konnte keine Aktivität festgestellt werden und die Wachstumsraten der Versuchstiere lagen im Bereich der Kontrollen.

#### 3.3.2. Test auf antibiotische Aktivität

Auf eine antibiotische Aktivität bezüglich der Stämme BS, CA, EC und SA wurden die Secodammarane [1], [3] und [5], sowie die Lignane [28] und [29] getestet. Die Tabelle 3.17. zeigt die Ergebnisse der Tests, namentlich die Durchmesser der Hemmhöfe der getesteten Naturstoffe.

**Tabelle 3.17.: Durchschnittliche Hemmhöfe [Durchmesser in mm] der auf antibiotische Aktivität getesteten Naturstoffe.**

Verbindung	BS		CA		EC		SA	
	12.5 µg	25 µg	12.5 µg	25 µg	12.5 µg	25 µg	12.5 µg	25 µg
[1] (n=3)	11.3 ± 1.2	15.0 ± 2.0	15.0 ± 0.0	15.0 ± 0.0	11.0 ± 1.7	15.0 ± 0.0	5.7 ± 5.1	10.0 ± 0.0
[3] (n=1)	12	12	15	15	10	10	7	10
[5] (n=2)	13.5 ± 2.1	15.0 ± 2.1	15.0 ± 0.0	15.0 ± 0.0	13.5 ± 2.1	15.0 ± 0.0	5.0 ± 7.1	10.0 ± 0.0
[28] (n=1)	0	0	0	0	0	0	0	7
[29] (n=1)	0	7	0	0	0	10	7	0

Wie die Tabelle 3.17. zeigt, konnte für die beiden Lignane [28] und [29] keine signifikante antibiotische Aktivität gefunden werden. Da bei Verbindung [29] ein positives Ergebnis nur in der geringeren Ladekonzentration zu beobachten ist, muss davon ausgegangen werden, dass auch die anderen positiven Ergebnisse mit ähnlichem Betrag bei nur einem Versuch nicht vertrauenswürdig sind. Unter diesem Aspekt müssen auch die positiven Ergebnisse für Verbindung [3] betrachtet werden. Hier ist hinsichtlich der Wirksamkeit in Abhängigkeit von der Ladekonzentration, mit Ausnahme dem Versuch an *Staphylococcus aureus* (SA), kein Unterschied zu beobachten. Bei jeweils drei Wiederholungen zeigt Verbindung [1] für *Bacillus subtilis* (BS), *Escherichia coli* (EC) und *Staphylococcus aureus* eine Abhängigkeit der Wirkung von der Ladekonzentration. Der hohe Wert für die Standardabweichung beim Test der geringen Konzentration an *Staphylococcus aureus* suggeriert, dass man hier von keinem Positivergebnis sprechen kann. Beim Test an *Candida albicans* (CA) zeichnet sich in diesem Konzentrationsbereich keine Abhängigkeit von der Ladekonzentration ab. Ein vergleichbares Ergebnis ist für Verbindung [2] zu beobachten. Auch hier scheint die Wirkung an *Candida albicans* im getesteten Bereich nicht konzentrationsabhängig zu sein. Die hohe Standardabweichung des Durchmessers der Hemmhöfe an *Staphylococcus aureus* in der Ladekonzentration 12.5 µg spricht auch bei diesem Derivat dafür, dass hier ein falsch-positives Ergebnis vorliegt. Für *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus* ist jedoch auch hier eine Konzentrationsabhängigkeit zu registrieren.

### 3.3.3. Test auf Zytotoxizität

Die Ergebnisse der Tests auf Zytotoxizität auf drei verschiedene Tumorzell-Linien sind in der Tabelle 3.18. zusammengestellt. Die Tabelle zeigt die Wachstumshemmung in Prozent im Vergleich zu Kontrollen ohne die Applikation eines potentiellen Wachstumsinhibitors.

**Tabelle 3.18.: Wachstumshemmung in % nach Applikation der getesteten Naturstoffe**

Verbindung	L5178Y		HeLa		PC12	
	3µg/ml	10µg/ml	3µg/ml	10µg/ml	3µg/ml	10µg/ml
[1]	44	83	0	0	0	0
[3]	0	51	0	0	0	0
[5]	0	0	0	0	0	0

Wie die Tabelle 3.18. zeigt, konnte eine Wachstumshemmung nur gegenüber der Zell-Linie L5178 gefunden werden. Eine Aktivität zeigten auch hier nur die beiden Derivate [1] und [3]. Die Verbindung [5] bewirkte keine Wachstumshemmung der drei verschiedenen Tumor-Zell-Linien.

### **3.3.4. Test auf fungizide Aktivität**

Der Filterpapiertest der Verbindungen [2-5] und [7-19] mit einer Ladekonzentration von 75 µg an den pflanzenpathogenen Pilzen *Cladosporium herbarum* und *C. cucumerinum* verliefen für alle Derivate negativ.

Von den an *Cladosporium herbarum* mittels autobiographischem Test auf einer Dünnschichtchromatographie-Platte getesteten Secodammaranen [1], [3], [4] und [5] zeigte bei einer Ladekonzentration von 10 µg nur Verbindung [1] einen Hemmhof auf der Platte.

Bei der Bestimmung der minimalen Inhibierungskonzentration mittels Verdünnungsreihe ergaben sich für Verbindung [1] Werte von 90 ppm bzw. 34.1 ppm gegenüber den pflanzenpathogenen Pilzen *Cladosporium herbarum* bzw. *C. cucumerinum*. Nystatin diente als Positivkontrolle und lieferte eine minimale Inhibierungskonzentration von 1.06 ppm.

### **3.3.5. Test auf antivirale versus zytotoxische Aktivität**

Da die in diesem Abschnitt präsentierten Daten nicht aus eigenen Messungen stammen und hier nur zum Teil als Originaldaten vorliegen, können die Standardabweichungen der Rohdaten nicht dargestellt werden. Die Ergebnisse wurden durch Dr. Charles Esimone vom Institut für Molekulare und Medizinische Virologie der Rhein-Ruhr Universität Bochum mitgeteilt. In der Regel stellen die präsentierten Werte Mittelwerte aus drei Wiederholungen dar (Esimone, pers. Mitteilung).

### 3.3.5.1. Screening der Verbindungen am lentiviralen HIV-1-Vektor (Vicl2dSB) und HeLa-Zellen

Die Tabelle 3.19. zeigt das Ergebnis des Screenings am lentiviralen HIV-1-Vektor (Vicl2dSB) der getesteten Triterpene [1-5] und [7-19]. Die IC<sub>50</sub>- bzw. TC<sub>50</sub>-Werte ergeben sich aus der Geradengleichung nach den Ergebnissen der Luciferase-Aktivitäts- Bestimmung bei drei verschiedenen Konzentrationen (2µg/ml, 10µg/ml und 40µg/ml).

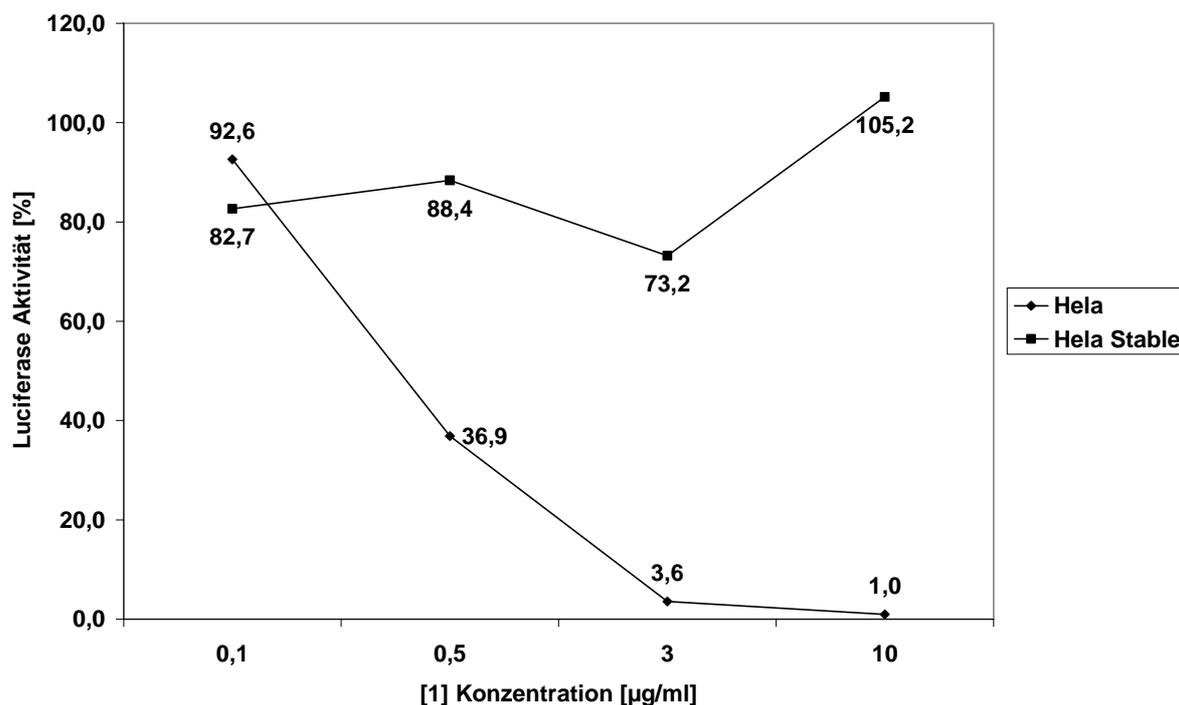
**Tabelle 3.19.: Durchschnittliche Ergebnisse (n=3) des Screenings auf antivirale und zytotoxische Aktivität gegenüber dem lentiviralen HIV-1-Vektor (Vicl2dSB) bzw. HeLa-Zellen.**

Verbindung	IC <sub>50</sub> [µg/ml]	TC <sub>50</sub> [µg/ml]	S.I.
[1]	4.8	39.7	8.3
[2]	26.5	12.7	0.5
[3]	60.0	107.1	1.8
[4]	93.7	ND	ND
[5]	22.4	27.1	1.2
[7]	35.4	51.8	1.5
[8ab]	30.6	12.8	0.4
[9ab]	15.8	22.2	1.4
[10]	16.1	30.3	1.9
[11]	14.6	15.8	1.1
[12]	27.9	74.4	2.7
[13]	162.6	ND	ND
[14]	83.2	32.1	0.4
[15]	69.9	34.3	0.5
[16]	16.0	23.4	1.5
[17]	29.3	31.3	1.1
[18]	35.9	41.4	1.2
[19]	34.1	40.5	1.2

S.I.: Selektivitätsindex: Quotient aus TC<sub>50</sub> und IC<sub>50</sub>; ND: keine Toxizität detektiert  
 IC<sub>50</sub>: 50% Reduktion der Virulenz; TC<sub>50</sub>: 50% Reduktion der Zellvitalität

Der Selektivitätsindex (S.I.), der sich aus dem Quotienten aus TC<sub>50</sub> und IC<sub>50</sub> ergibt und die Selektivität der antiviralen Aktivität veranschaulicht, indiziert mit einem Wert von 8.3 v.a. für Verbindung [1] eine hohe Selektivität bei einer relativ starken antiviralen Aktivität mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 4.8 µg/ml und rechtfertigt eine nähere Untersuchung dieses Derivates.

Die Abbildung 3.59. zeigt exemplarisch die graphische Darstellung der Ergebnisse eines von 5 Versuchen mit der Verbindung [1] am lentiviralen Vektor Vici2dSB. Gezeigt ist die durchschnittliche Luciferaseaktivität (n=3) der HeLa und HeLa-„stable“-Zelllinie bei vier verschiedenen Konzentrationen. Die anderen vier Experimente zeigen denselben Trend, können aber wegen geringfügiger Versuchsmodifikationen nicht in die Graphik und zur Mittelwertbestimmung berücksichtigt werden (Esimone, pers. Mitteilung).



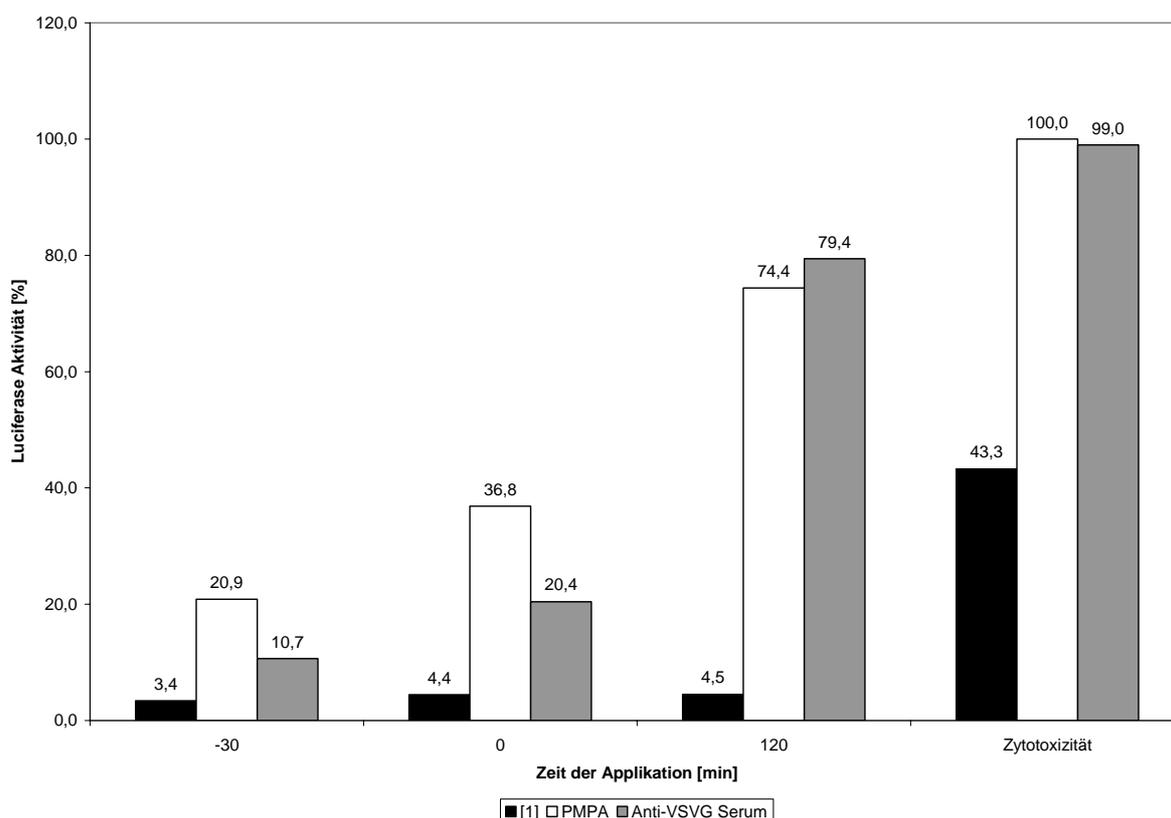
**Abbildung 3.59.: Luciferase-Aktivität der HeLa- (Luciferaseaktivität vektorinduziert) und HeLa-„stable“-Zelllinien (eigene Luciferaseaktivität) nach Infektion mit dem lentiviralen Vektor Vici2dSB nach Applikation der Verbindung [1] in verschiedenen Konzentrationen (Mittelwert aus n=3)**

Wie die Abbildung 3.59. zeigt, ist bei steigender Konzentration der Verbindung [1] eine deutliche Abnahme der Luciferase-Aktivität und damit eine Hemmung des viralen Vektors zu verzeichnen, während sich hinsichtlich der Zytotoxizität gegenüber der Zelllinie in diesem Konzentrationsbereich der Trend nicht widerspiegelt.

Mit über 70 Prozent der Luciferase-Aktivität im Vergleich zu den Kontrollen (100%) bei allen vier getesteten Konzentrationen ist die Zytotoxizität gegenüber der HeLa-„stable“-Zelllinie relativ gering.

### 3.3.5.2. Kinetische Studien am lentiviralen HIV-1-Vektor (Vicl2dSB)

In der Abbildung 3.60. werden die Ergebnisse der kinetischen Studien bei Applikation der Verbindung [1] zu verschiedenen Zeiten dargestellt und mit der Wirkung des RT-Inhibitors PMPA und des Anti-VSVG-Serums hinsichtlich der antiviralen und zytotoxischen Wirkung gegenüber der HeLa- bzw. HeLa-„stable“-Zelllinie verglichen. Die Balken zeigen die durchschnittliche Luciferase-Aktivität aus jeweils drei Replikaten.

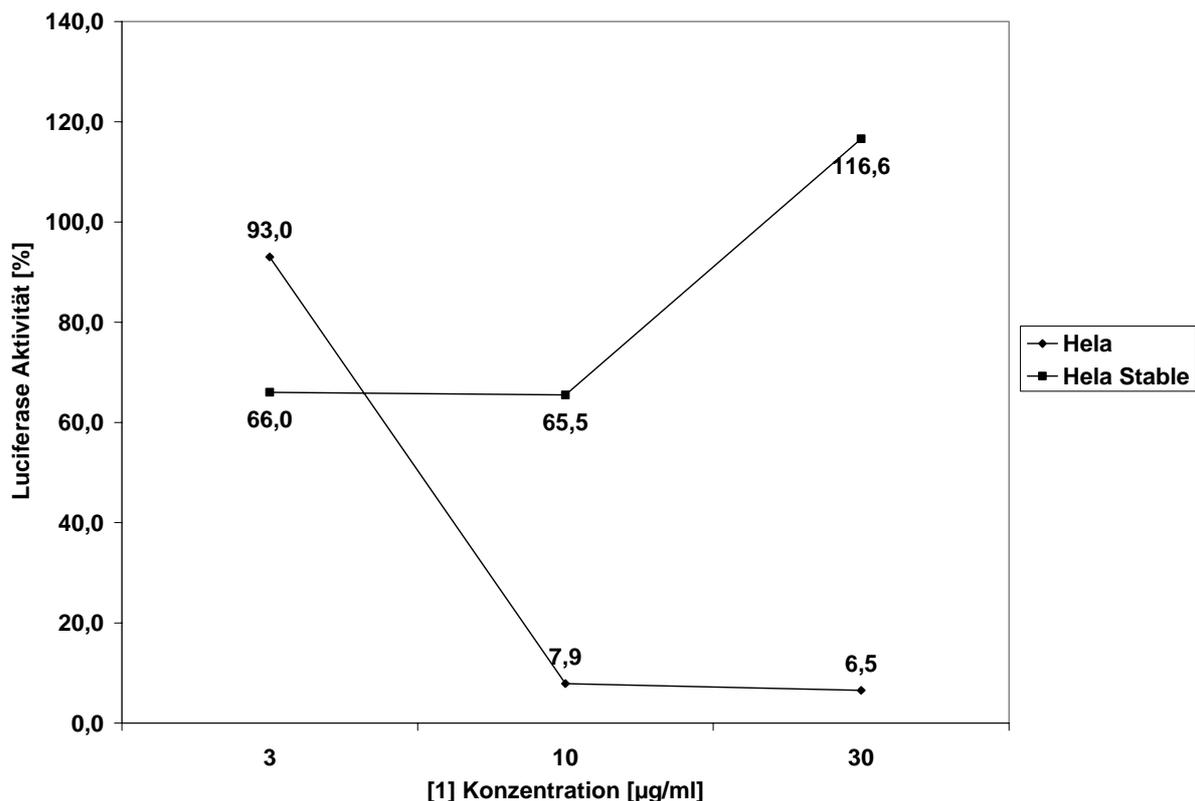


**Abbildung 3.60.: Luciferase-Aktivität der HeLa- und HeLa-„stable“-Zelllinien in Abhängigkeit von der Zeit der Applikation der Verbindungen [1] (3µg/ml), PMPA (0.5µM) und des Anti-VSVG-Serum (1:100) (Mittelwert aus n=3)**

Bei dem Standardprotokoll mit 30 minütiger Präinkubation des Vektors mit der Substanz ( $t = -30$  min), bei gleichzeitiger Applikation der Probe und des Vektors ( $t = 0$  min) und bei der Zugabe der Substanz nach 2-stündiger Infektion der Zellen mit dem viralen Vektor ( $t = 120$  min) zeigt die Verbindung [1] in der Konzentration  $3\mu\text{g/ml}$  jeweils eine starke Reduktion der Luciferase-Aktivität. Das PMPA und das Anti-VSVG-Serum bewirken v.a. bei einer bereits erfolgten Infektion über 2 Stunden kaum noch eine Reduktion der Luciferase-Aktivität (siehe Abbildung 3.60.). In den getesteten Konzentrationen ist die antivirale Aktivität der Verbindung [1] bei allen drei Ansätzen absolut gesehen höher als bei dem RT-Inhibitor PMPA und dem Anti-VSVG-Serum. Dagegen ist die Zytotoxizität der Verbindung [1] gegenüber der HeLa-„stable“-Zelllinie deutlich geringer.

### **3.3.5.3. Test am adenoviralen Vektor (AdOW126)**

Die Abbildung 3.61. stellt die inhibitorische Aktivität der Verbindung [1] gegenüber dem adenoviralen Vektor (AdOW126) dar. Auch hier ist eine konzentrationsabhängige Reduktion der Luciferase-Aktivität der HeLa-Zelllinie zu verzeichnen, während die HeLa-„stable“-Zelllinie bei steigender Konzentration nicht negativ beeinflusst erscheint. Das spricht auch bei diesem Vektor für eine selektive Inhibierung durch die Verbindung [1], während sich im getesteten Konzentrationsbereich keine konzentrationsabhängige Zytotoxizität abzeichnet (siehe Abbildung 3.61.). Die Zytotoxizität der Verbindung [1] gegenüber der HeLa-„stable“-Zelllinie ist mit über 60 Prozent Luciferase-Aktivität im Vergleich zu den Kontrollen (100%) bei allen drei applizierten Konzentrationen wie oben vergleichsweise gering.

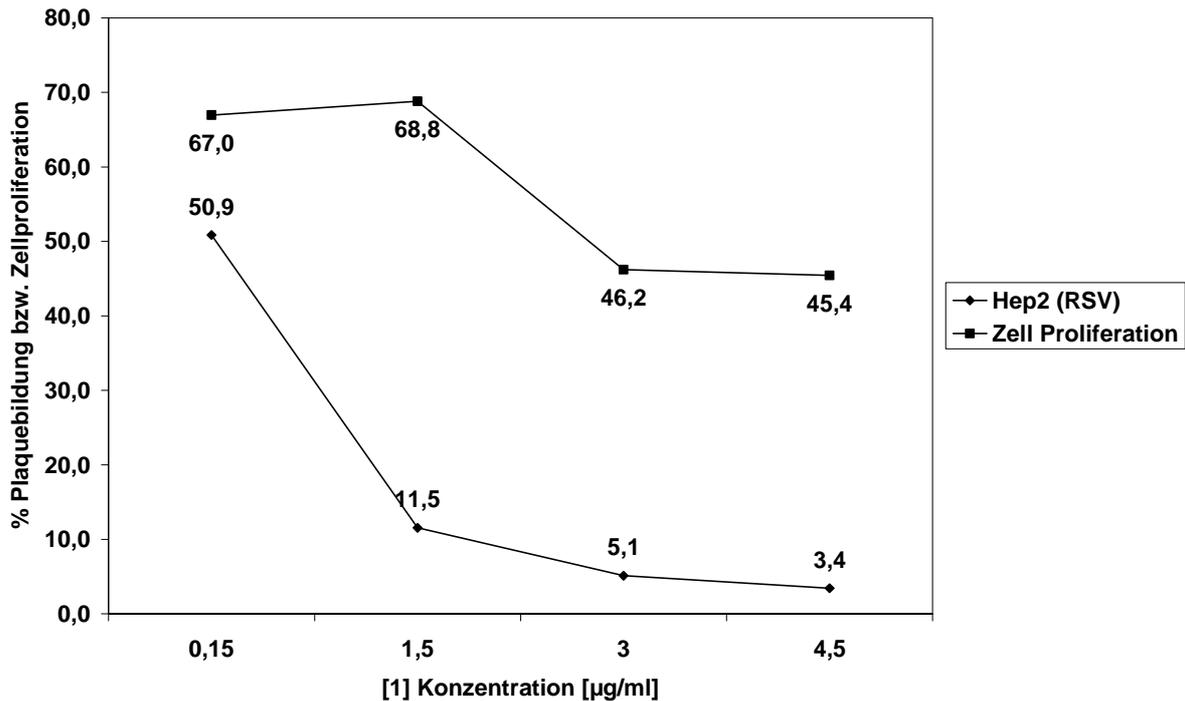


**Abbildung 3.61.: Luciferase-Aktivität der HeLa- und HeLa-„stable“-Zelllinien nach Infektion mit dem adenoviralen Vektor AdOW126 nach Applikation der Verbindung [1] in verschiedenen Konzentrationen**

#### 3.3.5.4. Test am Respiratorischen Syncytialen Virus (RSV) und Hep-2-Zellen

Auch gegenüber dem Respiratorischen Syncytialen Virus (RSV) zeigt die Verbindung [1] eine konzentrationsabhängige Inhibition, während die Zytotoxizität im getesteten Konzentrationsbereich relativ gering ist (siehe Abbildung 3.62.).

Wie die Abbildung 3.62. zeigt, reduziert sich bei steigender Konzentration der Verbindung [1] die Plauebildung als Anzeichen für die antivirale Aktivität in stärkerem Maße als die Zellproliferation als Maß für die Zytotoxizität gegenüber der Zelllinie.

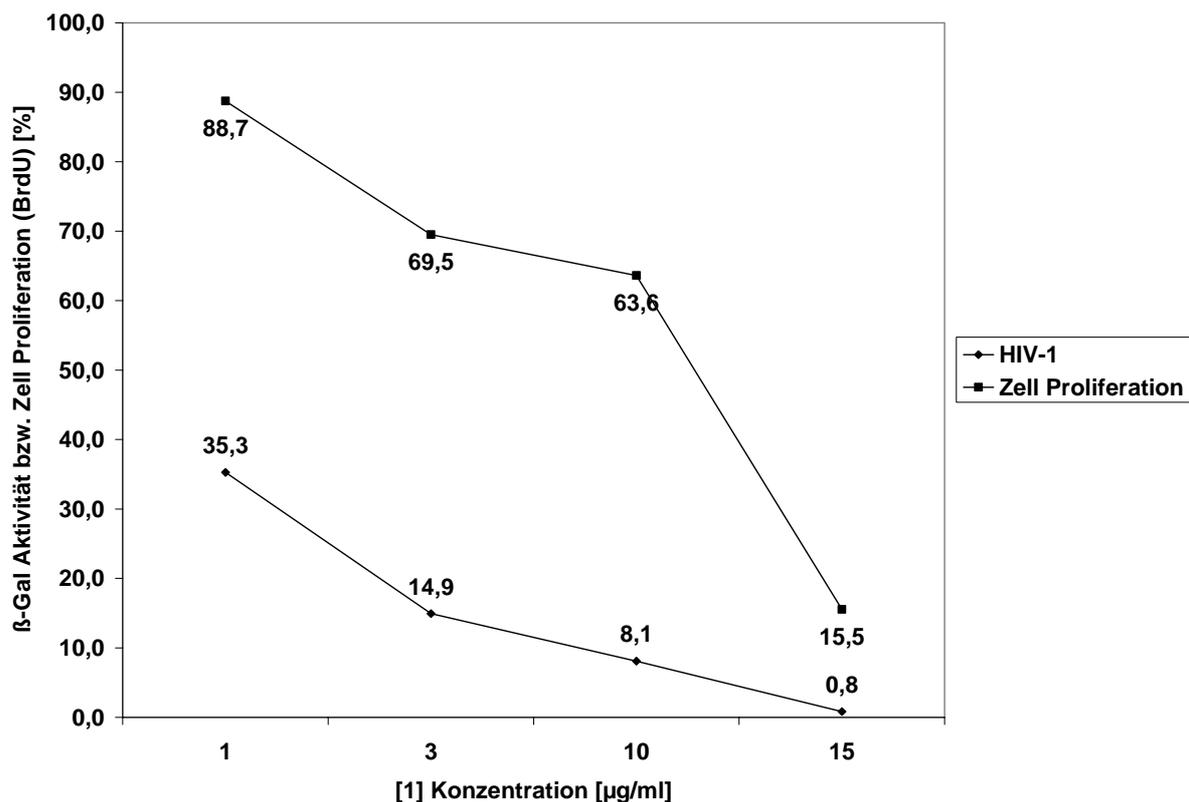


**Abbildung 3.62.: Prozentuale Plaquebildung (antivirale Aktivität gegenüber RSV) bzw. Zellproliferation (Zytotoxizität) im Vergleich zu Kontrollen nach Applikation der Verbindung [1] in verschiedenen Konzentrationen (Mittelwert aus n=3)**

### 3.3.5.5. Test am HIV-1-Wildtyp und der P4CCR5-Zelllinie

Auch gegenüber dem HIV-1-Wildtyp besteht für die Verbindung [1] eine konzentrationsabhängige Aktivität, wie die Abbildung 3.63. zeigt.

Hier ist im Gegensatz zu den Experimenten an den anderen viralen Vektoren eine deutliche konzentrationsabhängige Zunahme der Zytotoxizität der Verbindung [1] gegenüber der Zelllinie zu verzeichnen.

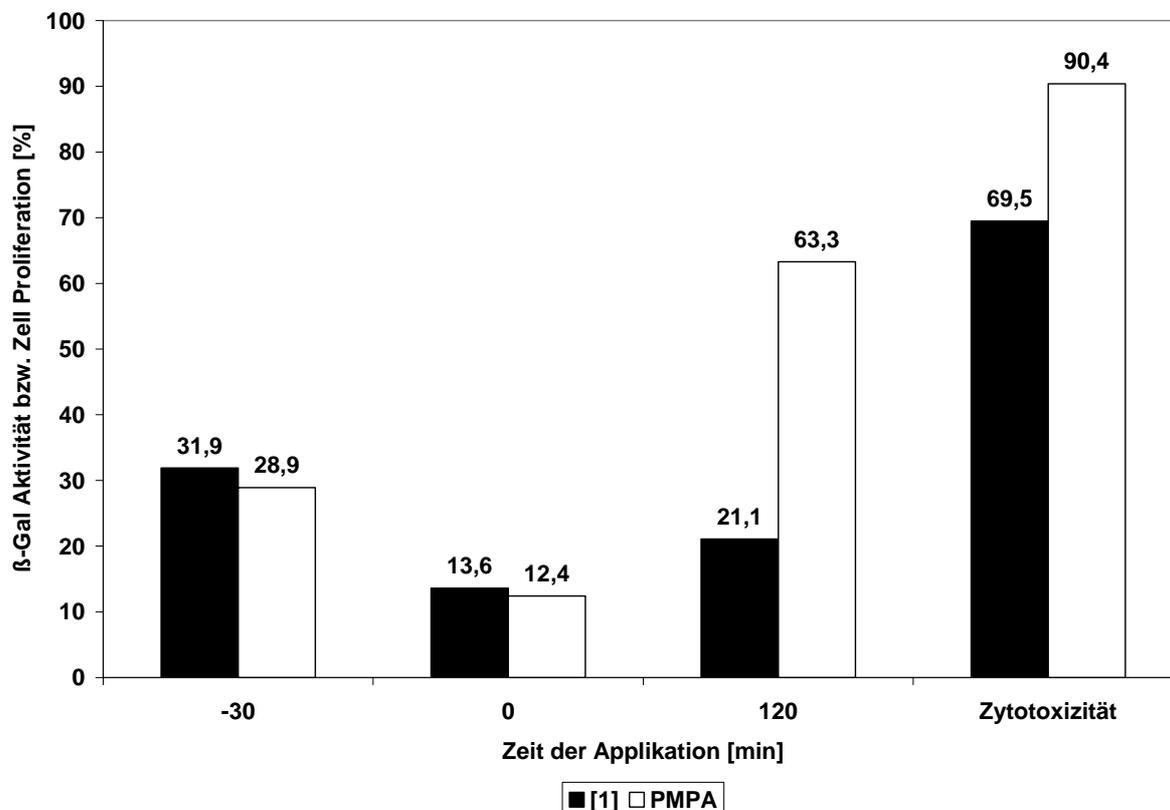


**Abbildung 3.63.: Konzentrationsabhängige  $\beta$ -Galactosidase-Aktivität als Indikator der antiviralen Aktivität gegenüber dem HIV-1-Wildtyp im Vergleich zur Zytotoxizität gemessen in der Reduktion der Zellproliferation der P4CCR5-Zelllinie (BrdU-Test) (Mittelwerte aus n=3)**

Die Abbildung 3.64. zeigt die Abhängigkeit der viralen Infektion nach Applikation der Verbindung [1] bzw. des RT-Inhibitors PMPA von der Zeit der Zugabe der Substanzen.

Die Zytotoxizität des PMPA ( $5\mu\text{M}$ ) gegenüber der P4CCR5-Zelllinie ist in den verwendeten Konzentrationen deutlich stärker als die der Verbindung [1] ( $3\mu\text{g/ml}$ ). Bei einer 30-minütigen Präinkubation des Virus mit der Verbindung [1] vor der Applikation zur Zelllinie ( $t = -30$  min) sowie bei der gleichzeitigen Zugabe des Virus und der Substanz zur Zelllinie ( $t = 0$  min) zeigen die getestete Verbindung [1] und das PMPA ähnliche Werte der  $\beta$ -Gal-Aktivität und damit eine vergleichbare antivirale Aktivität in den getesteten Konzentrationen. Bei einer Infektion der Zellen mit dem Virus über den Zeitraum von 2 Stunden ( $t = 120$  min) vor der Behandlung mit der Verbindung [1] bzw. dem PMPA zeigt der RT-Inhibitor kaum noch eine

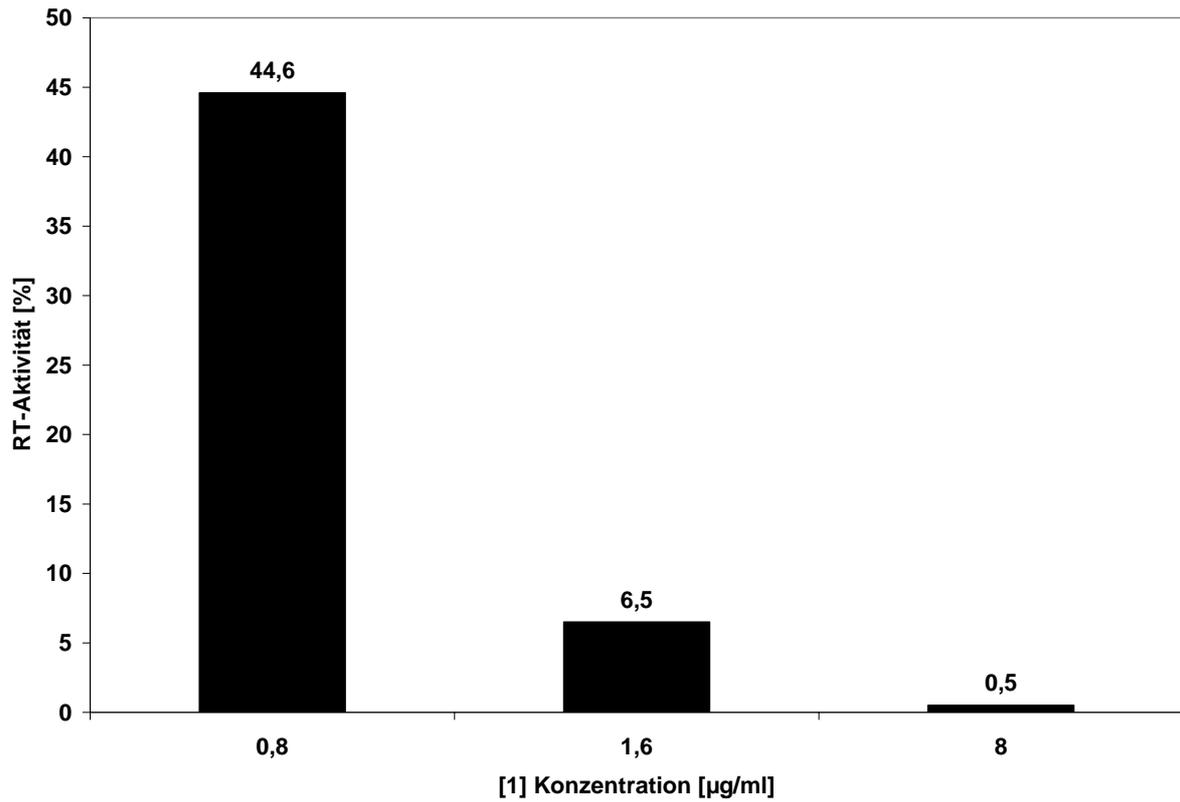
Reduktion der viralen Infektion gemessen in der  $\beta$ -Gal-Aktivität, während die Verbindung [1] bei dieser Applikationszeit immer noch eine Aktivität indiziert.



**Abbildung 3.64.: Reduktion der Virulenz ( $\beta$ -Gal) bzw. der Zell-Proliferation (BrdU) der P4CCR5-Zelllinie bei Applikation der Verbindung [1] in der Konzentration  $3\mu\text{g/ml}$  bzw. des PMPA ( $5\mu\text{M}$ ) zu verschiedenen Zeiten**

### 3.3.5.6. In vitro Test an Reverser Transcriptase (RT)

Die Abbildung 3.65. zeigt schließlich die Aktivität der Reversen Transkriptase im HIV-1-Vektor (Vicl2dSB) nach Applikation der Verbindung [1] im Vergleich zu Kontrollen ohne Zugabe der aktiven Substanz [1]. Die Aktivität des Enzyms nimmt bei zunehmender Konzentration der Dammarenolsäure deutlich ab.



**Abbildung 3.65.: Konzentrationsabhängige Reduktion der Aktivität der Reversen Transkriptase durch die Verbindung [1]**

## 4. Diskussion

### 4.1. Vermutete Biogenetische Zusammenhänge der isolierten Triterpene

Die Vielfalt der Verbindungen verwandter Strukturen, die in dieser Arbeit isoliert und strukturell aufgeklärt wurden, wirft die Frage nach den möglichen biogenetischen Zusammenhängen zwischen den verschiedenen Derivaten auf.

Die biogenetischen Zusammenhänge der Triterpene werden beispielsweise von Dewick [2002] dargestellt und sollen hier kurz für die in dieser Arbeit relevanten Strukturen (Dammarane, Cycloartane, Lupane und Tirucallane) zusammengefasst werden (siehe Abbildung 4.1.). Ausgehend von der noch linearen Verbindung Squalen kommt es über das Squalen-2-3-oxid zu einer Serie von Zyklisierungen und Wagner-Meerwein-Umlagerungen von Methylgruppen und Hydriden. Die Zyklisierungen werden von Carbokationen vermittelt und verlaufen schrittweise. Das erste Carbokation wird durch die Protonierung der Epoxidgruppe des Squalenoxids generiert. Durch eine elektrophile Addition an die benachbarte Doppelbindung kommt es zur Ausbildung eines sechsgliedrigen Ringes und zur Ausbildung eines neuen tertiären Carbokations. Dieser Prozess läuft noch zweimal ab, jeweils unter Ausbildung des tertiären Carbokations. So entsteht als dritter Ring ein fünfgliedriger Ring. Dieser wird über eine Wagner-Meerwein-Umlagerung (eine 1,2-Alkylverschiebung) zu einem sechsgliedrigen Ring erweitert. Dadurch entsteht aus dem tertiären ein sekundäres Carbokation. Eine weitere elektrophile Addition führt zur Bildung des tertiären Protosterylkatons (siehe Abbildung 4.1.).

Die Stereochemie wird bestimmt durch die Art der Faltung des Moleküls auf der Enzymoberfläche. Wenn das Squalenoxid in einer Sessel-Boot-Sessel-Boot-Konformation gefaltet vorliegt, dann entsteht auch ein Protosteryl-Kation mit der entsprechenden Konformation. Das Kation erfährt dann eine Serie von Wagner-Meerwein-1,2-Verschiebungen von Hydriden und Methylgruppen. In Pflanzen entsteht schließlich Cycloartenol (siehe Abbildung 4.1.). Dieses trägt einen Cyclopropanring. Das Proton an C-9 wandert dabei zu C-8, das entstehende Carbokation wird gesättigt durch Cyclopropanbildung, während die Methylgruppe an C-10 ein Proton verliert.

