

Neuartige Tropanalkaloide und andere stickstoffhaltige Sekundärstoffe in Windengewächsen (Convolvulaceae)

**Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades
des Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)**

**eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin**

vorgelegt von

Sonja Christina Ott

aus Göppingen

Berlin 2011

Diese Dissertationschrift wurde in den Jahren 2000 bis 2011 (mit Unterbrechungen) am Institut für Pharmazie – Pharmazeutische Biologie der Freien Universität Berlin unter der Leitung von Prof. Dr. E. Eich angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr. Eckart Eich

2. Gutachterin: Prof. Dr. Monika Hilker

Tag der Ersteinreichung: 21.10.2011

Tag der Zweiteinreichung: 21.06.2012

Disputation am: 16.08.2012



für meine Oma Evi

die mich mit Geld & guten Gedanken unterstützte

für meine Seelenbrüder Norman Stoyan

für Albert Hofmann der mich inspirierte

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Eckart Eich für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung des Pflanzenmaterials sowie des Saatguts für den Anbau im institutseigenen Gewächshaus und im Wirtschaftshof des Botanischen Garten. Dankenswerterweise durfte ich auch einige seiner fachkundigen Photographien von Convolvulaceae in dieser Arbeit verwenden. Ich danke ihm für die Betreuung meines Dissertationsvorhabens und die wertvollen fachlichen Gespräche. Ausdrücklich möchte ich mich dafür bedanken, daß er die Beendigung meines Dissertationsverfahren auch als Emeritus unterstützt hat.

Frau Priv.-Doz. Dr. Kristina Jenett-Siems bin ich für die intensive Betreuung bei der Erstellung der vorliegenden Dissertationsschrift, insbesondere für ihre stete Diskussionsbereitschaft und die wertvollen inhaltlichen Verbesserungsvorschläge, zutiefst dankbar. Auch bezüglich der Spektreninterpretation und der Erstellung der Publikationen war ihre Hilfe unersetzlich.

Herrn Dr. K. Siems von der AnalytiCon AG, NL Potsdam, möchte ich für die Aufnahme der NMR-Spektren danken, die aufgrund kleinster Substanzmengen nicht am Institut erstellt werden konnten, und für die hilfreichen Vorschläge zur Strukturaufklärung.

Für die Anfertigung der FAB- und HR-Massenspektren und die rege Diskussionsbereitschaft sowie die konstruktiven Vorschläge zur Strukturaufklärung danke ich Frau U. Ostwald und Herrn Dr. G. Holzmann vom Institut für Chemie der FU Berlin. Auch bei der analytischen Abteilung des Instituts für Pharmazie der FU Berlin möchte ich mich für die Erstellung der NMR- und MS-Aufnahmen bedanken. Ein herzliches Dankeschön geht auch an Sara Wagner aus dem Fachbereich Chemie für die tatkräftige Hilfestellung bei der für den Review kurzfristig anberaumten Bestimmung der CD-Werte der Astrimalvine.

Dem während der Anfertigung dieser Arbeit plötzlich verstorbenen Herrn Dr. L. Witte vom Arbeitskreis Hartmann der TU Braunschweig sowie dem Arbeitskreis um Frau Prof. Dr. M. Hilker, insbesondere Herrn F. Müller, am Institut für Biologie der FU Berlin danke ich für die reibungslose Kooperation bezüglich der GC-MS-Vermessung der Basen-Extrakte, die die Grundlage der umfangreichen Screening-Arbeiten darstellten.

Herrn Prof. Dr. H. H. Pertz danke ich für die fruchtbare Zusammenarbeit und die unersetzliche technische Hilfestellung bei der pharmakologischen Testung der Bonabiline.

Für wertvolle Anregungen bezüglich der isolierten neuen Naturstoffe möchte ich mich bei Herrn Dr. M. Kaloga bedanken.

Außerdem danke ich den Mitarbeitern des Instituts für Pharmazie, die auf verschiedenste Weise zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, insbesondere Frau M. Meyer für die wertvollen Tipps und Tricks im Laboralltag sowie Frau Dr. Julia Lazar-Schurreit und Frau Sahin für die tröstenden Worte in schweren Zeiten.

Herrn B. Kamann danke ich für die interessanten Sicherheitsbegehungen.

Meinen ehemaligen Doktorandinnenkolleginnen Inga Köhler, Carola Schubert und Sonja Frölich sowie meinen Kondoktoranden Oliver Radtke und Ronald Keipert danke ich für die freundschaftliche und stets angenehme Arbeitsatmosphäre, ihr kollegiales Verhalten, die anregenden Gespräche und die schönen Erinnerungen an meine Laborzeit.

Herrn Prof. Dr. M. F. Melzig danke für die Nutzung der Räumlichkeiten und technischen Ausstattung auch nach der Auflösung des Arbeitskreises Eich am Institut für Pharmazie – Pharmazeutische Biologie.

Frau Wilke und Herrn M. Meyer vom Wirtschaftshof des Botanischen Garten der FU Berlin möchte ich für die Unterstützung beim Anbau der Pflanzen im Freiland und die Auseizelung zur Vermehrung von *Falkia repens* danken.

Bei Frau Dr. B. Jeckel vom Pflanzenschutzamt Berlin möchte ich mich für die fachkundige Beratung zur biologischen Schädlingsbekämpfung bedanken.

Meinem ehemaligen Ethik-Lehrer am Simon-Marius-Gymnasium Gunzenhausen Herrn Peter Voss danke ich für die ausgewählte Literatur zum Thema Hexenprozesse.

Nina Marxen möchte ich für die wunderschöne Zeichnung von *Ipomoea tricolor* cv. "Heavenly Blue" danken, die ich für die Widmung verwenden durfte.

Steff Weißhäupl danke ich für die Umsetzung der graphischen Bildbearbeitung trotz erschwelter Bedingungen.

An meine Patentante Prof. Dr. Elke Platz-Waury ergeht ein inniger Dank für die sprachliche Korrektur und die formale Hilfestellung bei der Dissertationsschrift. Die richtigen Fragen zur richtigen Zeit und die tolle Teamarbeit beim Erstellen der englischen Version der Zusammenfassung empfand ich als sehr wertvoll.

Meiner Schreibstubengefährtin Friede Krebs danke ich für die liebevolle mentale Unterstützung und vor allem für die lebensrettenden Eintöpfe in der Endphase der Arbeit.

Meinem geschätzten Bruder Dr. Claus-Eric Ott danke ich aus ganzem Herzen für den essentiellen Beistand in der Endphase dieser Arbeit: für die intelligenten Kommentare beim Korrekturlesen, für das Tiffisieren der C-Design-Formeln und für die Unterstützung bei dem Unterfangen, aus der Druckvorlage ein in sich abgerundetes Buch werden zu lassen. Ihm und Gina Yadegari möchte ich auch für den unermüdlichen Arbeitseinsatz bei der letzten Ernte im Gewächshaus danken.

Und – last but not least – möchte ich meinen Freunden und meiner Familie danken, die mich in all den Jahren stets unterstützt und an mich geglaubt haben, allen voran meinen beiden Jungs, dem Kleinen und dem Großen, Ede Ott und Jan Krüger, die mir stets den Rücken gestärkt haben und oft auf mich verzichten mussten.

Publikationsliste

Originalarbeiten:

Ott, S. C., Jenett-Siems, K., Siems, K., Müller, F., Hilker, M., Eich, E. (2013) Ipvelutine, 7 β -acetoxy-2 α -(tigloyloxy)tropane, an unusual tropane alkaloid from *Ipomoea velutina* R. BR. (Convolvulaceae). *Scientia Pharmaceutica* **81** (2), 543-548.

Ott, S. C., Jenett-Siems, K., Eich, E. (2013) Stereochemistry of consabatine from *Convolvulus sabatius* Viv. (Convolvulaceae). *Scientia Pharmaceutica* **81** (1), 247-250.

Ott, S. C., Jenett-Siems, K., Pertz, H. H., Siems, K., Witte, L., Eich, E. (2013) Bonabiline A, a monoterpenoid 3 α -acyloxytropane from the roots of *Bonamia spectabilis* showing M₃ receptor antagonist activity. Erratum. *Planta Medica* **79** (6), 512.

Ott, S. C., Tofern-Reblin, B., Jenett-Siems, K., Siems, K., Müller, F., Hilker, M., Onegi, B., Witte, L., Eich, E. (2007) Unusual tropane alkaloid pattern in two African convolvulaceous species. Phytochemistry and chemotaxonomy of the Convolvulaceae, part 20. *Zeitschrift für Naturforschung* **62b**, 285-288.

Ott, S. C., Jenett-Siems, K., Pertz, H. H., Siems, K., Witte, L., Eich, E. (2006) Bonabiline A, a monoterpenoid 3 α -acyloxytropane from the roots of *Bonamia spectabilis* showing M₃ receptor antagonist activity. *Planta Medica* **72**, 1403-1406.

Jenett-Siems, K., Ott, S. C., Schimming, T., Siems, K., Müller, F., Hilker, M., Witte, L., Hartmann, T., Austin, D. E., Eich, E. (2005) Ipangulines and minalobines, chemotaxonomic markers of the infrageneric *Ipomoea* taxon subgenus Quamoclit, section Mina. *Phytochemistry* **66**, 223-231.

Jenett-Siems, K., Weigl, R., Böhm, A., Mann, P., Tofern-Reblin, B., Ott, S. C., Ghomian, A., Kaloga, M., Siems, K., Witte, L., Hilker, M., Müller, F., Eich, E. (2005) Chemotaxonomy of the pantropical genus *Merremia* (Convolvulaceae) based on the distribution of tropane alkaloids. *Phytochemistry* **66**, 1448-1464.

Posterpräsentationen:

Ott, S. C., Jenett-Siems, K., Tofern, B., Siems, K., Müller, F., Hilker, M., Witte, L., Eich, E. (2004) Tropane alkaloids from the South African perennial herb *Falkia repens* (Convolvulaceae). 52nd Annual GA-Congress at the International Congress on Natural Products Research, Phoenix, Arizona, USA.

Ott, S. C., Jenett-Siems, K., Müller, F., Hilker, M., Witte, L., Eich, E. (2004) Neuartige Tropanalkaloide aus afrikanischen Convolvulaceae. Deutsche Pharmazeutische Gesellschaft (DPhG), Landesgruppe Berlin-Brandenburg: Der wissenschaftliche Nachwuchs stellt sich vor, Berlin.

Ott, S. C., Jenett-Siems, K., Pertz, H. H., Eich, E. (2003) Muscarinic M₃ receptor properties of bonabiline A from *Bonamia spectabilis* (Convolvulaceae). 51st Annual Congress of the Society for Medicinal Plant Research, Kiel.

Ott, S. C., Jenett-Siems, K., Siems, K., Müller, F., Hilker, M., Onegi, B., Eich, E. (2003) Astrimalvine, a new tropane alkaloid from *Astripomoea malvacea* (Convolvulaceae). 51st Annual Congress of the Society for Medicinal Plant Research, Kiel.

Ott, S. C., Jenett-Siems, K., Siems, K., Witte, L., Eich, E. (2002) Bonabiline, einzigartige Tropanalkaloide aus *Bonamia spectabilis* (Convolvulaceae). DPhG-Jahrestagung, Berlin.

Ott, S. C., Jenett-Siems, K., Siems, K., Witte, L., Eich, E. (2002) Bonabilines, unique tropane alkaloids from *Bonamia spectabilis* (Convolvulaceae). 50th Annual Congress of the Society for Medicinal Plant Research, Barcelona, Spain.

Schimming, T., Tofern, B., Ott, S. C., Jenett-Siems, K., Gupta, M. P., Johnson, R. W., Milson, J., Derooin, T., Eich, E. (1999) Distribution and Taxonomic Significance of Calystegines in the Convolvulaceae. XVIth International Botanical Congress, St. Louis, Missouri, USA.

Neuartige Tropanalkaloide und andere stickstoffhaltige Sekundärstoffe in Windengewächsen (Convolvulaceae)

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
1.1 Ethnopharmakologische Aspekte der Tropanalkaloide	1
1.2 Pharmakologische Bedeutung der Tropanalkaloide	8
1.3 Forschungsstand	15
1.4 Zielsetzung	21
2 Hauptteil	23
2.1 Screening	23
2.1.1 Extrakterstellung	24
2.1.2 GC-MS-Screening	26
2.1.2.1 Pyrrolidine und einfache Tropane	29
2.1.2.2 3-Tropanolester	36
2.1.2.3 di- und trisubstituierte Tropane	48
2.1.2.4 Pyrrolizidine	55
2.1.2.5 Ergoline	59
2.1.2.6 Sonstige	63
2.1.3 Calystegin-Analytik	66
2.2 Isolierung und Strukturaufklärung von Alkaloiden	70
2.2.1 Hydroxylimtsäureamide	70
2.2.1.1 <i>N-trans-p-Cumaroyltyramin (1)</i>	72
2.2.1.2 <i>N-trans-Feruloyltyramin (2)</i>	74
2.2.2 Pyrrolidinalkaloide	76
2.2.2.1 Cuscohygrin (3)	77
2.2.3 Pyrrolizidinalkaloide	78
2.2.3.1 Minalobin O aus <i>Ipomoea cristulata (4)</i>	80
2.2.4 Tropanalkaloide	85
2.2.4.1 Einfache Tropane	86
2.2.4.1.1 Tropan-3-on (5)	86
2.2.4.1.2 3 α -Tropanol (6)	89
2.2.4.1.3 3 β -Tropanol (7)	91
2.2.4.2 Ester von 3-Tropanolen	93
2.2.4.2.1 3-Tropanolester aus <i>Falkia repens</i>	95
2.2.4.2.1.1 3 α -Acetoxytropan (8)	96
2.2.4.2.1.2 3 α -Acetoxytropan-N-oxid (9)	98
2.2.4.2.1.3 3 β -Acetoxytropan-N-oxid (10)	99
2.2.4.2.1.4 3 α -(2'-Methylbutyryloxy)tropan (11)	100
2.2.4.2.1.5 3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan (12)	102
2.2.4.2.1.6 3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan-N-oxid (13)	104

2.2.4.2.1.7	3 β -Tigloyloxytropan-N-oxid (14)	106
2.2.4.2.1.8	3 β -trans-Isoferuloyloxytropan (15)	108
2.2.4.2.2	Astrimalvine aus <i>Astripomoea malvacea</i>	111
2.2.4.2.2.1	Astrimalvin A-N-oxid (16)	112
2.2.4.2.2.2	Astrimalvin B (17)	118
2.2.4.2.3	3-Tropanolester aus <i>Convolvulus sabatius</i>	122
2.2.4.2.3.1	Consabatin (18)	123
2.2.4.2.3.1.1	Synthese der Mosher-Ester	126
2.2.4.2.3.2	Merresectin B (19)	129
2.2.4.2.3.3	Merresectin D- β -glucosid (20)	131
2.2.4.2.3.4	Merresectin E- β -glucosid (21)	132
2.2.4.2.4	Bonabiline aus <i>Bonamia spectabilis</i>	135
2.2.4.2.4.1	Bonabilin A (22)	137
2.2.4.2.4.2	Bonabilin B (23)	141
2.2.4.2.4.3	Weitere Bonabiline	144
2.2.4.3	Disubstituierte Tropane	147
2.2.4.3.1	Ipvelutin (24) aus <i>Ipomoea velutina</i>	148
2.3	Pharmakologische Testung	156
3	Diskussion	158
3.1	Alkaloid-Screening	159
3.2	Inhaltsstoffe von <i>Ipomoea cristulata</i>	177
3.3	Inhaltsstoffe von <i>Falkia repens</i>	179
3.4	Inhaltsstoffe von <i>Astripomoea malvacea</i>	186
	<i>Exkurs zu 3.3 und 3.4: Tropan-N-oxide bei Convolvulaceae</i>	193
3.5	Inhaltsstoffe von <i>Convolvulus sabatius</i>	199
3.6	Inhaltsstoffe von <i>Bonamia spectabilis</i>	204
3.7	Inhaltsstoffe von <i>Ipomoea velutina</i>	211
3.8	Ausblick	214
4	Zusammenfassung	215
5	Experimenteller Teil	221
5.1	Pflanzenmaterial	221
5.1.1	Untersuchte Convolvulaceen-Spezies	222
5.1.2	Pflanzenanzucht	228
5.2	Allgemeine Bedingungen	232
5.2.1	Geräte	232
5.2.2	Stationäre Phasen und Trennsäulen	233
5.2.3	Lösemittel und Detektionsmittel	234
5.3	Screening	236
5.3.1	Extraktherstellung	236
5.3.2	Probenvorbereitung für die GC-MS-Analytik	238
5.3.3	GC-MS-Daten der detektierten Verbindungen	240
5.3.3.1	Pyrrolidin-Alkaloide	240

5.3.3.2 Tropan-Alkaloide	242
5.3.3.3 Pyrrolizidin-Alkaloide	250
5.3.3.4 Ergolin-Alkaloide	252
5.3.3.5 Sonstige	254
5.3.4 Calystegin-Analytik	255

5.4 Isolierung und Strukturaufklärung **257**

5.4.1 Hydroxyzimtsäureamide	257
5.4.1.1 N- <i>trans</i> -Cumaroyltyramin (1)	257
5.4.1.2 N- <i>trans</i> -Feruloyltyramin (2)	258
5.4.2 Pyrrolidin-Alkaloide	259
5.4.2.1 Cuscohygrin (3)	259
5.4.3 Pyrrolizidin-Alkaloide	260
5.4.3.1 Minalobin O (4)	260
5.4.4 Tropan-Alkaloide	261
5.4.4.1 einfache Tropane	261
5.4.4.1.1 Tropan-3-on (5)	261
5.4.4.1.2 3 α -Tropanol (6)	262
5.4.4.1.3 3 β -Tropanol (7)	262
5.4.4.2 3-Tropanolester aus <i>Falkia repens</i>	263
5.4.4.2.1 3 α -Acetoxytropan (8)	264
5.4.4.2.2 3 α -Acetoxytropan-N-oxid (9)	265
5.4.4.2.3 3 β -Acetoxytropan-N-oxid (10)	265
5.4.4.2.4 3 α -(2'-Methylbutyryloxy)tropan (11)	266
5.4.4.2.5 3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan (12)	267
5.4.4.2.6 3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan-N-oxid (13)	268
5.4.4.2.7 3 β -Tigloyloxytropan-N-oxid (14)	269
5.4.4.2.8 3 β - <i>trans</i> -Isoferuloyloxytropan (15)	270
5.4.4.3 Astrimalvine aus <i>Astripomoea malvacea</i>	271
5.4.4.3.1 Astrimalvin A-N-oxid (16)	271
5.4.4.3.2 Astrimalvin B (17)	272
5.4.4.4 3-Tropanolester aus <i>Convolvulus sabatius</i>	274
5.4.4.4.1 Consabatin (18)	274
5.4.4.4.1.1 Synthese der Mosher-Ester	276
5.4.4.4.2 Merresectin B (19)	277
5.4.4.4.3 Merresectin D- β -glucosid (20)	278
5.4.4.4.4 Merresectin E- β -glucosid (21)	279
5.4.4.5 Bonabiline aus <i>Bonamia spectabilis</i>	279
5.4.4.5.1 Bonabilin A (22)	280
5.4.4.5.2 Bonabilin B (23)	281
5.4.4.5.3 Weitere Bonabiline	282
5.4.4.6 Ipvelutin (24) aus <i>Ipomoea velutina</i>	284

5.5 Pharmakologisches Testsystem **285**

6 Verzeichnisse **286**

6.1 Abkürzungsverzeichnis	287
6.2 Abbildungsverzeichnis	290
6.3 Tabellenverzeichnis	294
6.4 Literaturverzeichnis	295
6.5 Digitale Ressourcen	320

1

Einleitung

1.1 Ethnopharmakologische Aspekte der Tropanalkaloide

In seinem Monumentalwerk „Species plantarum“, das im Jahr 1753 erschien, gab der Begründer der modernen binären Nomenklatur Carl von Linné der in Mitteleuropa beheimateten Schwarzen Tollkirsche den latinisierten Namen *Atropa belladonna*, wobei sich vom Gattungsnamen auch der Begriff für ihre pharmakologisch wirksamsten Inhaltsstoffe, die Tropanalkaloide, ableitet. Inspiriert wurde Linné dabei von Atropos, der ältesten der drei griechischen Schicksalsgöttinnen (Moiren), auch die „Unabwendbare“ genannt, da sie den Lebensfaden, den ihre Schwestern gemessen und versponnen haben, durchtrennt. Der Beiname *belladonna* („schöne Frau“) wurde von dem italienischen Kräuterbuchautor Matthioli geprägt, der damit auf die feinen italienischen Damen anspielte, die sich für den als Schönheitsideal geltenden träumerisch-verführerischen, dunklen Blick den Saft der Tollkirsche zur Erweiterung ihrer Pupillen in die Augen träufelten.