Bei der Umsetzung des Squalenoxids durch einen anderen Cyclase-Enzym-Typ, welcher eine Sessel-Sessel-Sessel-Boot-Konformation begünstigt, entsteht ein Dammarenyl-Kation mit entsprechend anderen stereochemischen Eigenschaften als beim Protosteryl-Kation.

# Diskussion

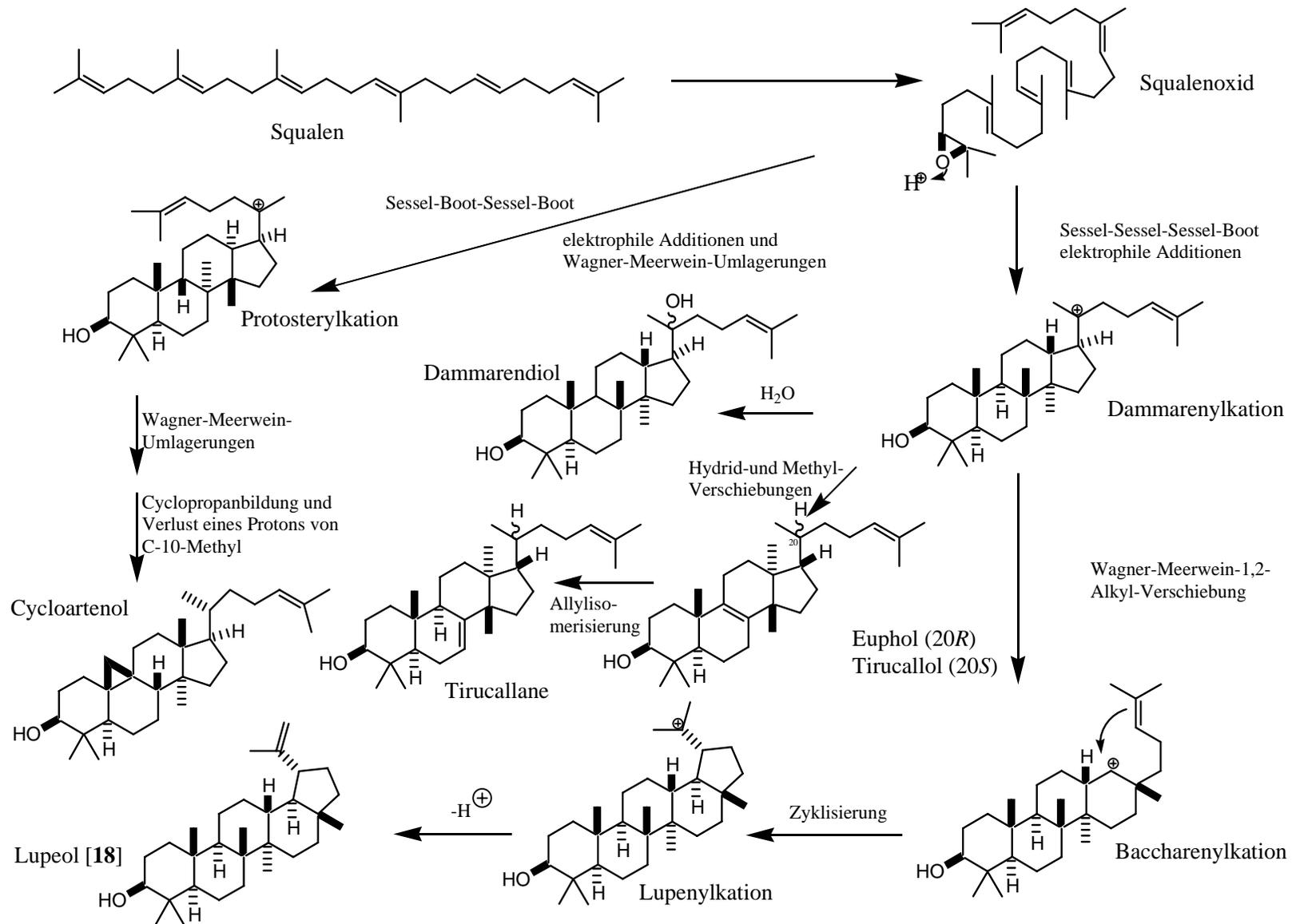


Abbildung 4.1.: Biogenetischer Zusammenhang der isolierten Triterpenklassen (erstellt nach Dewick [2002])

Normalerweise erfährt das Dammarenyl-Kation lediglich Carbokation-vermittelte Zyklisierungen ohne weitere Wagner-Meerwein-Umlagerungen. Durch Sättigung des Dammarenyl-Kations mit Wasser kann das epimere Dammarendiol entstehen (siehe Abbildung 4.1.).

Alternativ kann sich durch die Ausbildung eines sechsgliedrigen Ringes, durch Verringerung der Ringspannung aber auf Kosten des tertiären Carbokations, ein sekundäres Baccharenyl-Kation ausbilden (siehe Abbildung 4.1.). Anschließend kann sich ein pentazyklisches Ringsystem mit einem neuen fünfgliedrigen Ring durch Zyklisierung über die Doppelbindung bilden. Auf diese Weise entsteht das tertiäre Lupenyl-Kation. Der Verlust eines Protons führt zur Bildung des Lupeols (Verbindung **[18]**).

Wenn es, anders als oben bei der Bildung des Dammarendiols geschildert doch zu Hydrid- und Methyl-Verschiebungen des Dammarenyl-Kations kommt, kann Euphol oder Tirucallol (das 20*S*-Isomere) entstehen. Aus diesem kann schließlich durch Allyl-Isomerisierung der Strukturtyp der Tirucallane entstehen (siehe Abbildung 4.1.). Die Tirucallane gehören zu den modifizierten Triterpenoiden [vgl. Dewick 2002].

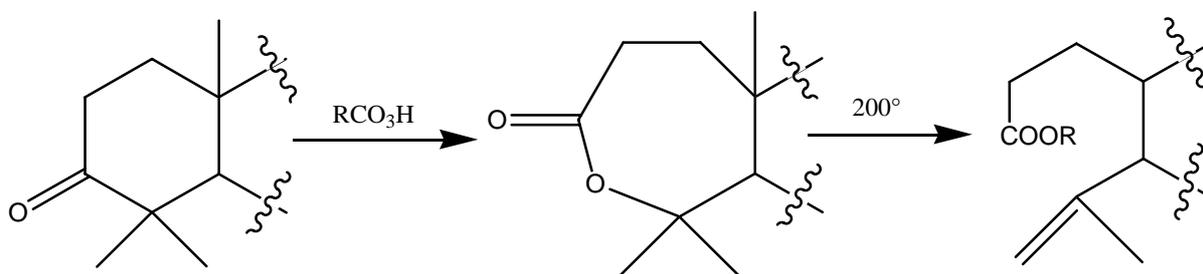
Die Abbildung 4.1. zeigt also ausgehend vom Squalen den biogenetischen Ursprung der in dieser Arbeit gefundenen Triterpenklassen, namentlich der Cycloartane, Dammaranen, Lupane und Tirucallane. Durch die weitere Modifikation von Grundstrukturen lässt sich die Entstehung der einzelnen Derivate erklären. Dabei kann nicht ausgeschlossen werden, dass es sich bei einigen Derivaten um Artefakte handelt, die erst im Zuge des Trocknens des Pflanzenmaterials bzw. während der Extraktion und Isolierung der Reinsubstanzen entstanden sind.

Da sich die Triterpene vom Squalenoxid ableiten, weisen die meisten Verbindungen ursprünglich in der Position 3 eine Hydroxylgruppe auf [z.B. Dewick 2002]. Diese Hydroxylgruppe kann aber verschiedene Reaktionen eingehen und in abgewandelter Form vorliegen. So kann es oxidativ zur Ausbildung einer Ketofunktion an C-3 kommen. Die Verbindungen **[9ab]**, **[11]**, **[12]**, **[16]**, **[17]** und **[19]**, die über eine 3-Ketofunktion verfügen, lassen sich auf die entsprechenden 3-OH-Verbindungen zurückführen. Im Fall der

Verbindungen [11] und [19] konnten diese Derivate (Verbindungen [10] und [18]) ebenfalls isoliert werden.

Die Verbindung [1] verfügt über die ursprüngliche Seitenkette an C-17, wie sie auch im Dammarendiol (siehe Abbildung 4.1.) vorliegt. Nun stellt sich die Frage, wie es zur Ausbildung der 3,4-Seco-Konstellation des Ringes A kommt.

Die 3,4-Secosäuren, wie im Falle der Verbindungen [1], [4] und [8ab], werden nach Rosenthal *et al.* [1965] über  $\epsilon$ -Lactone gebildet (siehe Abbildung 4.2.). Die Autoren beschreiben Experimente, in welchen sie die 3,4-Seco-Verbindungen über eine Baeyer-Villiger-Oxidation aus den entsprechenden 3-Ketonen erhalten. Sie vermuten, dass in Pilzen, in denen solche Verbindungen gefunden werden, ein „biochemischen Äquivalent“ dieser Reaktion stattfindet. In dieser Reaktion entsteht aus dem Keton durch die Wanderung der C-3-C-4-Bindung das 3,4-Seco-Lacton. Bei der Spaltung entsteht schließlich aus der  $\alpha$ -Methylgruppe die Exomethylen-Funktion [Rosenthal *et al.* 1965].

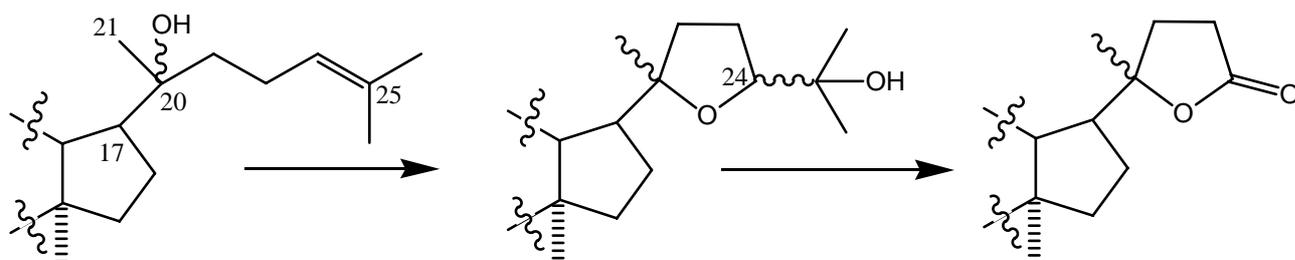


**Abbildung 4.2.: Baeyer-Villiger-Oxidation als Äquivalent zur Biosynthese der 3,4-Seco-Verbindungen**

Van der Doelen & Boon [2000] beschreiben solche Verbindungen mit Carbonsäuregruppe an C-2 und Isopropenylgruppe an C-5 auch für Harze, die als Firnis für Gemälde verwendet werden. Sie beschäftigen sich mit künstlichen Alterungsprozessen solcher Lacke. Nach den Autoren ist es nicht bekannt, ob dieser Typ der Ring-A Oxidation während der Biosynthese durch enzymatische Aktivität, nach Exkretion, oder als Ergebnis eines Alterungsprozessen geschieht. Allerdings soll nach Rao *et al.* [1975] eine Exposition unter UV-Licht zu einer derartigen Ringöffnung führen. Van der Doelen & Boon [2000] konnten dieses Ergebnis jedoch bei ähnlichem Versuchsansatz nicht reproduzieren.

Diese Frage kann hier nicht abschließend beantwortet werden. Die Tatsache, dass die 3,4-Seco-Ring-A-Säuren [1], [4] und [8ab] in sehr hohen Konzentrationen in Extrakten aus Pflanzen der Gattung *Aglaia* vorkommen, und die Tatsache, dass zumindest Verbindung [1] über eine beeindruckende antivirale Aktivität (siehe unten) verfügt und eine Akkumulierung dieser Verbindung deshalb aus ökologischer Sicht Sinn machen würde (nimmt man an, dass die Wirksamkeit auch gegenüber anderen, pflanzenpathogenen Viren besteht), deutet aber eher darauf hin, dass es sich bei diesen Verbindungen um genuine Naturstoffe handelt.

Als Beispiel für eine artifizielle Synthese mit Hilfe der Baeyer-Villiger-Oxidation führen die Autoren die Umwandlung des Dipterocarpols über das entsprechende Lacton bis zur 3,4-Seco-25,26,27-trisnor-24-oxo-4(28)-dammaran-20-ol-3,24-carbonsäure an [Rosenthal *et al.* 1965]. Bei dieser synthetischen Oxidationsreaktion bildet sich der 3,4-Secoring der Abbildung 4.2. aus. Außerdem wird die Seitenkette gemäß der Reaktion in Abbildung 4.3. lactonisiert [vgl. Rao *et al.* 1975, Van der Doelen & Boon 2000]. Bei der in dieser Arbeit isolierten Verbindung [7], handelt es sich um den Methylester dieser durch Rosenthal aus Dipterocarpol synthetisierten Substanz. Das Epimerengemisch [8ab] stellt also das Zwischenprodukt dieser oxidativen Umsetzung dar. Es ist anzunehmen, dass diese Derivate in der Pflanze ebenfalls nach diesem Reaktionsschema gebildet werden.



**Abbildung 4.3.: Oxidative Bildung der Dammaran-Seitenkette der Verbindungen [7] über Verbindungen [8ab] (bzw. [9ab]) ausgehend von Verbindung [1].**

Die Struktur der Verbindungen [9ab] lässt sich dagegen direkt auf das Dipterocarpol zurückführen, welches in der Seitenkette gemäß der von Van der Doelen & Boon [2000] vermuteten Reaktion oxidativ derivatisiert vorliegt. Das Dipterocarpol selbst stellt die 3-Ketoverbindung des Dammarendiols dar (siehe Abbildung 4.1.). Van der Doelen und Boon [2000] zeigen, dass es auch unter dem Einfluss organischer Lösungsmittel, v.a. Aceton in

Kombination mit UV-Licht zu der beschriebenen Ringbildung in der Seitenkette kommen kann. Es ist also nicht auszuschließen, dass es sich bei [8ab] und [9ab] um Artefakte handelt.

Bei den Verbindungen [2], [3], [5], [6] und [7] handelt es sich um Methylester der entsprechenden Säuren. Die Frage, ob es sich bei diesen Derivaten nicht lediglich um die während der Extraktion und Isolierung entstandenen Methylierungsprodukte der genuinen Säuren handelt, kann nicht abschließend beantwortet werden. Einige Befunde sprechen aber eher dafür, dass es sich tatsächlich um Naturstoffe handelt (s.u.).

Die Verbindung [1] wurde in heißem Methanol gelöst und unter langsamer Abkühlung innerhalb mehrerer Wochen umkristallisiert. Dennoch zeigt die anschließende Kristallographie die underivatisierte Säure und nicht den Methylester. Auch die NMR-Spektroskopie von Proben, die lange in Methanol gelöst aufbewahrt wurden, zeigt keine Methoxysignale. Leider kann auch die gaschromatographische Analyse der Hexanextrakte, die nie mit Methanol in Kontakt gekommen waren nicht weiter helfen, da hier künstlich methyliert werden musste, um eine GC-Gängigkeit zu gewährleisten. Vergleiche der Dünnschicht-Chromatogramme geben ebenfalls keine Hinweise auf Methylester in den Hexanextrakten. Die Methylester waren auch im Methanolextrakt von *A. ignea* nur in vergleichsweise geringen Konzentrationen zu finden. Es ist aber nicht auszuschließen, dass es in der Gegenwart eines im Rohextrakt vorhandenen Katalysators doch zu einer artifiziellen Methylierung kommen kann.

Die Derivatisierung des Extraktes (Acetylierung und Methylierung) führt bei Aoki *et al.* [1988] zur Umsetzung der Säuregruppe des Ringes A (Methylierung) und der Hydroxylgruppe an C-24 (Acetylierung). Wir haben aber mit der Verbindung [3] einen Methylester vorliegen, bei der die Hydroxylgruppe 24-OH nicht derivatisiert vorliegt. Bei der Verbindung [5] dagegen finden wir neben dem Methylester in Position 3 eine Methoxygruppe an C-25. Nimmt man an, dass es sich bei der Verbindung [5] um die während der Isolierung artifiziell derivatisierte Verbindung [4] handelt, die die freie Säure und eine Hydroxylgruppe an C-25 besitzt, dann stellt sich die Frage, warum nicht auch die Hydroxylgruppe der Verbindung [3] an C-24 derivatisiert vorliegt. Bei der Verbindung [5] sollte die Methylierung im Vergleich zur Verbindung [3] außerdem durch die benachbarten geminalen Methylgruppen sterisch behindert sein. Wenn allerdings die Methoxyfunktion der Verbindung [5] nicht aus Verbindung [4], sondern, gemäß dem in Abbildung 4.5. gezeigten Mechanismus,

indirekt aus Verbindung [3] hervorgeht, dann kann dieser Zusammenhang nicht als Argument gewertet werden.

Dennoch ist es aufgrund der hier aufgeführten Argumente wahrscheinlich, dass es sich bei den gefundenen Derivaten nicht um Artefakte, sondern um genuine Naturstoffe handelt.

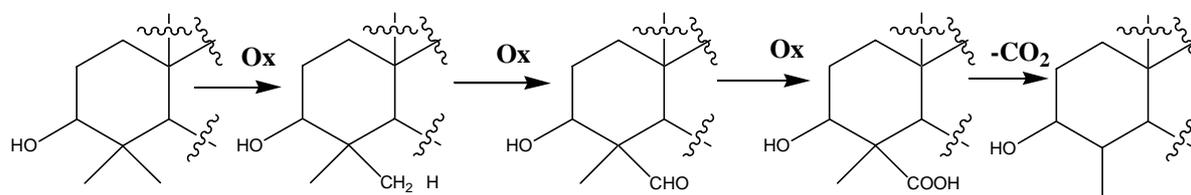
In der Abbildung 4.5. sind die angenommenen biogenetischen Mechanismen gezeigt, die zu den Epoxid- bzw. Hydroxylfunktionen in den Seitenketten der Triterpene führen könnten. Die hier dargestellten biogenetischen Zusammenhänge sind zum Teil spekulativ. Sofern es sich bei den verschiedenen Seitenketten der einzelnen Derivate nicht um Artefakte handelt, ist anzunehmen, dass i.d.R. Enzyme an den Derivatisierungen beteiligt sind. Für die dargestellten Mechanismen sind in der Abbildung 4.5. z.T. Zwischenprodukte gezeigt, für die in dieser Arbeit keine Vertreter isoliert wurden. Auch bei diesen hypothetischen Zwischenprodukten könnte es sich um tatsächliche Pflanzeninhaltsstoffe handeln, wenn die beteiligten Enzyme diese nicht umgehend umsetzen.

Ausgehend vom Protersteryl- bzw. Dammarenylkations (siehe Abbildung 4.1.) kann es, neben der Sättigung mit Wasser auch durch einen Elektronendonator zur Absättigung kommen, wodurch Derivate mit einer einzelnen Methylgruppe an C-20 entstehen, wie im Falle der Verbindung [13], [14], [15], [16] und [17]. Alternativ ist auch eine Eliminierung eines Protons denkbar, wodurch die Exomethylengruppe in dieser Position gebildet wird, wie sie in den Derivaten [10], [11] und [12] vorliegt (siehe Abbildung 4.5.). Durch Oxidation der  $\Delta^{24,25}$ -Doppelbindung wird jeweils eine Epoxidfunktion gebildet [vgl. Huang *et al.* 1999]. Auf diese Weise lässt sich die Bildung der Verbindungen [10], [11], und [15], sowie die Epoxidfunktion der Verbindung [16] erklären. Durch ein Proton entsteht ein Kation mit Hydroxylgruppe an C-24 [Huang *et al.* 1999], welches durch Addition von Wasser zur Einführung einer weiteren Hydroxylgruppe in Position 25 reagiert. So können die Seitenketten der Derivate [12] und [14] entstehen (siehe Abbildung 4.5.). Alternativ dazu kann über das Epoxid auch eine Hydroxylgruppe an C-25 gebildet werden, wie bei Nes & Schmidt [1988] gezeigt. Durch weitere Oxidation ist die Einführung einer zusätzlichen Hydroxylgruppe in Position 23 möglich, wodurch Verbindung [17] aus einem Derivat mit vergleichbarer Seitenkette wie Verbindung [14] entstehen kann. Alternativ kann die Seitenkette von [17] auch, wie oben beschrieben aus einer Seitenkette entstehen, wie sie bei [16] vorliegt. Eine Seitenkette mit Exomethylengruppe an C-25 und Hydroxylgruppe an C-24 (vgl. Verbindung [3]) könnte, wie

in Abbildung 4.5. gezeigt, einerseits aus dem 24,25-Dihydroxyprodukt durch Wassereliminierung [vgl. Nes & Schmidt 1988], oder aber durch Abspaltung eines Protons aus der Methylgruppe des Kations entstehen. Die Einführung einer  $\Delta^{23,24}$ -Doppelbindung ließe sich ebenfalls durch Wassereliminierung aus dem 24,25-Dihydroxyprodukt erklären. Eine andere Möglichkeit besteht über die Eliminierung und Wiedereinführung eines Moleküls Wasser an anderer Stelle. Auf diese Weise kann man sich die Bildung der Seitenkette der Verbindung [4] vorstellen. Die Methoxygruppe der Verbindung [5] kann formalchemisch diese Seitenkette als Ursprung haben und durch Methylierung (u.U. artifiziell) entstehen, oder aus der Zwischenstufe mit zwei Doppelbindungen durch Methanoladdition gebildet werden. Dem Hydroperoxid (Verbindung [6]) könnte ebenfalls dieses Dien zugrunde liegen (siehe Abbildung 4.5.).

Inwieweit es sich bei den gezeigten, formalchemischen Zusammenhängen um natürlich in der Pflanze ablaufende Prozesse, um postmortale Alterungsprozesse oder Artefaktbildungen handelt, lässt sich hier nicht beantworten.

Bei vielen Triterpenen kommt es durch oxidative Demethylierung zu Verlusten von Methylgruppen. Die Abbildung 4.4. zeigt den denkbaren Mechanismus dieser Synthese über eine Oxidation einer Methylgruppe bis zur Säurefunktion mit anschließender Eliminierung des Kohlenstoffes als Kohlendioxid. Eine solche Nor-Verbindung stellt auch das in *Aglaia* gefundene 31-Norcycloartenol (Verbindung [13]) dar. Ghisberti *et al.* [1969] haben den Reaktionsmechanismus anhand des 31-Norcycloartanols untersucht. Diese Verbindung unterscheidet sich lediglich durch die fehlende  $\Delta^{24,25}$ -Doppelbindung von Verbindung [13]. Nach den Ergebnissen der Autoren kommt es zum Verlust der  $4\alpha$ -Methylgruppe, während die  $4\beta$ -Methylgruppe zur  $4\alpha$ -Position invertiert wird.



**Abbildung 4.4.:** Biosyntheschema zur Eliminierung einer Methylgruppe an Ring A

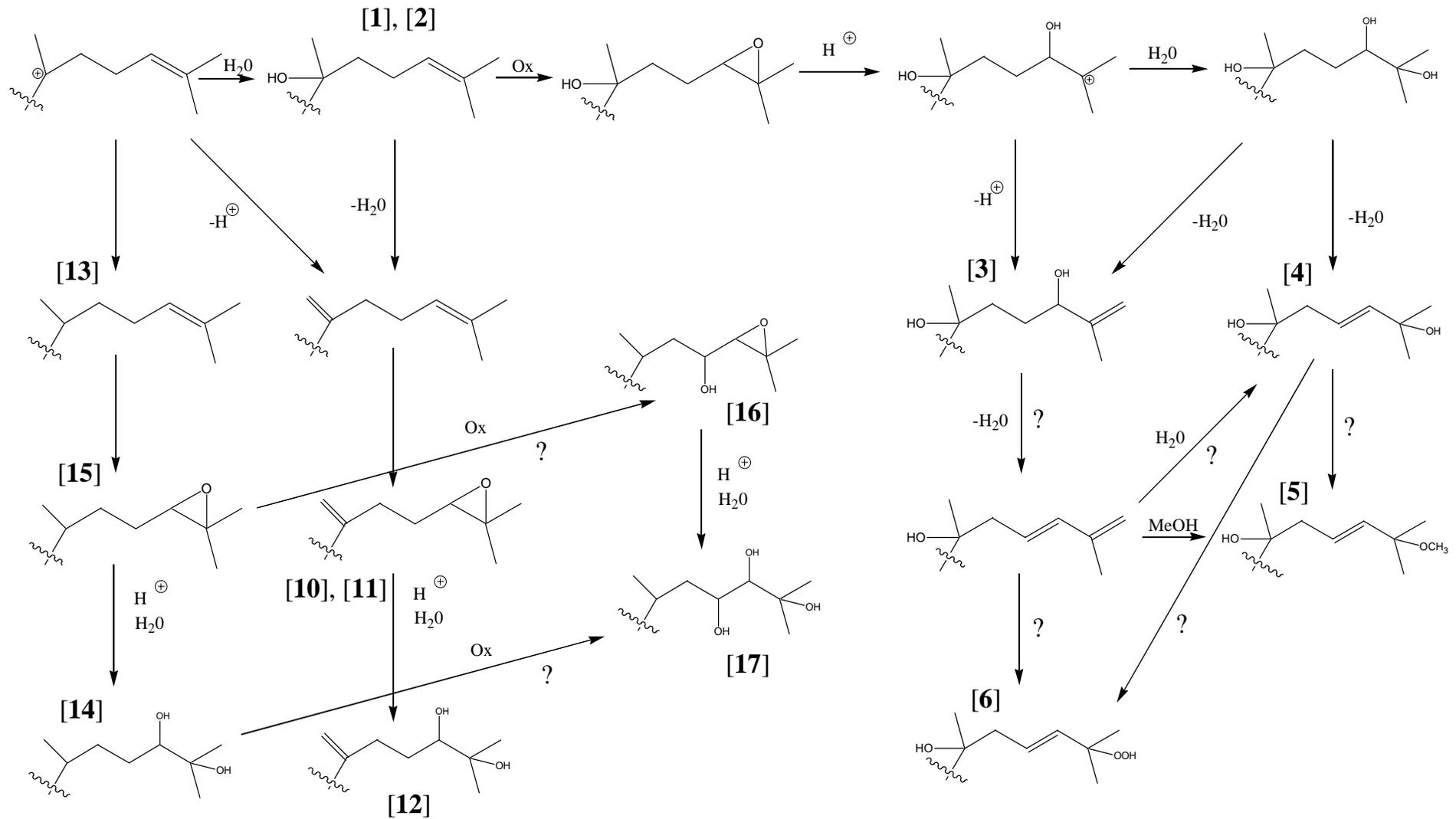


Abbildung 4.5.: Mögliche Biogenese der Seitenkette der verschiedenen in dieser Arbeit isolierten Triterpene

## 4.2. Massenspektrometrie der Triterpene

### 4.2.1. Screening der *Aglaia*-Extrakte

In dieser Arbeit ist es gelungen einen Teil der isolierten Triterpene mit Hilfe der an die Massenspektrometrie gekoppelten Gaschromatographie zu detektieren. Teilweise mussten die einzelnen Derivate, insbesondere die 3,4-Seco-Säuren derivatisiert werden, um eine GC-Gängigkeit zu erzielen. Das verwendete Methylierungsreagenz TMSH ist besonders für die Umsetzung von Carbonsäuren in die entsprechenden Methylester geeignet.

Hydroxylgruppen in der Seitenkette lassen sich offensichtlich nur zum Teil mit dem Reagenz umsetzen, was im Falle der Verbindung [4] in drei verschiedenen Signalen im Chromatogramm resultiert. Eine längere Methylierungszeit führt lediglich zur Verschiebung der Verhältnisse der auftretenden Signale. Es ist nicht gelungen die Verbindung [4] quantitativ in ein einziges Produkt zu überführen.

Die relativ stark oxidierten Verbindungen [14], [16] und [17] konnten nicht GC-gängig gemacht werden. Für Alkohole sind im Handel verschiedene andere Methylierungsreagenzien erhältlich, mit welchen es möglich sein sollte, auch diese Derivate mit Hilfe der Gaschromatographie zu detektieren. In dieser Arbeit wurden jedoch solche Experimente aus Zeitgründen nicht mehr durchgeführt.

Mit den nun zur Verfügung stehenden Massenspektren konnte schließlich eine Spektrenbibliothek erstellt werden. In Kombination mit den Retentionszeiten war es einerseits möglich die verschiedenen Verbindungen in derivatisierter Form in den Extrakten nachzuweisen, aus welchen sie in dieser Arbeit isoliert wurden. Zum anderen ermöglichte es die Spektrenbibliothek aber auch die entsprechenden Verbindungen in den Extrakten anderer Pflanzenorgane und Pflanzenarten der Gattung *Aglaia* in gewissen Konzentrationsgrenzen zu detektieren.

Es muss kritisch diskutiert werden, inwiefern die gefundenen Übereinstimmungen eine eindeutige Identifikation der Derivate ermöglicht. Bei geringeren Konzentrationen in den jeweiligen Hexan-Rohextrakten ergeben sich entsprechend schlechtere Übereinstimmungen

der Massenspektren. Zum Teil tauchen in den Spektren nur noch die Fragmente mit kleineren  $m/z$ -Werten auf, die sich bei ähnlichen Derivaten durchaus gleichen könnten. Allerdings muss das Ergebnis immer in Kombination mit der übereinstimmenden Retentionszeit bewertet werden. Diese macht eine positive Identifikation wahrscheinlich. Außerdem zeigt ein Versuch mit der Verbindung Lupeol, dass eine geringe Konzentration zu einer schwachen Übereinstimmung führt (hier nur 17%) und dass die Spektrenbibliothek in diesem Fall nur noch die fast identische Ketoverbindung Lupeon mit einer Übereinstimmung von 7 Prozent in der Trefferliste auflistet. Andere Derivate konnten aus Zeitgründen und aufgrund eines Gerätedefekts nicht mehr durchgeführt werden.

Ob nicht nachweisbare Derivate tatsächlich nicht in den untersuchten Extrakten vorkommen, oder ob sie dort nur in entsprechend geringen Konzentrationen vorkommen, die jenseits der Nachweisgrenze liegen, kann nicht ausgeschlossen werden. Zumindest das Steroid **[20b]** konnte nicht im Hexanextrakt von *A. pleuroptiris* gefunden werden, obwohl es aus dieser Pflanze isoliert wurde.

Zwischen den Derivaten **[1]** und **[2]** bzw. **[4]** und **[5]** kann nicht unterschieden werden, da die freien Säuren **[1]** und **[4]** nach der Methylierungsreaktion methyliert vorliegen. Bei der Verbindung **[4]** könnte das auch die Hydroxylgruppe in Position 25 betreffen, was im Derivat **[5]** resultieren würde.

Von den 3,4-Secoverbindungen konnten v.a. die Derivate **[3]**, **[4]**, **[7]** und **[8ab]** in verschiedenen Extrakten nachgewiesen werden (siehe Ergebnistabelle 3.15.). Die Verbindungen **[8a]** bzw. **[8b]** zeigen im Chromatogramm das stärkste Signal. Vielleicht entsteht dieses Derivat gemäß dem in Abbildung 4.3. gezeigten Mechanismus aus der Vorstufe **[1]**. Unter den Bedingungen bei der Gaschromatographie ist eine artifizielle Bildung nach diesem Mechanismus nicht unwahrscheinlich. In diesem Fall sollte aber auch das Methylierungsprodukt der Verbindung **[1]** zu finden sein. Das ist aber nur bei *Aglaia ignea* der Fall, der Pflanze, aus welcher dieses Derivat isoliert werden konnte. Vielleicht wird in *A. ignea* dieses Derivat angereichert, während in den anderen Arten die Metabolisierung begünstigt wird.

Auch die Verbindungen **[9a]** bzw. **[9b]**, die vermuteten biogenetischen Vorläufer der Verbindungen **[8a]** und **[8b]** sowie des Lactons **[7]**, können in den meisten Extrakten

detektiert werden (siehe Tabelle 3.15.). Es ist wahrscheinlich, dass die Metabolisierungsprodukte auch in den Extrakten vorkommen, in welchen sie sich, vermutlich wegen zu geringer Konzentrationen nicht nachweisen lassen.

Auffällig ist das Auftreten der 20-Exomethylen-Dammarane [10], [11] und [12]. Diese, aus den Blättern von *Aglaia duppereana* isolierten Verbindungen, sind ansonsten nur noch in den Extrakten von *A. odorata* und *A. polysticha* nachzuweisen, dort ebenfalls aus den Blättern. Weder in den anderen Extrakten von *A. duppereana* (Blüten, Rinde, Wurzeln und Zweige), noch in der Rinde von *A. polysticha* tauchen diese Derivate auf. Auch in der Literatur werden diese Substanzen für die Blattdroge von *A. odorata* beschrieben [Shiengthong *et al.* 1965, 1974, Boar *et al.* 1973, 1977]. Das sind starke Indizien dafür, dass diese Dammarane mit einer Exomethylengruppe an C-20 durch die Pflanzen spezifisch in den Blättern akkumuliert bzw. dort gebildet werden.

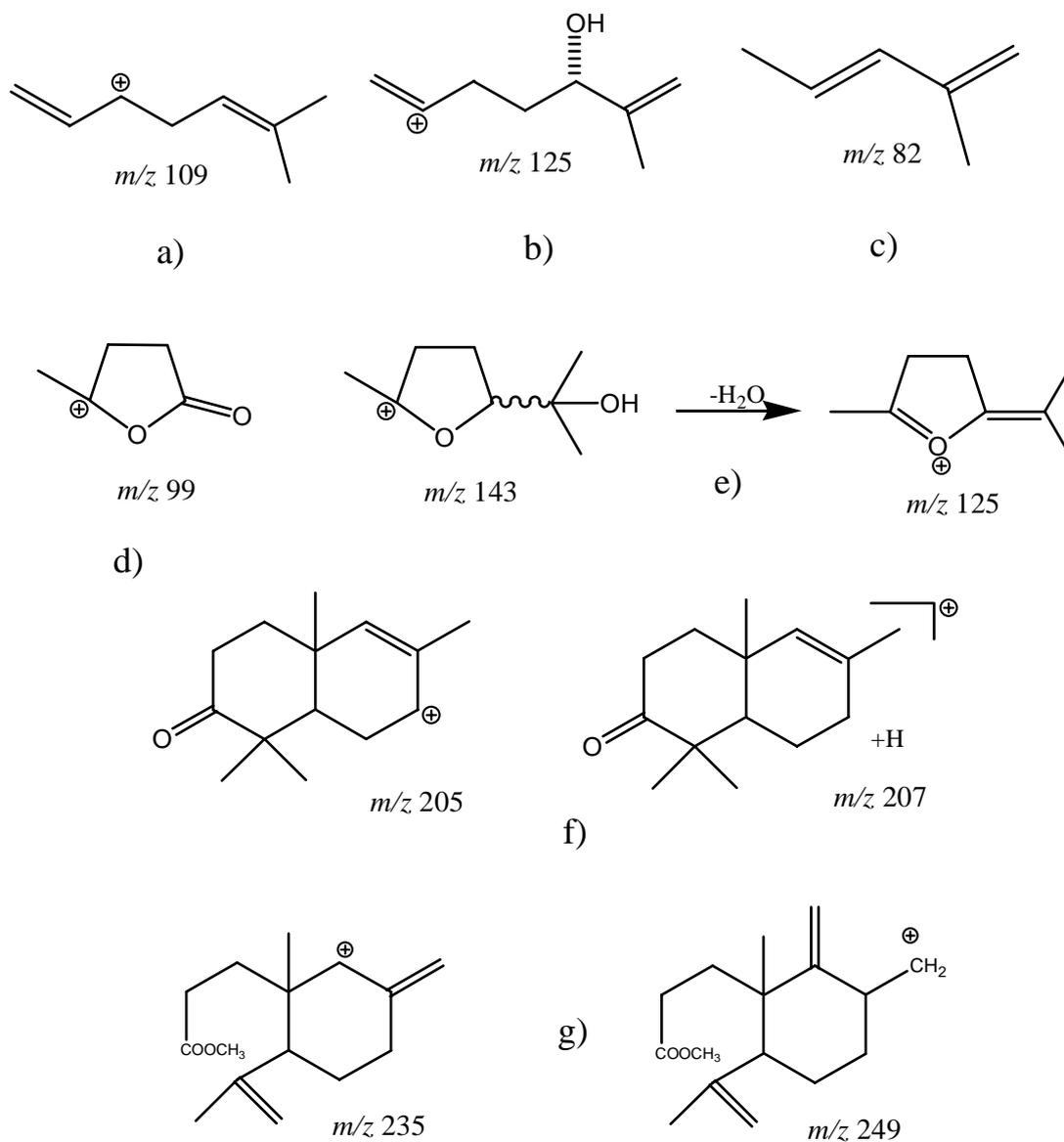
Bei den anderen Derivaten fallen keine weiteren Besonderheiten auf. Da es sich aber z.B. bei dem Lupeol [18] um eine weitverbreitete Verbindung handelt, ist es wahrscheinlich, dass dieses Derivat (und natürlich auch das Oxidationsprodukt Lupeon [19]) in geringeren Konzentrationen auch in den anderen Extrakten vorkommt.

### 4.2.2. Fragmente der verschiedenen Triterpene

Die detaillierte Betrachtung der im GCMS-Scening, bzw. durch die anderen Massenspektrometrien erhaltenen Spektren, zeigt typische Fragmente der einzelnen Derivate.

Bei den Secodammaranen tauchen im EIMS die Molekülionen nach Eliminierung der Hydroxylgruppe als formale Wasserabspaltung an C-20 auf. Diese Fragmentierung ist für Dammarane mit einer Hydroxylgruppe in dieser Position bekannt [Yamashita *et al.* 1998]. Das gilt für die Derivate [1], [2], [3] und [5]. Bei der Verbindung [4] kommt es gleich zur formalen Abspaltung zweier Wassermoleküle, entsprechend einer weiteren Hydroxylgruppe an C-25. Nur im FABMS lässt sich das Molekulargewicht, allerdings unter Addition von Natrium für diese Verbindungen finden. Die Derivate [7] und [8ab] dagegen, bei denen die ursprüngliche Hydroxylgruppe die Etherbrücke des Ringes bildet, liefern das erwartete Molekulargewicht auch im EIMS.

Mögliche Substrukturen für charakteristische Fragmente sind in den Abbildungen 4.6, 4.7, und 4.8. zusammengefasst.



**Abbildung 4.6.: Verschiedene MS-Fragmente der isolierten Verbindungen.**

Für die Verbindungen [1] bzw. [2] erhält man als typisches Fragment mit höchster Signalintensität für die Seitenkette ein Molekülion mit  $m/z$  109 (Abbildung 4.6. a) [z.B. Aplin & Cox 1975, van der Doelen *et al.* 1998]. Dieses Fragment entsteht aus der Seitenkette dieser Verbindungen nach formaler Abspaltung eines Moleküls Wasser.

Im GCMS zeigte sich nach der Derivatisierung mit TMSH für Verbindung [3] ein Hauptfragment mit  $m/z$  125. Eine denkbare Substruktur für dieses Fragment ist in Abbildung 4.6. b gezeigt.

Ein charakteristisches Fragment mit  $m/z$  82 (bzw. 81 [-H]) für sowohl Verbindung [4] als auch Verbindung [5] erscheint im GCMS nach Derivatisierung mit TMSH. Eine mögliche Struktur dieses Fragmentes, nach Eliminierung der Hydroxyl- bzw. Methoxyfunktion von C-25 ist in Abbildung 4.6. c dargestellt. Dieses Fragment finden auch Waterman & Ampofo [1985] im EIMS bei einem Derivat mit vergleichbarer Seitenkette wie Verbindung [4].

Bei dem ersten der drei Signale im GCMS für die Verbindung [4] nach Derivatisierung taucht mit  $m/z$  154 ein Fragment auf, welches im FABMS 100 Prozent Intensität zeigt. Dieses Fragment ist auch bei Verbindung [5] im GCMS und FABMS und für die Verbindung [6] im FABMS zu finden. Alle drei Derivate besitzen eine  $\Delta^{23,24}$ -Doppelbindung und unterscheiden sich nur hinsichtlich des Substituenten an C-25.

Ein typisches Fragment für den Lactonring der Verbindung [7] kann im GCMS mit  $m/z$  99 gefunden werden (Abbildung 4.6. d) [z.B. Singh & Aalbersberg 1992].

Für die Epimerengemische [8ab] und [9ab] treten zwei charakteristische Fragmente in Erscheinung, von denen das kleinere mit  $m/z$  125 durch formale Eliminierung eines Moleküls Wasser aus dem größeren mit  $m/z$  143 hervorgeht (Abbildung 4.6. e). Bei diesen Derivaten erscheint das Fragment mit  $m/z$  143 mit höchster Intensität.

Für methylierte 3,4-Secodammaransäuren mit Hydroxylgruppe an C-4 beschreiben Govandachari *et al.* [1994] zwei Fragmente mit  $m/z$  249 und  $m/z$  235 (siehe Abbildung 4.6.g), die durch Eliminierung von Wasser entstehen. Das Fragment mit  $m/z$  249 ist auch bei der Verbindung [2] bzw. bei Verbindung [1] nach Derivatisierung zu finden, fehlt aber bei den anderen Derivaten mit Methylester in Position 3.

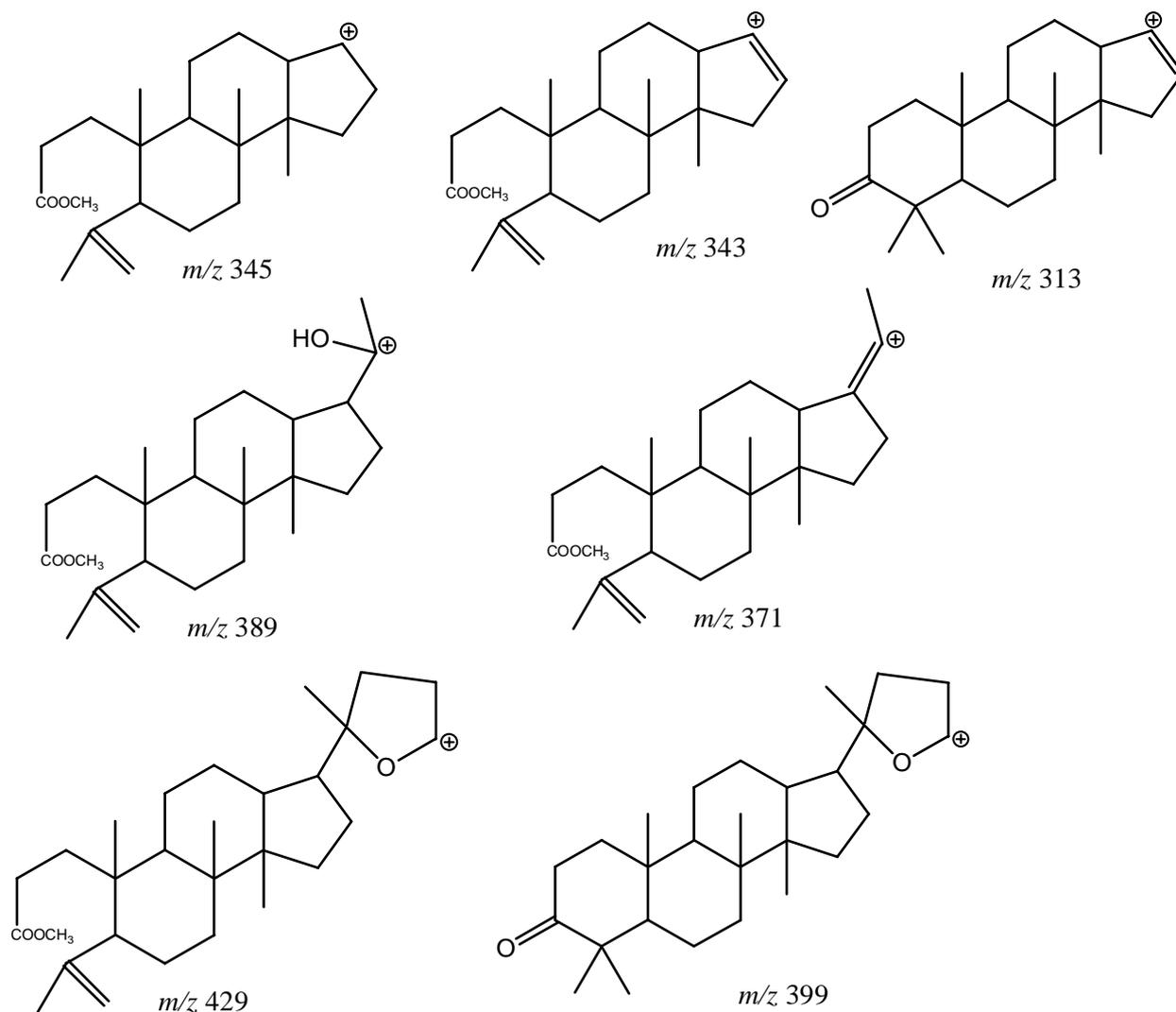
Für die Grundstruktur der 3,4-Secodammarane lassen sich keine, bei allen Derivaten auffallende und damit charakteristische Fragmente identifizieren. Die Abbildung 4.7. zeigt jedoch mögliche Substrukturen einzelner für die isolierten Derivate gefundener Fragmente.

Eine Fragmentierung zwischen C-24 und C-25 tritt beispielsweise bei sowohl der Ring A-geschlossenen Form **[9ab]**, als auch bei den 3,4-Secoverbindungen **[8ab]** mit Fragmenten von  $m/z$  399 bzw.  $m/z$  429 auf.

Die Dammarane mit geschlossenem Ring A und Carbonylgruppe in Position 3 zeigen Fragmente mit  $m/z$  205 bzw.  $m/z$  207 [van der Doelen 1998]. Die vermuteten Substrukturen sind in der Abbildung 4.6. f dargestellt. Dementsprechend sind diese Fragmente im EIMS der Derivate **[9ab]**, **[10]**, **[11]** und **[12]** zu finden. Im EIMS lassen sich für die 20-Epoxydammarane **[10]**, **[11]** und **[12]** keine gemeinsamen Fragmente identifizieren, die als Hinweis auf gemeinsame strukturelle Merkmale liefern könnten. Im FABMS teilen jedoch alle drei Derivate die Fragmente  $m/z$  329 und  $m/z$  77. Die beiden 3-Ketoverbindungen **[11]** und **[12]** besitzen ein Fragment mit  $m/z$  163. Alle 3-Ketodammarane (**[9ab]**, **[11]** und **[12]**) zeigen ein Fragment mit  $m/z$  313 (siehe Abbildung 4.7.). Ein entsprechendes Fragment für die Ring A offene Form erscheint mit  $m/z$  343 für Verbindung **[2]** bzw. nach Methylierung für Verbindung **[1]**.

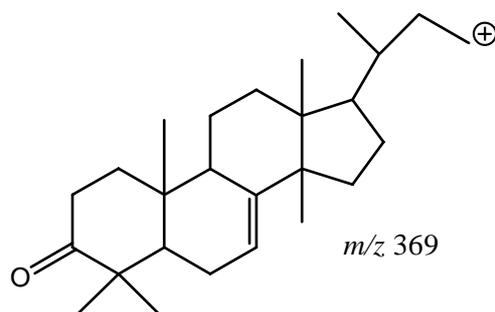
Bei den Cycloartanen können keine die Grundstruktur definierende und bei den isolierten Derivaten **[13]**, **[14]** und **[15]** übereinstimmenden Fragmente identifiziert werden. Auch die zu erwartende Differenz der Fragmente von  $m/z$  14, die sich durch die zusätzliche Methylgruppe der Verbindung **[15]** ergeben, lässt sich im Vergleich der auftretenden Fragmente nicht finden. Ein Fragment von  $m/z$  394 bei **[13]** stellt das [M-H<sub>2</sub>O] dar.

Die Lupane, Lupeol und Lupeon (**[18]** und **[19]**), liefern neben den Molekülonen weitere Fragmente im EIMS, die sich jeweils um zwei Masseneinheiten unterscheiden ( $m/z$  411/409,  $m/z$  315/313,  $m/z$  234/232 und  $m/z$  207/205) und damit der Hydroxyl- bzw. Ketogruppe an C-3 Rechnung tragen. Weitere Fragmente zeigen mit  $m/z$  218, 189, 135, 121 und 109 gemeinsame Werte für beide Derivate.



**Abbildung 4.7.: Mögliche Substrukturen verschiedener Fragmente der Secodammarane und Dammarane**

Bei beiden Tirucallanen (Verbindungen [16] und [17]) fällt im EIMS ein Hauptfragment bei  $m/z$  369 auf. Das genannte Fragment wird durch die Literatur zu diesen Verbindungen bestätigt [Gray *et al.* 1988, Su *et al.* 1990, Itokawa *et al.* 1992, Benosman *et al.* 1995] und dort als  $[\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{O}_2]^+$  identifiziert. Eine denkbare Substruktur zeigt auch die Abbildung 4.8. Weitere gemeinsame und damit als Hinweis auf entsprechende Substrukturen zu verstehende Fragmente finden sich mit  $m/z$  441, 423, 351, 325, 271 und 161.



**Abbildung 4.8.: Charakteristisches Fragment der tirucallanen Verbindungen [16] und [17].**

#### 4.2.3. Potential der GCMS-Detektion

Mit Hilfe der GCMS-Analytik ist es möglich, bereits auf der Ebene der Rohextrakte die in die Spektrenbibliothek aufgenommenen Reinsubstanzen zu detektieren. Das gilt aber insbesondere für schon fraktionierte Extrakte, bei denen die Verbindungen angereichert werden. Dies ermöglicht eine gezielte Suche nach einzelnen Derivaten, die aufgrund der Absorptionseigenschaften nicht über die HPLC-Dioden-Array-Detektion zugänglich sind.

Im Abschnitt 4.2.2. werden MS-Fragmente der in dieser Arbeit isolierten triterpenoiden Verbindungen vorgestellt. Diese können als substrukturelle Merkmale verstanden werden. Auf diese Weise können Aussagen über im Gaschromatogramm auftauchende Signale gemacht werden. Beispielsweise tauchen im Chromatogramm verschiedener *Aglaia*-Extrakte bei anderen Retentionszeiten weitere Signale mit einem typischen Fragment von  $m/z$  99 auf, welches einen Lactonring, vergleichbar mit dem in Verbindung [7] indiziert. Als biosynthetischer Vorläufer dieses Derivates wäre z.B. die entsprechende Ring-A-geschlossene Verbindung denkbar.

Die GC-Analytik kann auch als ein komfortables Werkzeug verstanden werden, um, wie hier schon ansatzweise gezeigt, verschiedene, verwandte Arten, oder auch verschiedene Pflanzenorgane hinsichtlich ihrer Inhaltsstoffe zu vergleichen. Das könnte Ansatzpunkte für die Diskussion um die ökologische Funktion oder die Orte der Biosynthese bzw. Lagerung von Naturstoffen dieser Klasse liefern.

### 4.3. Biologische Aktivität

In Abhängigkeit, u.a. von der Verfügbarkeit der Verbindungen und den Möglichkeiten für die Durchführung in anderen Instituten wurden in dieser Arbeit verschiedene Biotests durchgeführt.

#### 4.3.1. Potentielle insektizide Aktivität der isolierten Verbindungen

Sogenannte „Dammar Resine“, natürliche Harze, welche hohe Anteile triterpenoider Verbindungen des Dammaran-Typs, wie beispielsweise die Dammarenolsäure [1] enthalten, wurden als mögliche Komponenten experimenteller Insektizide untersucht [Poehland *et al.* 1987]. Der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte Test auf insektizide Aktivität an *Spodoptera littoralis* ergab allerdings bei einer Inkorporation von 1 mg Reinsubstanz (entspricht in etwa 250 ppm) kein positives Ergebnis. Die Raupen des Falters entwickelten sich bei Applikation wie die Kontrollen.

Dieses Ergebnis spricht dafür, dass Verbindungen dieses Strukturtyps keine wahrscheinlichen Kandidaten für insektizid wirksame Inhaltsstoffe aus der Familie der Meliaceen sind, wie beispielsweise die Limonoide wie das Azadirachtin aus *Azadirachta indica* oder die ebenfalls stark insektiziden Rocaglamide aus *Aglaia* [Rembold & Puhlmann 1995; Klocke 1989; Proksch *et al.* 2001].

#### 4.3.2. Zytotoxische Aktivität der isolierten Verbindungen

Für verschiedene auch in dieser Arbeit gefundener triterpenoider Verbindungen sind bereits Daten zu zytotoxischen Aktivitäten bekannt.

Rivero-Cruz *et al.* [2004] haben die auch in dieser Arbeit untersuchte Art *Aglaia ignea* bearbeitet. Die Biotest-gesteuerte Fraktionierung mit einem Test auf Zytotoxizität gegenüber epidermalen Karzinomzellen (KB) des Menschen führte zur Isolierung der auch in der eigenen Arbeit gefundenen triterpenen Verbindungen [1], [4], [8b], [9a] und [9b] aus den zytotoxisch aktiven Fraktionen. Diese zeigten aber mit ED<sub>50</sub>-Werten über 1x10<sup>3</sup> nM keine nennenswerte Zytotoxizität. Benosman *et al.* 1994 haben im Rahmen einer Biotest-

gesteuerten Fraktionierung eines ethanolischen Extraktes von *Aglaia leucophylla* unter anderem die in der eigenen Arbeit isolierten Verbindungen Eichleriansäure [8a], Cabraleon [9a] und Ocotillon [9b] gewonnen. Sie geben Werte für die prozentuale Zytotoxizität der Verbindungen [8a] und [9b] gegenüber KB-Zellen im Vergleich zu Kontrollen (keine Zytotoxizität) bei Konzentrationen von 10µg/ml, 1µg/ml, 0.5µg/ml und 0.1µg/ml an. [8a] ergab dabei Werte von 31% und 14% für die Zytotoxizität in den Konzentrationen 10µg/ml bzw. 1µg/ml und für [9b] Werte von 75 %, 46% bzw. 30% in den Konzentrationen 10µg/ml, 1µg/ml und 0.5µg/ml. Bei 0.1µg/ml zeigte Ocotillon [9b] keine Aktivität mehr. Nach den Autoren scheint hauptsächlich Ocotillon für die zytotoxische Aktivität des *A. leucophylla*-Rohextrakts verantwortlich zu sein [Benosman *et al.* 1994]. Hier wird also im Gegensatz zu Rivero-Cruz *et al.* [2004] von einer Zytotoxizität der Verbindungen [8a] und [9b] berichtet.

Die in dieser Arbeit präsentierten Ergebnisse eines Tests auf Zytotoxizität durchgeführt in Mainz am Institut für Physiologische Chemie von der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Steube zeigen bei Testkonzentrationen von 3µg/ml bzw. 10µg/ml nur für die L5178Y-Zelllinie positive Resultate für die Verbindungen [1] und [3], wohingegen Tests an HeLa- und PC12-Zellen negativ verliefen. Die Verbindung [5] zeigte hier überhaupt keine Aktivität. In den in Bochum in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Überla von Dr. Charles Esimone durchgeführten Experimenten konnte dagegen für fast alle getesteten Substanzen gegenüber HeLa-Zellen ein TC<sub>50</sub>-Wert zwischen 12.7µg/ml und 107.1µg/ml gefunden werden. Jedoch ist auch hier bei einer Konzentration im Bereich von 10µg/ml kaum eine Zytotoxizität zu registrieren. Wie die Abbildung 3.58. zeigt beträgt in diesem Experiment die Luciferase-Aktivität über 100 Prozent bei Applikation der Verbindung [1] in der Konzentration 10µg/ml.

Die Verbindung [15] konnte von Cantrell *et al.* [1996] aus *Borrchia frutescens* isoliert werden und zeigte im Biotest gegen den Erreger der Tuberkulose eine minimale Inhibierungskonzentration von 8µg/ml und eine Zytotoxizität mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 39.8µg/ml gegenüber CCL-81-Zellen. Gegenüber der HeLa-Zelllinie konnte in dieser Arbeit für Verbindung [15] ein TC<sub>50</sub>-Wert von 34.3µg/ml gefunden werden. Die gefundenen Aktivitäten gegenüber den CCL-81- und HeLa-Zellen scheinen folglich vergleichbar zu sein.

Itokawa *et al.* [1992] haben die auch in dieser Arbeit aus *Aglaia* isolierten tirucullanen Verbindungen Niloticin [16] und Piscidinol A [17] als zytotoxische Komponenten mittels Biotest-gesteuerter Fraktionierung aus *Eurycoma longifolia* gewonnen. Dabei konnten die

Autoren für Niloticin IC<sub>50</sub>-Werte von 1.5µg/ml bzw. 8.3µg/ml gegenüber P388- respektive KB-Zellen und für Piscidinol A Werte von 1.2µg/ml bzw. 5.0µg/ml gegenüber den genannten Zelllinien finden [Itokawa *et al.* 1992]. Für diese beiden Derivate konnten hier gegenüber HeLa-Zellen dagegen mit Werten von 23.4µg/ml für [16] und 31.3µg/ml für [17] deutlich höhere TC<sub>50</sub>-Werte gefunden werden. Vermutlich sind diese Tirucallane gegenüber den P388- und KB-Zellen stärker zytotoxisch als gegenüber der HeLa-Zelllinie.

### 4.3.3. Antivirale Aktivität der isolierten Verbindungen

Ein Extrakt aus *A. edulis* zeigte eine *in vitro* Aktivität gegenüber *Herpes simplex* [Lipipun *et al.* 2003 und zitierte Literatur]. Im Rahmen einer Untersuchung verschiedener in Thailand volksmedizinisch genutzter Pflanzenextrakte wurde von Lipipun *et al.* [2003] auch der ethanolische Extrakt von Blättern der Art *Aglaia odorata* hinsichtlich der antiviralen Aktivität gegenüber *Herpes simplex* HSV-1, sowie gegenüber Polioviren und den Erregern der Masern getestet. Gegenüber den Kontrollen reduzierte der Extrakt aus *A. odorata* (100µg/ml) die Plaquebildung in einem entsprechenden Test um 100 Prozent gegenüber den Kontrollen, was eine Wirksamkeit gegenüber den getesteten Viren belegt. Es zeigte sich, dass der *A. odorata*-Extrakt nach subkutaner Injektion der Viren im Tierversuch an Mäusen in Form einer oralen Applikation des Extraktes signifikant Hautschädigungen limitierte, während bei diesen *in vivo* Behandlungen keine toxischen Effekte des Pflanzenextraktes beobachtet werden konnten. Der Extrakt war zudem gegenüber Thymidin-Kinase-fehlerhaften-HSV-1- und gegenüber Phosphonoacetat-resistenten HSV-1-Stämmen wirksam [Lipipun *et al.* 2003]. Acyclovir (ACV), welches zur Behandlung von *Herpes simplex* Infektionen eingesetzt wird, zeigte keine bessere Wirksamkeit als die von Lipipun *et al.* positiv getesteten Pflanzenextrakte und soll über einen anderen Wirkmechanismus verfügen als ACV und Phosphonoacetat, da die entsprechenden Virenstämme keine Resistenzen gegenüber den Extrakten aufweisen [Lipipun *et al.* 2003]. Diese Ergebnisse zeigen, dass *Aglaia*-Arten als Lieferanten für therapeutisch nutzbare antivirale Verbindungen interessant sind, nicht aber, welche Inhaltsstoffe wirksam sind und ob vielleicht gerade synergistische Effekte für die Wirksamkeit eine Rolle spielen.

Poehland *et al.* [1987] beschreiben die Ergebnisse eines *in vitro* Tests an *Herpes simplex*-Viren. Die Hexanextrakte von *Gierocarpus intricatus* und *Cowania mexicana* (Rosaceae) lieferten Dammarendiol-II (wie Verbindung [1] mit geschlossenem Ring A und OH-Gruppe

an C-3) und Isofouquierol (dieses unterscheidet sich von Verbindung [4] durch einen geschlossenem Ring A mit OH-Gruppe an C-3) mit Anti-*Herpes*-Aktivität. Daraufhin untersuchten die Autoren kommerziell erhältlicher Harze, die bereits oben beschriebenen „Dammar Resine“, als natürliche phytochemische Quelle weiterer Verbindungen des Dammaran-Typs. Solche Harze werden auch zur Konservierung von Präparaten in der Mikroskopie und als Schutzlacke in der Malerei verwendet [z.B. Van der Doelen & Boon 2000]. Die Biotest-gesteuerte Fraktionierung führte zur Isolierung von neun Dammaranen mit in vitro Aktivität gegenüber *Herpes simplex* Typ 1 und Typ 2, darunter Dammarenolsäure [1], Eichleriansäure [8a] und Shoreasäure [8b] [Poehland *et al.* 1987]. Die IC<sub>50</sub>-Werte lagen hier für [1] bei 3.0µg/ml gegenüber HSV-1 und 2.0µg/ml gegenüber HSV-2. Für die beiden Epimere [8ab] ergab sich jeweils ein IC<sub>50</sub>-Wert von 7.0µg/ml bzw. 8.0µg/ml gegenüber HSV-1 bzw. HSV-2 [Poehland *et al.* 1987]. Wie im Falle der in dieser Arbeit präsentierten Ergebnisse haben Poehland *et al.* [1987] die Experimente an kultivierten Zelllinien durchgeführt. Dort wurden morphologische Veränderungen der Zellen (cytopathischer Effekt) als Maß der viralen Infektion herangezogen. Die Autoren haben die Zellen vor Behandlung mit den Testsubstanzen für eine Stunde mit den Viren inkubiert. In dieser Untersuchung von Poehland *et al.* [1987] wurden eine andere Zelllinie und andere Viren sowie ein anderes Versuchsdesign verwendet. Aus diesem Grund können die Resultate nicht vorbehaltlos mit den hier präsentierten Ergebnissen verglichen werden. Allerdings liegt der hier präsentierte IC<sub>50</sub>-Wert gegenüber dem lentiviralen Vektor Vici2dSB mit 4.8µg/ml im Bereich des bei Poehland *et al.* [1987] beschriebenen Wertes von 3.0µg/ml. Auch bei Poehland *et al.* zeigen die Epimere [8a] und [8b] eine geringere Aktivität als die Dammarenolsäure [1] Allerdings ist dort der Unterschied bei einem Faktor von etwa 4.0 bzw. 2.3 gegenüber HSV-1 bzw. HSV-2 deutlich geringer als in der hier vorgestellten Arbeit mit einem Unterschied zwischen dem IC<sub>50</sub>-Wert für die Verbindung [1] und dem für das Epimerengemisch [8ab] um einen Faktor von etwa 6.4.

In dieser Arbeit konnte die Dammarenolsäure [1] in großer Menge aus dem Rindenextrakt von *Aglaia ignea* gewonnen werden. In der Tat scheint es sich bei diesem Derivat, zumindest in der genannten Art um eine der Hauptverbindungen zu handeln. Die oben beschriebenen Ergebnisse der Tests am *Herpes simplex* Virus [Poehland *et al.* 1987] und die eigenen Ergebnisse der Biotests gegenüber verschiedenen viralen Erregern suggerieren, dass dieses Derivat oder ähnliche Verbindungen eine bedeutende Rolle bei der Entwicklung einer antiviralen Aktivität von *Aglaia*-Extrakten spielen könnten.

### 4.3.3.1. Antivirale versus zytotoxische Aktivität

Im Hinblick auf eine antivirale Aktivität, vor allem im Falle von in vitro Tests an Zelllinien, muss zwischen Verbindungen unterschieden werden, die aufgrund der tatsächlichen antiviralen Aktivität positive Ergebnisse liefern, und Substanzen, die zytotoxisch sind und auf diese Weise sekundär die virale Aktivität inhibieren. Mit Hilfe des Quotienten aus  $IC_{50}$ - (50% Einbuße der viralen Aktivität) und  $TC_{50}$ -Wert (50% der Zellen sind beschädigt), dem sogenannten Selektivitätsindex (S.I.), lässt sich dieser Zusammenhang quantitativ erfassen. Je höher dieser Wert ist, desto selektiver ist die antivirale Wirksamkeit einer Testsubstanz. Derivate, die einen S.I.-Wert größer als 5 ergeben, gelten gemeinhin als interessant im Hinblick auf eine mögliche Anwendung als antivirale Präparate (Esimone, pers. Mitteilung). Natürlich spielt dabei auch eine mögliche Variabilität der Zytotoxizität und der antiviralen Aktivität gegenüber verschiedenen Zelllinien bzw. Viren eine Rolle und selbstverständlich sind neben dem Quotienten auch die absoluten Werte der Zytotoxizität bedeutsam.

Bei den in dieser Arbeit untersuchten Substanzen fiel im initialen Screening die schon als antiviral wirksame Verbindung bekannte Dammarenolsäure [1] [Poehland *et al.* 1987] mit einem S.I.-Wert von 8.3 auf. Der  $TC_{50}$ -Wert für die Zytotoxizität der Dammarenolsäure gegenüber der HeLa-Zelllinie ist mit  $39.7\mu\text{g/ml}$  dabei relativ gering. Eine geringe Zytotoxizität ist wünschenswert bei der Suche nach Substanzen mit spezifischer Wirksamkeit gegen virale Erreger. Aus diesem Grund wurden mit dieser vielversprechenden Verbindung weitere Tests auf antivirale Aktivität gegenüber verschiedenen Vektoren und Viren durchgeführt.

### 4.3.3.2. Spekulationen zum Wirkmechanismus

Lipipun *et al.* 2003 vermuten, dass sich die Wirksamkeit des *Aglaiia*-Extraktes gegenüber verschiedenen Viren (Herpes-, Polio- und Masern), die unterschiedliche strukturelle Merkmale und Replikationszyklen aufweisen, auf unterschiedliche Wirkmechanismen mehrerer aktiver Verbindungen zurückführen lässt.

Hier werden Daten zur antiviralen Wirksamkeit der Verbindung [1] gegenüber verschiedenen viralen Vektoren und Wildtypen präsentiert.

Der lentivirale HIV-1-Vektor Vici2dSB gehört wie der HIV-1-Wildtyp zu den Retroviren, die sich durch eine Proteinhülle mit Funktion bei der Infektion auszeichnen und deren Genom mit Hilfe einer Reversen Transkriptase (RT) in das Wirtsgenom integriert wird. Der adenovirale Vektor besitzt dagegen keine Reverse Transkriptase und keine Proteinhülle. Der „Respiratory Syncytial Virus“ (RSV), der bei kleinen Kindern in der Regel zu leichten Erkrankungen der oberen Atemwege führt, kann bei Risikogruppen auch in schweren Erkrankungen der unteren Atemwege resultieren. Dieser Erreger gehört zu den Paramyxoviren, die über eine Proteinhülle, aber keine Reverse Transkriptase verfügen und folglich auch nicht in das Wirtsgenom integriert werden.

Die Dammarenolsäure ist, wie die hier vorgestellten Experimente zeigen, aber beispielsweise sowohl gegen Viren mit Hüllproteinen wie dem lentiviralen Vici2dSB-Vektor, als auch ohne Hülle wie bei dem adenoviralen Vektor AdOW126 aktiv.

Der Reverse Transkriptase Test zeigt eine deutliche konzentrationsabhängige Inhibierung dieses Enzyms. Verbindung [1] ist auch gegen den adenoviralen Vektor AdOW126 und gegen RSV wirksam. Letztere sind Viren, die keine Reverse Transkriptase besitzen.

Die Experimente unter Zugabe der aktiven Substanz [1] zu verschiedenen Zeiten (bei 30-minütiger Präinkubation, bei zeitgleicher Applikation der Substanz und des Vektors zur Zelllinie und nach 2-stündiger Infektion der Zellen mit dem Virus) zeigen bei allen Ansätzen eine starke Inhibierung der viralen Aktivität. Dagegen zeigt das Anti-VSVG-Serum, welches einen Antikörper gegen das virale Hüllprotein darstellt und bei der Infektion der Zellen bedeutsam ist, bei einer bereits über zwei Stunden erfolgten Infektion eine erwartungsgemäß deutlich reduzierte Aktivität. Das PMPA ist dagegen ein Reverse Transkriptase-Inhibitor und hemmt folglich die virale Infektion erst nach dem Eintritt des Vektors bzw. Virus. Die Wirksamkeit des PMPA ist bei einer Vorinfektion der Zellen über einen Zeitraum von zwei Stunden deutlich geringer. Es ist jedoch auch denkbar, dass die Wirksamkeit erst nach längerer Zeit zum Tragen kommt (Esimone; pers. Mitteilung). Die Vorinkubation des PMPA mit dem Virus sollte keinen Effekt auf die RT-Inhibierung und damit auf die antivirale Wirksamkeit haben. Deshalb ist bei gleichzeitiger Applikation des Virus und des PMPA eine vergleichbare Inhibierung zu erwarten. Die Ergebnisse bei diesen beiden Versuchsansätzen unterscheiden sich in der Tat nicht deutlich. Die etwas reduzierte Wirksamkeit bei

gleichzeitiger Applikation am Vektor Vic12dSB ließe sich eventuell durch eine behinderte Aufnahme des RT-Inhibitors in Gegenwart des Vektors erklären. Bei der kinetischen Studie am HIV-1-Wildtyp sind die Verhältnisse jedoch umgekehrt. Das spricht dafür, dass die Unterschiede im Bereich der Standardabweichung liegen dürften.

Die genannten Sachverhalte deuten darauf hin, dass die Verbindung [1] über verschiedene Mechanismen wirksam ist. Damit ist eine von Lipipun *et al.* [2003] geforderte Beteiligung verschiedener aktiver Substanzen in den Extrakten zwar wahrscheinlich, aber nicht zwingend. Im Fall der getesteten Reinsubstanz [1] lässt sich eine Verunreinigung mit einer oder mehreren anderen und potentiell ebenfalls wirksamen Verbindungen selbstverständlich nicht ausschließen. Hinweise dafür gibt es unter Betrachtung des entsprechenden <sup>1</sup>H-NMR-Spektrums jedoch nicht. Eine entgeltliche Beantwortung der Frage nach dem Wirkmechanismus muss vorerst unbeantwortet bleiben.

#### **4.3.4. Potentielle chemoökologische Funktion der aktiven Substanzen**

Es ist aufgrund der Tatsache, dass in der Natur ein ökonomisches Prinzip gilt, anzunehmen, dass viele pflanzliche Inhaltsstoffe in den produzierenden Organismen eine Funktion ausüben.

In dieser Arbeit konnten für einige Verbindungen zytotoxische, fungizide und antivirale Eigenschaften in *in vitro* Experimenten nachgewiesen werden. V.a. die Dammarenolsäure [1] zeichnet sich durch interessante Aktivitäten gegenüber den pflanzenpathogenen Pilzen der Gattung *Cladosporium*, sowie gegen verschiedene Viren aus. Wie bereits erwähnt scheint dieses Derivat eine Hauptverbindung in *Aglaia ignea* darzustellen. Diese Tatsache rechtfertigt die Annahme, dass die Dammarenolsäure auch in der Pflanze dem Schutz vor mikrobiellem Befall dienen könnte. Die anderen hier untersuchten Derivate zeigen zum Teil geringe Aktivitäten in den Biotests. Selbst wenn die gefundenen Derivate nicht die eigentlich wirksamen Substanzen im Organismus darstellen, so könnte es sich, wie die oben diskutierten biogenetischen Zusammenhänge nahe legen, auch um biogenetische Vorstufen oder Abbauprodukte aktiver Verbindungen handeln.

Oben wurde die Möglichkeit diskutiert, dass die Secodammaranen, inklusive der Verbindung [1] Artefakte, also Oxidationsprodukte nativer Verbindungen sein könnten. Selbst in diesem Fall wäre jedoch ein Schutz der Pflanze durch diese Derivate im Sinne einer induktiven Abwehr nach Zellschädigung beim Befall durch Schädlinge denkbar.

## 5. Anhang

## 5.1. Kristallstrukturdaten der Dammarenolsäure

Tabelle 5.1.: Daten der Kristall-Struktur-Analyse der Verbindung [1]

<i>Kristalldaten</i>	
Empirische Formel	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O <sub>3</sub> • CH <sub>3</sub> OH
M <sub>r</sub>	490.74
Kristallsystem	orthorombisch
Raumgruppe	P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>
Gitterkonstanten	Verfeinerung der kleinsten Fehlerquadrate nicht zentrierter Positionen von 7998 gleichmäßig im rez. Raum verteilten Reflexen
a [Å]	13.4980(7)
b [Å]	18.9928(10)
c [Å]	23.2738(17)
V, Z, D <sub>x</sub>	5966.6(6) Å <sup>3</sup> , 8, 1.093 g/cm <sup>3</sup>
Kristallfarbe	farblos
Habitus	planar
Kristallgröße	0,8 x 0,7 x 0,4 mm <sup>3</sup>
<i>Intensitätsdatensammlung</i>	
Meßtemperatur	18 °C
λ (Mo-K <sub>α</sub> )	0.71073 Å
μ	0.070 mm <sup>-1</sup>
θ-Bereich	2.05 – 26.00°
h,k,l-Bereich	-16 → 16, -23 → 23, -28 → 28
Gem. Reflexe	86213
Unabh. Reflexe	11624 [R <sub>int</sub> = 0.0421]
Beob. Reflexe	7140 (F <sub>o</sub> <sup>2</sup> > 2 σ(F <sub>o</sub> <sup>2</sup> ))
Korrekturen	Lp
<i>Verfeinerung</i>	
Verfahren	kleinste Fehlerquadratsumme nach F <sup>2</sup> , volle Matrix
Daten / Parameter	11624 / 826
Anpassungsgüte	S = 1.039 <sup>a</sup>
R-Werte	R1 = 0.0485,
[F <sub>o</sub> <sup>2</sup> > 2 σ(F <sub>o</sub> <sup>2</sup> )]	wR2 = 0.1127 <sup>a</sup>
Δρ <sub>max</sub> /Δρ <sub>min</sub>	0.257 / -0.132 eÅ <sup>-3</sup>
(Δ/σ) <sub>max</sub>	0.000

$$^a S = [\sum (w(F_o^2 - F_c^2)^2) / (N_{hkl} - N_{Parameter})]^{1/2}; R1 = \sum | |F_o| - |F_c| | / \sum |F_o|;$$

$$wR2 = [\sum (w(F_o^2 - F_c^2)^2) / \sum w (F_c^2)^2]^{1/2} \text{ mit } w = 1 / [\sigma^2 (F_o^2) + (0.017 ((F_o^2 + 2F_c^2) / 3))^2].$$

## Anhang

## Ausgewählte intramolekulare Abstände [Å] und Winkel [°] in [1]:

Molekül 1		Molekül 2	
O1-C3	1.290(2)	O1'-C3'	1.311(2)
O2-C3	1.222(2)	O2'-C3'	1.215(2)
O3-C20	1.457(2)	O3'-C20'	1.444(2)
C1-C2	1.529(3)	C1'-C2'	1.525(3)
C1-C10	1.557(2)	C1'-C10'	1.559(3)
C2-C3	1.503(3)	C2'-C3'	1.512(3)
C4-C28	1.471(4)	C4'-C28'	1.484(4)
C4-C29	1.355(4)	C4'-C29'	1.331(4)
C4-C5	1.528(3)	C4'-C5'	1.530(3)
C5-C6	1.535(3)	C5'-C6'	1.534(3)
C5-C10	1.568(2)	C5'-C10'	1.567(3)
C6-C7	1.514(3)	C6'-C7'	1.506(3)
C7-C8	1.533(2)	C7'-C8'	1.535(3)
C8-C9	1.568(2)	C8'-C9'	1.564(2)
C8-C14	1.579(2)	C8'-C14'	1.575(2)
C8-C18	1.536(3)	C8'-C18'	1.544(3)
C9-C11	1.541(3)	C9'-C11'	1.535(3)
C9-C10	1.570(2)	C9'-C10'	1.575(3)
C10-C19	1.539(3)	C10'-C19'	1.543(3)
C11-C12	1.528(3)	C11'-C12'	1.529(3)
C12-C13	1.530(3)	C12'-C13'	1.533(3)
C13-C14	1.554(2)	C13'-C14'	1.557(2)
C13-C17	1.548(2)	C13'-C17'	1.547(3)
C14-C15	1.540(2)	C14'-C15'	1.539(3)
C14-C30	1.546(3)	C14'-C30'	1.541(3)
C15-C16	1.528(3)	C15'-C16'	1.522(3)
C16-C17	1.550(3)	C16'-C17'	1.551(3)
C17-C20	1.547(3)	C17'-C20'	1.549(3)
C20-C21	1.522(3)	C20'-C21'	1.522(3)
C20-C22	1.529(3)	C20'-C22'	1.531(3)
C22-C23	1.495(3)	C22'-C23'	1.510(3)
C23-C24	1.500(3)	C23'-C24'	1.505(3)
C24-C25	1.328(3)	C24'-C25'	1.317(3)
C25-C26	1.502(3)	C25'-C26'	1.507(3)
C25-C27	1.490(3)	C25'-C27'	1.483(3)
C2-C1-C10	118.01(15)	C2'-C1'-C10'	117.31(16)
C3-C2-C1	109.47(16)	C3'-C2'-C1'	110.94(17)
O2-C3-O1	123.07(18)	O2'-C3'-O1'	119.1(2)
O2-C3-C2	121.8(2)	O2'-C3'-C2'	122.2(2)
O1-C3-C2	115.10(19)	O1'-C3'-C2'	118.6(2)
C29-C4-C28	121.1(3)	C29'-C4'-C28'	120.1(3)
C29-C4-C5	119.2(2)	C29'-C4'-C5'	120.2(3)
C28-C4-C5	119.5(2)	C28'-C4'-C5'	119.6(2)
C4-C5-C6	111.72(16)	C4'-C5'-C6'	111.75(17)
C4-C5-C10	115.92(15)	C4'-C5'-C10'	116.40(16)
C6-C5-C10	111.19(16)	C6'-C5'-C10'	111.47(17)

**Ausgewählte intramolekulare Abstände [Å] und Winkel [°] in [1] (Fortsetzung):**

C7-C6-C5	110.80(16)	C7'-C6'-C5'	110.95(17)
C6-C7-C8	113.33(16)	C6'-C7'-C8'	113.55(17)
C7-C8-C18	107.84(15)	C7'-C8'-C18'	107.72(16)
C7-C8-C9	109.39(15)	C7'-C8'-C9'	109.45(15)
C18-C8-C9	111.75(14)	C18'-C8'-C9'	111.64(15)
C7-C8-C14	111.01(14)	C7'-C8'-C14'	111.04(15)
C18-C8-C14	110.17(15)	C18'-C8'-C14'	110.32(15)
C9-C8-C14	106.71(13)	C9'-C8'-C14'	106.70(14)
C11-C9-C8	111.09(15)	C11'-C9'-C8'	111.37(16)
C11-C9-C10	114.11(14)	C11'-C9'-C10'	114.02(15)
C8-C9-C10	116.75(14)	C8'-C9'-C10'	116.53(14)
C19-C10-C1	104.77(15)	C19'-C10'-C1'	104.22(15)
C19-C10-C5	111.92(16)	C19'-C10'-C5'	111.76(15)
C1-C10-C5	109.96(15)	C1'-C10'-C5'	109.66(16)
C19-C10-C9	113.99(16)	C19'-C10'-C9'	114.37(16)
C1-C10-C9	109.11(14)	C1'-C10'-C9'	109.57(14)
C5-C10-C9	107.06(14)	C5'-C10'-C9'	107.20(14)
C12-C11-C9	113.33(17)	C12'-C11'-C9'	113.22(17)
C11-C12-C13	110.40(17)	C11'-C12'-C13'	109.78(18)
C12-C13-C17	121.34(16)	C12'-C13'-C17'	121.41(16)
C12-C13-C14	110.78(16)	C12'-C13'-C14'	110.95(16)
C17-C13-C14	103.94(14)	C17'-C13'-C14'	104.24(14)
C15-C14-C30	106.39(16)	C15'-C14'-C30'	106.05(16)
C15-C14-C13	100.57(14)	C15'-C14'-C13'	100.21(15)
C30-C14-C13	110.35(15)	C30'-C14'-C13'	110.49(15)
C15-C14-C8	115.89(14)	C15'-C14'-C8'	116.35(15)
C30-C14-C8	112.86(15)	C30'-C14'-C8'	112.83(16)
C13-C14-C8	110.06(13)	C13'-C14'-C8'	110.15(14)
C16-C15-C14	105.28(15)	C16'-C15'-C14'	105.88(16)
C15-C16-C17	107.64(16)	C15'-C16'-C17'	107.44(16)
C13-C17-C20	117.40(15)	C13'-C17'-C20'	117.43(16)
C13-C17-C16	103.11(15)	C13'-C17'-C16'	103.21(15)
C20-C17-C16	113.38(17)	C20'-C17'-C16'	113.61(18)
O3-C20-C21	107.62(16)	O3'-C20'-C21'	105.10(17)
O3-C20-C22	105.66(15)	O3'-C20'-C22'	108.24(15)
C21-C20-C22	107.92(18)	C21'-C20'-C22'	108.55(18)
O3-C20-C17	107.53(15)	O3'-C20'-C17'	108.30(16)
C21-C20-C17	113.36(16)	C21'-C20'-C17'	112.50(16)
C22-C20-C17	114.28(17)	C22'-C20'-C17'	113.72(17)
C23-C22-C20	117.51(18)	C23'-C22'-C20'	116.89(17)
C22-C23-C24	112.2(2)	C22'-C23'-C24'	112.2(2)
C25-C24-C23	128.8(3)	C25'-C24'-C23'	128.6(2)
C24-C25-C27	122.7(2)	C24'-C25'-C27'	123.0(2)
C24-C25-C26	121.8(2)	C24'-C25'-C26'	121.7(2)
C27-C25-C26	115.5(2)	C27'-C25'-C26'	115.3(2)