Die zu den Nachtschattengewächsen (Solanaceae) – in der botanischen Systematik die den Windengewächsen (Convolvulaceae) am nächsten verwandte Familie – gehörende *Atropa belladonna* L. hat als Arzneipflanze eine lange Tradition. Früheste Nachweise über ihren Gebrauch finden sich bei den Sumerern, die sie als Heilmittel bei verschiedenen durch Dämonen verursachten Krankheiten einsetzten (Rätsch, 1988). Ihre Verwendung wird in „Chemie der Psyche“ (Snyder, 1994) wie folgt umrissen: „Extrakte der Tollkirsche (*Atropa belladonna*) sind beispielsweise seit Hippokrates' Zeiten dazu verwendet worden, Verdauungsstörungen zu behandeln; sie verlangsamten die Kontraktionen des Darms und vermindern die Magensäuresekretion. Im Mittelalter dienten diese Belladonna-Alkaloide auch als Gifte; tödliche Dosen führten anfangs zu Gedächtnisverlust, Desorientierung und der Zerstörung anderer geistiger Fähigkeiten, bevor das Opfer schließlich tot zusammenbrach.“ Deutlich wird hieran insbesondere auch der enge Dosierungsbereich der Tropanalkaloide als Wirkprinzip der Tollkirsche.



Abb. 1: *Atropa belladonna* L.

Noch viel gebräuchlicher war im alten Griechenland allerdings eine andere stark tropanalkaloidhaltige Solanaceae: die Alraune (*Mandragora officinarum* L.). Die Wurzel dieser eher im südlichen Europa beheimateten Spezies wurde in der Antike als Anästhetikum, Antiseptikum, Tonikum und Narkotikum genutzt (Müller-Ebeling *et al.*, 1999). In Aristoteles' „De somno et vigilia“ (4. Jhd. v. Chr.) wird Mandragora als Hypnotikum aufgeführt; christliche Quellen verzeichnen ebenfalls ihren Gebrauch als Schlafmittel (Schmitz und Kuhlen, 1989). Bei den alten Ägyptern fand die Alraune in erster Linie als Potenzmittel, Aphrodisiakum und Fruchtbarkeitsspendender Verwendung (Rätsch, 1988). Im Orient zeugt von der Beliebtheit der Mandragora als Ingredienz von Liebestränken auch der hebräische Name dūdaim (von dūd = lieben) für die kleinen, gelben, wohlriechenden Beerenfrüchte (Fühner, 1925). Diese verbergen sich vermutlich auch hinter den „goldenen Äpfeln der Aphrodite“ (Müller-Ebeling *et al.*, 1999). Selbst die Äbtissin Hildegard von Bingen (11. Jhd. n. Chr.) verzeichnete, daß durch Alraune Schwermut und Liebesgram zu stillen seien (Lohs und Martinetz, 1986). Nicht nur deshalb, sondern vor allem auch wegen ihres anthropomorphen Aussehens galt und gilt die Alraune als sagenumwobene Zauberwurzel, um deren Erhalt sich viele Mythen ranken (s. a. Schultes und Hofmann, 1980).

Weitaus größere Bedeutung als Heilpflanze hat das Bilsenkraut (*Hyoscyamus* sp.). Bereits 1500 v. Chr. dokumentierten die alten Ägypter ihre Kenntnisse im Ebers-Papyrus (Schultes und Hofmann, 1980). In assyrischen Keilschrifttexten wird es beschrieben als eine Pflanze, die „die Glieder fesselt“ (Schmitz und Kuhlen, 1989). In der Antike behandelte man mit Bilsenkraut unheilbare Wunden und Spinnenbiß, Geschwulsten und Leisten-, Fuß-, und Leberschmerzen sowie Lungenleiden (Müller-Ebeling *et al.*, 1999). Am häufigsten wurde es jedoch als Schlafmittel genutzt, was ihm auch zu dem Beinamen „Hypnotikon“ verhalf (Schmitz und Kuhlen, 1989). Seine Blätter sind – neben der Alraunenwurzel – angenommener Bestandteil der Dodecatheon-Medizin, eine vermutlich aus den zwölf heiligen Pflanzen der zwölf olympischen Götter bereite Medizin, die gegen alle Krankheiten wirken sollte (Baumann, 1982). Das Weiße Bilsenkraut (*Hyoscyamus albus* L.) war die heiligste Pflanze des Apollon, wovon auch noch sein römischer Name *apollinaris* zeugt. Da Apollon eine der bedeutendsten Orakelgottheiten war, ist davon auszugehen, daß das psychoaktiv bis stark halluzinogen wirkende Bilsenkraut in der Antike auch zu divinatorschen Zwecken genutzt wurde. Die delphischen Pythias sowie die in Einsiedelei lebenden Sibyllen inhalierten den Rauch von Samen oder Kraut, um sich in helllichtige Ekstase zu versetzen.

Was die medizinische Verwendung des Bilsenkrauts anbelangt, so beschreibt Dioskurides (1. Jhd. n. Chr.) in seiner „De materia medica“ die Fertigung von schmerzstillenden Katalpasmen aus den Samen und von analgetischen Pastillen aus den Blättern (Schmitz und Kuhlen, 1989). Einschlägig scheint auch die Verwendung im dentalen Bereich: Roger von Salerno gibt in seiner „Practica Chirurgiae“ aus dem 12. Jhd. die Bilsenkrautverräucherung als eine frühe Form der Anästhesie bei Zahnschmerzen an (Lohs und Martinetz, 1986). Schneider (1974) spricht sogar von einem jahrtausendealten Gebrauch als Zahnmittel; als Anwendungsart beschreibt er die Verräucherung der Bilsensamen. In zentraleuropäischen Breiten wurde alternativ das dort endemische Schwarze Bilsenkraut (*Hyoscyamus niger* L.) verwendet.

Die ausgiebige Anwendung von stark tropanalkaloidhaltigen Solanaceen-Drogen ist nicht nur in historischen Quellen dokumentiert: Im „Antidotarium Nicolai“ (Salerno, 12. Jhd.) beispielsweise sind sie Bestandteil von knapp einem Fünftel der dort verzeichneten Rezepturen, was dem breiten Einsatz von Opium nahezu gleichkommt (Schmitz und Kuhlen, 1989). Auch an der auffälligen Vielfalt der überlieferten Darreichungsformen kann deren weite Verbreitung abgelesen werden: Die eben zitierte Arbeit nennt als Arzneiformen neben Pulvern, Tränken, Ölen und Salben auch Umschläge, Pflaster, Suppositorien und Pillen sowie Räucherungen.

Von besonderer Bedeutung waren die Nachtschattengewächse bei der chirurgischen Anästhesie. Dies illustriert am besten die Aussage von Schultes und Hofmann (1980) über das Bilsenkraut: „Die Pflanze hat den großen Vorteil, daß sie nicht nur die Schmerzempfindlichkeit verringert, sondern auch einen Zustand völligen Vergessens herbeiführen kann.“ Ihre herausragende Stellung als Betäubungsmittel bei Operationen und in der Wundarznei liegt damit auf der Hand und war seit der Antike allgemein bekannt. Eine besonders interessante Arzneiform stellt der Schlafschwamm dar, der bereits in medizinischen Schriften

des 9. Jhd. wie dem Bamberger Antidotar oder einem Codex aus dem Kloster Montecassino aufgeführt ist. Hierzu wurden Badeschwämme mit einer Mischung beträufelt, die neben dem aus dem Schlafmohn (*Papaver somniferum* L.) gewonnenen Opium als wichtigste Bestandteile Drogen der Nachtschattengewächse *Mandragora officinarum* und vor allem *Hyoscyamus niger*, später auch *Atropa belladonna* enthielt, und in die Nasenlöcher des Patienten eingeführt – eine Art mittelalterliches TTS (Transdermales Therapeutisches System) also. Für die Reanimation wurde ein mit Essig getränkter Schwamm auf die selbe Weise appliziert. (Schmitz und Kuhlen, 1989)

Doch auch als Genußmittel fanden diese Nachtschattengewächse Verwendung:

Hyoscyamus niger wurde von den Germanen und Wikingern in besonderen Bilsengärten angebaut und diente – neben Divination und Wetterzauber – vor allem auch als Metwürze (Müller-Ebeling *et al.*, 1999). Von einem diesbezüglichen Gebrauch in unseren Breiten-graden zeugen heute noch vielfach Ortsnamen, zudem dürfte der Begriff „Pilsener“ darin seinen Ursprung haben (Fühner, 1925). Zum selben Zweck wurden auch die Samen des Gemeinen Stechapfels (*Datura stramonium* L.) herangezogen, der laut Marzell (1922) im 16. Jhd. von den Zigeunern aus dem asiatischen Raum nach Europa eingeschleppt wurde. In den Berichten über seine Rußlandreise schreibt Samuel Gottlieb Gmelin 1770, daß die Kosaken dem Bier Stechapfelsamen zusetzen, um dessen Rauschwirkung zu verstärken; ein Brauch, der bereits im alten China und bei anderen Völkern im asiatischen Raum verbreitet war. Derart angereichertes Bier kann allerdings schnell zu sehr unangenehmen Vergiftungserscheinungen wie Mundtrockenheit, Herzjagen und langanhaltenden Sehstörungen führen, schlimmstenfalls gar zum Tode. Daher wird in der Polizeiverordnung aus dem mittelfränkischen Eichstätt im Jahr 1507 den Brauern bei Strafe von fünf Gulden verboten, Bilsensamen ins Bier zu mischen (Lohs und Martinetz, 1986). Auf den Zusatz von Nachtschattendrogen zum Bier nimmt vermutlich auch das vom Bayern-Herzog Wilhelm IV. erlassene Reinheitsgebot von 1516 Bezug.

Nicht unberücksichtigt bleiben sollte hier die Rolle der Solanaceendrogen als „Volksbelustigungsmittel“: Der Neapolitaner Giovan Battista della Porta schreibt in seiner „*Magia naturalis*“ (1558) über Alraune, Stechapfel und Tollkirsche, daß sie probate Mittel seien, um einen Menschen zur Belustigung bei festlichen Gelagen für einen Tag verrückt zu machen, ohne ihm gesundheitlichen Schaden zuzufügen (in: Lohs und Martinetz, 1986). Noch 1925 berichtet Fühner von einem derartigen Gebrauch der Wurzel von *Scopolia carniolica* im heutigen Lettland und im damaligen Ostpreußen, einer Solanaceae, die dort vor allem als Arzneimittel gegen Parkinson kultiviert wurde. Er überliefert außerdem, daß „Pilsensam“ in den lasziven Badehäusern des Mittelalters als liebesreizende Räucherung auf die heiße Ofenplatte gestreut wurde.

Die stärkste Rauschwirkung dürften allerdings die sogenannten Hexensalben erzielt haben, die neben Tollkirsche, Bilsenkraut und später auch Stechapfel als wirksamem Prinzip außerdem oft hochgiftige Pflanzen wie den Blauen Eisenhut (*Aconitum napellus* L., Ranunculaceae) beinhalteten; dieser enthält das Diterpenesteralkaloid Aconitin, dessen Giftwirkung sich vor allem an den Nervenendigungen der Haut bemerkbar macht. Somit

wurden die durch die Tropane ausgelösten deliranten, trotzdem aber – da lebensecht – für wirklich gehaltenen Visionen aufgrund der Hautparästhesien oft ergänzt durch die scheinbare Verwandlung in Tiergestalten. Lohs und Martinetz (1986) formulieren es wie folgt: „Aus heutiger Sicht waren die Hexensalben des Mittelalters Rausch- und Genußmittel für die ärmsten Teile der Volkes, die mit der – als Wirklichkeit erlebten – Halluzination von Flug, Verwandlung, festlichem Gelage, Tanz und Erotik ihrem trostlosen Leben zu entfliehen versuchten.“



Abb. 2: Michael Herr „Zauberey“, auch bekannt als „Hexensabbath“
(Sammlung Germanisches Nationalmuseum, Nürnberg)

Die Schriften von Dichtern und Philosophen der Antike zeugen davon, daß solche Salben bereits im klassischen Altertum Verwendung fanden. Im Europa des ausgehenden Mittelalters kam es allerdings zu einer epidemieartigen Verbreitung dieser Rezepturen, was neben den schweren Schädigungen durch chronischen Gebrauch auch vermehrt zu Todesfällen durch unbeabsichtigte Überdosierung führte. Dieser Mißbrauch konzentrierte sich ganz überwiegend auf den weiblichen Teil der Bevölkerung – mitbedingt durch den jahrhundertlang anhaltenden Frauenüberschuß als demographischem Faktor. Zu Beginn der sog. Hexenverfolgung galt denn auch der Fund einer derartigen Salbe und eines Besenstiels o. ä. als wichtiges Indiz für die Durchführung eines Strafverfahrens. Daß dies in die gleich einem Massenwahn um sich greifenden Hexenprozesse mündete, ist sicher auch dem 1487 von dem Dominikaner Heinrich Institoris veröffentlichten Hexenhammer „Malleus maleficarum“ zur Last zu legen, der diesen als praktisches Handbuch Tür und Tor öffnete: „Vier Merkmale gehören zum Bild der Hexe: 1. der Pakt mit dem Teufel, vollzogen 2. durch Geschlechtsverkehr mit ihm, 3. der Schadenszauber gegen Mensch und Vieh

und 4. die Teilnahme am Hexensabbat.“ (Reinhard, 1983) Die Punkte 1., 2. und 4. können nach vorangegangenen Erfahrungen mit den aphrodisierenden sowie starke Halluzinationen auslösenden tropanalkaloidhaltigen „Flugsalben“ wohl nicht mehr mit Sicherheit ausgeschlossen werden – schon gar nicht unter den unmenschlichen Torturen der damals bei derartigen Rechtsprozessen üblichen Folter. Hieraus ergibt sich ein fließender Übergang zwischen dem Straftatbestand und den durch Nachtschattendrogen ausgelösten Visionen.

Trotz des ursächlichen Zusammenhangs zwischen dem vor allem unter Frauen um sich greifenden Mißbrauch von Nachtschattendrogen und der Hexenverfolgung läßt sich dieses auf Urängsten begründete systematische Vorgehen natürlich nur durch das Hinzuziehen weiterer Faktoren erklären: Die Hexenprozesse waren eine willkommene Profilierungsmöglichkeit des expandierenden Justizapparates, wurden auf Gemeindeebene politisch instrumentalisiert und spiegelten das Bestreben der Volksseele wider, für erfahrenes Unheil einen Sündenbock zu titulieren. (Reinhard, 1983)

Ein weiterer Aspekt ist die den Hexenprozessen zugrundeliegende ideologische Haltung, daß nämlich Gott nur dem Unschuldigen die Kraft gibt, die Folter auszuhalten. Zeitgleich verbreitete sich die geistige Grundeinstellung, daß der Schmerz ein unumgänglicher Teil des göttlichen Plans ist – wohl auch als gesellschaftliche Notwendigkeit in Ermangelung eines geeigneten Betäubungsmittels bei chirurgischen Eingriffen. Vielleicht liegt hierin sogar die von Historikern formulierte „Umbewertung des Schmerzes“ im Europa des 17. Jhd. begründet. (Schmitz und Kuhlen, 1989)

Auffällig ist nicht zuletzt die Synchronizität zwischen dem Umsichgreifen der Hexenprozesse und dem von Schmitz und Kuhlen (1989) konstatierten weitgehenden Verschwinden der Nachtschattendrogen sowie der Solanaceen-Opium-Mischungen als wichtigen Werkzeugen der Anästhesie und Narkose aus den Kräuter-, Arznei- und Rezeptbüchern des 16. und vor allem 17. Jhd.. Welcher Arzt oder heilkundlich Tätige wollte schon das Risiko eingehen, daß jemand unter Narkose sich in einen „Hexensabbat“ involviert wähnte? Aus dem rapiden Rückgang der Solanaceenzubereitungen resultierte ein Überhandnehmen der Opiumpräparate als einzigen hochwirksamen Analgetika, was sich auch in dem zu dieser Zeit sehr populären Überbegriff „Laudanum“ für Opiumtinkturen widerspiegelt. Besonderer Beliebtheit erfreute sich das „Laudanum Sydenhami“, das als Geschmacks-korrigentien Safran, Gewürznelken und Ceylonzimt enthält und noch im DAB 6 (1926) als „Tinctura opii crocata“ offizinell war.

Während die stark tropanalkaloidhaltigen Arzneipflanzen in Europa ab 1600 also fast völlig von der Bildfläche verschwanden, hat sich ihre Verwendung in anderen Teilen der Erde vielfach erhalten. Grundsätzlich ist festzuhalten, daß an Tropanalkaloiden reiche Nachtschattengewächse auf dem ganzen Globus verbreitet sind und ihre volksmedizinische sowie rituelle Nutzung auf allen Kontinenten dokumentiert ist. Die folgende Zusammenstellung orientiert sich an Fühner (1925), Rätsch (1988), Rätsch (1999) und Schultes und Hofmann (1980).

Eine der nur wenigen bekannten Heilpflanzen der australischen Ureinwohner ist *Duboisia hopwoodii* F. v. MUELLER, die als „bush medicine“ (wilde Heilpflanze) von den *bushwalkern*

als Schmerzmittel eingesetzt wird. Unter dem Namen Pituri werden die Blätter auch zusammen mit Pflanzenpottasche als Priem gekaut oder – zu Zigarren gedreht – geraucht. In West- und Zentralafrika werden die Blätter von *Datura fastuosa* L. nicht nur als Rauschmittel, sondern auch als Prophetenpflanze von sog. „Kriminaltelepathen“ genutzt. *Datura metel* L. ist die wichtigste asiatische Stechapfel-Art; die früheste Erwähnung stammt von dem arabischen Arzt Avicenna, der sie zu den „mokederrat“ (Narkotika) rechnet. In Indien gehört *Datura metel* zu den ältesten Heilmitteln. Der Sanskritname der *Datura*-Pflanze bedeutet „göttlicher Rausch“; sie ist dem Gott Shiva geweiht, dem sie nach dem „Vamana Purana“ aus der Brust wuchs. *Datura*-Zubereitungen finden in der indischen Medizin vielerlei Anwendung: bei Kopfschmerzen, schlechtheilenden Wunden, nervösen Leiden, Wahnsinn, Rheumatismus, Muskelverspannungen, Krämpfen, Asthma, Bronchitis, Furunkeln und sogar Opiumvergiftungen.

Wohl auch aufgrund ihrer weiten Verbreitung ist die Verwendung von tropanalkaloidreichen Nachtschattengewächsen auf dem amerikanischen Kontinent besonders gut dokumentiert: Der Mexikanische Stechapfel (*Datura inoxia* MILL.) ist in Nord- und Mittelamerika endemisch. Diese als Toloache bezeichnete Pflanze findet schon in den medizinischen Schriften der Azteken in Form einer schwachen Infusion gegen Fieber oder Gicht ihren Niederschlag. Große kulturelle Bedeutung hat sie bei den Navajo, die Apachen desinfizieren Wunden mit dem aus den Blüten und Wurzeln frisch gepressten Saft, und die Zuñi-Priester (südwestliches Nordamerika) nutzen die schmerzbetäubenden Eigenschaften bei kleineren Operationen, beim Schienen von Knochenbrüchen und bei der Säuberung eiternder Wunden. Eine aus den zermahlenden Samen und Blättern mit Schmalz hergestellte Salbe wird in Mexico von den *brujas* („Hexen“) zum aphrodisischen Liebeszauber verwendet und von den Yaquiindianern zur Erzeugung von Visionen auf den Bauch gerieben. In Peru wurden unter Zuhilfenahme von *Datura inoxia* sogar Schädel-trepanationen vorgenommen. *Datura ceratocaula* ORT., eine mexikanische Wasserpflanze, galt bei den Azteken als Schwester der Ololiuqui-Winde (*Turbina corymbosa* (L.) RAF.; s. 1.3) und wird bis heute als heilige Medizin angesehen. Bei den Mapuche im südlichen Andenraum hat sich der Gebrauch von *Datura ferox* L. (bzw. *Datura stramonium* L. ssp. *ferox* (L.) BARCLAY) erhalten: Die frischen Blüten finden Verwendung als Lokalanästhetikum bei schmerzenden Stellen und bei kleinen chirurgischen Eingriffen; zur Induktion schamanischer Trancen wird aus ihnen ein Tee gebraut.

Die in Südamerika beheimateten Engelstropfen (*Brugmansia* sp.) – alle acht Spezies sind baumartig und sog. Kultigene, d. h. ihre Wildtypen sind bis heute nicht bekannt (Griffin und Lin, 2000) – wurden schon in präkolumbianischer Zeit von den südamerikanischen Indianern kultiviert. Die Blätter von *Brugmansia arborea* (L.) LAGERH. werden in Peru zur Behandlung von Tumoren verwendet. Die Mashco in Peru binden frische Blätter von *Brugmansia X insignis* (BARB.RODR.) LOCKWOOD ex R.E.SCHULT. auf entzündete oder schmerzende Stellen; ein Aufguß der Blätter dient als Beruhigungsmittel. Mit *Brugmansia X candida* PERS. werden in Kolumbien Muskelkrämpfe, Erysipel, Entzündungen und Erkältungen behandelt. Die Eingeborenen von Peru und Kolumbien brauen aus dem Roten Stechapfel (*Brugmansia sanguinea* D.DON.) den vielzitierten Tonga-Trank, dessen unglaublicher Effekt erstmals 1846 von dem schweizer Naturforscher Johann J. von Tschudi

beschrieben wurde. Die durch ihn ausgelösten Visionen werden als Gespräche mit den Göttern oder Geistern der Ahnen erlebt. Die Blätter von *Brugmansia sanguinea* sind auch Bestandteil südamerikanischer Asthmazigaretten; sie werden außerdem von den Callawaya-Wanderheilern der Anden äußerlich bei Rheuma und Arthritis angewandt.