## Anhang

## Ausgewählte intramolekulare Abstände [Å] und Winkel [°] in [1] (Fortsetzung):

O1-H1	0.8200	O1'-H1'	0.8200
O3-H3	0.91(3)	O3'-H3'	1.10(3)
C1-H1A/B	0.9700	C1'-H1C/D	0.9700
C2-H2A/B	0.9700	C2'-H2C/D	0.9700
C5-H5A	1.027(19)	C5'-H5B	0.986(18)
C6-H6A	1.00(2)	C6'-H6C	0.92(2)
C6-H6B	0.91(2)	C6'-H6D	0.94(2)
C7-H7A	0.93(2)	C7'-H7C	0.94(2)
C7-H7B	0.97(2)	C7'-H7D	0.96(3)
C9-H9A	0.932(18)	C9'-H9B	0.932(18)
C11-H11A	0.98(2)	C11'-H11C	1.00(2)
C11-H11B	1.02(2)	C11'-H11D	0.97(2)
C12-H12A	0.86(2)	C12'-H12C	0.97(3)
C12-H12B	0.96(2)	C12'-H12D	0.97(2)
C13-H13A	0.997(18)	C13'-H13B	1.011(19)
C15-H15A	1.00(2)	C15'-H15C	0.98(2)
C15-H15B	1.06(2)	C15'-H15D	0.95(2)
C16-H16A	1.02(2)	C16'-H16C	1.02(3)
C16-H16B	0.86(3)	C16'-H16D	0.90(3)
C17-H17A	0.972(19)	C17'-H17B	0.964(18)
C18-H18A/B/C	0.9600	C18'-H18D/E/F	0.9600
C19-H19A	1.06(2)	C19'-H19D/E/F	0.9600
C19-H19B	0.939(19)		
C19-H19C	1.00(2)		
C21-H21A/B/C	0.9600	C21'-H21D/E/F	0.9600
C22-H22A/B	0.9700	C22'-H22C/D	0.9700
C23-H23A/B	0.9700	C23'-H23C/D	0.9700
C24-H24A	0.91(3)	C24'-H24B	0.92(3)
C26-H26A/B/C	0.9600	C26'-H26D/E/F	0.9600
C27-H27A/B/C	0.9600	C27'-H27D/E/F	0.9600
C28-H28A/B/C	0.9600	C28'-H28D/E/F	0.9600
C29-H29A	0.95(3)	C29'-H29C	0.95(3)
C29-H29B	0.94(3)	C29'-H29D	0.89(3)
C30-H30A/B/C	0.9600	C30'-H30D/E/F	0.9600
C3-O1-H1	109.5	C3'-O1'-H1'	109.5
C20-O3-H3	108.1(18)	C20'-O3'-H3'	111.7(15)
C2-C1-H1A/B	107.8	C2'-C1'-H1C/D	108.0
C10-C1-H1A/B	107.8	C10'-C1'-H1C/D	108.0
H1A-C1-H1B	107.1	H1C-C1'-H1D	107.2
C1-C2-H2A/B	109.8	C1'-C2'-H2C/D	109.5
C3-C2-H2A/B	109.8	C3'-C2'-H2C/D	109.5
H2A-C2-H2B	108.2	H2C-C2'-H2D	108.0
C4-C5-H5A	105.7(10)	C4'-C5'-H5B	103.7(10)
C6-C5-H5A	107.1(10)	C6'-C5'-H5B	106.7(10)
C10-C5-H5A	104.4(9)	C10'-C5'-H5B	105.9(9)
C5-C6-H6A	109.8(12)	C5'-C6'-H6C	107.1(13)
C7-C6-H6A	112.1(11)	C7'-C6'-H6C	111.9(12)

---

**Ausgewählte intramolekulare Abstände [Å] und Winkel [°] in [1] (Fortsetzung):**


---

C7-C6-H6B	108.6(13)	C7'-C6'-H6D	111.1(13)
C5-C6-H6B	110.9(13)	C5'-C6'-H6D	112.3(13)
H6A-C6-H6B	104.3(17)	H6C-C6'-H6D	103.2(18)
C6-C7-H7A	110.8(11)	C6'-C7'-H7C	113.2(12)
C8-C7-H7A	110.8(11)	C8'-C7'-H7C	109.4(12)
C6-C7-H7B	110.1(11)	C6'-C7'-H7D	113.0(14)
C8-C7-H7B	109.9(11)	C8'-C7'-H7D	107.6(14)
H7A-C7-H7B	101.2(16)	H7C-C7'-H7D	99.1(19)
C11-C9-H9A	105.1(10)	C11'-C9'-H9B	108.8(10)
C8-C9-H9A	105.0(10)	C8'-C9'-H9B	103.1(10)
C10-C9-H9A	103.3(10)	C10'-C9'-H9B	101.7(10)
C12-C11-H11A	112.0(12)	C12'-C11'-H11C	109.9(12)
C9-C11-H11A	104.5(12)	C9'-C11'-H11C	107.4(12)
C12-C11-H11B	107.2(10)	C12'-C11'-H11D	110.6(11)
C9-C11-H11B	108.6(10)	C9'-C11'-H11D	106.6(11)
H11A-C11-H11B	111.2(17)	H11C-C11'-H11D	109.0(17)
C11-C12-H12A	114.3(13)	C11'-C12'-H12C	114.9(14)
C13-C12-H12A	105.7(13)	C13'-C12'-H12C	107.3(14)
C11-C12-H12B	111.1(13)	C11'-C12'-H12D	109.5(12)
C13-C12-H12B	112.3(13)	C13'-C12'-H12D	111.1(12)
H12A-C12-H12B	102.8(18)	H12C-C12'-H12D	104.2(18)
C12-C13-H13A	106.9(9)	C12'-C13'-H13B	106.1(10)
C17-C13-H13A	106.3(9)	C17'-C13'-H13B	106.8(10)
C14-C13-H13A	106.7(9)	C14'-C13'-H13B	106.5(9)
C16-C15-H15A	114.1(13)	C16'-C15'-H15C	110.3(13)
C14-C15-H15A	109.9(14)	C14'-C15'-H15C	109.0(13)
C16-C15-H15B	109.2(12)	C16'-C15'-H15D	115.3(13)
C14-C15-H15B	107.9(12)	C14'-C15'-H15D	112.1(14)
H15A-C15-H15B	110.2(19)	H15C-C15'-H15D	104.2(19)
C15-C16-H16A	114.3(12)	C15'-C16'-H16C	113.1(14)
C17-C16-H16A	103.7(12)	C17'-C16'-H16C	103.8(14)
C15-C16-H16B	108.6(18)	C15'-C16'-H16D	112.7(15)
C17-C16-H16B	111.5(17)	C17'-C16'-H16D	109.6(15)
H16A-C16-H16B	111(2)	H16C-C16'-H16D	110(2)
C13-C17-H17A	107.0(10)	C13'-C17'-H17B	105.4(9)
C20-C17-H17A	107.1(10)	C20'-C17'-H17B	107.2(9)
C16-C17-H17A	108.4(10)	C16'-C17'-H17B	109.6(9)
C8-C18-H18A/B/C	109.5	C8'-C18'-H18D/E/F	109.5
H18A-C18-H18B/C	109.5	H18D-C18'-H18E/F	109.5
H18B-C18-H18C	109.5	H18E-C18'-H18F	109.5
C10-C19-H19A	114.5(12)	C10'-C19'-H19D/E/F	109.5
C10-C19-H19B	110.6(12)	H19D-C19'-H19E/F	109.5
H19A-C19-H19B	108.5(17)	H19E-C19'-H19F	109.5
C10-C19-H19C	109.0(14)		
H19A-C19-H19C	104.5(18)		
H19B-C19-H19C	109.3(17)		
C20-C21-H21A/B/C	109.5	C20'-C21'-H21D/E/F	109.5
H21A-C21-H21B/C	109.5	H21D-C21'-H21E/F	109.5
H21B-C21-H21C	109.5	H21E-C21'-H21F	109.5

## Anhang

**Ausgewählte intramolekulare Abstände [Å] und Winkel [°] in [1] (Fortsetzung):**

C23-C22-H22A/B	107.9	C23'-C22'-H22C/D	108.1
C20-C22-H22A/B	107.9	C20'-C22'-H22C/D	108.1
H22A-C22-H22B	107.2	H22C-C22'-H22D	107.3
C22-C23-H23A/B	109.2	C22'-C23'-H23C/D	109.2
C24-C23-H23A/B	109.2	C24'-C23'-H23C/D	109.2
H23A-C23-H23B	107.9	H23C-C23'-H23D	107.9
C25-C24-H24A	119(2)	C25'-C24'-H24B	119.7(18)
C23-C24-H24A	112(2)	C23'-C24'-H24B	111.5(18)
C25-C26-H26A/B/C	109.5	C25'-C26'-H26D/E/F	109.5
H26A-C26-H26B/C	109.5	H26D-C26'-H26E/F	109.5
H26B-C26-H26C	109.5	H26E-C26'-H26F	109.5
C25-C27-H27A/B/C	109.5	C25'-C27'-H27D/E/F	109.5
H27A-C27-H27B/C	109.5	H27D-C27'-H27E/F	109.5
H27B-C27-H27C	109.5	H27E-C27'-H27F	109.5
C4-C28-H28A/B/C	109.5	C4'-C28'-H28D/E/F	109.5
H28A-C28-H28B/C	109.5	H28D-C28'-H28E/F	109.5
H28B-C28-H28C	109.5	H28E-C28'-H28F	109.5
C4-C29-H29A	121(2)	C4'-C29'-H29C	119.2(16)
C4-C29-H29B	116.8(18)	C4'-C29'-H29D	126.0(19)
H29A-C29-H29B	121(3)	H29C-C29'-H29D	114(3)
C14-C30-H30A/B/C	109.5	C14'-C30'-H30D/E/F	109.5
H30A-C30-H30B/C	109.5	H30D-C30'-H30E/F	109.5
H30B-C30-H30C	109.5	H30E-C30'-H30F	109.5
O1M-C1M	1.310(4)	O2M-C2M	1.299(4)
O1M-H1M	0.86(5)	O2M-H2M	0.88(4)
C1M-H1M1/2/3	0.9600	C2M-H2M1/2/3	0.9600
C1M-O1M-H1M	113(4)	C2M-O2M-H2M	120(3)
O1M-C1M-H1M1/2/3	109.5	O2M-C2M-H2M1/2/3	109.5
H1M1-C1M-H1M2/3	109.5	H2M1-C2M-H2M2/3	109.5
H1M2-C1M-H1M3	109.5	H2M2-C2M-H2M3	109.5

## Anhang

## Ausgewählte Torsionswinkel [°] in [1]:

Molekül 1		Molekül 2	
C10-C1-C2-C3	176.11(17)	C10'-C1'-C2'-C3'	170.25(18)
C1-C2-C3-O2	71.6(2)	C1'-C2'-C3'-O2'	-108.9(3)
C1-C2-C3-O1	-108.3(2)	C1'-C2'-C3'-O1'	67.6(3)
C29-C4-C5-C6	-130.3(2)	C29'-C4'-C5'-C6'	-130.0(2)
C28-C4-C5-C6	45.3(3)	C28'-C4'-C5'-C6'	45.5(3)
C29-C4-C5-C10	100.9(2)	C29'-C4'-C5'-C10'	100.4(3)
C28-C4-C5-C10	-83.5(3)	C28'-C4'-C5'-C10'	-84.1(3)
C4-C5-C6-C7	167.12(19)	C4'-C5'-C6'-C7'	166.8(2)
C10-C5-C6-C7	-61.6(2)	C10'-C5'-C6'-C7'	-61.1(2)
C5-C6-C7-C8	59.0(2)	C5'-C6'-C7'-C8'	58.7(3)
C6-C7-C8-C18	70.9(2)	C6'-C7'-C8'-C18'	70.5(2)
C6-C7-C8-C9	-50.9(2)	C6'-C7'-C8'-C9'	-51.0(2)
C6-C7-C8-C14	-168.35(17)	C6'-C7'-C8'-C14'	-168.58(18)
C7-C8-C9-C11	-177.81(17)	C7'-C8'-C9'-C11'	-177.92(18)
C18-C8-C9-C11	62.8(2)	C18'-C8'-C9'-C11'	62.9(2)
C14-C8-C9-C11	-57.65(19)	C14'-C8'-C9'-C11'	-57.7(2)
C7-C8-C9-C10	49.0(2)	C7'-C8'-C9'-C10'	48.9(2)
C18-C8-C9-C10	-70.4(2)	C18'-C8'-C9'-C10'	-70.2(2)
C14-C8-C9-C10	169.15(15)	C14'-C8'-C9'-C10'	169.16(15)
C2-C1-C10-C19	170.57(18)	C2'-C1'-C10'-C19'	170.04(18)
C2-C1-C10-C5	-69.0(2)	C2'-C1'-C10'-C5'	-70.2(2)
C2-C1-C10-C9	48.1(2)	C2'-C1'-C10'-C9'	47.2(2)
C4-C5-C10-C19	59.3(2)	C4'-C5'-C10'-C19'	59.0(2)
C6-C5-C10-C19	-69.7(2)	C6'-C5'-C10'-C19'	-70.8(2)
C4-C5-C10-C1	-56.7(2)	C4'-C5'-C10'-C1'	-56.0(2)
C6-C5-C10-C1	174.26(16)	C6'-C5'-C10'-C1'	174.19(16)
C4-C5-C10-C9	-175.11(17)	C4'-C5'-C10'-C9'	-174.91(18)
C6-C5-C10-C9	55.9(2)	C6'-C5'-C10'-C9'	55.3(2)
C11-C9-C10-C19	-58.9(2)	C11'-C9'-C10'-C19'	-58.5(2)
C8-C9-C10-C19	72.9(2)	C8'-C9'-C10'-C19'	73.4(2)
C11-C9-C10-C1	57.8(2)	C11'-C9'-C10'-C1'	58.0(2)
C8-C9-C10-C1	-170.34(16)	C8'-C9'-C10'-C1'	-170.03(16)
C11-C9-C10-C5	176.79(17)	C11'-C9'-C10'-C5'	176.97(18)
C8-C9-C10-C5	-51.4(2)	C8'-C9'-C10'-C5'	-51.1(2)
C8-C9-C11-C12	56.1(2)	C8'-C9'-C11'-C12'	56.8(3)
C10-C9-C11-C12	-169.42(18)	C10'-C9'-C11'-C12'	-168.78(19)
C9-C11-C12-C13	-53.8(3)	C9'-C11'-C12'-C13'	-54.4(3)
C11-C12-C13-C17	178.10(18)	C11'-C12'-C13'-C17'	178.97(19)
C11-C12-C13-C14	55.9(3)	C11'-C12'-C13'-C14'	56.1(2)
C12-C13-C14-C15	176.10(17)	C12'-C13'-C14'-C15'	175.90(17)
C17-C13-C14-C15	44.23(18)	C17'-C13'-C14'-C15'	43.62(19)
C12-C13-C14-C30	64.1(2)	C12'-C13'-C14'-C30'	64.4(2)
C17-C13-C14-C30	-67.81(18)	C17'-C13'-C14'-C30'	-67.93(19)
C12-C13-C14-C8	-61.2(2)	C12'-C13'-C14'-C8'	-61.0(2)
C17-C13-C14-C8	166.98(14)	C17'-C13'-C14'-C8'	166.74(15)
C7-C8-C14-C15	-67.1(2)	C7'-C8'-C14'-C15'	-67.7(2)

Anhang

**Ausgewählte Torsionswinkel [°] in [1] (Fortsetzung):**

C18-C8-C14-C15	52.3(2)	C18'-C8'-C14'-C15'	51.6(2)
C9-C8-C14-C15	173.81(15)	C9'-C8'-C14'-C15'	173.05(16)
C7-C8-C14-C30	55.94(19)	C7'-C8'-C14'-C30'	55.2(2)
C18-C8-C14-C30	175.33(15)	C18'-C8'-C14'-C30'	174.51(15)
C9-C8-C14-C30	-63.18(18)	C9'-C8'-C14'-C30'	-64.04(18)
C7-C8-C14-C13	179.70(16)	C7'-C8'-C14'-C13'	179.15(16)
C18-C8-C14-C13	-60.91(18)	C18'-C8'-C14'-C13'	-61.50(19)
C9-C8-C14-C13	60.58(18)	C9'-C8'-C14'-C13'	59.95(19)
C30-C14-C15-C16	77.7(2)	C30'-C14'-C15'-C16'	77.9(2)
C13-C14-C15-C16	-37.4(2)	C13'-C14'-C15'-C16'	-37.1(2)
C8-C14-C15-C16	-155.94(17)	C8'-C14'-C15'-C16'	-155.76(18)
C14-C15-C16-C17	17.2(2)	C14'-C15'-C16'-C17'	17.3(3)
C12-C13-C17-C20	75.3(3)	C12'-C13'-C17'-C20'	74.8(3)
C14-C13-C17-C20	-159.30(16)	C14'-C13'-C17'-C20'	-159.23(17)
C12-C13-C17-C16	-159.3(2)	C12'-C13'-C17'-C16'	-159.4(2)
C14-C13-C17-C16	-33.87(19)	C14'-C13'-C17'-C16'	-33.4(2)
C15-C16-C17-C20	138.37(19)	C15'-C16'-C17'-C13'	10.0(2)
C15-C16-C17-C13	10.4(2)	C15'-C16'-C17'-C20'	138.3(2)
C13-C17-C20-O3	172.45(16)	C13'-C17'-C20'-O3'	168.47(16)
C16-C17-C20-O3	52.3(2)	C16'-C17'-C20'-O3'	48.0(2)
C13-C17-C20-C21	53.6(2)	C13'-C17'-C20'-C21'	52.8(2)
C16-C17-C20-C21	-66.6(2)	C16'-C17'-C20'-C21'	-67.8(2)
C13-C17-C20-C22	-70.6(2)	C13'-C17'-C20'-C22'	-71.2(2)
C16-C17-C20-C22	169.21(17)	C16'-C17'-C20'-C22'	168.31(18)
O3-C20-C22-C23	67.7(2)	O3'-C20'-C22'-C23'	69.7(2)
C21-C20-C22-C23	-177.4(2)	C21'-C20'-C22'-C23'	-176.7(2)
C17-C20-C22-C23	-50.3(3)	C17'-C20'-C22'-C23'	-50.7(3)
C20-C22-C23-C24	-175.5(2)	C20'-C22'-C23'-C24'	-175.0(2)
C22-C23-C24-C25	131.5(3)	C22'-C23'-C24'-C25'	134.7(3)
C23-C24-C25-C27	3.5(4)	C23'-C24'-C25'-C27'	2.7(4)
C23-C24-C25-C26	-178.1(3)	C23'-C24'-C25'-C26'	-178.4(2)

**H-Brücken in [1]**

D-H ... A	D-H [Å]	H ... A [Å]	D ... A [Å]	D-H ... A [°]
O1-H1 ... O3 <sup>a</sup>	0.8200	1.8411	2.632(2)	161.69
O1'-H1' ... O2 <sup>b</sup>	0.8200	1.9023	2.677(2)	157.15
O3-H3 ... O1M <sup>c</sup>	0.91(3)	1.88(3)	2.768(3)	163(3)
O3'-H3' ... O2 <sup>d</sup>	1.10(3)	1.75(3)	2.796(2)	157(3)
O1M-H1M ... O2M	0.86(5)	1.87(5)	2.713(3)	169(6)
O2M-H2M ... O3 <sup>e</sup>	0.88(4)	1.94(5)	2.777(3)	158(4)

<sup>a</sup> -x, y-1/2, -z-1/2

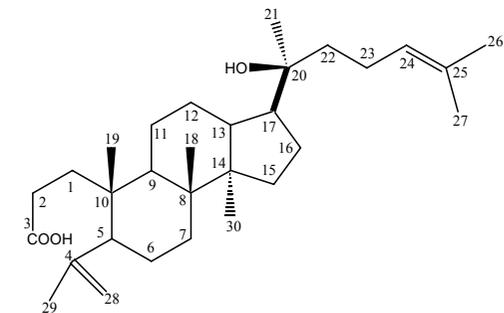
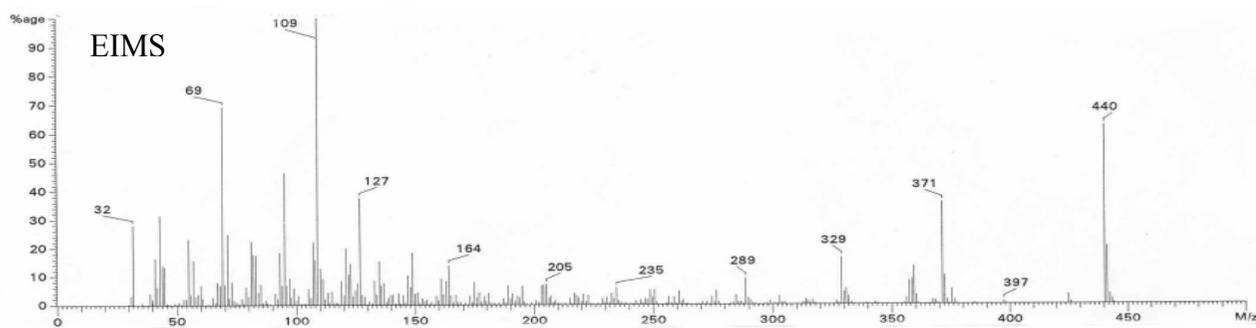
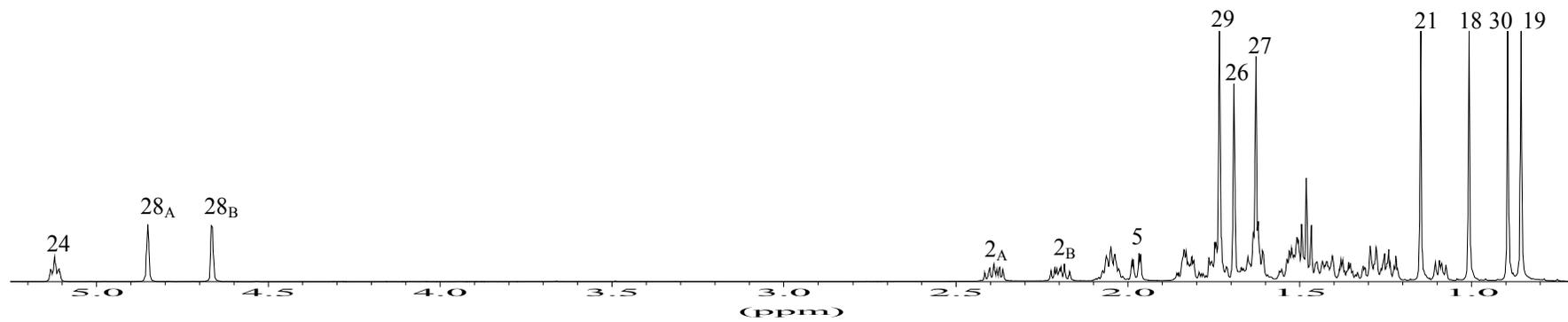
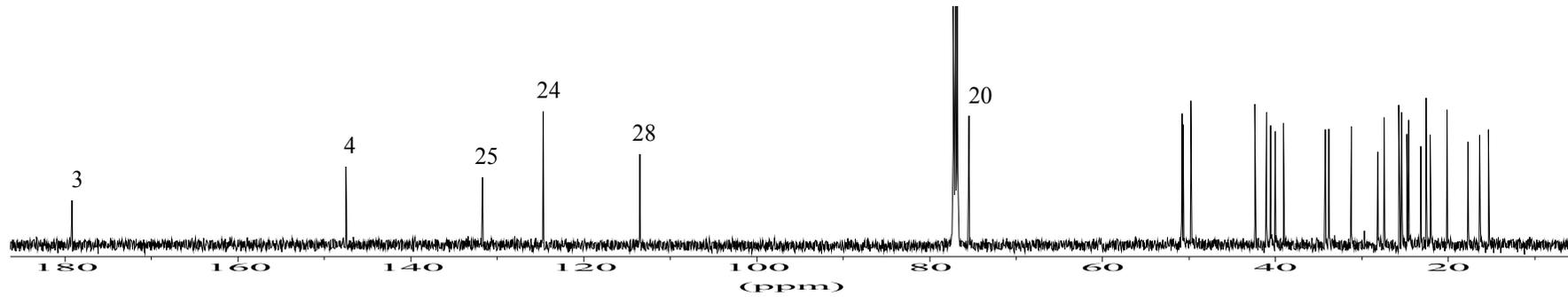
<sup>b</sup> x-1, y, z

<sup>c</sup> x, y+1, z

<sup>d</sup> -x-2, y+1/2, -z-1/2

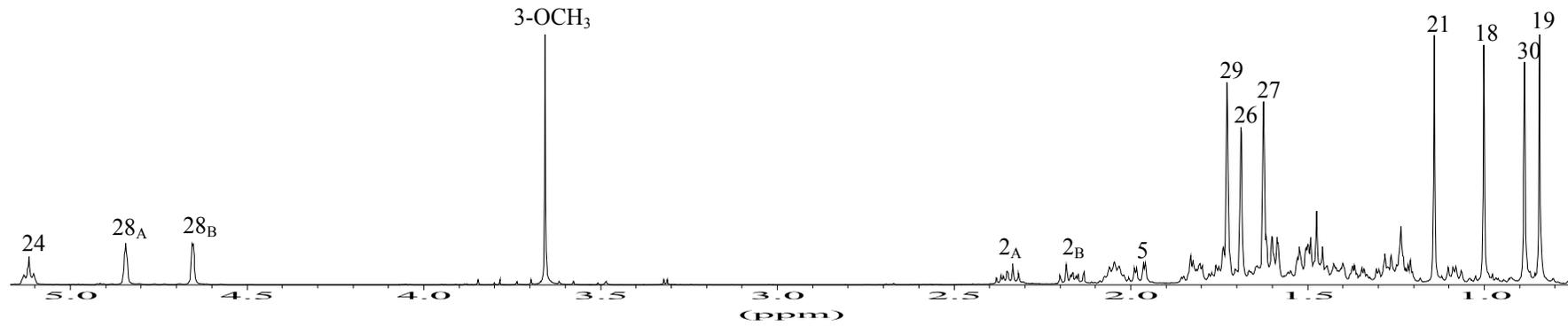
<sup>e</sup> x, y-1, z

## 5.2. 1D-NMR- und Massen-Spektren der isolierten Naturstoffe

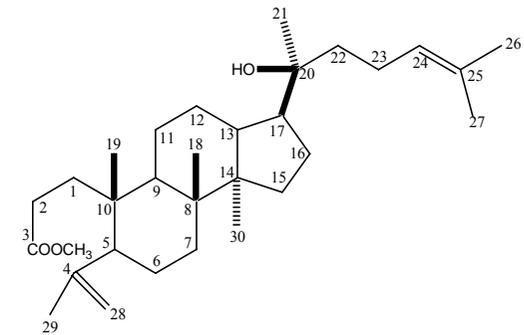
Verbindung [1]: gemessen in  $\text{CDCl}_3$ 

# Anhang

Verbindung [2]: gemessen in  $\text{CDCl}_3$

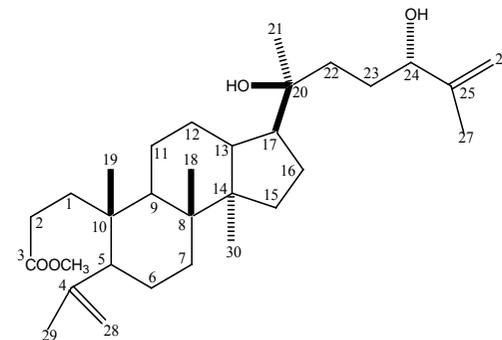
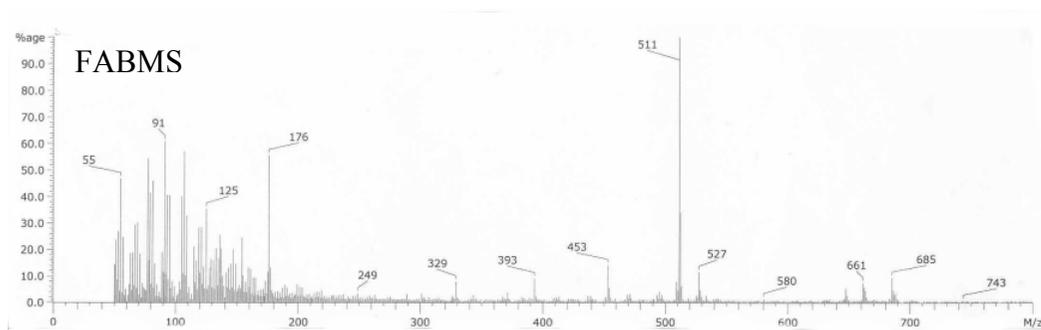
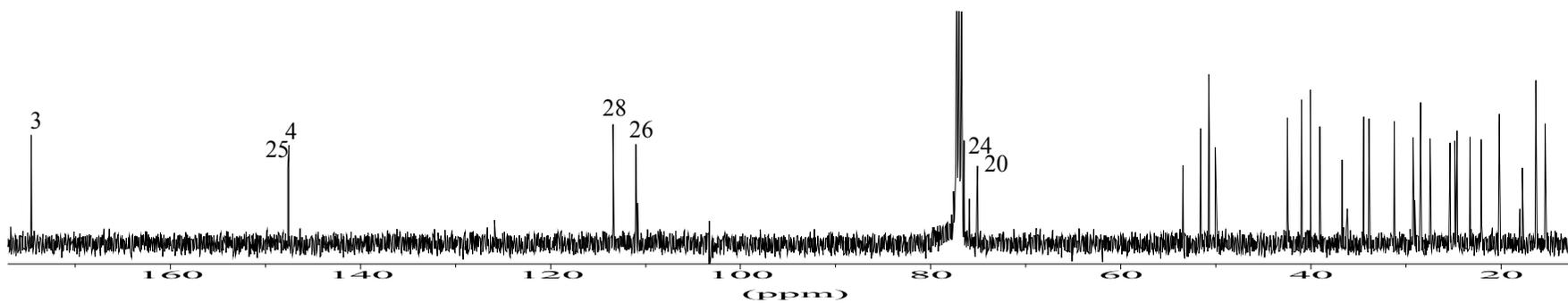
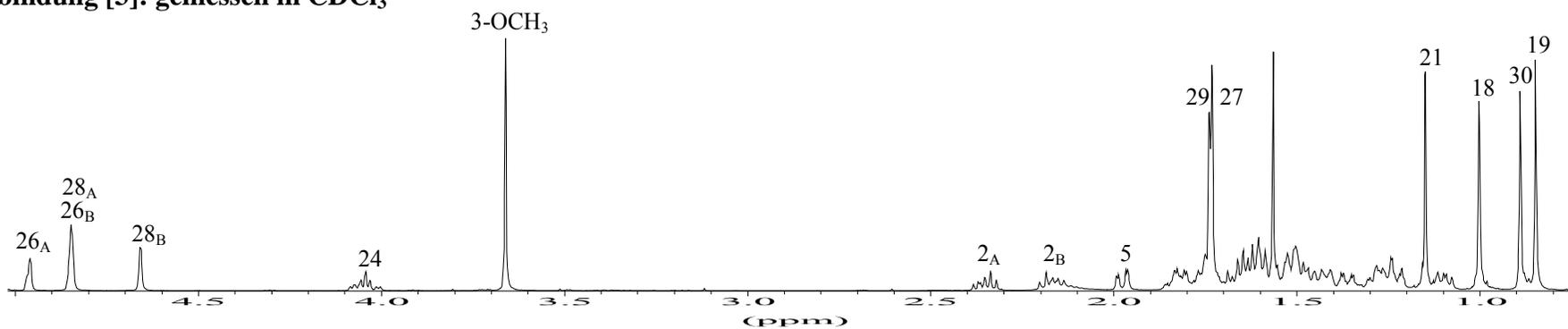


EIMS



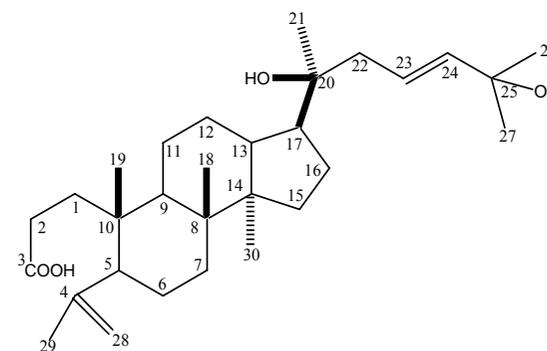
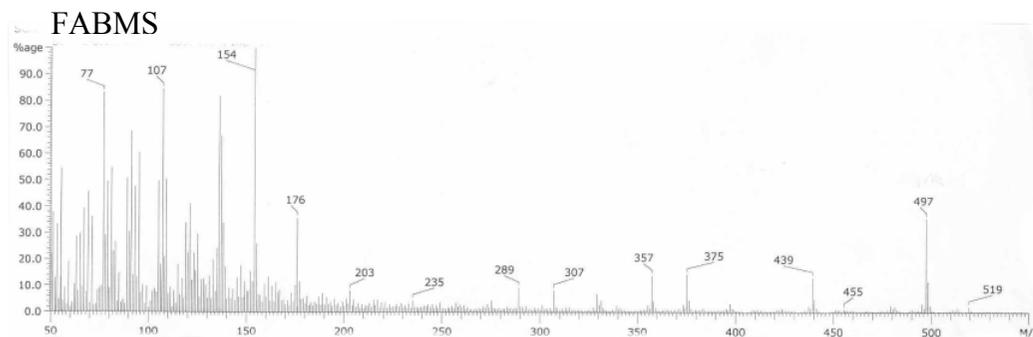
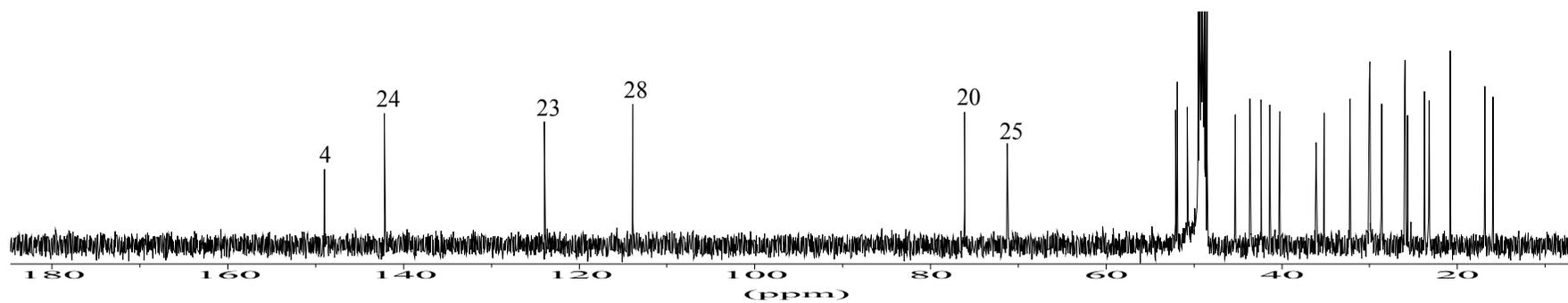
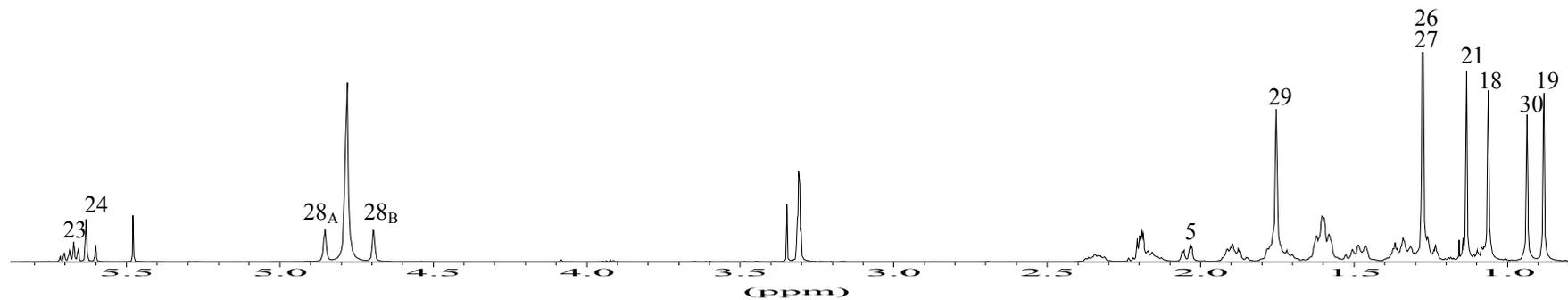
# Anhang