Wegen ihres Gehalts an Tropanalkaloiden werden auch bestimmte ursprünglich nur in Südamerika endemische *Erythroxylum*-Arten, insbesondere *Erythroxylum coca* LAM. (Erythroxylaceae), genutzt. Werden die getrockneten Blätter pulverisiert und geschnupft, steigert das über die Nasenschleimhaut aufgenommene Cocain das Wohlbefinden bis hin zu einer leichten Euphorie; pharmazeutisch interessant ist allerdings eher der ausgeprägte lokalanästhetische Effekt. Rituell wurden die Blätter des *Coca*-Strauches beispielsweise bei den Inka eingesetzt, die seine kräftigende Wirkung mit dessen göttlicher Abkunft erklärten (Rätsch, 1988). Von den Anden-Völkern werden noch heute *Coca*-Blätter als Tonikum genutzt, um in den großen Höhenlagen leistungsfähiger zu sein und die Strapazen des Weges besser zu ertragen; sie sondern beim üblichen Kauen mit alkalischen Substanzen wie Kalk, Pflanzenasche oder Backpulver überwiegend das eher amphetaminähnlich wirkende Ecgonin ab.

1.2 Pharmakologische Bedeutung der Tropanalkaloide

Der ab 1600 zu verzeichnende weitgehende Verzicht auf tropanalkaloidhaltige Arzneidrogen in Europa hielt indes an bis ins 19. Jahrhundert. Dann aber setzte die neu entdeckte Möglichkeit der Gewinnung einer Pflanzenbase als Träger der Wirksamkeit eine systematische Durchforschung der Medizinalpflanzen, darunter auch *Atropa belladonna* L. und *Hyoscyamus niger* L., in Gang. Wie aufwändig ein derartiges Isolierungsunterfangen des Wirkprinzips zu Anfang des 19. Jhd. noch war, läßt sich allein daran ablesen, daß es der jahrelangen Arbeit mehrerer kooperierender Forscher bedurfte – erste dezidierte Versuche zur Gewinnung der Pflanzenbase „Atropium“ aus den Blättern der Belladonna unternahm Brandes 1820; der Apotheker Mein vereinfachte die Extraktionsmethode erheblich; Geiger und Hesse gelang dann die Reindarstellung der „Alkalien“ Atropin und Hyoscyamin – bis Geiger deren Erkenntnisse in einem (auch in den „Annalen der Pharmacie“ publizierten) Vortrag anlässlich seines Geburtstages zusammenfassen konnte (Geiger, 1833). Die Verifizierung des isolierten Produktes erfolgte anhand seines mydriatischen Effekts – eine frühe Form des „bio assay“. Diese Entwicklung ermöglichte neben der exakteren Wirksamkeitsbestimmung pflanzlicher Drogen endlich auch eine bessere Handhabung der geringen therapeutischen Breite der Tropanalkaloide durch den Einsatz der Reinsubstanzen. Nun, da man das betäubende Prinzip der Solanaceen-Drogen besser einschätzen konnte, erlebte selbst der Schlafschwamm (s. 1.1) in der Mitte des 19. Jhd. eine kurze Renaissance; diese Applikationsform wurde allerdings durch die Entdeckung und Etablierung der Inhalationsnarkose in den folgenden Jahrzehnten überholt (Schmitz und Kuhlen, 1989). In der

Pharmacopœa Germanica von 1872, dem ersten gesamtdeutschen Arzneibuch (DAB 1), sind denn auch außer den reinen Alkaloiden Atropinum und Atropinum sulfuricum stolze 16 Drogen und Drogenzubereitungen aus Nachtschattengewächsen zu verzeichnen:

Emplastrum Belladonnae, Emplastrum Hyoscyami, Extractum Belladonnae, Extractum Hyoscyami, Extractum Stramonii, Folia Belladonnae, Folia Hyoscyami, Folia Stramonii, Oleum Hyoscyami infusum, Radix Belladonnae, Semen Hyoscyami, Semen Stramonii, Tinctura Belladonnae, Tinctura Stramonii, Unguentum Belladonnae und Unguentum Hyoscyami.

Im DAB 6 (1926) finden sich sogar die Asthmazigaretten, die in Kapitel 1.1 als Anwendungsart von *Brugmansia sanguinea* aufgeführt wurden, in Form von „Folia Stramonii nitrata – Asthmakraut“ wieder. Bei den einheimischen tropanalkaloidreichen Solanaceae und den daraus gewonnenen Drogen handelt es sich also durchaus um geschätzte Arzneipflanzen im Sinne von potenten Pharmaka. Noch heute sind *Atropa belladonna* L. und *Datura stramonium* L. wegen ihres Gehalts an Tropanalkaloiden offizinell; auch in der aktuellen Fassung der Pharmacopœa Europaea sind diverse pflanzliche Arzneidrogen aufgeführt.

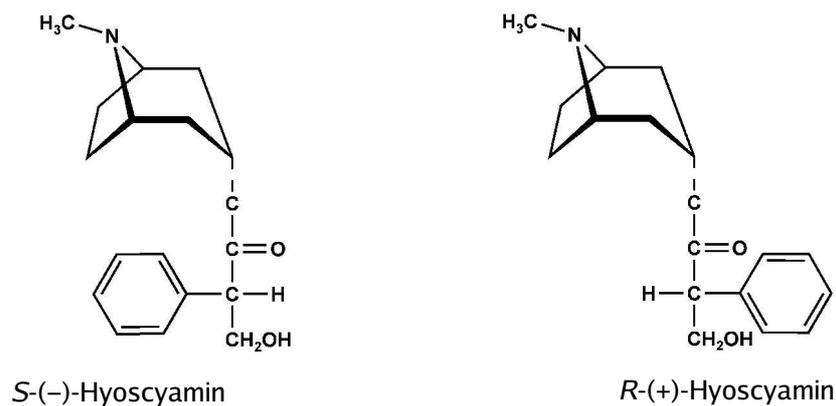
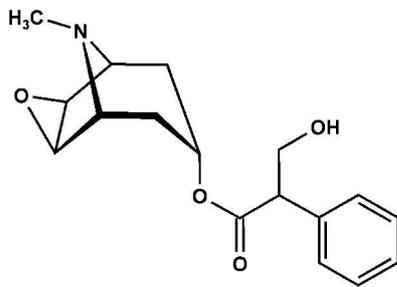


Abb. 3: Atropin als S-(-)-Hyoscyamin und R-(+)-Hyoscyamin

Allerdings gewinnt mit der aufkommenden Einzelstoff-Therapie in der Medizin um 1900 mehr und mehr die auf chemischem Weg gewonnene Reinsubstanz an Bedeutung. Die Nachtschattendrogen finden vor allem in Form von Atropin wieder Eingang in die medizinische Therapie. Zu beachten gilt, daß es sich beim Atropin um ein durch Trocknung und Lagerung der Droge gebildetes Razemat des natürlich vorkommenden S-(-)-Hyoscyamins mit dem R-(+)-Hyoscyamin handelt, das durch Konfigurationsänderung am der Carbonylgruppe benachbarten Kohlenstoff der optisch aktiven Tropasäure entsteht. Für die pharmakologische Wirkung ist in erster Linie das S-(-)-Hyoscyamin als Eutomer verantwortlich, wohingegen das Distomer R-(+)-Hyoscyamin einen vergleichsweise geringen Effekt zeigt. Die Wirkstärke von Atropin gegenüber reinem S-(-)-Hyoscyamin ist daher nur etwa halb so groß; trotzdem wird aufgrund der höheren Stabilität und der eher problematischen Enantiomerentrennung überwiegend das Razemat eingesetzt. Seinem langanhaltenden, stark dilatierenden Einfluß auf die Pupille verdankt das Atropin den großen Anklang als lokal appliziertes Hilfsmittel in der Augenheilkunde. Den als Mundtrockenheit beschriebenen hemmenden Effekt auf die Schleimsekretion der Atemwege machte man sich im

Zuge der verstärkten Entwicklung der invasiven Medizin bei der Narkose zunutze, insbesondere zur Eindämmung der durch Ether induzierten extremen Salivation, damit der eigene Speichel für den Patienten nicht zur Erstickungsgefahr wurde. Zu diesem Zweck wurde später auch das erst 1880 entdeckte Scopolamin, das eine Etherbrücke zwischen C-6 und C-7 des Tropankörpers aufweist, herangezogen. Da der anfängliche Erregungs-



zustand des Atropins entfällt und beim Scopolamin sofort die lähmende Wirkung auf das Nervensystem eintritt, konnte nun in Kombination mit dem Opiumalkaloid Morphin eine vom Exzitationsstadium freie Narkose erreicht werden (nach Woker, 1953a). Beide Tropane boten zudem den Vorteil der Ausschaltung bradykarder Herzrhythmusstörungen durch Blockade des Vagus, was zu einer Steigerung der Herzfrequenz führt.

Abb. 4: Scopolamin

Besagter Vagusnerv, der vom unteren Hirnstamm ausgehend verschiedene Organe, darunter Speicheldrüse, Herz, Lunge und Darm, innerviert, war 1921 der Ansatzpunkt des Experiments von Otto Loewi, das den ersten überzeugenden Beweis für eine chemische Grundlage der Erregungsübertragung zwischen Neuronen lieferte. Hierzu durchspülte Loewi ein Froschherz mit intakter Versorgung durch den Vagusnerven, der hauptverantwortlich für die Regulation der Herzfunktion ist, mit einer Salzlösung, die der extrazellulären Flüssigkeit des Körpers entsprach. Nun reizte er den Vagus elektrisch, bis das Froschherz nicht mehr schlug, und leitete dann die umgebende Salzlösung einem zweiten isolierten Froschherzen zu, das daraufhin ebenfalls aufhörte zu schlagen. Den Stoff, der bei Vagus-Reizung ausgeschüttet wird und als kardiale Hemmsubstanz fungiert, identifizierte Loewi als Acetylcholin, den ersten Neurotransmitter überhaupt. (Snyder, 1994) Schon bald wurde Atropin durch die Aufhebung der herzs Schlagverlangsamenden Wirkung am Vagus als dessen Antagonist erkannt und fand als wichtige Modellsubstanz Eingang in die pharmakologische Forschung.

Die genaue Kenntnis der Molekülstruktur ebnete nun auch einer gesteuerten chemischen Modifikation der Naturstoffe den Weg. Hierdurch konnte die Wirkung spezifiziert werden, was eine sehr viel gezieltere Therapie ermöglichte. Herausragend im Bereich der Tropanalkaloide war die Erkenntnis, daß die zentralen Wirkungen, insbesondere die Halluzinationen, durch Quarternisierung am Stickstoff weitestgehend ausgeschaltet werden, da die resultierenden geladenen Substanzen die Blut-Hirn-Schranke nicht überschreiten können.

Einen guten Ausgangspunkt für einen Überblick über die verschiedenen Einsatzgebiete synthetisch abgewandelter Tropanalkaloide liefert die Aufstellung von Lindenmann aus dem Jahr 1961:

Neben Atropin zeigt auch Homatropin, der Mandelsäureester des 3 α -Tropanols, die zu einer Dilatation der Pupille führende lähmende Wirkung auf den Ziliarmuskel der Iris. In Form ihrer quartären Ammoniumsalze Atropinsulfat und Homatropin-hydrobromid sind beide nach wie vor wichtige Mydriatika in der Ophthalmologie bei der Diagnostik des

Augenhintergrundes sowie bei Iridozyklitis und Uveitis.

Als Gastropin[®] ist eine Verbindung aufgeführt, die durch Einführung einer Biphenylmethylgruppe am Stickstoff gebildet wird und als Ganglienblocker fungiert. Unter dem selben Präparatnamen ist heute in Ungarn ein Pirenzepin-haltiges Arzneimittel erhältlich. Eher fraglich erscheint die Zusammensetzung des als TCM-Präparat angebotenen Pulvers „Gastropin with Belladonna“ asiatischer Herkunft.

Den wichtigsten Bereich stellen bei Lindenmann die anticholinergen Spasmolytika dar, bei denen es sich noch ausschließlich um quaternäre Derivate der Naturstoffe Hyoscyamin/Atropin und Scopolamin handelt. Als Arzneimittel verwendet wurden das N-methylierte Atropin als Nitrat (Eumydrin[®]) und als stärker wirksames Bromid (Pamin[®]) sowie dessen N-octyliertes Analogon (Proscalun[®]). Unter dem Namen Buscopan[®] findet sich das N-Butylscopolaminiumbromid, das bis heute als Standardpräparat bei Spasmen des Unterbauchs wie Reizdarmsyndrom, Dysmenorrhoe oder Gallen- und Nierensteinkoliken eingesetzt wird. Als neurotropes Spasmolytikum wurde das Totalsynthetikum Tropenzilium[®] genutzt, ebenfalls eine quaternisierte Verbindung, wobei allerdings der Tropankörper in Position 6 methoxyliert ist und Benzilsäure als Acylkomponente fungiert. Im Lauf der Zeit wurde dieser Benzilsäureester am Tropan-Stickstoff modifiziert und ist heute als Trospiumchlorid (Spasmex[®]) im Handel. Der antispasmodiale Effekt der Tropane beruht auf ihrer erschlaffenden Wirkung auf die glatte Muskulatur, wobei sie als kompetitive Antagonisten an die acetylcholinergen Muscarin-Rezeptoren des Parasymphathikus andocken.

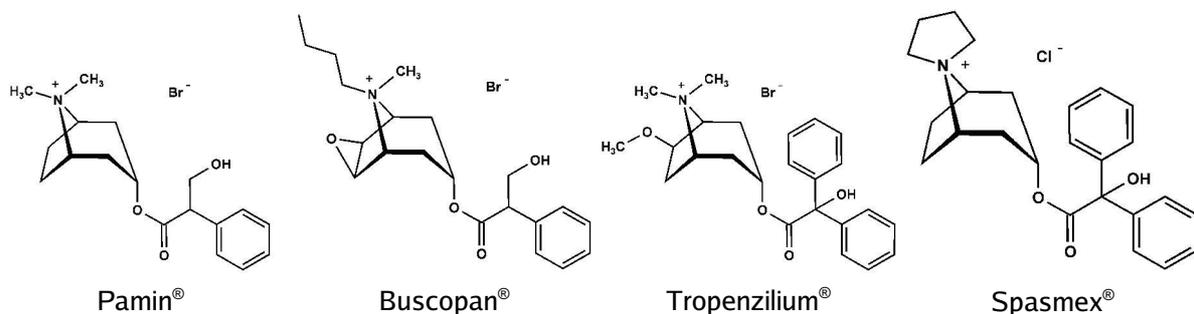


Abb. 5: Wirkstoffe von Pamin[®], Buscopan[®], Tropenzilium[®], Spasmex[®]

Atropin selbst ist zudem ein unentbehrliches Antidot bei Vergiftungen mit hochwirksamen Kontaktinsektiziden wie Paraoxon (E 600) oder Parathion (E 605) und Nervenkampfgiften wie Tabun, Sarin oder Soman. Als Acetylcholinesterasehemmer führen diese Phosphor- und Thionphosphorsäureester zu einer Anreicherung von Acetylcholin, was aufgrund der acetylcholinergen Erregungsübertragung auf das Zwerchfell eine Atemlähmung hervorrufen kann. Abhilfe schafft intravenös injizierte Atropinsulfat-Lösung.

Nach Aripova und Yusunov (1989) wurde Scopolamin zum Zeitpunkt ihrer Publikation in Rußland aus den Samen von *Datura innoxia* gewonnen und als sein Hydrobromid in der Psychiatrie, Chirurgie, Neurologie und Augenheilkunde eingesetzt; als Bestandteil von Aeron-Tabletten diente es als Antiemetikum und Tranquilizer bei Reisekrankheit. Auch in der ehemaligen DDR wurde die durch Scopolamin ausgelöste narkotische Lähmung noch bis in die 1980er in der Psychiatrie zur Bekämpfung von Erregungszuständen bei Geistes-

kranken im Sinne einer „chemischen Zwangsjacke“ verwendet (nach Hunnius, 1975, zit. in: Rätsch, 1999). Pharmazeutisch bedeutender ist jedoch die spezifische Hemmwirkung des Scopolamins auf das Brechzentrum. Sie wird zur Bekämpfung von Kinetosen (See- oder Reisekrankheit) in Form von hinter dem Ohr zu applizierenden Membranpflastern (z. B. Scopoderm TTS®) genutzt.

Eher neuer ist der therapeutische Ansatz an einem anderen Vagus-innervierten Organ: der spasmolytische Effekt auf die Bronchialmuskulatur. Einige Tropane wirken als Bronchodilatoren bei obstruktiven Lungenerkrankungen wie Asthma bronchiale. Die durch Quarternisierung von Scopolamin bzw. Atropin erhaltenen Oxitropiumbromid

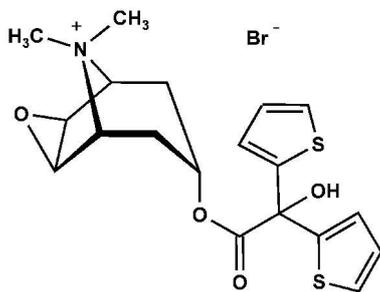


Abb. 6: Tiotropiumbromid

(Ventilat®) bzw. das sehr viel stärker wirksame Ipratropiumbromid (Atrovent®) werden bei chronischer Bronchitis lokal als Dosieraerosol angewendet. In oraler Applikationsform (Itrop®) wird Ipratropiumbromid außerdem bei bradykarden Herzrhythmusstörungen eingesetzt. Jüngerer Datums ist das Bronchospasmolytikum Tiotropiumbromid (Spiriva®), das – ebenfalls als Dosieraerosol – zur Behandlung von chronisch obstruktiven Lungenerkrankungen (COPD) dient.

Das Dibenzheptropin oder Deptropin, ein tricyclischer 3-Tropanoether, wird vor allem in Thailand als Citrat (Brontina®) im Sinne eines H₁-Antihistaminikum mit anticholinergen Eigenschaften angeboten. Weniger anticholinerg, dafür umso stärker antihistaminerg und serotoninerg wirkt das später entwickelte Azaanalogon Tropirin (Lavy *et al.*, 1973).

In Rußland finden zur Behandlung von Asthma bronchiale nach wie vor *Datura*-Blätter als Bestandteil von Pudern (Astmatol) und Zigaretten (Astmatin) arzneiliche Verwendung (Aripova und Yusunov, 1989).

Bei einer ganz anderen Indikation wird das bei Lindenmann unter dem Namen Cogentin® aufgelistete Methansulfonat des Benztropins eingesetzt. Als tertiäres Amin kann es ins Gehirn vordringen und dort die Symptome des Parkinson-Syndroms eindämmen. Als potentieller Arzneistoff zur Behandlung von Parkinson galt damals auch das für Solanaceae sowie Convolvulaceae als Naturstoff beschriebene Tigloidin, also das 3β-Tigloyloxytropan, in Form seines Hydrobromids (z. B. Sanghvi *et al.*, 1968).

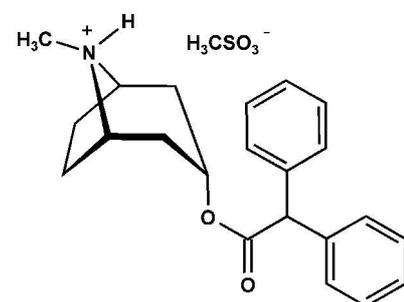


Abb. 7: Benztropin-mesilat

Cogentin®, also das Benztropin-mesilat, wurde in den letzten Jahren wieder vermehrt zur Therapie von Morbus Parkinson herangezogen. Im asiatischen und russischen Raum wird vor allem das Hydrobromid als Congentinol® vertrieben.

Das mit einem dem des Deptropin ähnelnden schwefelhaltigen Tricyclus substituierte Tropatépine wird ebenso bei Parkinson sowie bei Dyskinesien, insbesondere der bei Neuroleptika als Nebenwirkung auftretenden motorischen Bewegungsstörungen, ange-

wandt.

Auf diesem Anwendungsgebiet überschneidet sich die arzneiliche Wirkung der Tropanalkaloide der Atropingruppe der Solanaceae und auch Convolvulaceae (beide Solanales) mit der für einige Erythroxylaceae (Malpighiales) spezifischen Tropane der Cocaingruppe. Abweichend von den 3-Tropanolestern der Solanales tragen die Coca-Alkaloide an C-2 zusätzlich eine Carboxylgruppe; der Substituent an C-3 ist in der Regel β -ständig. Ihre im vorigen Kapitel beschriebene euphorisierende Wirkung beruht auf der Fähigkeit, die Wiederaufnahme von Dopamin aus dem synaptischen Spalt zu unterbinden. Diese Eigenschaft als selektive Dopamin-Reuptake-Hemmer macht man sich in der Nuklearmedizin zunutze, beispielsweise bei der Kartographierung der Dopamin-Rezeptoren im Gehirn. Durch die Einführung von natürlich strahlenden Isotopen werden die Substanzen radioaktiv markiert; die γ -Strahlung der betroffenen Areale kann dann mittels bildgebender Verfahren sichtbar gemacht werden.

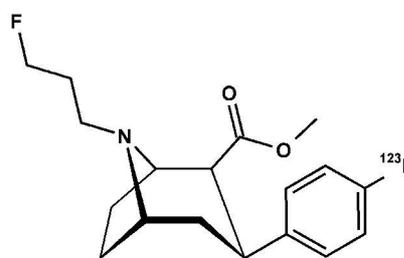


Abb. 8: Ioflupane

Bei den eingesetzten Substanzen handelt es sich um Abwandlungsprodukte des Methylecgonidins, die die aktiven Dopamin-Transporter (DaT) blockieren. Eines der stärksten dieser phenyltropanbasierenden Psychostimulantien ist das Iometopane (RTI-55). Von ihm leitet sich das mit ^{123}I markierte Ioflupane (DaTSCAN[®]) ab, ein wichtiges Radiopharmazeutikum zur Früherkennung von Parkinson. Dem selben Zweck dient das ^{125}I -haltige Altropane.