Verbindung [3]: gemessen in  $\text{CDCl}_3$



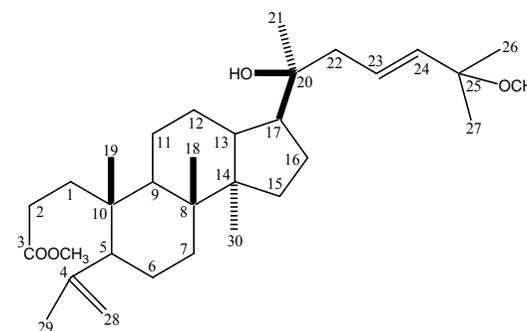
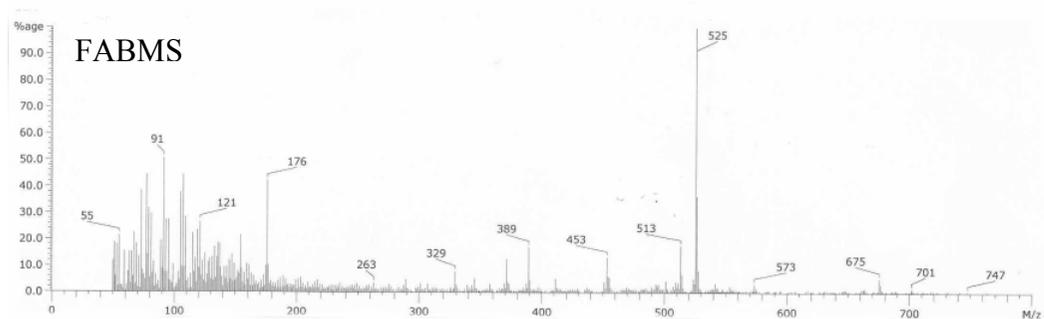
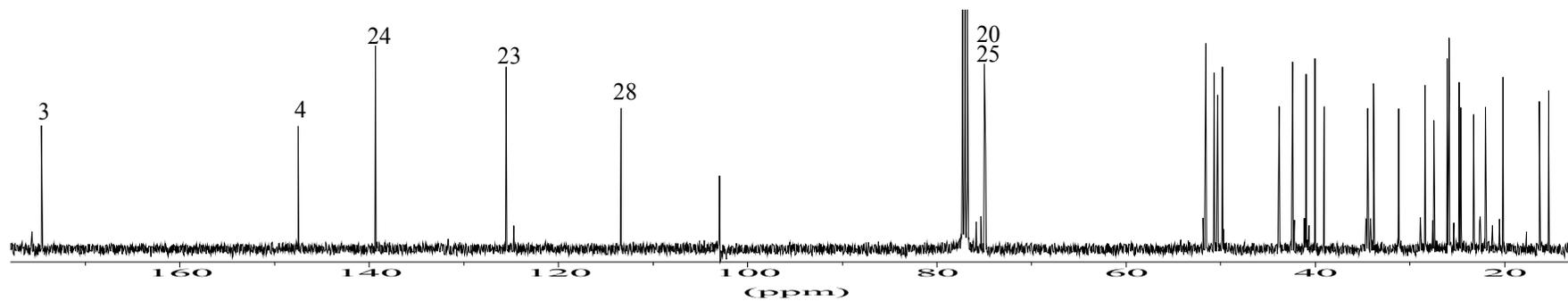
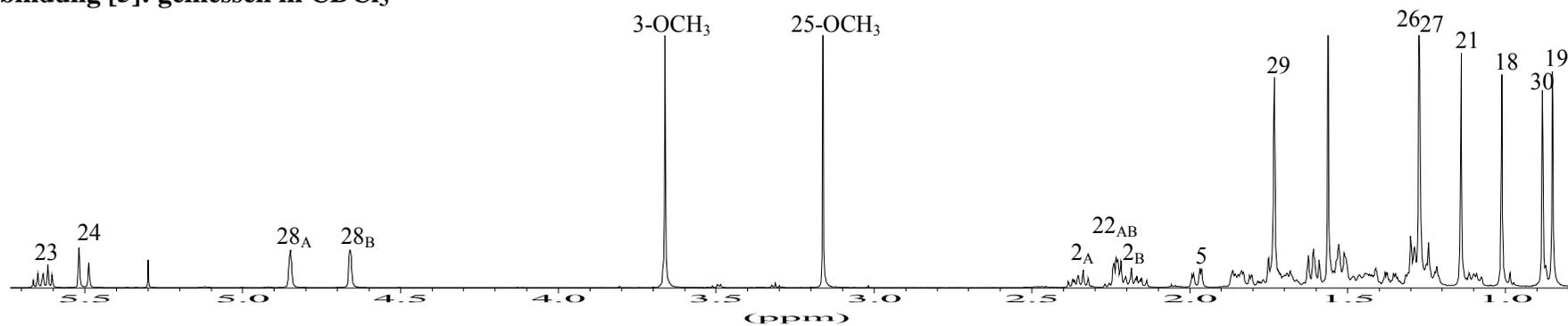
# Anhang

Verbindung [4]: gemessen in CD<sub>3</sub>OD



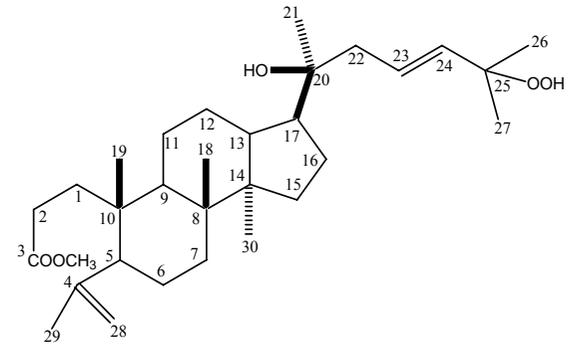
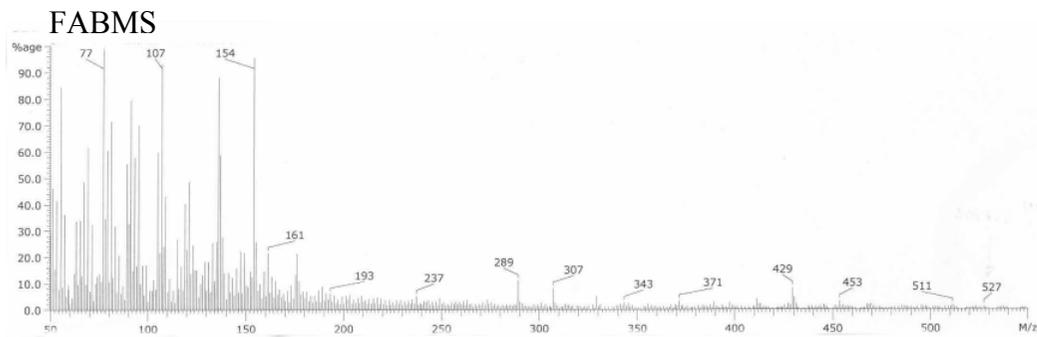
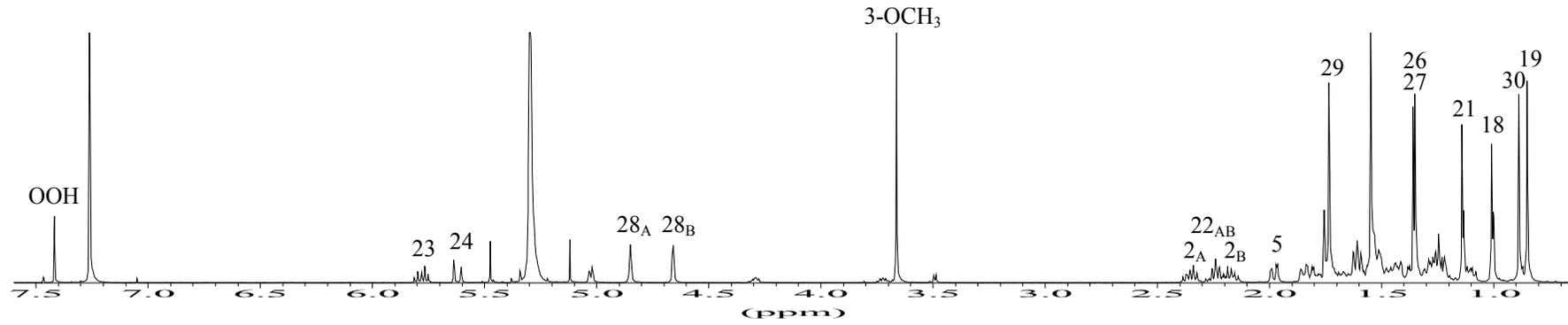
# Anhang

Verbindung [5]: gemessen in  $\text{CDCl}_3$



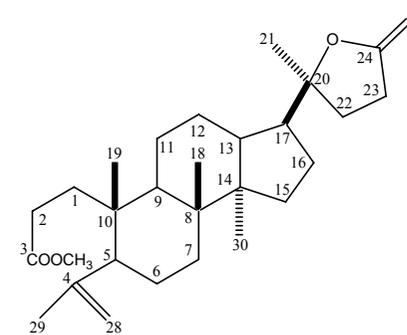
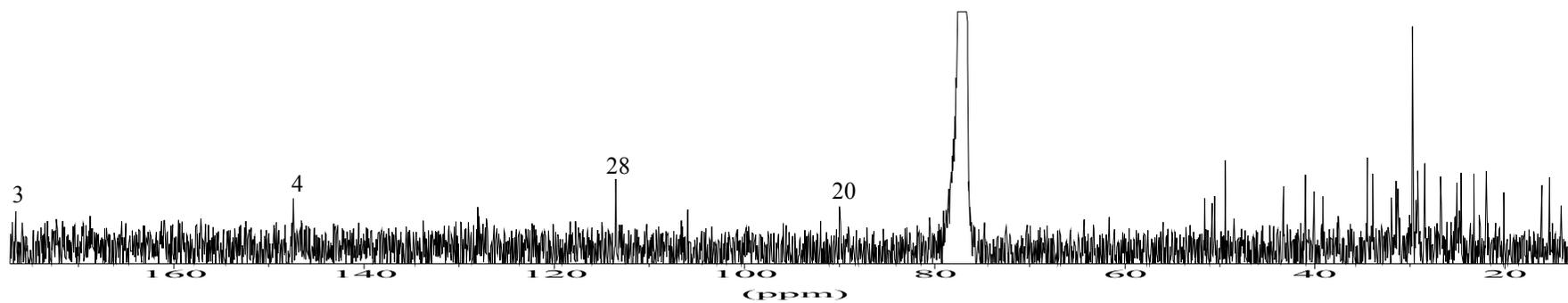
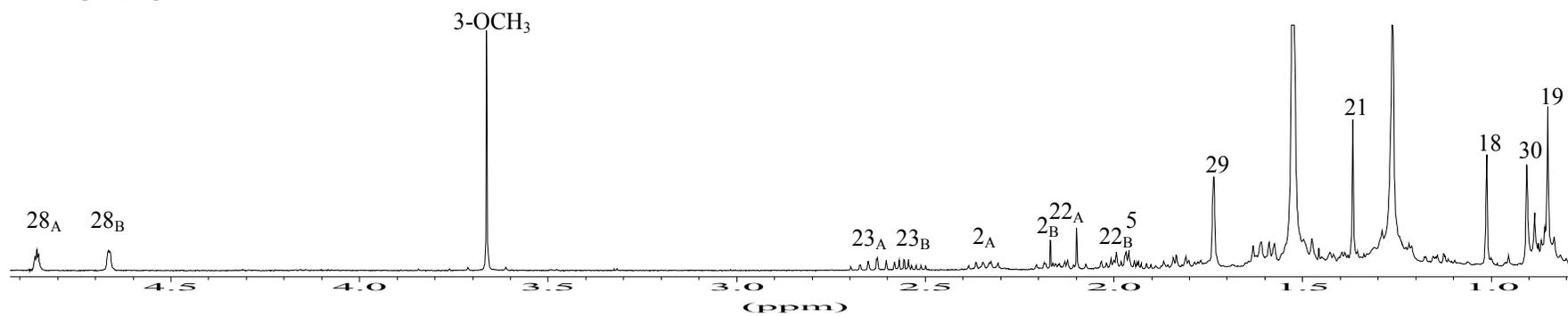
# Anhang

## Verbindung [6]: gemessen in $\text{CDCl}_3$

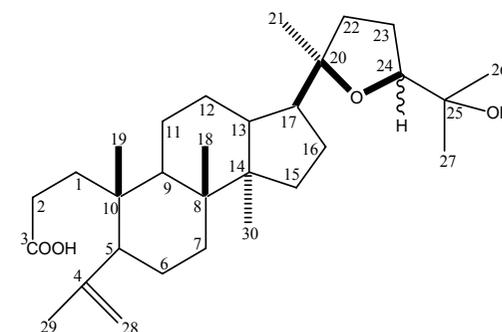
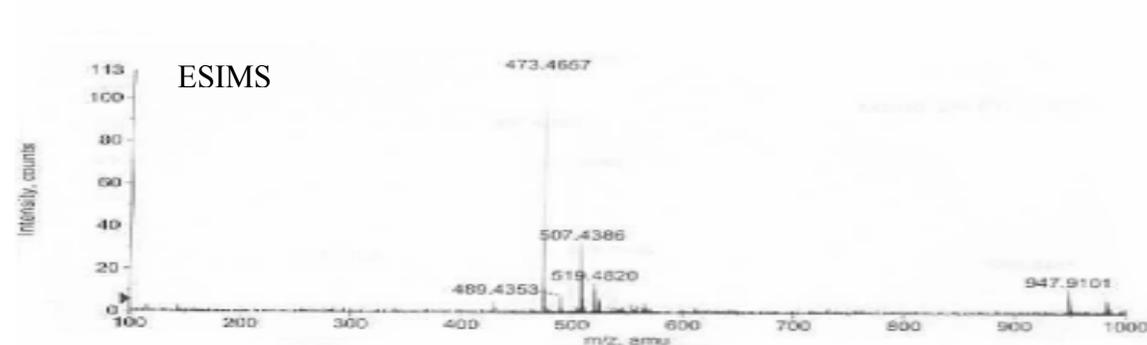
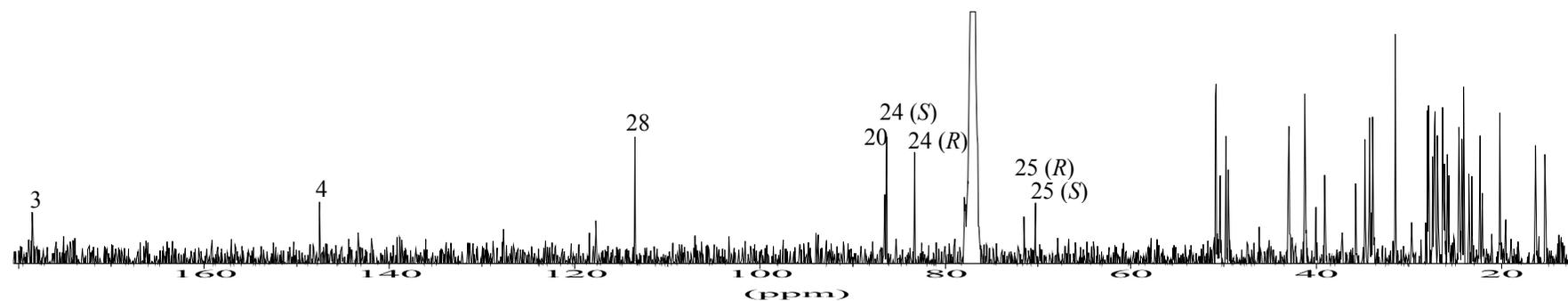
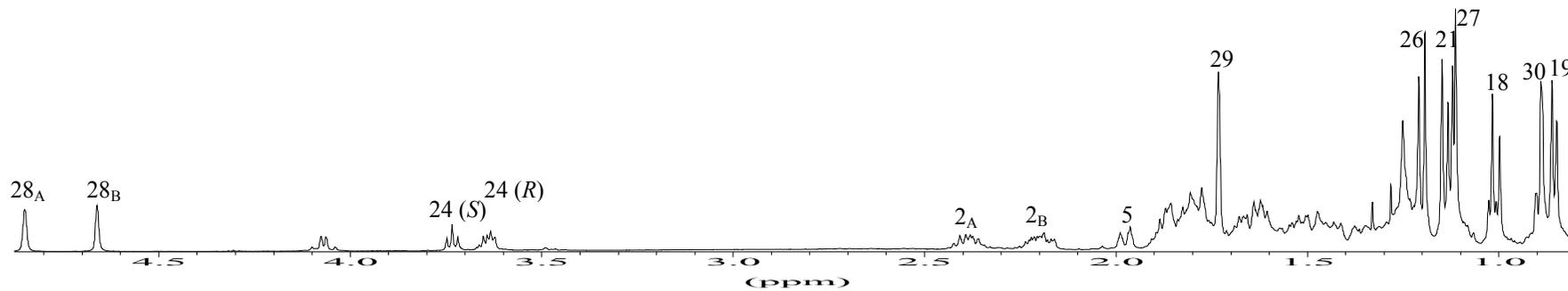


Anhang

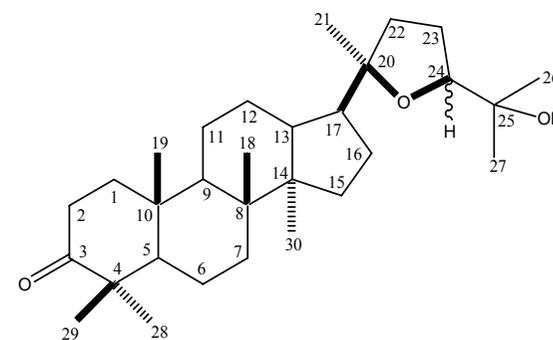
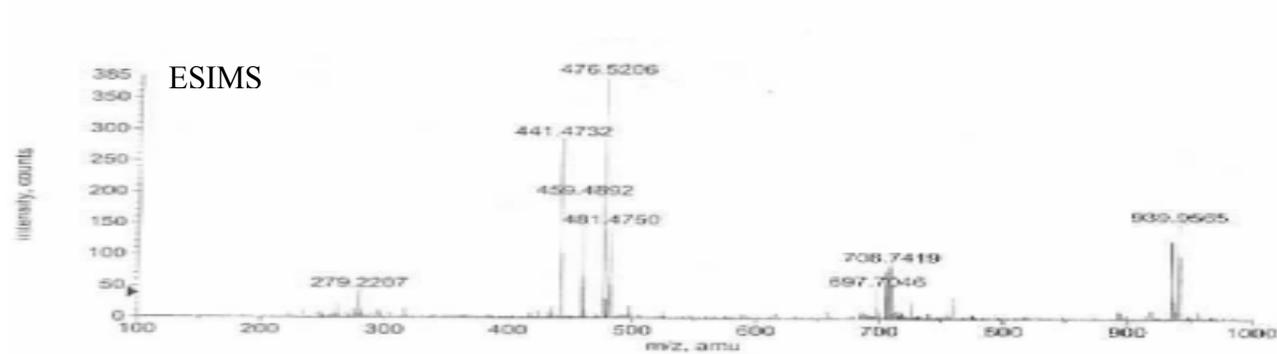
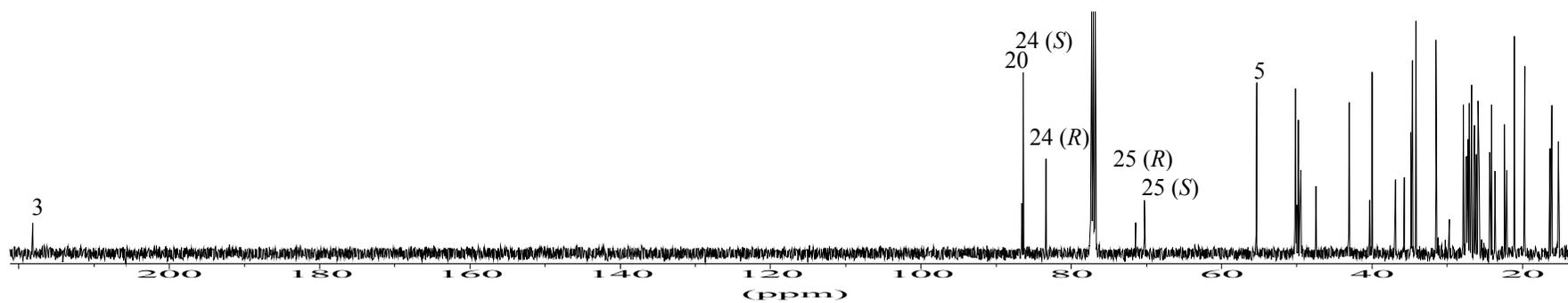
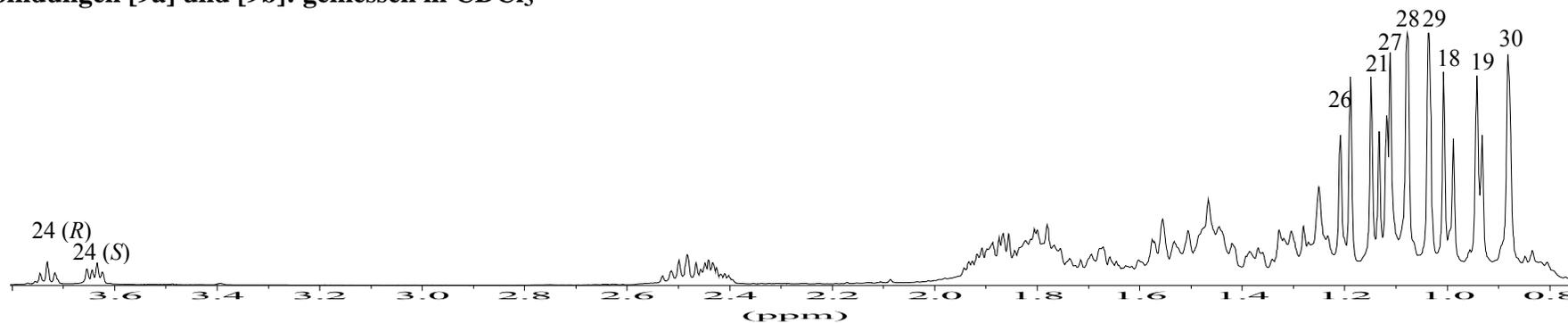
Verbindung [7]: gemessen in  $\text{CDCl}_3$



Verbindungen [8a] und [8b]: gemessen in CDCl<sub>3</sub>

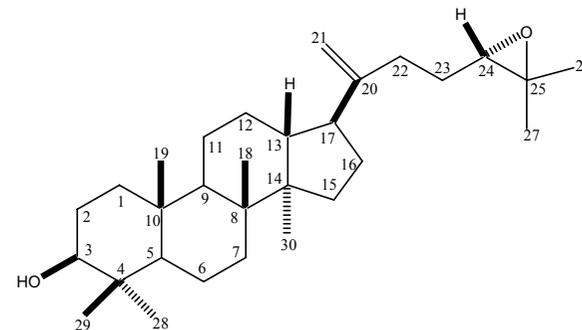
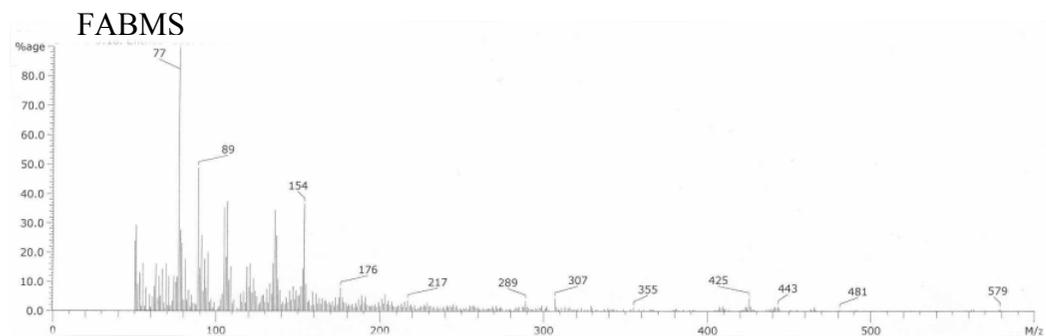
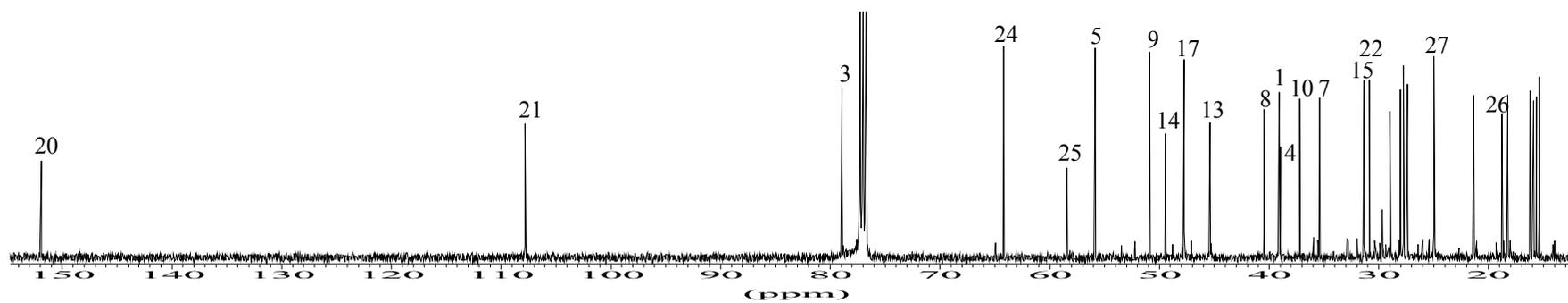
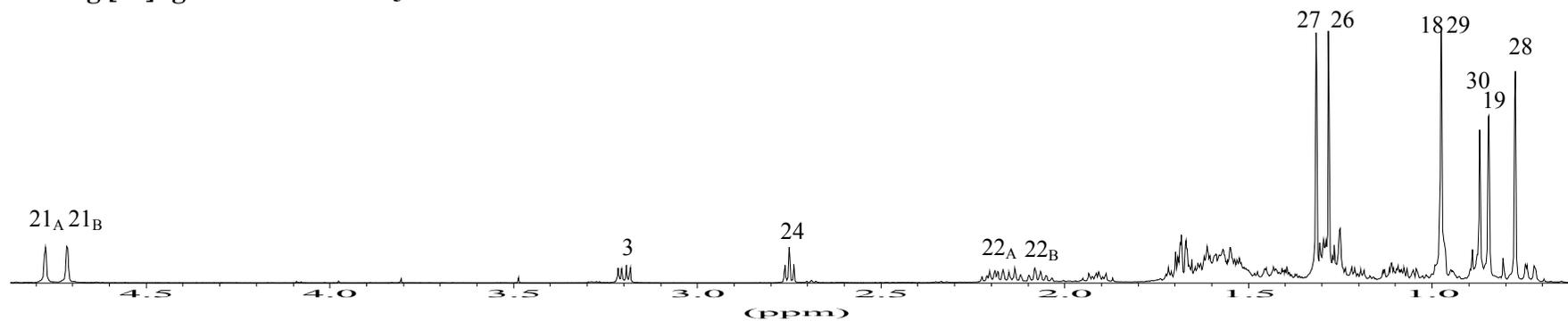


Verbindungen [9a] und [9b]: gemessen in CDCl<sub>3</sub>



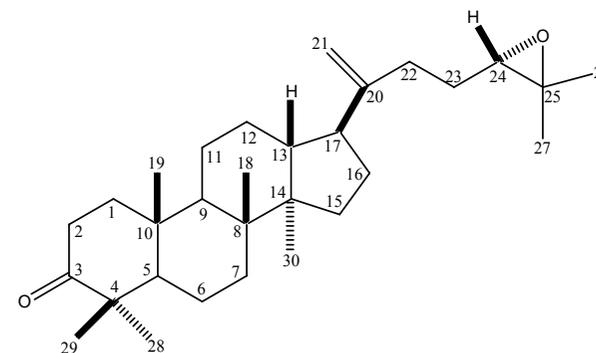
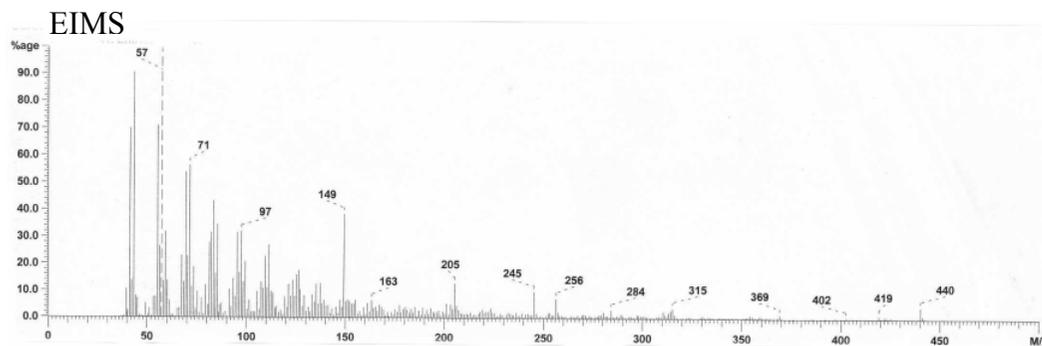
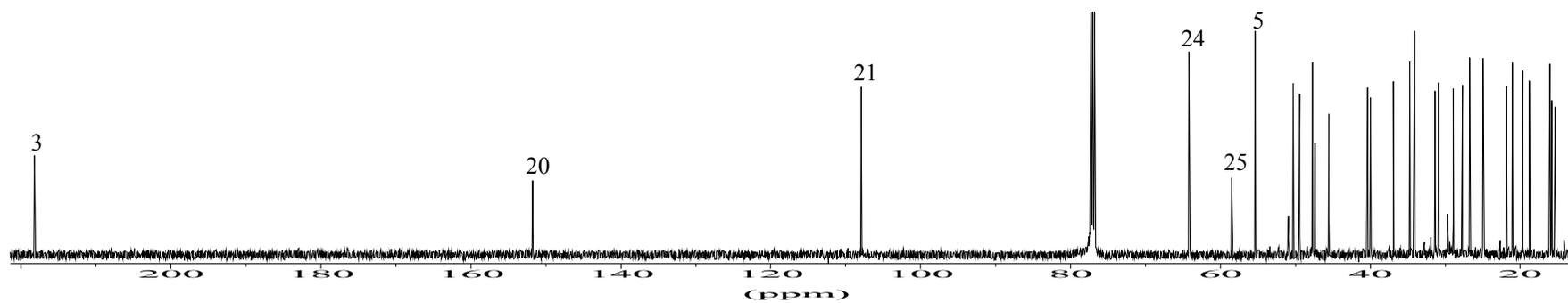
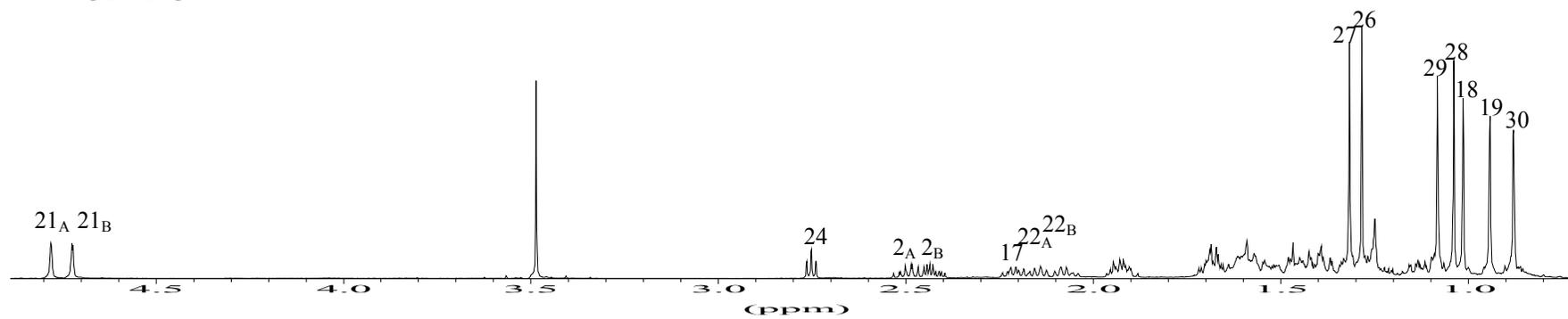
# Anhang

Verbindung [10]: gemessen in  $\text{CDCl}_3$



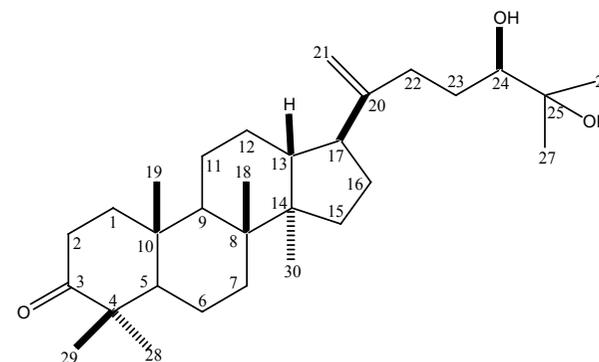
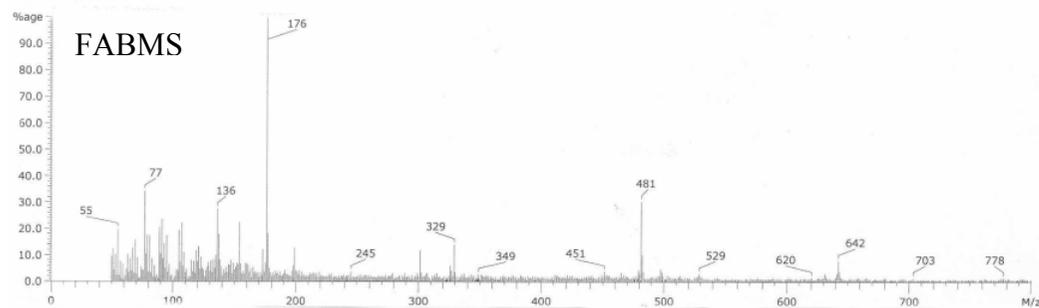
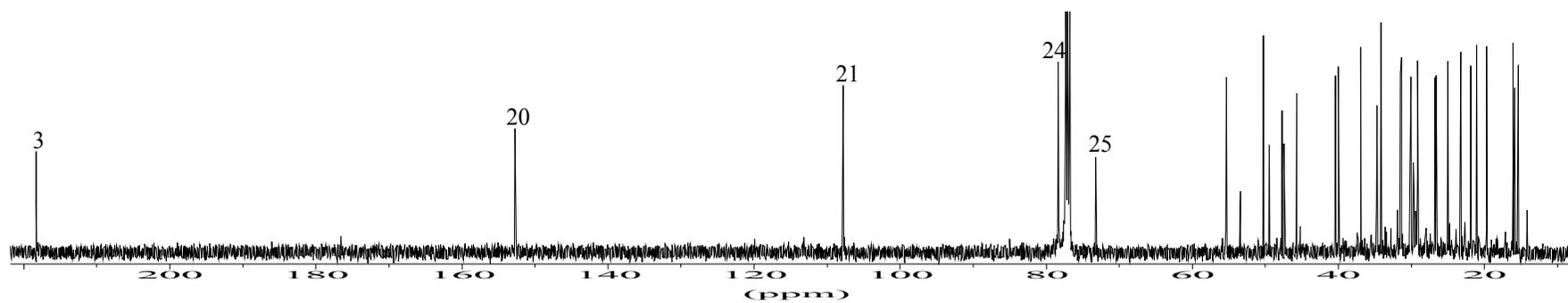
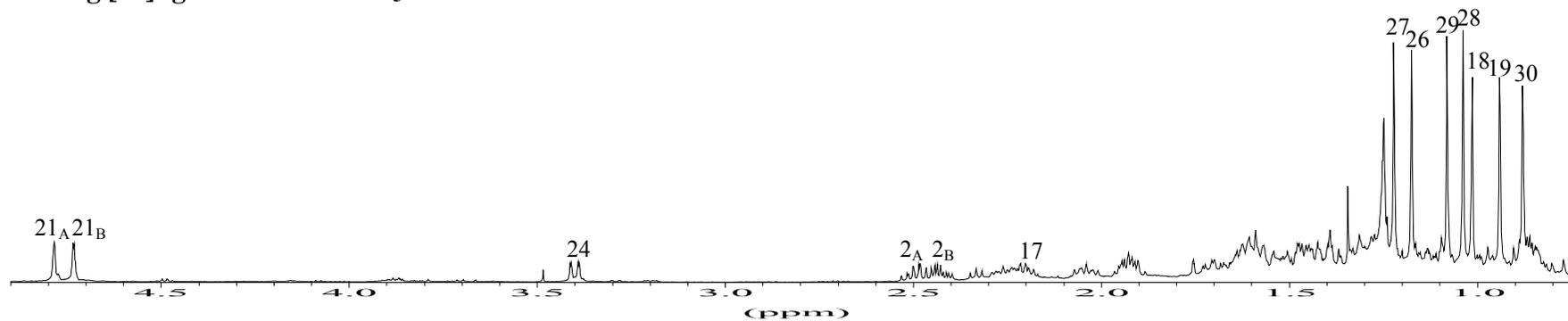
# Anhang

Verbindung [11]: gemessen in  $\text{CDCl}_3$



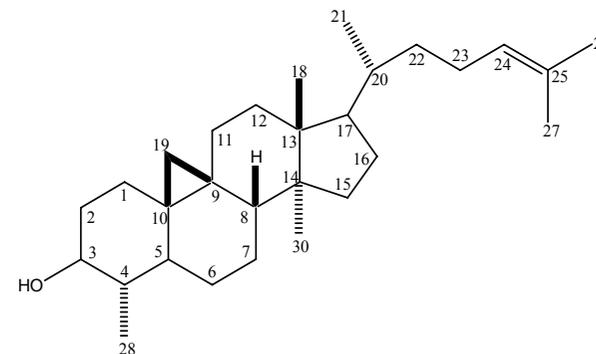
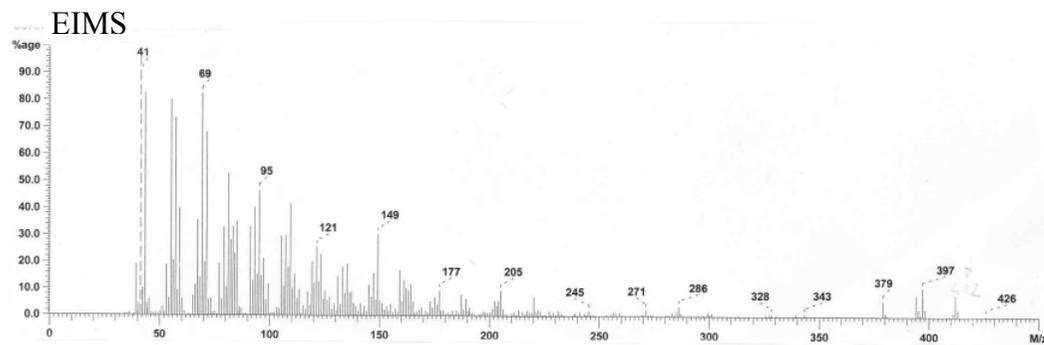
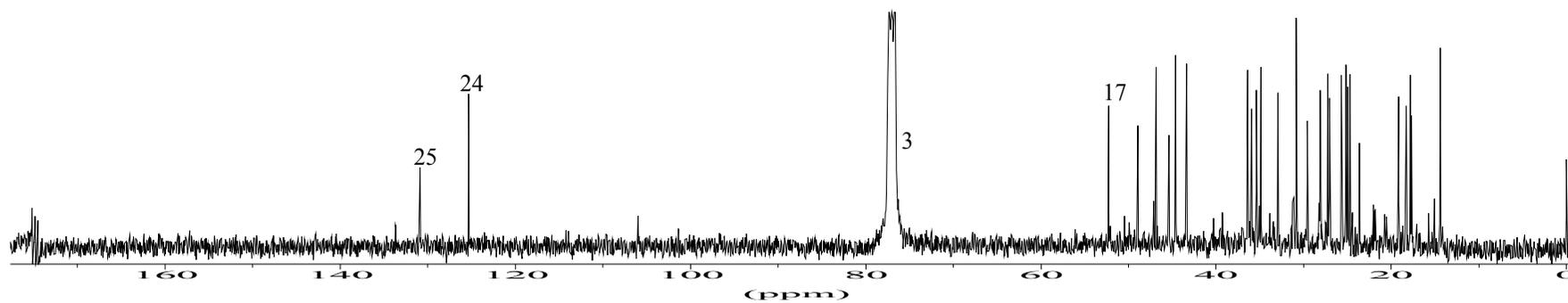
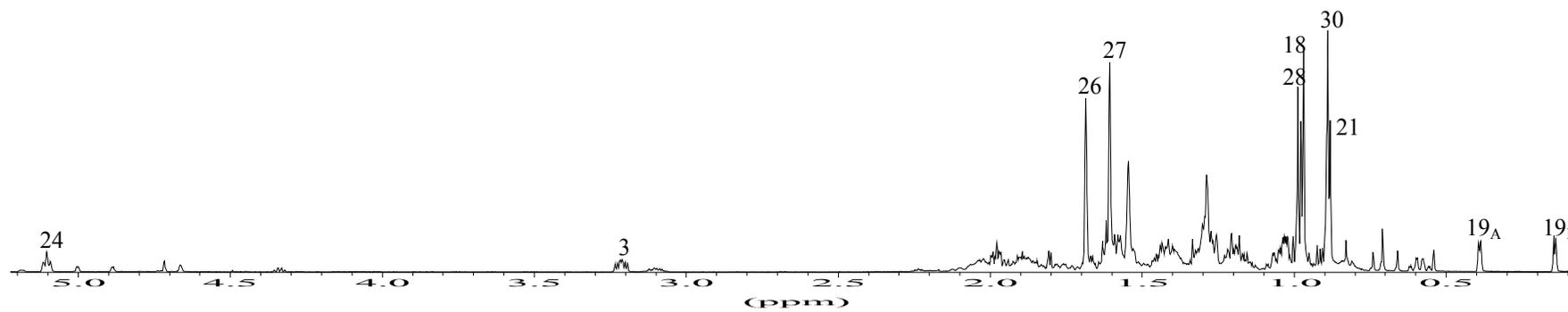
# Anhang