Auch Technetium-Komplexe wie das Technepine, bei dem $^{99}\text{Tc}^{3+}$ als radioaktiver Marker fungiert, finden in der Nuklearmedizin Verwendung.

Cocain selbst besaß außerdem als Lokalanästhetikum mit lang anhaltender Wirkung große Bedeutung, vor allem auch wegen seines zusätzlichen vasokonstriktischen Effekts. 1884 führte es der Ophthalmologe Karl Koller, ein Freund Sigmund Freuds, erfolgreich in die Augen Chirurgie ein, und fortan wurde es bei operativen Eingriffen im Augen-, Nasen-, Ohren- und Halsbereich klinisch genutzt. Wegen seiner starken Suchtwirkung wurde in den 1930er Jahren eine Reihe gut wirksamer Synthetika eingeführt. Bei diesen Ersatzstoffen des Cocains handelt es sich beispielsweise um Derivate der *p*-Aminobenzoesäure (Procain, Tetracain). In der Zahnheilkunde werden wegen ihrer geringen Latenzzeit überwiegend Lidocain und dessen Analogpräparate, die sich vom 2-Amino-acetanilid ableiten, eingesetzt.

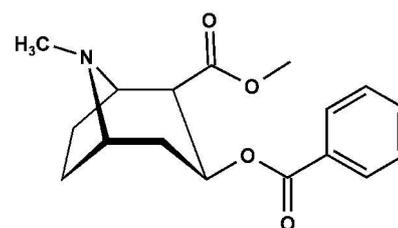


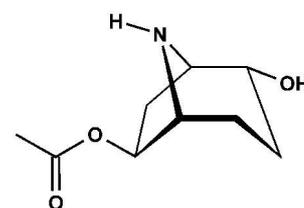
Abb. 9: Cocain

Bezüglich der lokalanästhetischen Wirkung sind die Übergänge zwischen den Mitgliedern der Atropingruppe und der Cocaingruppe ebenso fließend, denn auch die von Orechhoff und Konowalowa (1933, 1934, 1935) aus *Convolvulus pseudocantabricus* SCHRENK isolierten 3-Tropanolester Convolamin und sein Nor-Derivat Convolvin zeigen stark ausgeprägte lokalanästhesierende Eigenschaften. Das im russischen Raum als Cocainersatz bei Augen-,

Ohren- und Nasenoperationen verwendete Convocain® stellt ebenfalls einen 3-Tropanol-ester dar und weist im Unterschied zu den meisten modernen synthetischen Lokalanästhetika noch ein Tropan-Gerüst auf (Lindenmann, 1961). Hier zeichnet sich auch das Hauptproblem bei der Auffindung in der zeitgenössischen Pharmakotherapie eingesetzter, von den natürlichen Tropanalkaloiden abgeleiteter Synthetika ab: Neuere Therapeutika enthalten oft gar keinen Tropan-Grundkörper mehr, was das Erkennen der zugrundeliegenden Leitstruktur deutlich erschwert.

Erst in den letzten Jahrzehnten wurden neuartige Tropanalkaloide natürlichen Ursprungs entdeckt, die sich als geeignete Leitstrukturen für potente Pharmaka erwiesen. Quelle der Muttersubstanzen beider neuer Verbindungstypen sind ausgerechnet die Windengewächse (Convolvulaceae) gewesen, die daher – nach der Isolierung von Ergolinen durch Hofmann (s. 1.3) – wiederholt das pharmazeutische Interesse weckten.

In Asien wird das aus den Sprossachsen der chinesischen Arzneipflanze Bao Gong Teng (*Erycibe obtusifolia* BENTH.) isolierte Bao Gong Teng A (Yao *et al.*, 1981) aufgrund seiner stark miotischen Wirkung als Fertigarzneimittel vertrieben. Bei seiner Anwendung in Form von Augentropfen zeigt Bao Gong Teng A, also das 2 β -Hydroxy-6 β -acetoxyntropan, eine stärkere Wirksamkeit und dabei weniger unerwünschte Nebenwirkungen als Pilocarpin und Physostigmin bei der Behandlung von Glaukomen. Mittlerweile ist seine synthetische Herstellung möglich, was aufgrund der begrenzten natürlichen Ressourcen notwendig wurde (Jung *et al.*, 1992). Das ebenfalls enthaltene Bao Gong Teng C (2 β ,6 β -Dihydroxyntropan) erwies sich als wirkungslos; durch Diacetylierung konnte allerdings ein ebenso starkes Miotikum erhalten werden (Chen *et al.*, 1986; Lu *et al.*, 1986).

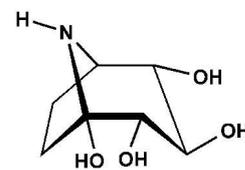


Bao Gong Teng A

Abb. 10: *Erycibe obtusifolia* BENTH. und das daraus gewonnene Boa Gong Teng A

Unter dem Namen Calystegine – in Anlehnung an die Zaunwinde *Calystegia sepium* (L.) BR., aus der sie zuerst isoliert wurden – wird eine Reihe von polyhydroxylierten Nortropanen zusammengefaßt. Bisher konzentrieren sich die Nachweise über ihr Vorkommen auf die beiden Schwesterfamilien Convolvulaceae und Solanaceae. Diese drei bis fünf Hydroxygruppen tragenden Nortropane binden spezifisch an die aktiven Zentren Glyko-

sidase-hemmender Enzyme. Hierbei erwiesen sich insbesondere die tetrahydroxylierten Calystegine der B-Reihe, allen voran Calystegin B₂, als wirkungsvolle β -Glucosidase- und α -Galactosidase-Inhibitoren (Molyneux *et al.*, 1993; Molyneux *et al.*, 1995). Das N-Methylcalystegin B₂ inhibierte die α -Galactosidase sogar noch stärker als sein Nor-Analogon (Asano *et al.*, 1997). Als effektiver Trehalase-Hemmstoff trat Calystegin B₄ hervor (Asano *et al.*, 1996). Die Calystegine stellen somit potentielle Wirkstoffe gegen Viruserkrankungen, Krebs oder Diabetes dar (Schimming *et al.*, 2005).



Calystegin B₂

Abb. 11: *Calystegia sepium* L. und das darin enthaltene Calystegin B₂

Im Hinblick auf ihre pharmakologische Bedeutung können die Tropanalkaloide also als eine der wichtigsten Inhaltsstoffgruppen der Convolvulaceae angesehen werden. Dies kann außerdem – wie die im Hauptteil beschriebenen Ergebnisse des Screenings und der Isolierungen zeigen – hinsichtlich ihrer intrafamiliären Verbreitung behauptet werden. Daneben enthalten die Windengewächse auch andere Stoffgruppen von pharmazeutischem Interesse. Das nachfolgende Kapitel 1.3 soll nun einen Überblick über das allgemeine Sekundärstoffvorkommen bei dieser Pflanzenfamilie bieten und zugleich Bekanntes aus vorangegangenen Untersuchungen anderer Autoren über die Convolvulaceen-Spezies dieser Arbeit vorstellen.

1.3 Forschungsstand

In diesem Kapitel sollen zum einen die verschiedenen bei Convolvulaceae auftretenden Sekundärstofftypen aufgezeigt werden, zum anderen fließen in diesen Überblick bestehende Forschungsergebnisse zu den 47 in dieser Arbeit untersuchten Arten ein. Besondere Aufmerksamkeit gilt hierbei den Alkaloiden. Die bearbeiteten Spezies sind fettgedruckt; ihre korrekte botanische Bezeichnung mit Autor(en) findet sich unter 5.1.

Die ersten aus Convolvulaceae isolierten Alkaloide überhaupt waren die von Orechhoff und Konowalowa (1933, 1934 und 1935) aus den Samen von *Convolvulus pseudo-cantabricus* SCHRENK erhaltenen Substanzen Convolvin und Convolamin, die als Ester der Veratrum-säure mit 3 α -Nortropanol bzw. 3 α -Tropanol strukturaufgeklärt wurden.

Einige Jahre später beschrieb Lазур'evskii (1939) die beiden damals noch als Coca-Alkaloide bezeichneten Stoffe Hygrin und Cuscohygrin nach Isolierung aus *Convolvulus hamadae* (VED.) PETROV. Dieser Befund wurde von Evans und Somanabandhu (1974) insofern bestätigt, als sie Cuscohygrin in den Wurzeln diverser *Calystegia*- und einer *Convolvulus*-Spezies nachwiesen.

Nachhaltig ins Licht des wissenschaftlichen Interesses gerückt wurden die Convolvulaceae im Herbst des Jahres 1960, als nämlich Dr. Albert Hofmann auf dem Naturstoffkongress der Internationalen Union für reine und angewandte Chemie (IUPAC) in Sydney Mutterkornalkaloide als wirksames Prinzip von Ololiuqui – was die aztekische Bezeichnung für die rituell eingesetzten Samen der Winde *Turbina corymbosa* (L.) RAF. ist – vorstellte.

De OLILIVH QVI, seu planta orbicularium foliorum. Cap. XIV



OLILIVH QVI, quam Coaxihuil, seu herbam Serpentis alij vocant, volubilis herba est, folia viridia ferens, tenuia, cordis figura. caules teretes, virides, tenuetq; flores albos, & longiusculos semen rotundum simile Coriandro, vnde nomen. radices fibris similes. calida quarto ordine planta est luem Gallicam curat dolores è frigore ortos fedat flatum, ac præter naturam tumores discutit pulvis refina mixtus pellit frigus luxatis aut fractis ossibus, & lumbis fœminarum laxis, aucto robore mirum auxiliatur in modum. Semen etiam est vsus in medicina, quod tritum, ac deoratum, illitumq; capiti, & fronti, cum lacte & Chilli, fertur morbis oculorum mederi. deoratum verò, venerem excitat. Acri est sapore, & temperie, veluti & planta eius, impensè calida. Indorum sacrifici cum videri volebant versari cum Superis, ac respo-
sa accipere ab eis, ea vescebatur planta, vt desipere, milleq; phantasmata, & demonū obuersatium effigies circumspèctarent. qua in re Solano maniaco Diofcoridis similis fortaffe alicui videri possit.

fipere, milleq; phantasmata, & demonū obuersatium effigies circumspèctarent. qua in re Solano maniaco Diofcoridis similis fortaffe alicui videri possit.