Verbindung [12]: gemessen in  $\text{CDCl}_3$



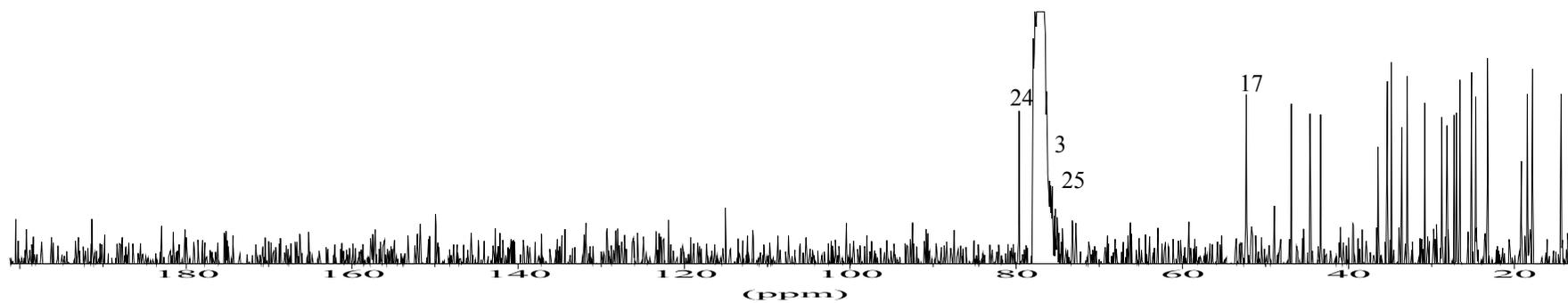
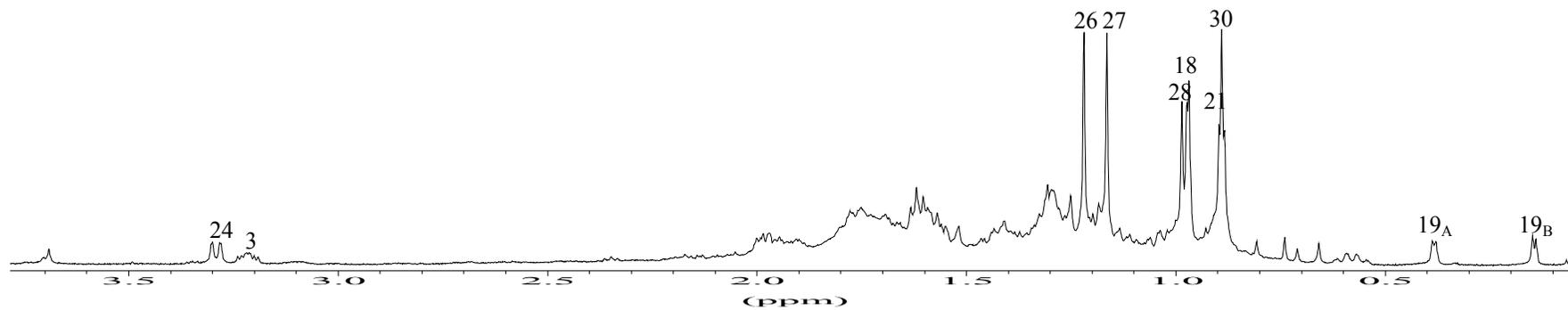
Anhang

Verbindung [13]: gemessen in  $\text{CDCl}_3$

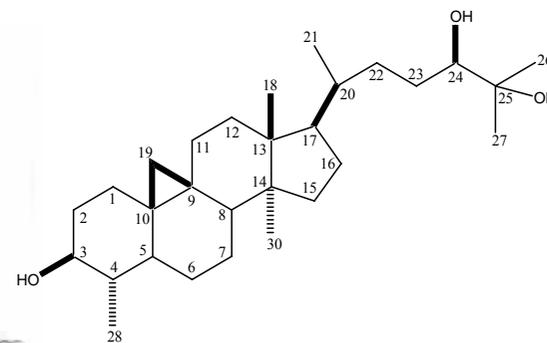
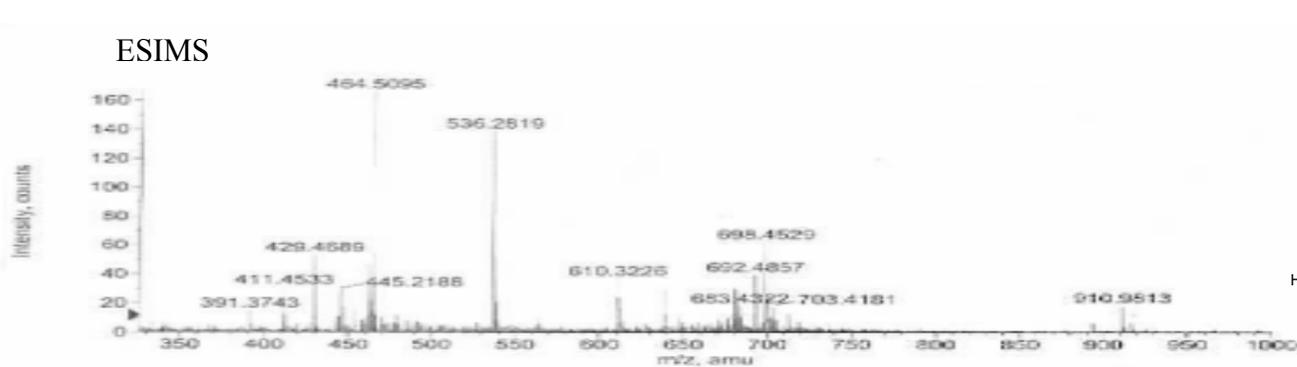


Anhang

Verbindung [14]: gemessen in  $\text{CDCl}_3$

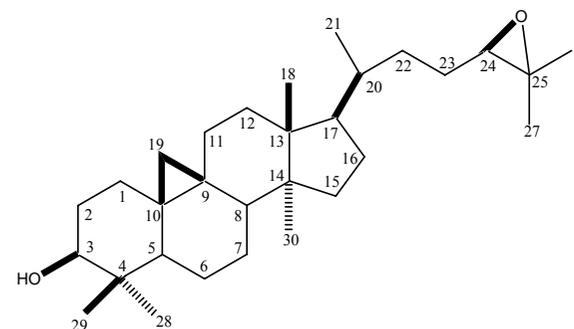
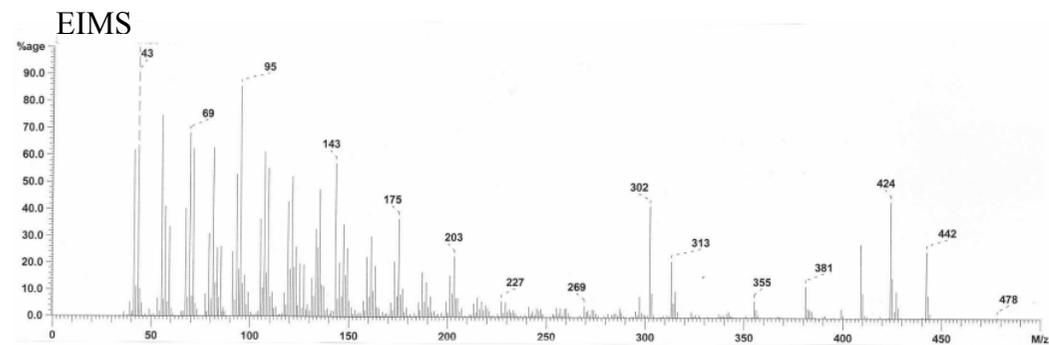
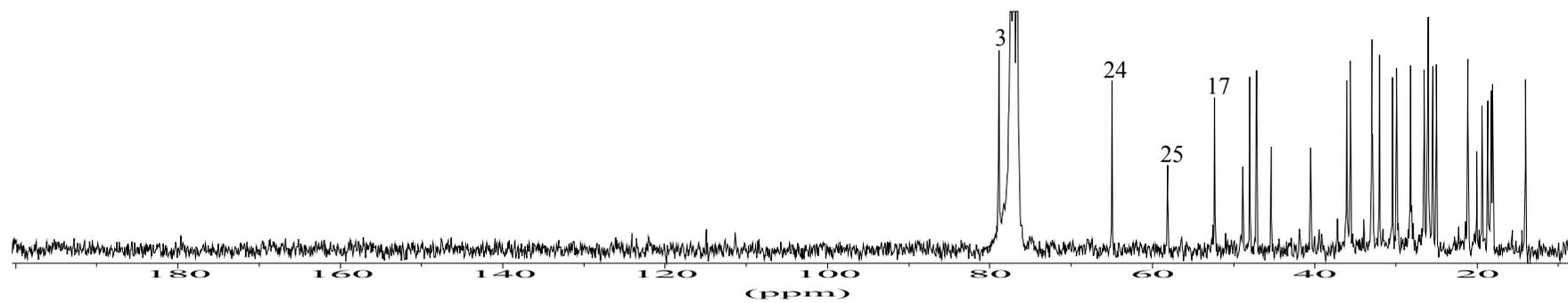
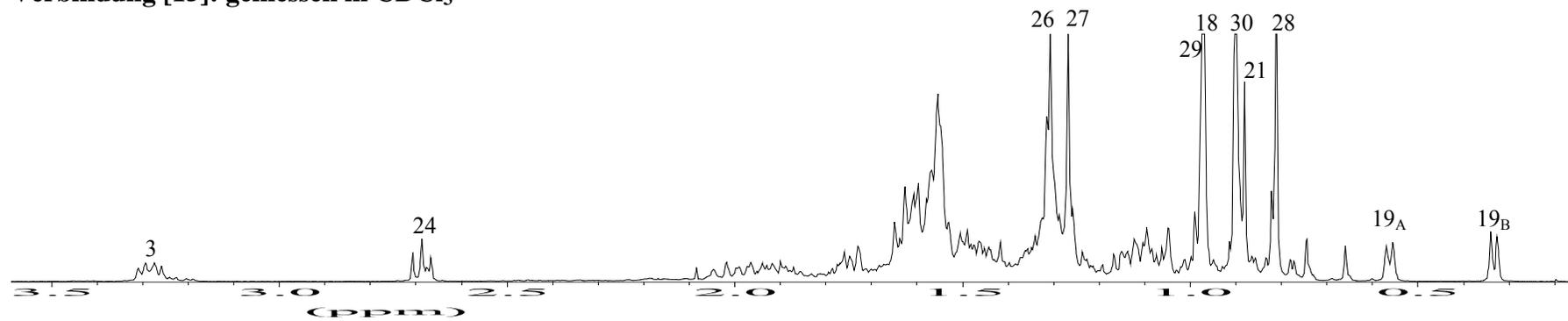


ESIMS



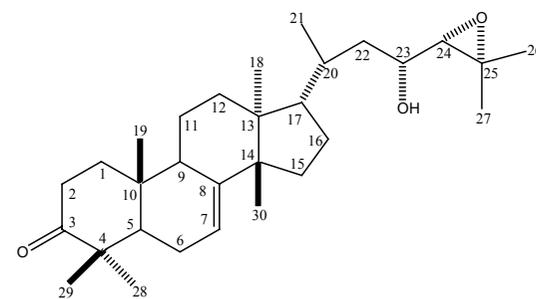
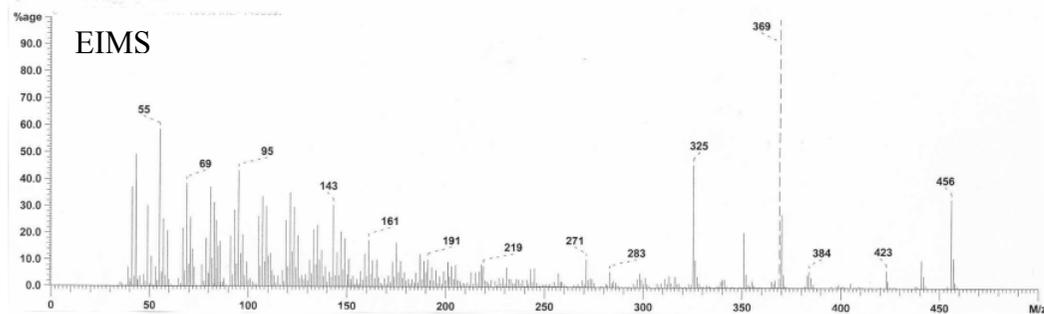
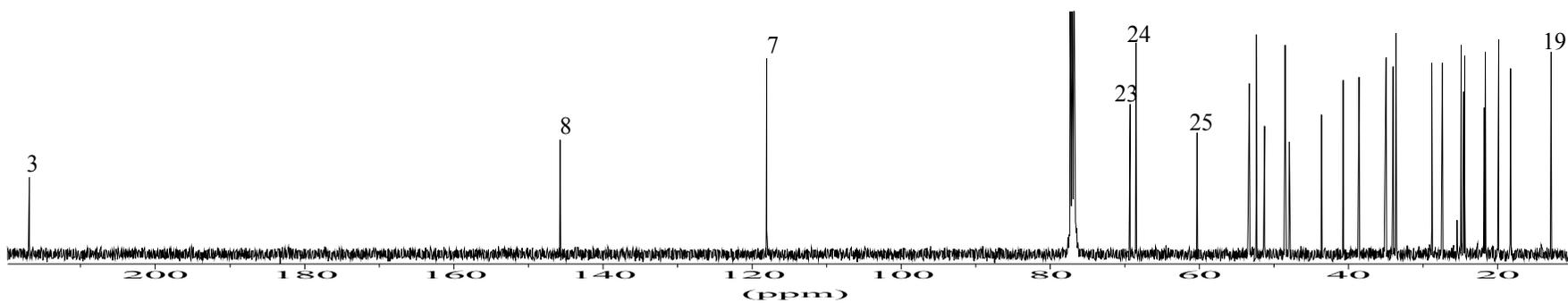
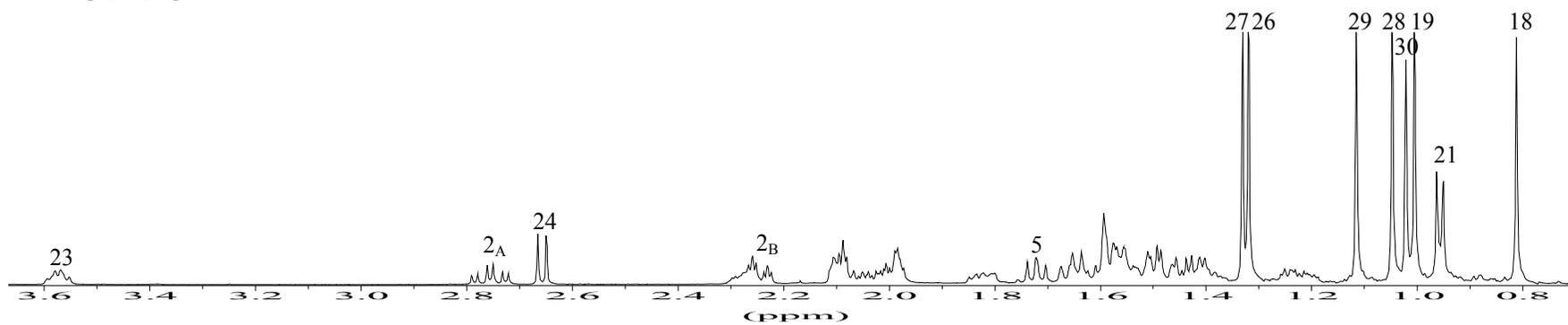
Anhang

Verbindung [15]: gemessen in  $\text{CDCl}_3$



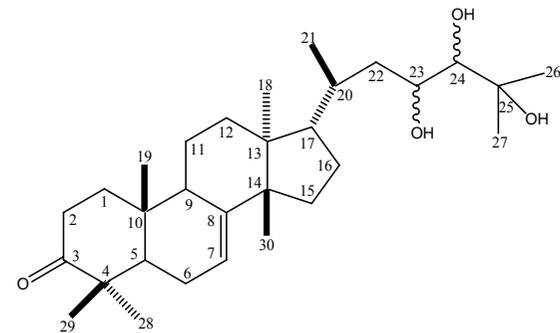
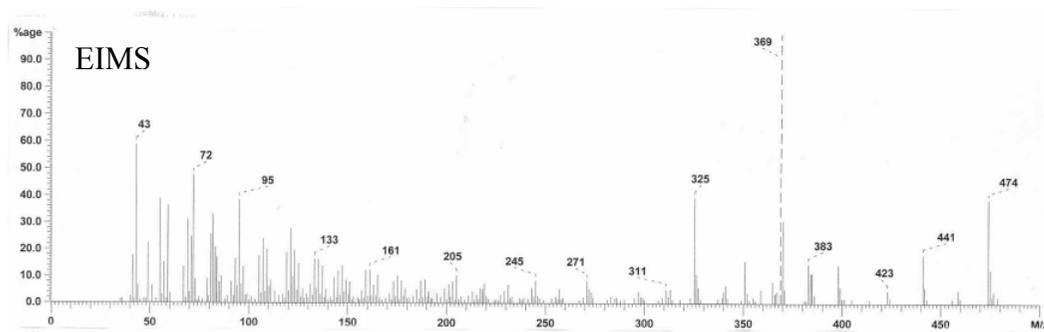
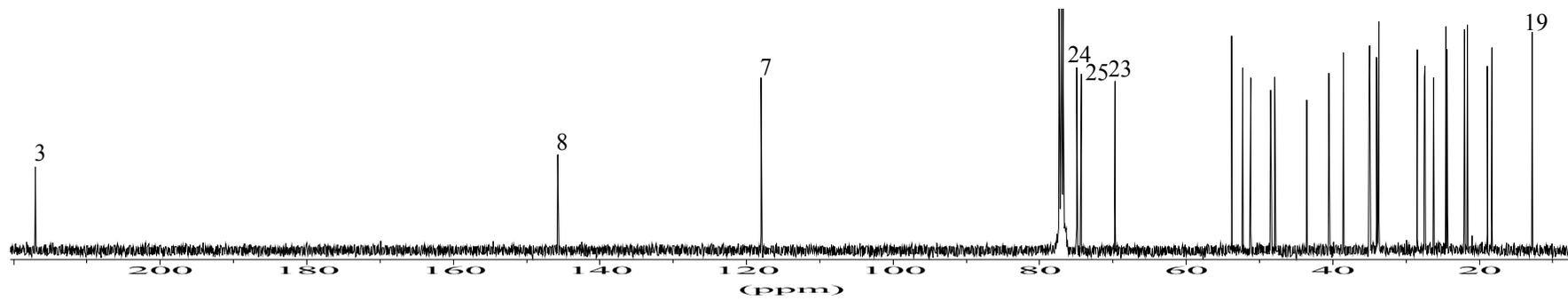
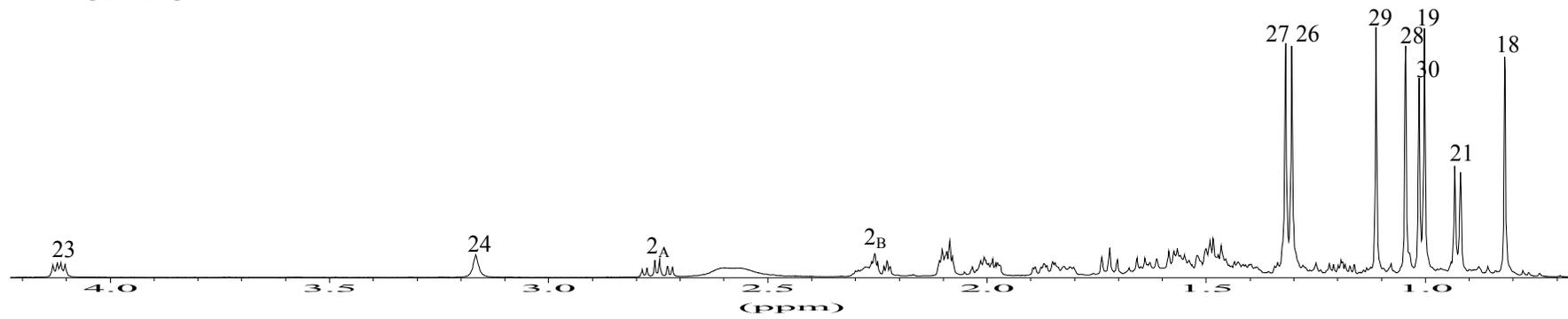
# Anhang

Verbindung [16]: gemessen in  $\text{CDCl}_3$



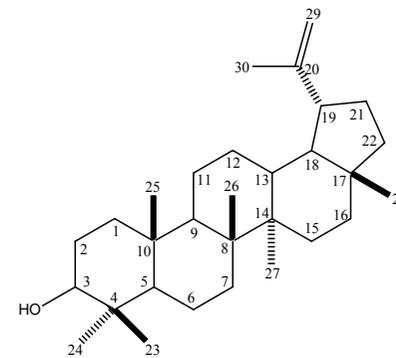
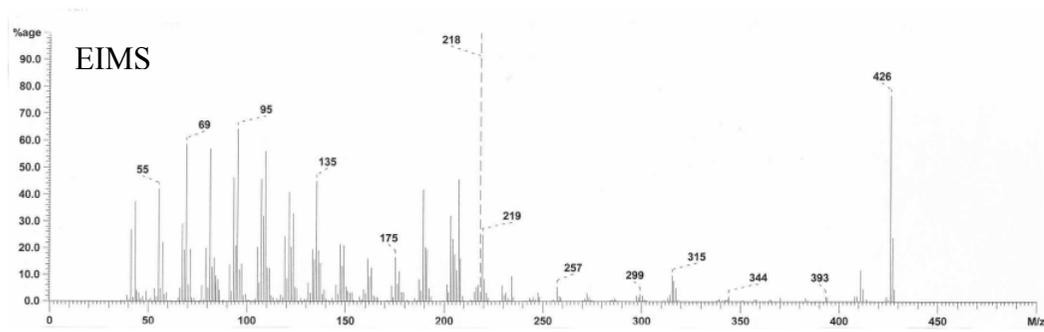
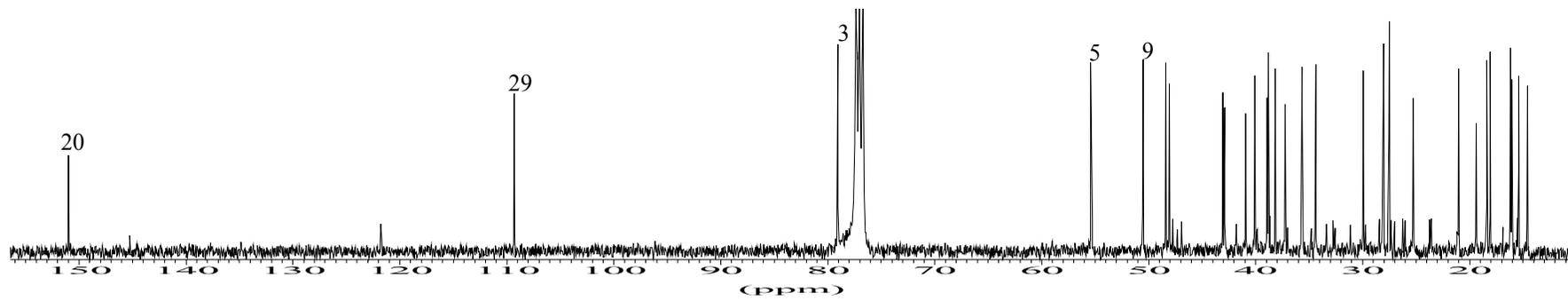
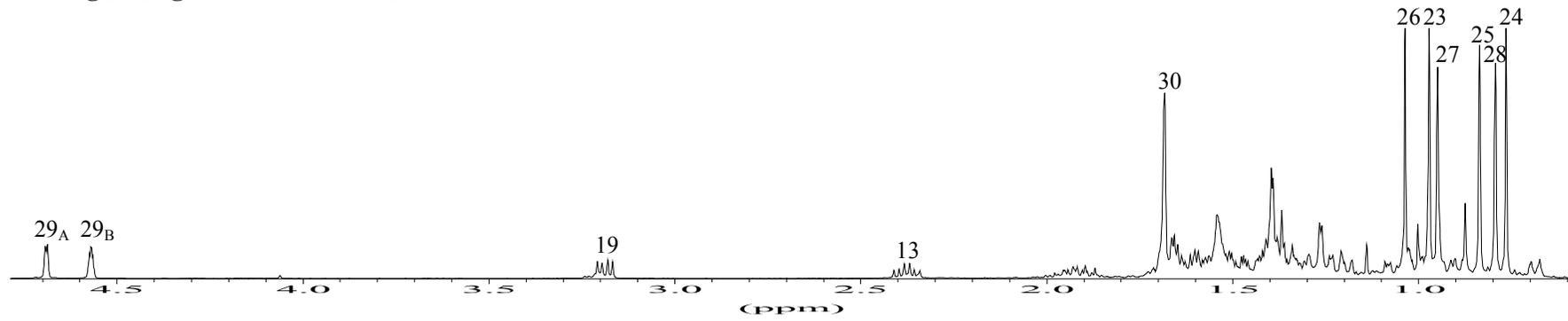
# Anhang

Verbindung [17]: gemessen in  $\text{CDCl}_3$



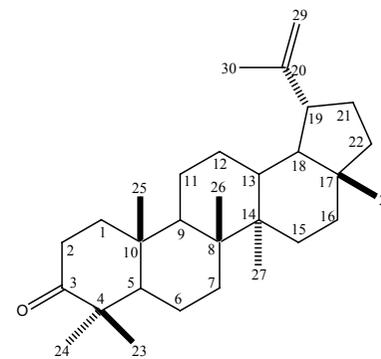
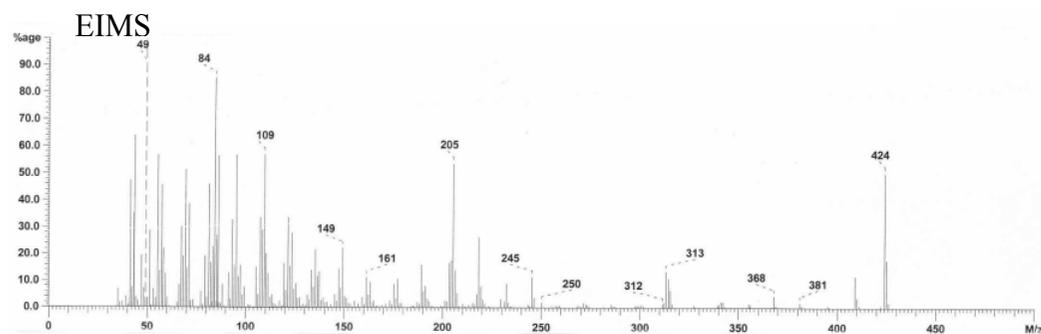
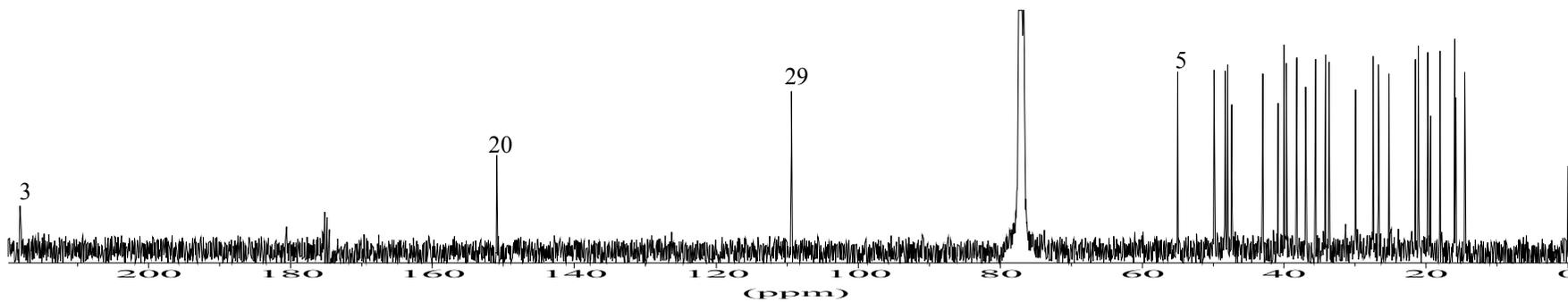
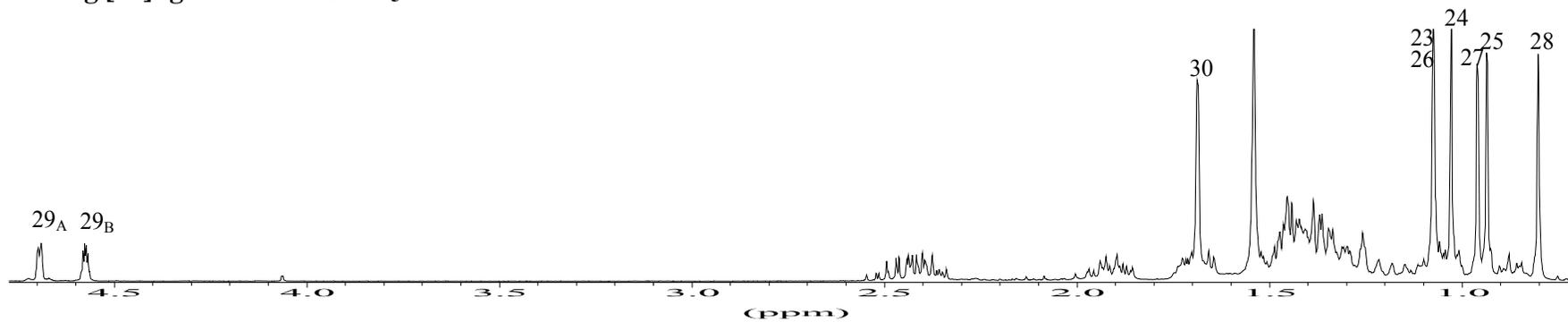
Anhang

Verbindung [18]: gemessen in  $\text{CDCl}_3$



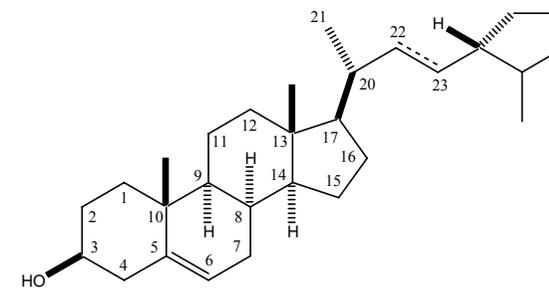
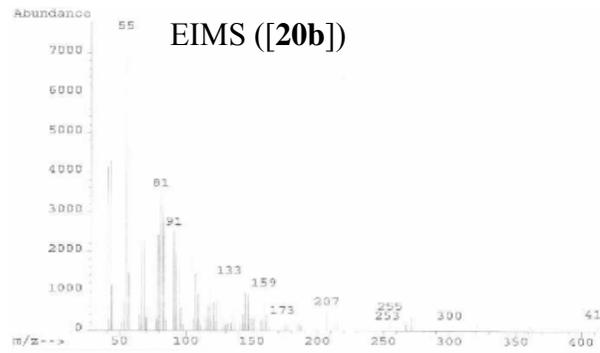
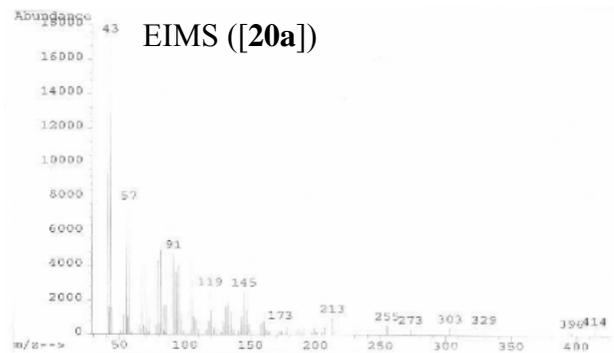
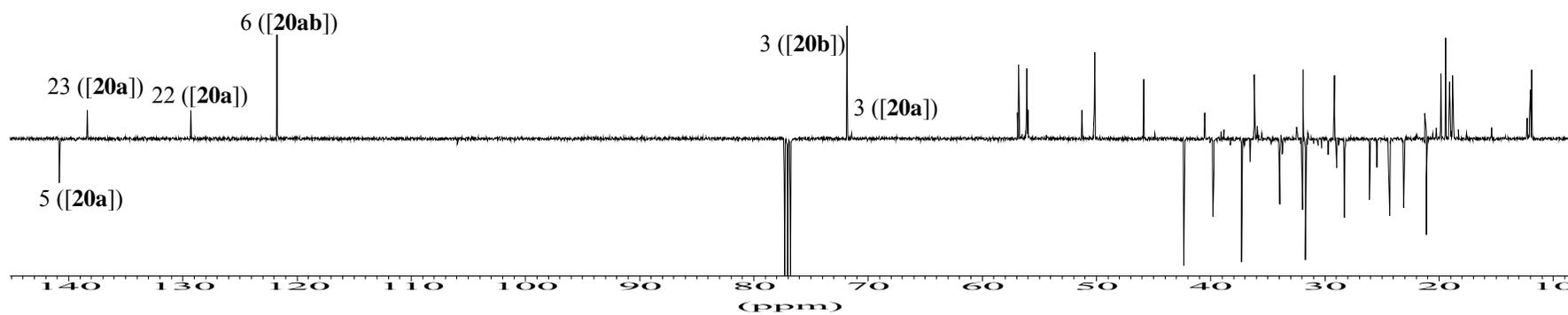
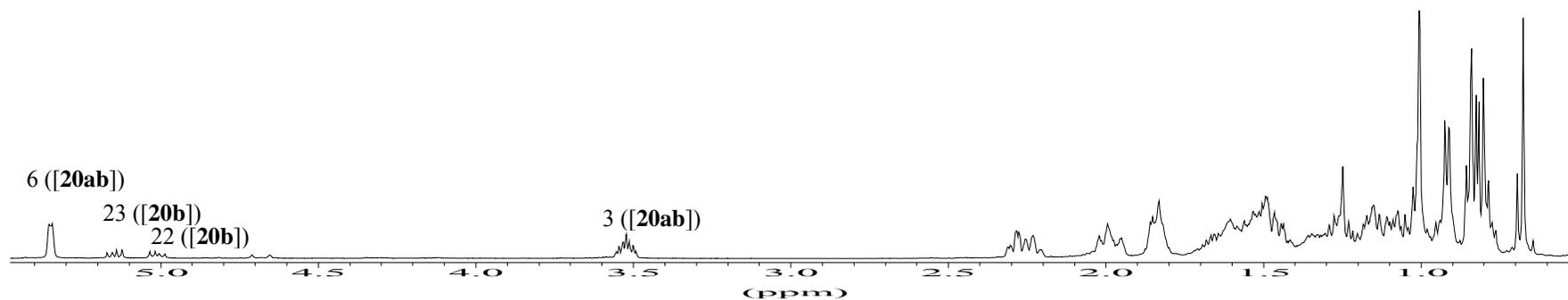
Anhang

Verbindung [19]: gemessen in  $\text{CDCl}_3$



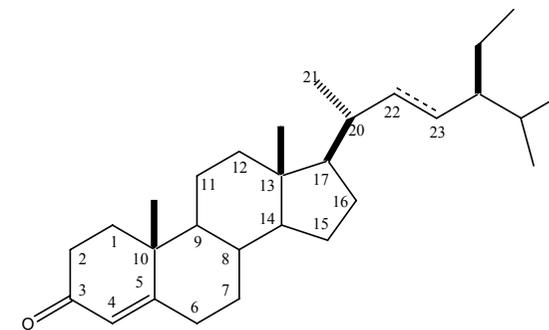
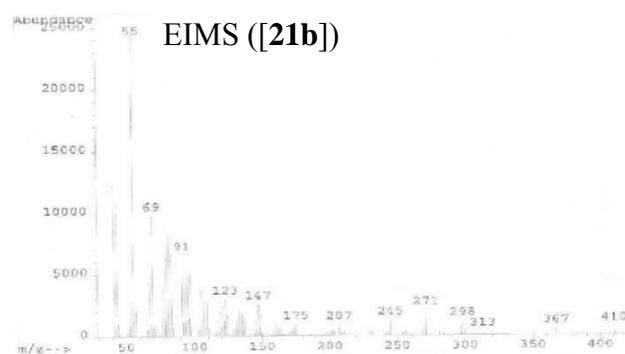
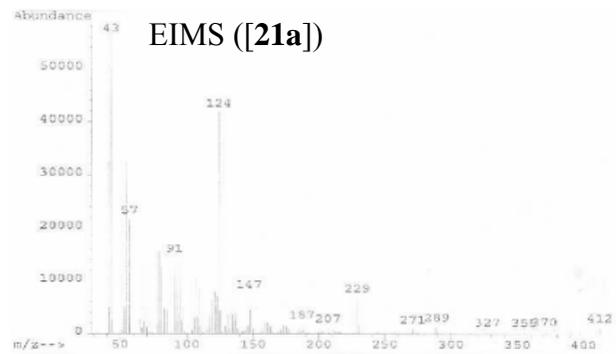
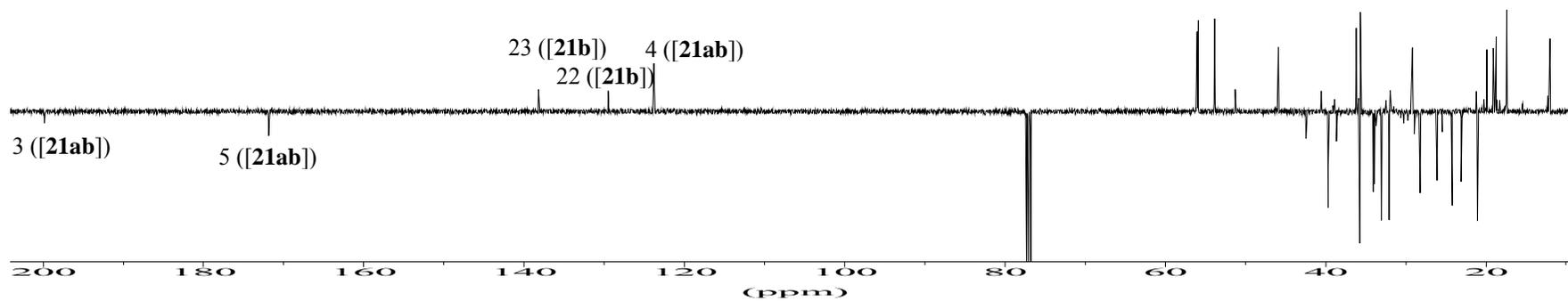
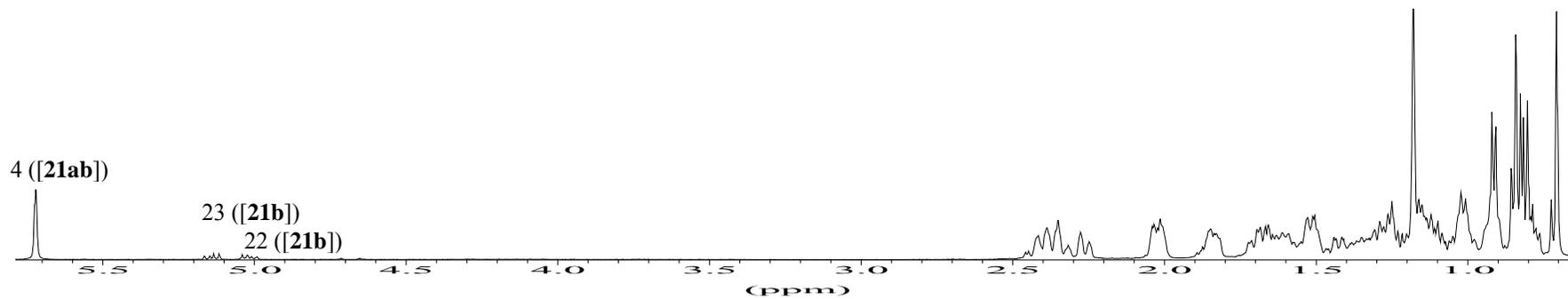
# Anhang

Verbindungen [20a] und [20b]: gemessen in CDCl<sub>3</sub>

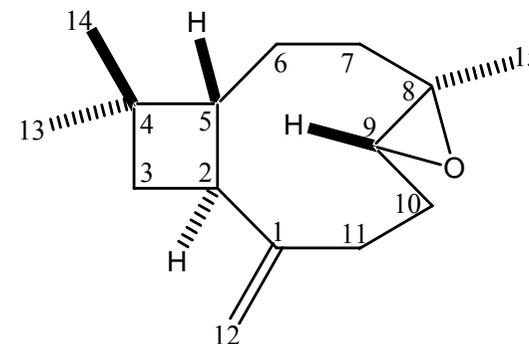
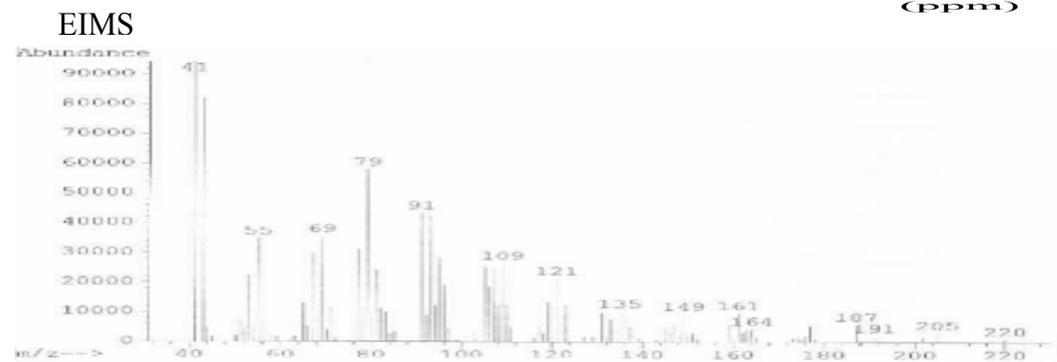
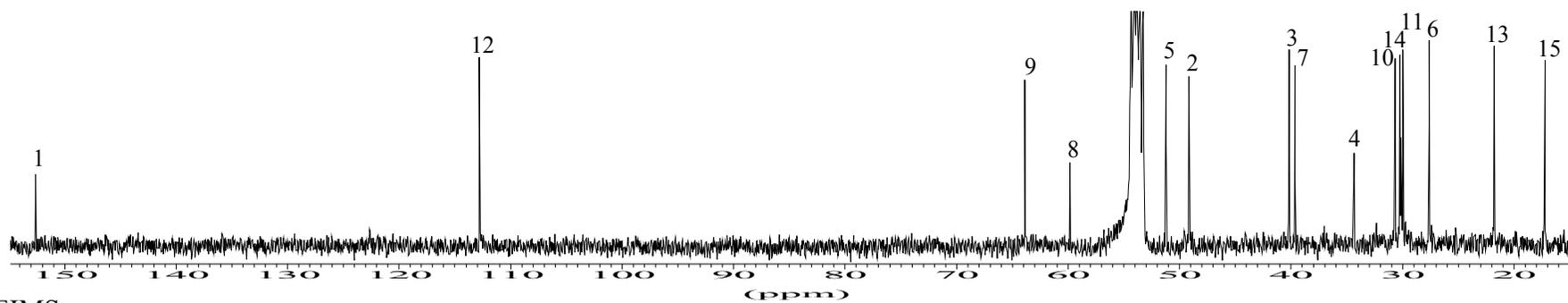
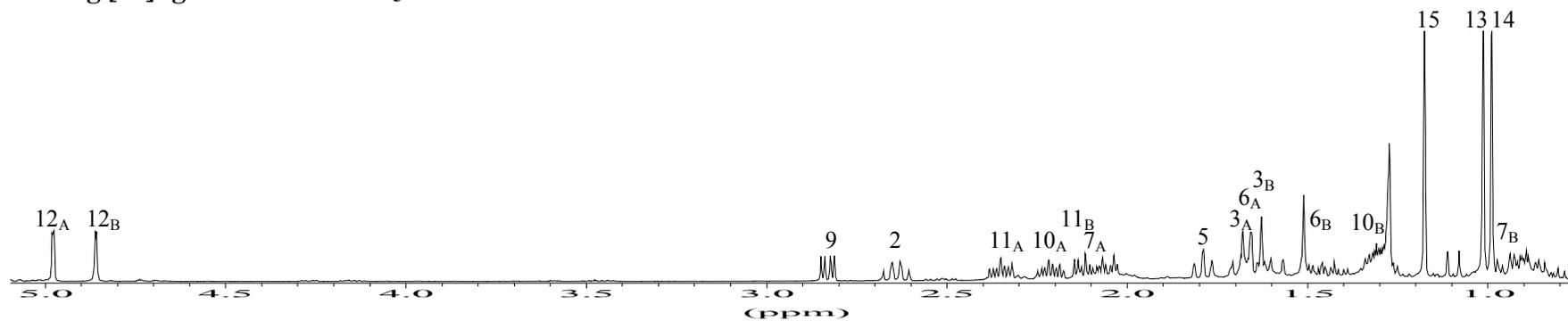


# Anhang

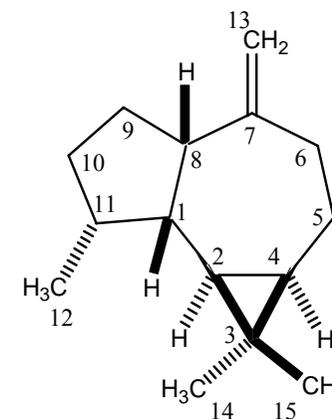
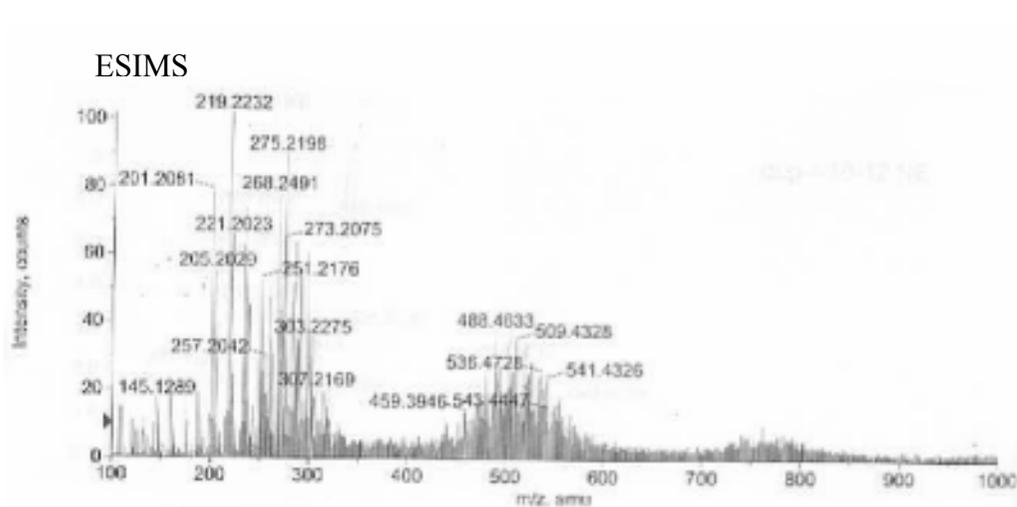
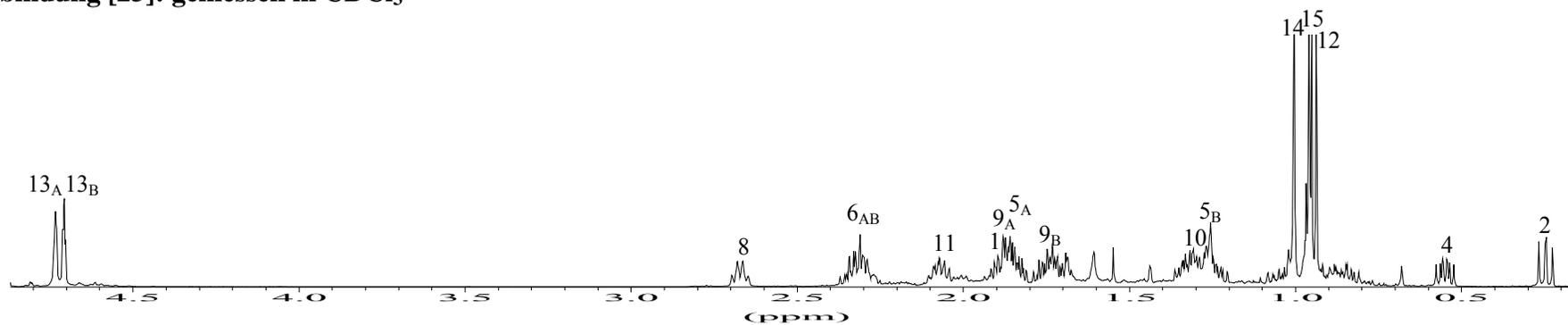
Verbindungen [21a] und [21b]: gemessen in CDCl<sub>3</sub>



Verbindung [22]: gemessen in  $\text{CDCl}_3$

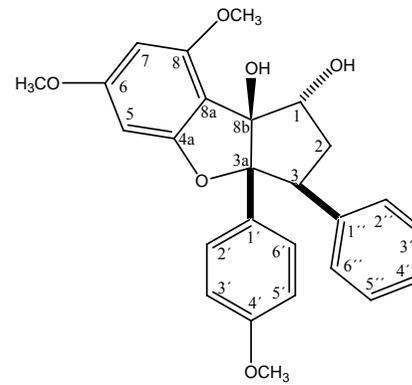
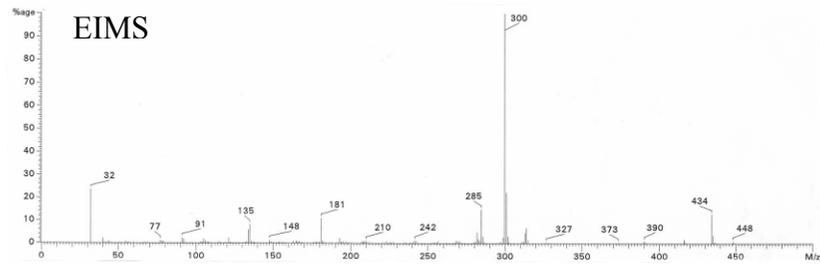
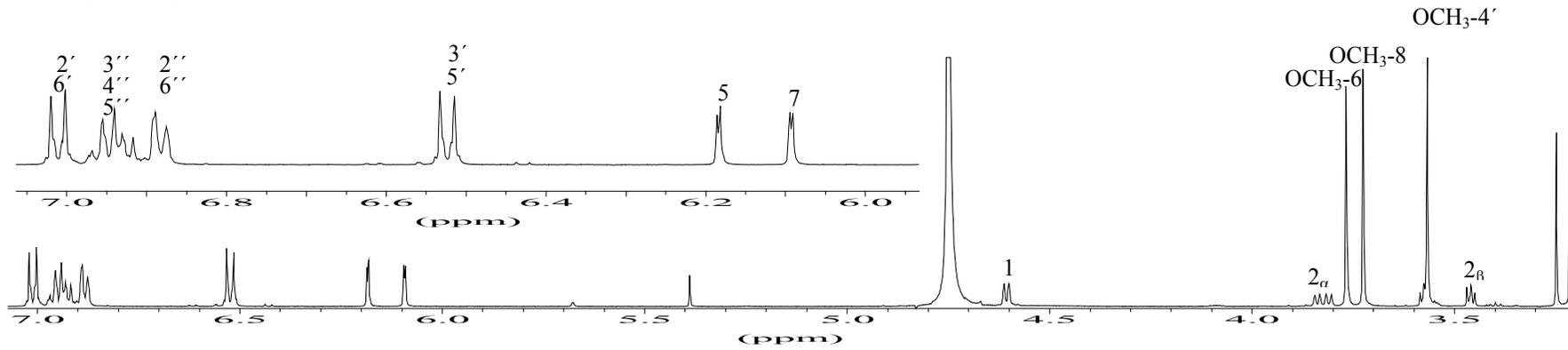


Verbindung [23]: gemessen in  $\text{CDCl}_3$



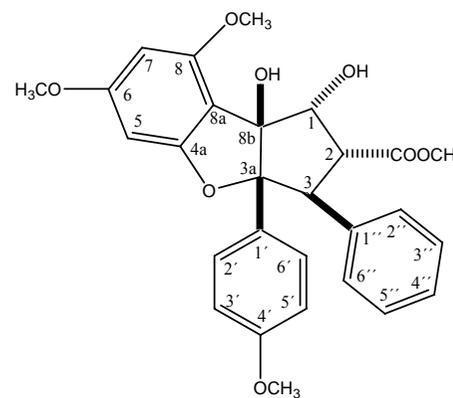
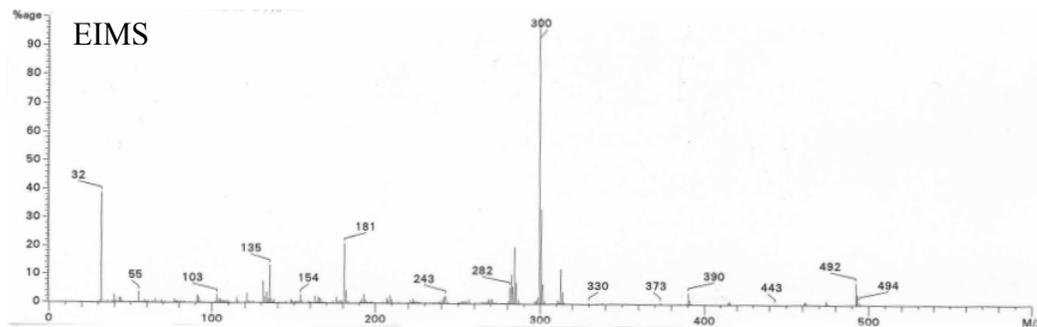
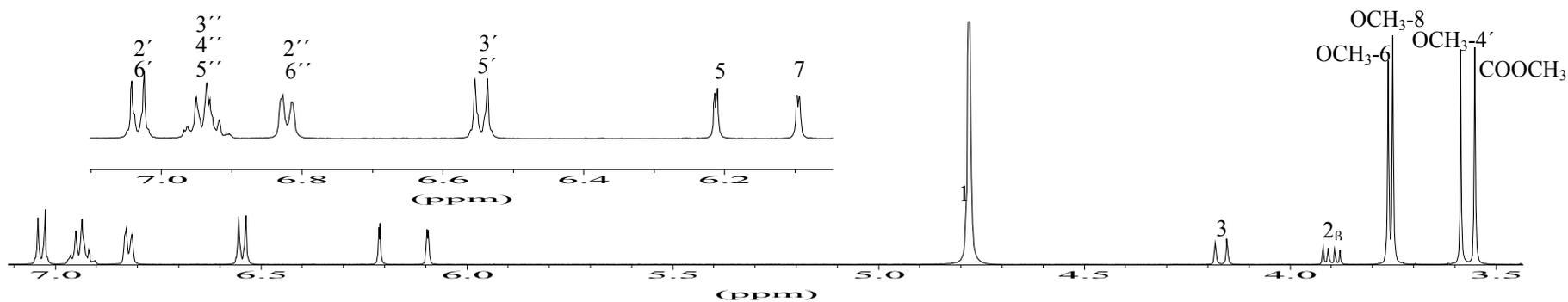
# Anhang

## Verbindung [24]: gemessen in CD<sub>3</sub>OD

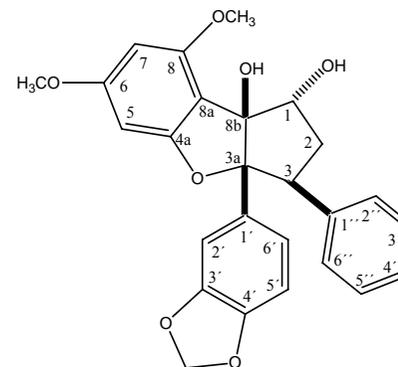
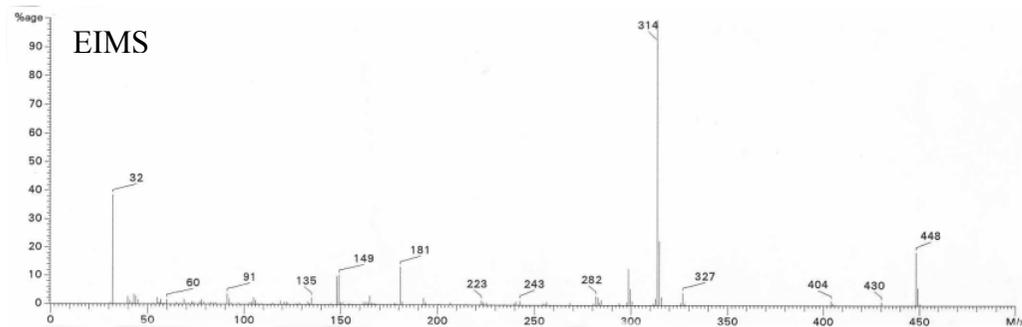
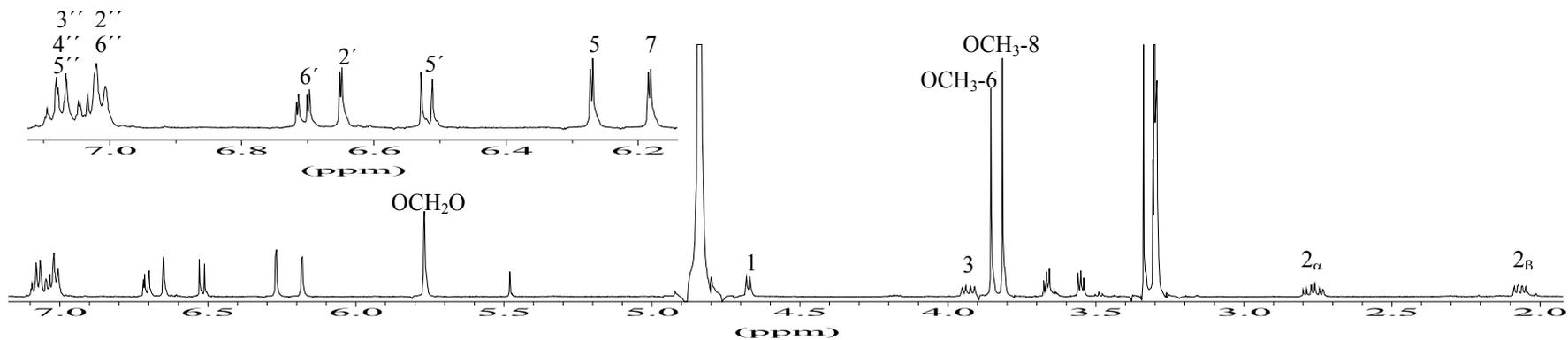


# Anhang

Verbindung [25]: gemessen in CD<sub>3</sub>OD

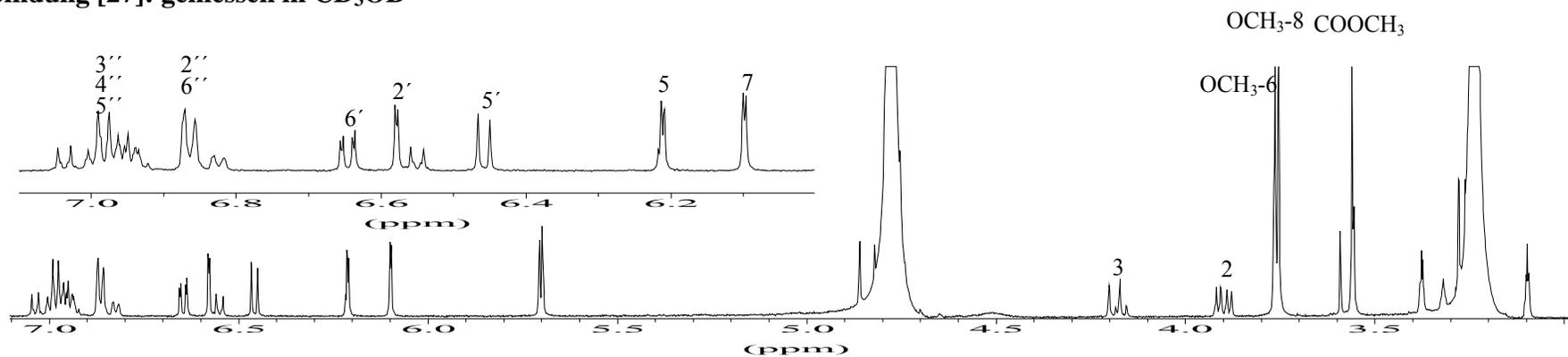


Verbindung [26]: gemessen in CD<sub>3</sub>OD

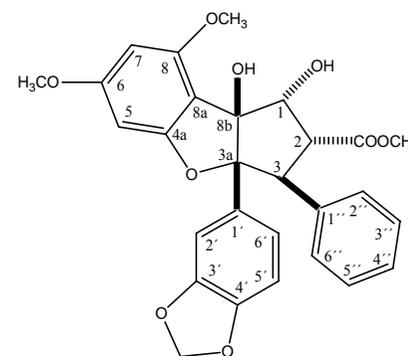
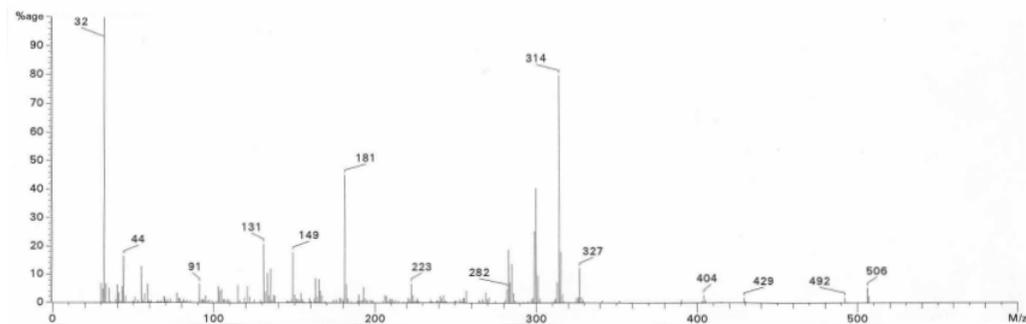


# Anhang

Verbindung [27]: gemessen in CD<sub>3</sub>OD

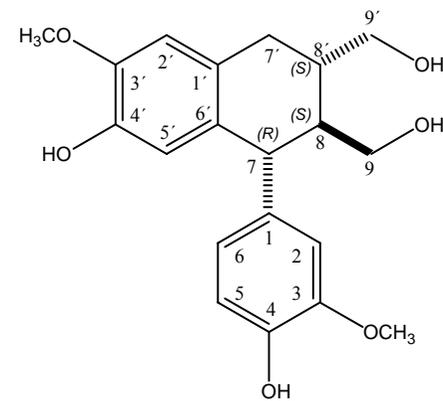
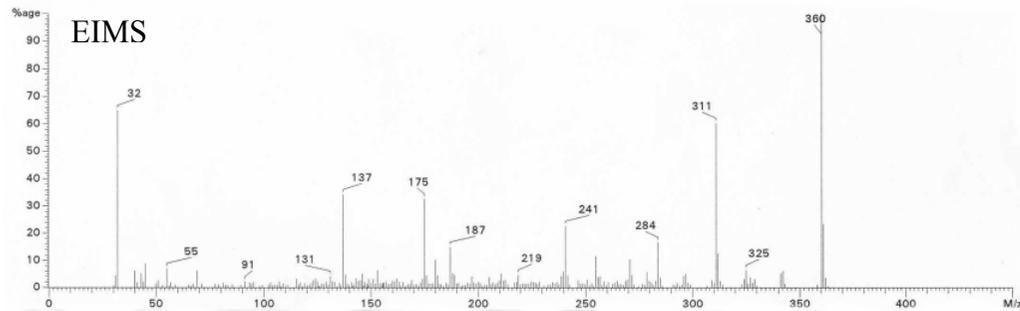
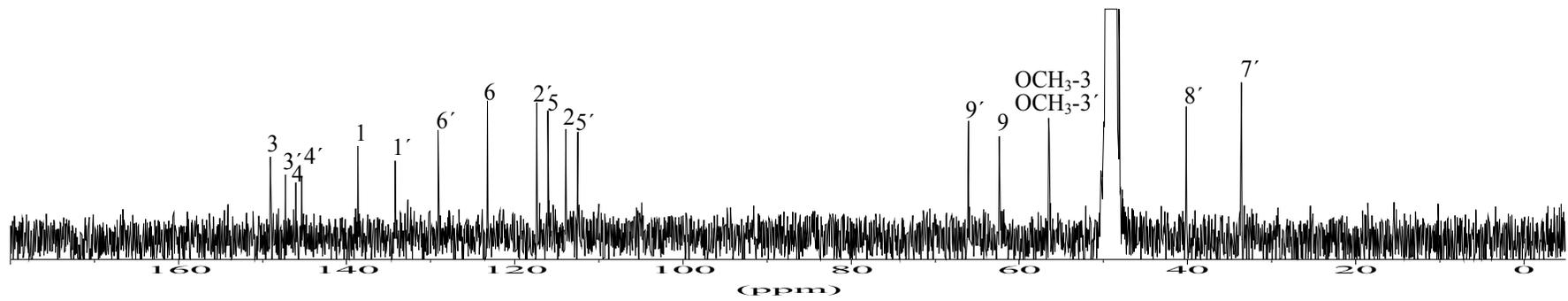
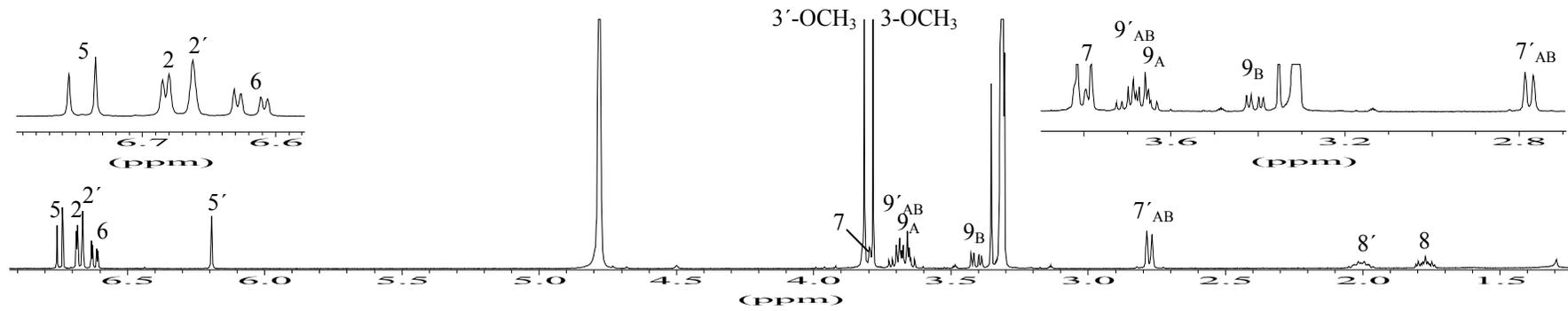


EIMS

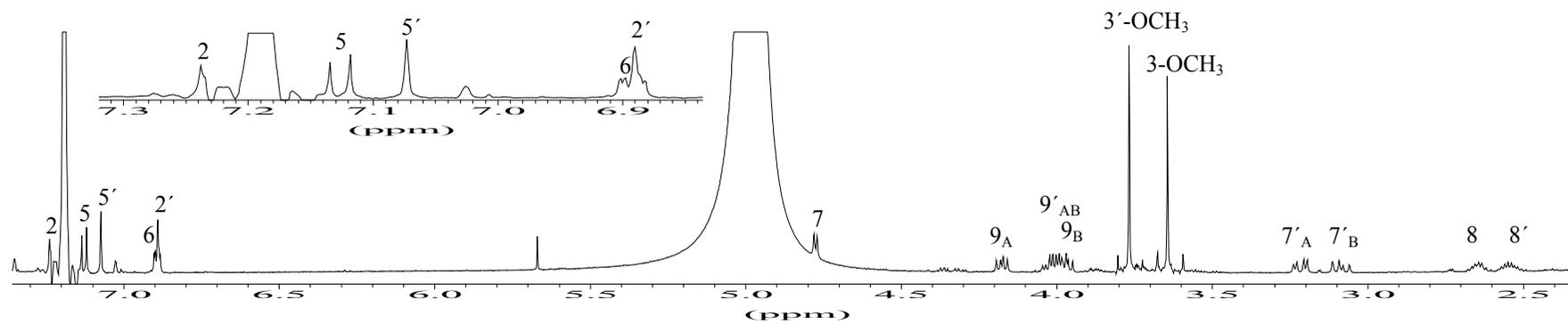


Anhang

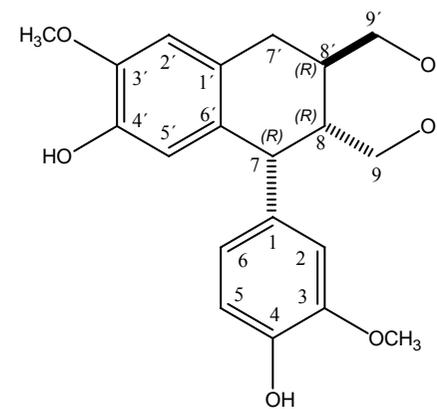
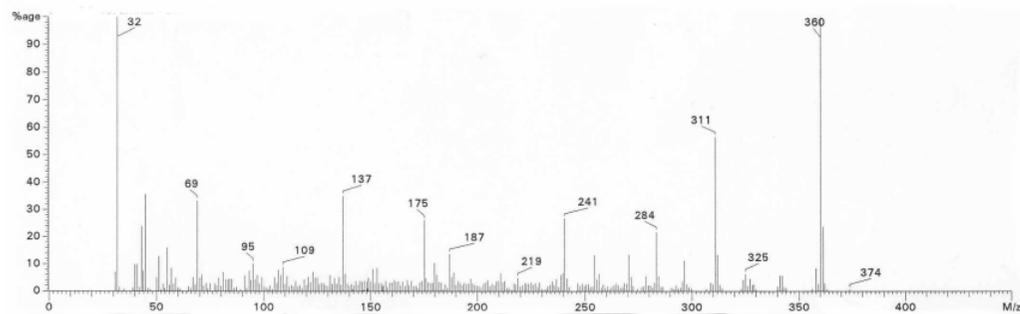
Verbindung [28]: gemessen in CD<sub>3</sub>OD



Verbindung [29]: gemessen in Pyridin

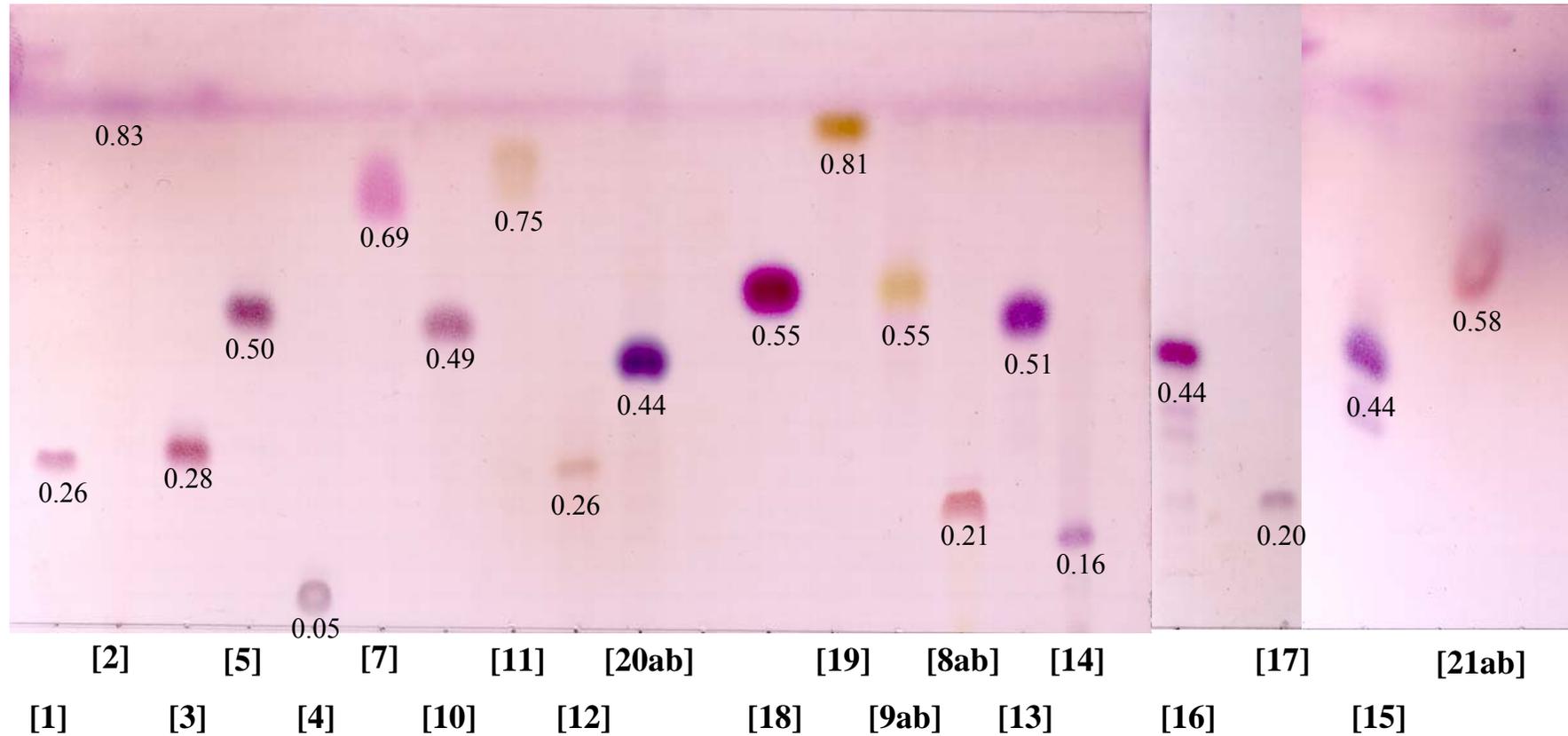


EIMS



Anhang 5.3.: DC-Chromatographischer Überblick über die isolierten Triterpene

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (96/4)



Die Zahlen unter den jeweiligen Flecken auf der DC-Platte geben die R<sub>f</sub>-Werte der isolierten Naturstoffe bzw. Naturstoffgemische an.

### 6. Zusammenfassung

Aus verschiedenen Pflanzenorganen verschiedener *Aglaia*-Arten, namentlich der Rinde von *A. ignea*, den Blättern, Blüten und Wurzeln von *A. duppereana*, den Zweigen von *A. cucculata*, den Blättern von *A. euphoroides*, den Zweigen von *A. roxburghiana*, den Blättern von *A. tsangii* und den Zweigen von *A. pleuroptiris* konnten insgesamt 33 Naturstoffe isoliert und strukturell aufgeklärt werden. Acht dieser Verbindungen konnten in Mischungen aus je zwei Naturstoffen identifiziert werden. Dabei handelt es sich um die Stereoisomere ([**8ab**] und [**9ab**]) bzw. um Derivate, die sich in der Seitenkette unterscheiden ([**20ab**] und [**21ab**]), die sich aber nicht trennen ließen.

Unter den isolierten Naturstoffen finden sich 14 Dammarane, darunter neun 3,4-Seco-Verbindungen aus *A. ignea* (Rinde) und *A. duppereana* (Wurzel) ([**1 - 8ab**]) und fünf Derivate dieses Strukturtyps mit geschlossenem Ring A ([**9ab - 12**]) aus *A. duppereana* (Blätter) und *A. cucculata* (Zweige). Alle Derivate dieses Strukturtyps wurden in dieser Arbeit für die genannten *Aglaia*-Arten erstmals beschrieben. Die 3,4-Seco-Verbindungen [**3**] und [**7**] wurden zuvor nur nach artifizieller Methylierung der Säuren beschrieben. Bei den Derivaten [**5**] und [**6**] handelt es sich um neue Naturstoffe. Hier liegen erstmals die Zuordnungen der Protonen- und Kohlenstoff-Signale für die Secoverbindungen [**1 - 8ab**] sowie für die Verbindungen [**10 - 12**] vor. Für die Verbindung [**1**] wird im Rahmen dieser Arbeit erstmals eine Röntgenkristallstruktur präsentiert.

Drei weitere Verbindungen aus Blättern von *A. euphoroides* bzw. *A. tsangii* gehören dem Cycloartan-Typ an ([**13 - 15**]). Bei zwei dieser Verbindungen ([**13**] und [**14**]) handelt es sich um Nor-Verbindungen, bei denen es zu einer Eliminierung einer Methylgruppe gekommen ist. Die Cycloartane werden hier das erste Mal für *Aglaia* beschrieben und alle Zuordnungen der Protonen- und Kohlenstoffsignale werden berichtet.

Dem strukturellen Typ der Tirucallane sind zwei weitere Triterpene angehörig ([**16**] und [**17**]). Diese Derivate stammen aus den Zweigen von *A. cucculata*. Die Verbindungen wurden zuvor für *Aglaia* noch nicht beschrieben. Sämtliche Protonen- und Kohlenstoff-Signale konnten zugeordnet werden.

Aus *A. tsangii* (Blätter) wurden ferner erstmals zwei Naturstoffe des triterpenoiden Lupan-Typs isoliert ([18] und [19]).

Neben den genannten Triterpenen konnten aus Zweigen von *A. pleuroptiris* zwei Steroid-Gemische gewonnen werden ([20ab] und [21ab]).

Die Auftrennung der Rinde von *A. ignea* sowie der Zweige von *A. cucculata* und *A. roxburghiana* führte jeweils zur Isolierung eines Sesquiterpenes ([22]). Ein weiteres Sesquiterpen ([23]) konnte aus den Wurzeln von *A. duppereana* isoliert werden. Beide Sesquiterpene wurden zuvor für die genannten Arten nicht beschrieben.

Die Untersuchung der Rinde von *A. ignea* lieferte des Weiteren vier Rocaglamide (Cyclopenta[*b*]benzofurane) ([24 - 27]) sowie zwei isomere Lignane ([28] und [29]). Es handelt sich auch hier für *A. ignea* um eine Erstbeschreibung. Das Derivat [29] stellt zudem ein noch nicht beschriebenes Isomeres und damit einen neuen Naturstoff dar.

Mit Hilfe der Massenspektrometrie-gekoppelten Gaschromatographie konnten, mit Ausnahme der Verbindungen [14], [16] und [17], alle hier vorgestellten Triterpene und Steroide detektiert werden. Mit Hilfe der angelegten Spektrenbibliothek wurden zusätzlich eine Reihe anderer *Aglaia*-Extrakte nach den isolierten Triterpenen und Steroiden untersucht. Dabei tauchten für die Zweige von *A. chitagonga* die Verbindungen [3] und [20a] auf. Für die Zweige von *A. cordata* konnten die Derivate [8ab], [9ab], [13], [18] und [20a] detektiert werden. Die Zweige von *A. cucculata* enthielten [9ab]. Im Rindenextrakt von *A. dasyclada* tauchten die Derivate [3], [4], [7], [8ab] und [9ab] auf. Der Blattextrakt von *A. duppereana* wies Signale für [3], [18] und [19] auf, der Blütenextrakt dieser Art das Derivat [3], die Rinde Verbindungen [3], [4], [7], [8ab], [9ab], [20a] und [20b], die Wurzeln [3], [4], [7], [9ab], [20a] und [20b] und die Zweige das Derivat [3]. Im Blattextrakt von *A. euphoroides* konnten [15] sowie [20b] und im Extrakt aus den Früchten dieser Art [3], [8ab] und [9ab] detektiert werden. In der Rinde von *A. ignea* waren zusätzlich [8ab], [9ab] und [20a] zu finden. Die Rinde von *A. macrocarpa* enthielt [8ab] und [20a], die Blätter von *A. odorata* [9ab], [10], [11] und [12], die Zweige von *A. perviridis* [9ab] und [20a], die Zweige von *A. pleuroptiris* [3], die Rinde von *A. polysticha* [3], [20a] und [20b] und die Rinde von *A. rivularis* [3], [4], [7] und [9ab] sowie die Derivate [13] und [20b].

In einem Screening wurde für die verschiedenen triterpenoiden Verbindungen [1-5] und [7-19] die Zytotoxizität gegenüber HeLa-Zellen und antivirale Aktivität gegenüber einem lentiviralen Vektor bestimmt. Von den getesteten Derivaten zeigte Verbindung [1] bei geringer Zytotoxizität eine interessante antivirale Wirksamkeit gegenüber dem lentiviralen HIV-1-Vektor (Vicl2dSB). In weiteren Versuchen konnte bei ebenfalls relativ geringer Zytotoxizität auch eine Aktivität gegenüber dem HIV-1-Wildtyp, dem Respiratorischen Syncytialen Virus (RSV) und dem adenoviralen Vektor AdOW126 gefunden werden. Die antivirale Aktivität gegenüber verschiedenen Viren mit unterschiedlichen Eigenschaften und Reproduktionszyklen spricht für unterschiedliche Wirkmechanismen. Zum Teil scheint eine Inhibierung der Reversen Transkriptase eine Rolle zu spielen. Eine *in vitro* Bestimmung der Reversen Transkriptase-Aktivität des lentiviralen Vektors Vicl2dSB zeigte eine deutliche Konzentrationsabhängigkeit der Inhibition durch den getesteten Naturstoff.

Für die Verbindung [1] konnte daneben auch noch eine Wachstumshemmung der phytopathogenen Pilze *Cladosporium cucumerinum* und *C. herbarum* festgestellt werden, während ein Test auf insektizide Aktivität gegenüber Raupen des polyphagen Schadinsekts *Spodoptera littoralis* negativ verlief.

## 7. Summary

From different plant organs of various *Aglaia* species, namely the bark of *A. ignea*, the leaves, flowers, and roots of *A. duppereana*, the twigs of *A. cucculata*, the leaves of *A. euphoroides*, the twigs of *A. roxburghiana*, the leaves of *A. tsangii*, and the twigs of *A. pleuroptiris* 33 natural products could be isolated and structurally elucidated. Among those, eight compounds were identified in mixtures containing two natural products each. These include the stereoisomers [8ab] and [9ab] and two mixtures of derivatives differing in the side chain, which could not be separated.

Among the isolated natural products there are 14 dammaranes consisting of nine 3,4-seco compounds from *A. ignea* (bark) and *A. duppereana* (root) ([1 - 8ab]) and five derivatives of this structural type bearing a closed ring A ([9ab - 12]) from *A. duppereana* (leaves) and *A. cucculata* (twigs). All of these derivatives of this structural type have not been described for the investigated *Aglaia* species before. The 3,4-seco compounds [3] and [7] have only been described after artificial methylation of the genuine acids. The derivatives [5] and [6] represent new natural products. For the first time we provide the complete assignments of the proton and carbon signals for the seco compounds [1 - 8ab] as well as for compounds [10 - 12]. Furthermore, an X-ray crystall structure for compound [1] is presented in this thesis for the first time.

Three further compounds from the leaves of *Aglaia euphoroides* and *A. tsangii* belong to the cycloartane type ([13 - 15]). Two of these ([13] and [14]) represent nor-derivatives which lack one methyl group. The cycloartanes are here described for the first time for *Aglaia* and all assignments of the proton and carbon signals are reported.

Two other triterpenes belong to the structural type of tirucallanes ([16] and [17]). These derivatives were obtained from the twigs of *Aglaia cucculata*. The respective compounds have not been described for *Aglaia* before. All proton and carbon signals could be assigned.

Furthermore, from *A. tsangii* (leaves) two natural products ([18] and [19]) of the lupane type of triterpenes could be isolated for the first time.

Besides the named triterpenes two mixtures of steroids could be isolated from twigs of *A. pleuroptiris* ([20ab] und [21ab]) and structurally elucidated.

The separation of an extract from the bark of *A. ignea* as well as from twigs of *A. cucculata* and *A. roxburghiana* led to the isolation of one sesquiterpene ([22]). Another sesquiterpene ([23]) could be obtained from the roots of *Aglaia duppereana*. Both sesquiterpenes had not been described for the respective species before.

Investigation of the bark of *A. ignea* furthermore led to the isolation of four rocaglamides (cyclopenta[*b*]benzofuranes) ([24 - 27]) as well as of two isomeric lignans ([28] and [29]). Again this is the first report for those compounds from *A. ignea*. The isomer [29] was not described before and represents a new natural product.

Using GC-MS as an analytical tool, all triterpenes and steroids with exception of compound [14], [16] and [17] could be detected. By using the established spectral library additionally a series of other extracts could be screened for the isolated triterpenes and steroids. Thus in the extract of the twigs of *A. chitagonga* compounds [3] and [20a] did appear.

In twigs of *A. cordata* the derivatives [8ab], [9ab], [13], [18] and [20a] could be detected. The twigs of *A. cucculata* contained [9ab]. In the bark extract of *A. dasyclada* derivatives [3], [4], [7], [8ab], and [9ab] appeared. The leave extract of *A. duppereana* showed signals for [3], [18], and [19], the flower extract of this species the derivative [3], the bark compounds [3], [4], [7], [8ab], [9ab], [20a], and [20b], the roots [3], [4], [7], [9ab], [20a], and [20b], and finally the twigs derivative [3]. In the leave extract of *A. euphoroides* compounds [15] as well as [20b] and in the extract of the fruits of this species [3], [8ab], and [9ab] could be detected. In the bark of *A. ignea*, additionally the derivatives [8ab], [9ab], and [20a] were found. The bark of *A. macrocarpa* contained [8ab] and [20a], the leaves of *A. odorata* contained [9ab], [10], [11], and [12], the twigs of *A. perviridis* [9ab] and [20a], the twigs of *A. pleuroptiris* [3], the bark of *A. polysticha* [3], [20a], and [20b], and the bark of *A. rivularis* [3], [4], [7], and [9ab] as well as the derivatives [13] and [20b].

In an initial screening of the various triterpenoid derivatives [1 - 5] and [7 - 19] the cytotoxic activity against HeLa cell line and antiviral activity against a lentiviral vector, were

## Summary

---

determined. Of the tested compounds derivative [1] exhibited an interesting antiviral activity against the lentiviral vector Vic12dSB with a comparatively low cytotoxicity. In further experiments compound [1] again with a low cytotoxicity was also active against HIV-1 wildtype, Respiratory Syncytial Virus (RSV) and against the adenoviral vector AdOW126. The antiviral activity against various viruses with different characteristics and reproductive cycles indicates an involvement of different modes of action. In part, the inhibition of the reverse transcriptase seems to play a role. An *in vitro* determination of reverse transcriptase activity of the lentiviral vector Vic12dSB clearly indicates a dose-dependent inhibition of the enzyme by the natural product under investigation.

For compound [1] a growth inhibition of the plant-pathogenic fungi *Cladosporium cucumerinum* and *C. herbarum* was observed, while a test for insecticidal activity against larvae of the polyphagous pest insect *Spodoptera littoralis* yielded a negative result.

## 8. Literaturverzeichnis

Aalbersberg W; Singh Y (1991) Dammarane triterpenoids from *Dysoxylum richii*; *Phytochemistry* 30(3); 921-926.

Abbott W S (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide; *J. Econ. Ent.* 18; 265-267.

Abrahamson W G 1988 In: Plant-Animal Interactions (Abrahamson W G; Hrsg.); McGraw-Hill Book Company (N.Y.).

Aoki T; Ohta S; Suga T (1988) Six novel secodammarane-type triterpenes from male flowers of *Alnus japonica*; *Phytochemistry* 27; 2915-2920.

Aoki T; Ohta S; Suga T (1990) Triterpenoids, diarylheptanoids and their glycosides in the flowers of *Alnus* species; *Phytochemistry* 29; 3611-3614.

Aplin R T; Cox I R (1975) Application of mass spectrometry to the structural investigation of triterpenes ; *Org. Mass. Spec.* 10; 981-986.

Asakawa J; Kasai R; Yamasaki K; Tanaka O (1977) <sup>13</sup>C NMR study of Ginseng sapogenins and their related dammarane type triterpenes; *Tetrahedron* 33; 1935-1939.

Baas W J ; Van Berkel I E M (1991) 3,4-seco triterpenoid acids and other constituents of the leaf wax of *Hoya naumanii*; *Phytochemistry* 30; 1625-1628.

Balakrishna K; Kundu A B; Patra A (1990) Roxburghiadiol A and roxburghiadiol B, two 14 $\alpha$ -methylsterols from *Aglaia roxburghiana*; *J. Nat. Prod.* 53(2); 523-526.

Benosman A; Richomme P; Sevenet T; Hadi A H A; Bruneton J (1994) Secotirucallane triterpenes from the stem bark of *A. leucophylla*; *Phytochemistry* 37(4); 1143-1145.

Benosman A; Richomme P; Sevenet T; Perromat G; Hadi A H A; Bruneton J (1995) Tirucallane triterpenes from the stem bark of *Aglaia leucophylla*; 40(5); 1485-1487.

Bhattacharyya K; Kar T; Palmer R A; Potter S; Inada A (2000) (4R)-dihydroxycycloartanone; *Acta Cryst. C* 56; 979-980.

Boar R B; Damps K (1973) Configuration of aglaiol, a (24S)-24,25-epoxy-triterpene; *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*; 115-116.

Boar R B; Damps K (1977) Triterpenoids of *Aglaia odorata*. Configuration of trisubstituted epoxides; *J. C. S. Perkin I*; 510-512.

Bowling C C (1967) Rearing of two lepidopterous pests of rice on a common artificial diet; *Ann. Ent. Soc. Am.* 60, 1215-1216.

Brader G; Vajrodaya S; Greger H; Bacher M; Kalchhauser H; Hofer O (1998) Bisamides, lignans, triterpenes, and insecticidal cyclopenta[b]benzofuranes from *Aglaia* species; *J. Nat. Prod.* 61(12); 1482-1490.

Cabrera G M; Seldes A M (1995) Hydroperoxycycloartanes from *Tillandsia recurvata*; *J. Nat. Prod.* 58(12); 1920-1924.

Cabrera G M; Gallo M; Seldes M (1996) Cycloartane derivatives from *Tillandsia usneoides*; *J. Nat. Prod.* 59; 343-347.

Cantrell C L; Lu T; Fronczek F R; Fischer N H (1996) Antimicrobial cycloartanes from *Borreria frutescens*; *J. Nat. Prod.* 59; 1131-1136.

Chaidir; Lin W H; Ebel R; Edrada R A; Wray V; Nimtz M; Sumaryono W; Proksch P (2001) Rocaglamides, glycosides, and putrescine bisamides from *Aglaia dasyclada*; *J. Nat. Prod.* 64; 1216-1220.

Connolly J D; Hill R A (2001) Triterpenoids; *Nat. Prod. Rep.* 18; 131-147.

Corner E J (1951) Wayside trees of Malaya, Vol. 1; Government Printer, Singapore; 456.

Cui B ; Chai H ; Santisuk T ; Reutrakul V ; Farnsworth N R ; Cordell G A ; Pezzuto J M ; Kinghorn A D (1997) Novel cytotoxic 1H-cyclopenta[b]benzofuran lignans from *Aglaia elliptica*; *Tetrahedron* 53(52); 17625-17632.

De Pascual Teresa J; Urones J G; Marcos I S; Basabe P; Sexmero Cuadrado M J; Moro R F (1987) Triterpenes from *Euphorbia broteri*; *Phytochemistry* 26(6); 1767-1776

Della Greca M; Monaco P; Previtera L (1990) Stigmasterols from *Typha latifolia*; *J. Nat. Prod.* 53(6); 1430-1435.

Della Greca M; Fiorentino A; Monaco P; Previtera L (1994) Cycloartane triterpenes from *Juncus effusus*; *Phytochemistry* 35(4); 1017-1022.

Dewick P M (2002) Medicinal Natural Products- A biosynthetic approach 2<sup>nd</sup> ed.; John Wiley & Sons, Ltd.

Dimetry N Z (1970) A successful technique for mass rearing of the cotton leaf worm *Spodoptera littoralis* Boisd. On an artificial diet. *J. Appl. Entomol.* 66; 408-411.

Duh C Y; Wang S K; Hou R S; Wu Y C; Wang Y; Cheng M C; Chang T T (1993) Dehydroodorin, a cytotoxic diamide from the leaves of *A. formosana*; *Phytochemistry* 34; 857-858.

Dumontet V; Thoison O; Omobuwajo O R; Martin M-T; Perromat G; Chiaroni A; Riche C; Pais M; Sevenet T (1996) New nitrogenous and aromatic derivatives from *Aglaia argentea* and *A. forbesii*; *Tetrahedron* 52(20); 6931-6942.

Faure R; Ramanoelina A R P; Rakotonirainy O; Bianchini J-P; Gaydou E M (1991) Two dimensional nuclear magnetic resonance of sesquiterpenes. 4\*-Application to complete assignment of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra of some aromadendrane derivatives; *Magnet. Reson. Chem.* 29; 969-971.

Fonseca S F; Campello J D P; Barata L E S; Ruveda E A (1978) <sup>13</sup>C NMR spectral analysis of lignans from *Araucaria angustifolia*; *Phytochemistry* 17; 499-502.

Fuchino H; Satho T; Nobutoshi T (1995) Chemical evaluation of *Betula* species in Japan. I. Constituents of *Betula ermanii*; *Chem. Pharm. Bull.* 43(11); 1937-1942.

Fuchino H; Konishi S; Satoh T; Yagi A; Saitsu K; Tatsumi T; Tanaka N (1996) Chemical evaluation of *Betula* species in Japan. II. Constituents of *Betula platyphylla* var. *japonica*; *Chem. Pharm. Bull* 44(5); 1033-1038.

Fuzzati N; Dyatmiko W; Rahman A; Achmad F; Hostettmann K (1996) Triterpenoids, lignans and benzofuran derivative from the bark of *Aglaia elaeagnoides*; *Phytochemistry* 42(5); 1391-1398.

Gaspar H; Brito Palma F M S; De La Torre M C; Rodriguez B (1996) Sterols from *Teucrium abutiloides* and *T. betonicum*; *Phytochemistry* 43(3); 613-615.

Gawaad A A A; El-Gayar F H (1974) Habitus and behaviour of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lep., Noctuidae) and their importance for control measures; *J. Appl. Entomol.* 75; 295-300.

Ghisalberti E L; De Souza N J; Rees H H; Goad J; Goodwin T W (1969) Biological removal of the 4 $\alpha$ -methyl group during the conversion of cycloartenol into 31-norcycloartenol in *Polypodium vulgare* Linn.; *Chem. Comm.*; 1403-1405.

Gill P E; Murray W; Wright M H (1981) *Practical optimization*; Academic Press; London.

Govindachari T R; Suresh G; Krishna Fumari G N (1994) Triterpenoids from *Dysoxylum malabaricum*; *Phytochemistry* 37(4); 1127-1129.

Gray A I; Bhandari P; Waterman P G (1988) New protolimonoids from the fruits of *Phellodendron chinense*; *Phytochemistry* 27(6); 1805-1808.

Greger H; Pacher T; Vajrodaya S; Bacher M; Hofer O (2000) Intraspecific variation of sulfur-containing bisamides from *Aglaia leptantha*; *J. Nat. Prod.* 63; 616-620.

Hammond G B; Baenziger N C; Wiemer D F (1990) Dammar-20,25-dien-3 $\beta$ ,24 $\alpha$ -diol: A natural repellent of *Acromyrmex octospinosus*; *Phytochemistry* 29(3); 783-785.

Hayashi N; Lee K H; Hall I H; McPhail A T; Huang H C (1982) Structure and stereochemistry of (-)-odorinol, an antileukemic diamide from *Aglaia odorata* 21; 2371-2373.

Heymann H; Tezuka Y; Kikuchi T; Supriyatna S (1994) Constituents of *Sindora sumatrana* Miq. I. Isolation and NMR spectral analysis of sesquiterpenes from the dried pods; *Chem. Pharm. Bull.* 42(1); 138-146.

Heyne K (1987) Tumbuhan berguna Indonesia; Diterjemahkan oleh Badan Litbang Kehutanan, Jakarta. Yayasan Sarana Wanajaya, Jakarta.

Hilpisch U; Hartmann R; Glombitza K-W (1997) New dammaranes, esterified with malonic acid, from leaves of *Betula pendula*; *Planta Med.* 63; 347-351.

Hinkley S F R; Perry N B; Weavers R T (1994) Confirmation of structure and absolute stereochemistry of 9-epi- $\beta$ -caryophyllene from *Dacrydium cupressinum*; *Phytochemistry* 35(6); 1489-1494.

Hisham A; Kumar G J; Fujimoto Y; Hara N (1995) Salacianone and salicianol, two triterpenes from *Salacia beddomei*; *Phytochemistry* 40(4); 1227-1231.

Hisham A ; Ajitha Bai M D ; Fujimoto Y ; Hara N ; Shimada H (1996) Complete  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectral assignment of cabraleadiol, a dammarane triterpene from *Dysoxylum malabaricum* Bedd; *Magnet. Res. Chem* 34; 146-150.

Hisham A; Bai M D A; Kumar G J; Nair M S; Fujimoto Y (2001) Triterpenoids from *Dysoxylum malabaricum*; *Phytochemistry* 56; 331-334.

Huang R; Harrison L J; Sim K-Y (1999) A triterpenoid with novel *abeo*-Dammarane skeleton from *Dysoxylum cauliflorum*; *Tetrahedron Letters* 40; 1607-1610.

Iida T ; Tamura T ; Matsumoto T (1987) Carbon-13 NMR spectra of some C-6 methylated steroids; *J. Magnet. Reson.*; 558-560.

Inada A; Murata H; Inatomi Y; Nakanishi T (1995) Cycloartane triterpenes from the leaves of *Aglaia harmsiana*; *J. Nat. Prod.* 58(7); 1143-1146.

Inada A; Murata H; Inatomi Y; Nakanishi T; Darnaedi D (1997) Pregnanes and triterpenoid hydroperoxides from the leaves of *Aglaia grandis*; *Phytochemistry* 45(6); 1225-1228.

Inada A; Somekawa M; Murata H; Nakanishi T; Tokuda H; Nishino H; Iwashima A; Darnaedi D; Murata J (1993) Phytochemical studies on Meliaceae plants. VIII. Structures and inhibitory effects on Epstein-Barr Virus activation of triterpenoids from leaves of *Chisocheton macrophyllus* King; *Chem. Pharm. Bull.* 41(3); 617-619.

Inada A; Takahiro A; Hiroko M; Yuka I; Tsutomu N; Dedy D (2002) A new eudesmane sesquiterpene from the twigs of *Aglaia grandis*; *Nat. Med.* 56(4); 147-149.

Ishibashi F; Satasook C; Isman M B; Towers G H N (1993) Insecticidal 1*H*-Cyclopentatetrahydro[b]benzofuranes from *Aglaia odorata*; *Phytochemistry* 32(2); 307-310.

Itokawa H; Kishi E; Morita H; Takeya K (1992) Cytotoxic quassinoids and tirucallane-type triterpenes from the woods of *Eurycoma longifolia*; *Chem. Pharm. Bull.* 40(4); 1053-1055.

Janaki S; Vijayasekaran V; Viswanathan S; Balakrishna K (1999) Anti-inflammatory activity of *Aglaia roxburghiana* var. *beddomei* and triterpenes roxburghiadiol A and B; *J. Ethnopharm* 67; 45-51.

Jiang Z-H; Fukuoka R; Aoki F; Tanaka T; Kouno I (1999) Dammaran-type triterpene glycosides from the leaves of *Rhoiptelea chiliantha*; *Chem. Pharm. Bull.* 47(2); 257-262.

Kakrani H K ; Vijaynathan G (1982a) Antibacterial and antifungal activity of volatile oil from the seeds of *Aglaia odoratissima*; *Fitoterapia* 53(4); 107-109.

Kakrani H K ; Vijaynathan G (1982b) Anthelmintic activity in vitro of essential oil from the seeds of *Aglaia odoratissima*; *Fitoterapia* 53(4); 111-113.

Kato T; Frei B; Heinrich M; Sticher O. (1996); Antibacterial hydroperoxysterols from *Xanthosoma robustum*; *Phytochemistry* 41, 1191-1195.

Kennelly E J; Cai L; Long L; Shamon L; Zaw K; Zhou B-N; Pezzuto J M; Kinghorn A D (1995) Novel highly sweet secodammarane glycosides from *Pterocarya paliurus*; *J. Agric. Food Chem.* 43; 2602-2607.

Kimura Y; Akihisa T; Yasukawa K; Takido M; Tamura T (1995) Structures of five hydroxylated sterols from the seeds of *Trichosanthes kirilowii* Maxim; *Chem. Pharm. Bull.* 43(10); 1813-1817.

King M L; Chiang C-C; Ling H-C; Fujita E; Ochiai M; McPhail A T (1982) X-ray crystal structure of rocaglamide, a novel antileukemic 1H-cyclopenta[b]benzofuran from *Aglaia elliptifolia*; *J. Chem. Soc. Chem. Commun*; 1150-1151.

Klocke, J.A. (1989) In *Economic and Medicinal Plant Research*, Wagner, H.; Hikino, H.; Farnsworth, N.R., Eds., Academic Press: London; Vol. 3; 103-144.

König B; Linsenmair K E (1996) I.Biologische Diversität-Ein Phänomen und seine Dimensionen. In: *Biologische Vielfalt*. König B; Linsenmair K E (Hrsg.); Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH, Heidelberg.

Kwon B-M; Lee S-H; Kim K-S; Lee I-R; Lee U C; Hong S-H; Bok S-H (1997) Rhombenone: farnesyl protein transferase inhibitor from the leaves of *Hedera rhombea* bean; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 7(8); 971-974.

Larcher W (1994) *Ökophysiologie der Pflanzen*; Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.

Lavie D; Frolow F; Meshulam H (1984) The x-ray structure of methyl shoreate and the stereochemistry of eichlerianic acid, cabraleone and ocotillone; *Tetrahedron* 40(2); 419-420.

Lee I S; Oh S-R; Ahn K-S; Lee H-K (2001) Semialactone, isofouquierone peroxide and fouquierone, three new dammarane triterpenes from *Rhus javanica*; *Chem. Pharm. Bull.* 49(8); 1024-1026.

Leong Y-W; Harrison L J (1999) (20R, 23E)-Eupha-8, 23-diene-3 $\beta$ , 25-diol from *Tripetalum cymosum*; *Phytochemistry* 50; 849-857.

Li H L (1997) Flora of Taiwan; Epoch Publishing Co. Ltd. Taipei, Taiwan.

Lipipun V; Kurokawa M; Suttisri R; Taweechoitrat P; Pramyothin P; Hattori M; Shiraki K (2003) Efficacy of Thai medicinal plant extracts against Herpes simplex type 1 infection in vitro und in vivo; *Antiviral Research* 60(3); 175-180.

Liu H; Heilmann J; Rali T; Sticher O (2001) New tirucallane-type triterpenes from *Dysoxylum variabile*; *J. Nat. Prod.* 64; 159-163.

Luo X D; Wu S-H; Ma Y-B; Wu D-G (2000) Dammarane triterpenoids from *Amoora yunnanensis*; *Heterocycles* 53(12); 2795-2802.

Luo X-D; Wu S-H; Ma Y-B; Wu D-G (2000) Tirucallane triterpenoids from *Dysoxylum hainanense*; *Phytochemistry* 54; 801-805.

Mabberley D J; Pannell C M; Sing A M (1995) Meliaceae; Flora Malesiana ser. I, Vol. 12; 1-407.

Mata R; Macias M L; Rojas I S; Lotina-Hennsen B; Toscano R A; Anaya A L (1998) Phytotoxic compounds from *Esenbeckia yaxhoob*. In honour of Professor G. H. Neil Towers 75<sup>th</sup> birthday; *Phytochemistry* 49(2); 441-449.

Mills J S; Werner A E A (1955) The chemistry of dammar resin; *J.C.S.*; 3132-3140.

Mohamad K; Martin M-T; Leroy E; Tempete C; Sevenet T; Awang K; Pais M (1997) Argenteanones C-E and argenteanols B-E, cytotoxic cycloartanes from *Aglaia argentea*; *J. Nat. Prod.* 60; 81-85.

Mohamad K; Martin M-T; Najdar H; Gaspard C; Sevenet T; Awang K; Hadi H; Pais M (1999a) Cytotoxic 3,4-secoapoptircullanes from *Aglaia argentea* bark ; *J. Nat. Prod* 62; 868-872.

Mohamad K; Sevenet T; Dumontet V; Pais M; Tri M V; Hadi H; Awang K; Martin M-T (1999b) Dammarane triterpenes and pregnane steroids from *Aglaia lawii* and *A. tomentosa*; *Phytochemistry* 51; 1031-1037.

Monaco P; Previtiera L (1991) A steroid from *Pistia stratiotes*; *Phytochemistry* 30(7); 2420-2422.

Mulholland D A; Bret P; Coombes P H (2000) The chemistry of the Meliaceae and Ptaeroxylaceae of southern and eastern Africa and Madagascar. *Cur. Org Chem.* 4(10); 1011-1054.

Mulholland D A; Mohkhe T V (1993) Two glabretal-type triterpenoids from the heartwood of *Aglaia ferruginea*; *Phytochemistry* 34(2); 579-580.

Nagaya H; Tobita Y; Nagae T; Itokawa H ; Takeya K; Halim A F; Abdel-Halim O B (1997) Cytotoxic triterpenes from *Cleome africana*; *Phytochemistry* 44(6); 1115-1119.

Nakatani M (2001) Limonoids from Meliaceae and their biological activities; *Bioactive compounds from natural resources*; 527-554.

Nanda A; Iyengar M A; Narayan C S; Kulkarni D R (1987) Investigations on the root bark of *Aglaia odoratissima*; *Fitoterapia* 58(3); 189-191.

Nes W D; Schmidt J O (1988) Isolation of 25(27)-dehydrolanos-8-enol from *Cereus giganteus* and its biosynthetic implications; *Phytochemistry* 27(6); 1705-1708.

Nugroho B W; Edrada R A; Güssregen B; Wray V; Witte L; Proksch P (1997a) Insecticidal rocaglamide derivatives from *Aglaia duppereana*; *Phytochemistry* 44(8); 1455-1461.

Nugroho B W; Edrada R A; Wray V; Witte L; Bringmann G; Gehling M; Proksch P (1999) An insecticidal rocaglamide derivative and related compounds from *Aglaia odorata* (Meliaceae); *Phytochemistry* 51; 367-376.

Nugroho B W; Güssregen B; Wray V; Witte L; Bringmann G; Proksch P (1997b) Insecticidal rocaglamide derivatives from *Aglaia elliptica* and *A. harmsiana*; *Phytochemistry* 45(8); 1579-1585.

Nyemba A-M; Mpondo T N; Connolly J D; Rycroft D S (1990) Cycloartane derivatives from *Garcinia lucida*; *Phytochemistry* 29(3); 994-997.

Ohmoto T; Ikeda K; Chiba T (1982) Studies on the constituents of pollen grains of *Ambrosia elatior* Linné (2); *Chem. Pharm Bull.* 30(8); 2780-2786.

Omar S; Zhang J; MacKinnon S; Leaman D; Durst T; Philogene B J R; Arnason J T; Sanchez-Vindas P E; Poveda L; Tamez P A; Pezzuto J M (2003) Traditionally-used antimalarials from the Meliaceae; *Cur. Top. Med. Chem.* 3(2) ; 133-139.

Omobuwajo O R; Martin M-T; Perromat G; Sevenet T; Awang K; Pais M (1996) Cytotoxic cycloartanes from *Aglaia argentea*; *Phytochemistry* 41(5); 1325-1328.

Omobuwajo O R; Martin M-T; Perromat G; Sevenet T; Pais M (1996b) Apotirucallane triterpenes from *Aglaia argentea*; *J. Nat. Prod.* 59(6); 614-617.

Pannell C M (1992) A taxonomic monograph of the genus *Aglaia* Lour. (Meliaceae); Kew Bulletin Additional Series XVI, Royal Botanic Gardens, Kew. HMSO. London.

Papageorgiou V P; Bakola-Christianopoulou M N; Apazidou K K; Psarros E E (1997) Gas chromatographic-mass spectroscopic analysis of the acidic triterpenic fraction of mastic gum; *J. Chromatograph. A*; 769; 263-273.

Phaetthanesuan P (1972) Thai medicinal plants, Vol. 2; Ampol Pitayya, Bangkok.

Poehland B I; Carte´ B K; Francis T A; Hyland L J; Allaudeen H S; Troupe N (1987) In vitro antiviral activity of dammar resin triterpenoids; *J. Nat Prod.* 50(4); 706-713.

Proksch P, Edrada R A, Ebel R, Bohnenstengel F I, Nugroho B W (2001) Chemistry and biological activity of rocaglamide derivatives and related compounds in *Aglaia* species (Meliaceae); *Cur. Org. Chem.* 5; 923- 938.

Purushothaman K K; Duraiswamy K; Connolly J D; Rycroft D S (1986) Triterpenoids from *Walsura piscidia*; *Phytochemistry* 24(10); 2349-2354.

Purushothaman K K; Saraswathy A; Sasikala E (1989) Triterpenoids from the resin of *Shorea robusta* Gaertn.; *Indian drugs Bombay* 26(4); 146-150.

Qiu S-X; van Hung N; Xuan L T; Gu J-Q; Lobkovsky E; Khanh T C; Soejarto D D; Clardy J; Pezzuto J M; Dong Y; Tri M V; Huong L M; Fong H H S (2001) A pregnane steroid from *Aglaia lawii* and structure confirmation of cabraleadiol monoacetate by X-ray crystallography; *Phytochemistry*56; 775-780.

Rao M M; Meshulam H; Zelnik R; Lavie D (1975) *Cabralea eichleriana* DC. (Meliaceae)-I Structure and stereochemistry of wood extractives; *Tetrahedron* 31; 333-339.

Rembold H; Puhlmann I (1993) Azadirachtin: structure and activity relations in case of *Epilachna verivestis*. In: The Neem Tree *Azadirachta indica* A. Juss. And other meliaceous plants: Source of unique natural products for integrated pest management, medicine, industry and other purposes (Schmutterer H; Hrsg). VCH, Weinheim, 222-230.

Rembold H; Puhlmann I (1993) Phytochemistry and biological activity of metabolites from tropical Meliaceae. *Phytochemistry* 27; 153-165

Rickling B; Glombitza K-W (1993) Saponins in the leaves of birch? Hemolytic dammarane triterpenoid esters of *Betula pendula*; *Planta Med.* 59; 76-79.

Ridley H N (1992) The flora of the malay peninsula; L. Reeve and Co. Ltd., London.

Rivero-Cruz J F; Chai H-B; Kardono L B S; Setyowati F M; Afriatini J J; Riswan S; Farnsworth N R; Cordell G A; Pezzuto J M; Swanson S M; Kinghorn A D (2004) Cytotoxic constituents of the twigs and leaves of *A. rubiginosa*; *J. Nat. Prod.* 67; 343-347.

Rosenthal D; Niedermeyer A O; Fried J (1965) Baeyer-Villiger oxidation of 4-methylated 3-keto steroids and the facile pyrolysis of 4,4-dimethyl 3,4-seco lactones; *J.Org.Chem.* 30; 510-515.

Rosenthal und Berenbaum (Hrsg.) 1992 Herbivores – Their interactions with secondary plant metabolites; Vol. II: Ecological and evolutionary processes; Academic Press, Inc.

Roux D; Martin M-T; Adeline M-T; Sevenet T; Hadi A H A; Pais M (1998) Foveolins A and B, dammarane triterpenes from *Aglaia foveolata*; *Phytochemistry* 49(6); 1745-1748.

Schneider G 1990: Arzneidrogen, ein Kompendium für Pharmazeuten, Biologen und Chemiker. Wissenschaftsverlag, Mannheim-Wien-Zürich

Shiengthong D; Kokpol U; Karntiang P (1974) Triterpenoid constituents of Thai medicinal plants-II Isomeric aglatriols and aglaiol; *Tetrahedron* 30; 2211-2215.

Shiengthong D; Verasarn A; NaNonggai-Suwanrath P; Warnhoff E W (1965) Constituents of Thai medicinal plants-I Aglaiol; *Tetrahedron* 21; 917-924.

Shorey H H ; Hale R L (1965) Mass-rearing of the larvae of nine noctuid species on a simple artificial medium. *J. Econ. Entomol.* 58; 522-524.

Silva G L; Gil R R; Cui B; Chai H; Santisuk T; Srisook E; Reutrakul V; Tuchinda P; Sophasan S; Sujarit S; Upatham S; Lynn S M; Farthing J E; Yang S-L; Lewis J A; O'Neill M J; Farnsworth N R; Cordell G A; Pezzuto J M; Kinghorn A D (1997) Novel cytotoxic ring-A seco-cycloartane triterpenes from *Gardenia coronaria* and *G. sootepensis*; *Tetrahedron* 53(2); 529-538.

Singh Y; Aalbersberg W (1992) Dammarane triterpenoids from *Dysoxylum richii*; *Phytochemistry* 31(11); 4033-4035.

Su R; Kim M; Kawaguchi H; Yamamoto T; Goto K; Taga T; Miwa Y; Kozuka M; Takahashi S (1990) Triterpenoids from the fruits of *Phellodendron chinense* Schneid.: the stereostructure of niloticin; *Chem. Pharm. Bull.* 38(6); 1616-1619.

Subrahmanyam K; Rao J; Madhusudhana; Rao K V; Jagannadha (1976) Chemical examination of timbers of *Melia* species; *Current Science* 45(8); 293-294.

Sun H-D; Qiu S-X; Lin L-Z; Wang Z-Y; Lin Z-W; Pengsuparp T; Pezzuto J M; Fong H H S; Cordell G A; Farnsworth N R (1996) Nigranoic acid, a triterpenoid from *Schisandra sphaerandra* that inhibits HIV-1 reverse transcriptase; *J. Nat Prod* 59(5); 525-527.

Tanaka O; Yahara S (1978) Dammarane saponins of leaves of *Panax pseudo-ginseng* subsp. *himalaicus*; *Phytochemistry* 17; 1353-1358.

Thebtaranonth C; Thebtaranonth Y; Wanauppathamkul S; Yuthavong Y (1995) Antimalarial sesquiterpenes from tubers of *Cyperus rotundus*: structure of 10, 12-peroxycalamenene, a sesquiterpene endoperoxide; *Phytochemistry* 40(1); 125-128.

Urones J G; De Pascual T; Marcos I S; Martin D D (1987) *Ent*-Isolariciresinol in *Reseda suffruticosa*; *Phytochemistry* 26(5); 1540-1541.

Valente L M M; Gunatilaka A A L; Kingston D G I (1994) Norcucurbitacin gentiobiosides from *Fevillea trilobata*; *J. Nat Prod.* 57(11); 1560-1563.

Van der Doelen G A; Boon J J (2000) Artificial aging of varnish triterpenoids in solution; *J. photochem. photobiol.* 134(1-2); 45-57.

Van der Doelen G A; Van den Berg K J; Boon J J; Shibayama N; de la Rie E R; Genuit W J L (1998) Analysis of fresh triterpenoid resins and aged triterpenoid varnishes by high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionisation (tandem) mass spectrometry; *J. Chrom. A.* 809; 21-37.

Vishnoi S P; Shoeb A; Kapil R S (1988) New cycloartenol derivatives from *Aglaia roxburghiana*; *Planta Med.*; 40-41.

Wang B-G; Ebel R; Nugroho B W; Prijono Djoko; Frank W; Steube K G; Hao X-J; Proksch P (2001) Aglacins A-D, first representatives of a new class of aryltetralin cyclic ether lignans from *Aglaia cordata*; *J. Nat. Prod.* 64; 1521-1526.

Wang B-G; Ebel R; Wang C-Y; Wray V; Proksch P (2002) New methoxylated aryltetrahydronaphthalene lignans and a norlignan from *Aglaia cordata*; *Tetrahedron Lett.* 43; 5783-5787.

Wang T; Huang A; Sun Y; Wu Z; Liu M (1986) Isolation and identification of constituents of volatiles of dry flowers of *Aglaia odorata* Lour.; *Zhiwu Xuebao* 28(5); 504-510.

Waterman P G; Ampofo S (1985) Dammarane triterpenes from the stem bark of *Commiphora dalzielii*; *Phytochemistry* 24(12); 2925-2928.

Weber S; Puripattanavong J; Brecht V; Frahm A W (2000) Phytochemical Investigation of *Aglaia rubiginosa*; *J. Nat. Prod.* 63; 636-642.

Weyerstahl P; Marschall H; Son P T; Giang P M (1999) Constituents of the flower essential oil of *Aglaia odorata* Lour. From Vietnam; *Flavour Frag.J.* 14; 219-224.

Xu Y-J; Imiyabir Z; Lai Y-H; Vittal J J; Goh S-H (2001) A trioxigenated sterol from leaves of *Aglaia laxiflora*; *Chem. Res. Comm.* 13; 37-41.

Yamashita H; Masuda K; Kobayashi T; Ageta H; Shiojima K (1998) Dammarane triterpenoids from rhizomes of *Pyrosia lingua*; *Phytochemistry* 49(8); 2461-2466.

Yoshikawa K; Arihara S; Matsuura K; Miyase T (1992) Dammarane saponins from *Gymnema sylvestre*; *Phytochemistry* 31(1); 237-241.

Yoshikawa M; muratami T; Ueno T; Yashiro K; Hirokawa N; Murakami N; Yamahara J; Matsuda H; Saijoh R; Tanaka O (1997) Bioactive saponins and glycosides. VIII. Notoginseng (1): new dammarane-type triterpene oligoglycosides, notoginsenosides-A, -B, -C, and -D, from the dried root of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen; *Chem. Pharm. Bull.* 45(6); 1039-1045.

## **Publikationen:**

1. **Gero Eck, Brigitte Fiala, Karl Eduard Linsenmair, Rosli Bin Hashim and Peter Proksch (2001) Trade-off Between Chemical and Biotic Antiherbivore Defense in the South East Asian Plant Genus *Mararanga*. *J. Chem. Ecol.* 27(10); 1979-1996.**
2. **Gero Eck et al. (Arbeitstitel: New 3,4-Secodammaranes from *Agaia ignea* (Meliaceae); in Vorbereitung)**

## **Poster:**

1. **G. Eck, R. Ebel, R.A. Edrada, V. Wray and P. Proksch: Ring A Seco-Triterpenes from *Aglaia ignea* (Meliaceae).**
2. **T.N. Duong, G. Eck, R. Ebel, R.A. Edrada, G.N. Nguyen, L.T. Muu, A.T. Duong and P.Proksch: Insecticidal compounds from *Aglaia* (Meliaceae) collected in Vietnam.**
3. **T.N. Duong, G. Eck, R.A. Edrada, R. Ebel, T.A. Duong und P. Proksch: *Aglaia*-Arten aus Vietnam – Phytochemische Charakterisierung und Evaluierung der insektiziden Aktivität unter Feldbedingungen.**

## **Lebenslauf**

<b>Name</b>	<b>Eck</b>
<b>Vornamen</b>	<b>Gero Hans-Karl</b>
<b>Geburtsdatum</b>	<b>23. Oktober 1972</b>
<b>Geburtsort</b>	<b>Schweinfurt</b>
<b>Eltern</b>	<b>Günter Eck</b> <b>Ursula Eck, geb. Giegold</b>

## **Schulbildung**

<b>1979-1984</b>	<b>Von-Henneberg-Volksschule in Bad Kissingen/Garitz</b>
<b>1984-1993</b>	<b>Gymnasium Bad Kissingen</b>
<b>9. Juli 1993</b>	<b>Abitur</b>

## **Universitätsstudium**

<b>1993-2000</b>	<b>Diplomstudiengang im Fachbereich Biologie an der Bayerische Julius- Maximilians-Universität Würzburg</b>
<b>November/Dezember 1999</b>	<b>Diplomprüfung</b>
<b>Wintersemester 98/99</b>	<b>3-monatiger Auslandsaufenthalt in Malaysia</b>
<b>21. Juni 2000</b>	<b>Diplom</b>
<b>Juli 2000 – Oktober 2004</b>	<b>Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Pharmazeutische Biologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf</b>
<b>September-Oktober 2003</b>	<b>Forschungsaufenthalt im National Key Laboratory for Biometric and Natural Drugs, Peking University</b>