Abb. 12: Ololiuqui (aus Hofmann, 1961)

Ololiuqui wird in gleicher Weise wie der Meskalinkaktus Peyotl und die Teonanacatl-Pilze von den Azteken und benachbarten Ethnien schon seit präkolumbianischer Zeit in religiösen Zeremonien und magischen Heilpraktiken verwendet. Das Auftreten von Mutterkornalkaloiden bei höheren Pflanzen war insofern ein erstaunlicher Befund, als diese bisher nur bei niederen Pilzen, wie den auf Süßgräsern (Poaceae) parasitierenden *Claviceps*-Arten, bekannt waren. (s. dazu Hofmann, 1961) In den folgenden Jahren wurden daher in verschiedensten Arbeitskreisen Convolvulaceae dahingehend untersucht. Auch einige der hier bearbeiteten Spezies waren darunter.

Besonders reichhaltige Quellen an Ergolinen stellen *Ipomoea tricolor*, *Ipomoea muelleri* und *Ipomoea hildebrandtii* dar. In älteren Publikationen wird *Ipomoea tricolor* Cav. noch mit *Ipomoea violacea* L. bezeichnet (die vorliegende Arbeit folgt Shinnors, 1965); ihre Samen können daher mit dem von Hofmann analysierten „badoh negro“ gleichgesetzt werden. Aus dieser mexikanischen Droge konnte er Ergin (Lysergsäureamid) und Isoergin (Isolysergsäureamid), sowie Chanoclavin, Elymoclavin und Lysergol isolieren. Über positive Nachweise, sogar explizit bei den hier bearbeiteten Varietäten „**Heavenly Blue**“ und „**Flying Saucers**“, berichten Der Marderosian und Youngken (1966) und Genest und Sahasrabudhe (1966), nur über „**Heavenly Blue**“ Taber *et al.* (1963a), Der Marderosian *et al.* (1964) und Wilkinson *et al.* (1988). Eine ähnliche Vielfalt, dabei aber ein deutlich geringerer Gehalt an Ergolinen wird für *Ipomoea muelleri* beschrieben (Der Marderosian *et al.*, 1974). Hier erfolgte der Nachweis der 20 bekannten und 19 unbekanntes Mutterkornalkaloide dünnschichtchromatographisch; vorherrschend waren Ergin, Isoergin und

Chanoclavin-I. Dies wird von Gardiner *et al.* (1965) und von Amor-Prats und Harborne (1993a) bestätigt. Aus den Samen von *Ipomoea hildebrandtii* VATKE konnten Stauffacher *et al.* (1969) neben Festuclavin das Cycloclavin isolieren; dieses pentacyclische Clavin ist das einzige Ergolin-Alkaloid, das bisher nicht als Inhaltsstoff aus *Claviceps*-Sippen oder verwandten Fungi bekannt war (s. a. Hegnauer, 1989).

Dünnschichtchromatographisch durch Einsatz von van Urk-Reagenz als Detektionsmittel nachgewiesen wurden Ergolinalkaloide außerdem bei *Ipomoea asarifolia* (Jirawongse *et al.*, 1977) und *Ipomoea argillicola* (Amor-Prats und Harborne, 1993a). Negative Befunde sind für *Ipomoea arborescens* (Der Marderosian und Youngken, 1966), *Ipomoea coptica* (L.) ROEM. & SCHULT., *I. plebeia* und *I. shirambensis* (alle Amor-Prats und Harborne, 1993a) zu verzeichnen.

Strittig sind die Ergebnisse bei folgenden Arten: Während bei Jirawongse *et al.* (1977) und bei Amor-Prats und Harborne (1993a) der Ergolin-Nachweis für *Ipomoea pes-tigridis* negativ ausfiel, konstatierten Nair *et al.* (1987) für die Samen einen positiven Befund. In der ebenfalls untersuchten *Evolvulus nummularius* konnten keine Mutterkornalkaloide detektiert werden, dafür aber Tryptophan in nicht unerheblicher Menge. Uneinheitlich sind auch die Aussagen über *Ipomoea coccinea*; Gröger (1963a; nur Elymoclavin), Pérez-Amador *et al.* (1980) und Wilkinson *et al.* (1987) beschreiben sie als Ergolin-positiv, Beyerman *et al.* (1963), Der Marderosian *et al.* (1964), Der Marderosian und Youngken (1966), Genest und Sahasrabudhe (1966) und Amor-Prats und Harborne (1993a) hingegen als Ergolin-negativ. Ebenso sind bei *Ipomoea hederacea* unterschiedliche Resultate zu verzeichnen. Während der DC-Nachweis bei Wilkinson *et al.* (1986) positiv ausfiel, waren bei Beyerman *et al.* (1963), Gröger (1963a) und Der Marderosian *et al.* (1964) keine Ergoline nachweisbar.

Im Zuge dieser durch Hofmann angestoßenen intensivierten Analysen wurden von Gourley *et al.* (1969) in den Samen von *Ipomoea alba* L. Ipalbin und Ipalbidin gefunden, die als einfache Hexahydroindolizidine einer bis dato noch nicht bei Convolvulaceae bekannten Inhaltsstoffgruppe angehören. Kurze Zeit später kam das aus den Samen von *Ipomoea muricata* JACQ. gewonnene Ipomin hinzu (Dawidar *et al.*, 1977), dessen korrigierte Strukturformel sich bei Gellert (1982) findet.

Unklar ist die Identität des von Varadan *et al.* (1958; zit. bei Hegnauer, 1964) aus *Evolvulus alsinoides* isolierten Evolvins, dessen Hydrochlorid laut Krishnamurthy (1959) deutliche sympathomimetische Eigenschaften aufweist. Ob es sich hier um das wirksame Agens des Dekokts aus Blättern und Blüten handelt, welches in ländlichen Gegenden Indiens bei Dysenterie – einer mikrobiell hervorgerufenen Durchfallerkrankung – genutzt wird (Siddiqui und Husain, 1991), oder ob die Wirkung eventuell auf die von Baveja und Singla (1969) neben Betain gefundene unbekannte, wasserlösliche Base zurückzuführen ist, bleibt fraglich.

Durch die umfangreichen phytochemischen Untersuchungen des Arbeitskreises um Prof. Dr. Eckart Eich (Berlin) konnten dem Alkaloidspektrum der Convolvulaceae sogar noch

weitere Strukturtypen hinzugefügt werden:

Als 3-substituierte Indole van Urk-positiv wurden die Ipobscurine in den Samen von *Ipomoea obscura* (L.) KER-GAWL. aufgespürt. Sie stellen Säureamide des Serotonin mit p-Cumarsäure (Ipobscurin A; Eich *et al.*, 1986) dar, die an der 5-Hydroxy-Gruppe des Serotonin mit einem Phenylpropan verethert sind (Ipobscurin B; Eich *et al.*, 1989). Bei den Ipobscurinen C und D ist das Phenylpropan mit der 4'-Hydroxy-Gruppe der p-Cumarsäure zu einer makrolactamartigen Ringstruktur verknüpft (Weigl, 1992; Jenett-Siems *et al.*, 2003). Bei den Ipobscurinen B, C und D handelt es sich um neue Naturstoffe; auch sonst sind Serotonin-Konjugate unter den – trotz ihrer nicht-basischen Eigenschaften zu den Alkaloiden zählenden – Hydroxyzimtsäureamiden ausgesprochen selten. Eine identische Säureamid-Partialstruktur weisen die zu den Alkamiden zählenden aliphatischen Pyrrolidinamide aus oberirdischen Teilen von *Ipomoea aquatica* FORSK. (Tofern *et al.*, 1999a) und *Merremia quinquefolia* (L.) H. HALL. f. (Mann, 1997) auf.

Ebenfalls van Urk-positiv reagiert das von Kayser (1994) aus den Samen von *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. BR. ssp. *brasiliensis* (L.) VAN OOSTST. isolierte Tryptophol-11- β -gentiobiosid, das vermutlich den Auxinen zuzurechnen ist. Falsch-positiv reagierten die Bonaseminole A und B aus dem Kraut von *Bonamia semidigyna* (ROXB.) HALLIER f. var. *semidigyna*, die eigentlich Benzofurane darstellen (Henrici, 1996).

Die Liste der Alkaloidtypen kann mit der 1,2,3,4-Tetrahydro- β -carbolin-3 β -carbonsäure aus dem Kraut von *Merremia aegyptia* (L.) URB. (Henrici *et al.*, 1995) und dem Isochinolinalkaloid Iseluxin aus dem Kraut von *Iseia luxurians* (MORIC.) O'DONELL (Schimming *et al.*, 2000) fortgesetzt werden. Einige Windenarten sind auch zur Synthese von cyanogenen Glykosiden befähigt (Jenett-Siems, 1996; Hegnauer, 1964 und 1989). Für *Dichondra repens*, mit der die hier analysierte *Dichondra sericea* gern verwechselt wird, wurde von Adersen *et al.* (1988) ein negativer Nachweis geführt.

Eine zentrale Rolle kommt den aus Vertretern des *Ipomoea*-Subgenus Quamoelit, Sectio Mina, isolierten Pyrrolizidin-Alkaloiden zu (Jenett-Siems *et al.*, 1998a und 1998b), denn bis dato war das Auftreten dieser Substanzklasse bei Windengewächsen nicht bekannt. Die Convolvulaceen-spezifischen Ipanguline und Minalobine, Ester des Platynecins und des Trachelanthamidins, haben gerade auch im Hinblick auf die systematische Abgrenzung der Sectio Mina chemotaxonomische Bedeutung. Mit dem N-Formylloin konnte desweiteren ein 1-Aminopyrrolizidin aus den Wurzeln von *Argyreia mollis* (BURM. f.) CHOISY isoliert werden (Tofern *et al.*, 1999b).

Mittlerweile kann man ohne Zweifel behaupten, daß die Windengewächse aufgrund ihres bei ein und derselben Familie einzigartigen Reichtums an Alkaloiden eine besondere Stellung innerhalb der höheren Pflanzen bekleiden.

Doch auch bekannte Alkaloidtypen konnten durch die intensiven Untersuchungen des Arbeitskreises Eich um neuartige Strukturen erweitert werden:

Trotz der exzessiven Forschung in diesem Bereich konnte das Ergolin-Spektrum der Convolvulaceae noch um das aus den Samen der weißblütigen *Ipomoea asarifolia* (DESR.) ROEMER & SCHULTES gewonnene Ergobalansinin ergänzt werden (Jenett-Siems *et al.*, 1994b); es ist das 8-Epimer des Prolin-freien Ergopeptids Ergobalansin, das seinen Namen nach

Isolierung aus dem als Endophyt auf Gräsern lebenden Pilz *Balansia obtecta* (Clavicipitaceae) erhielt (Powell *et al.*, 1990).

Auf dem Gebiet der Tropanolester konnte mit den Merresectinen eine völlig neuartige Gruppe an Tropanalkaloiden beschrieben werden (Weigl *et al.*, 1992; Henrici, 1996; Jenett-Siems *et al.*, 1999; Ghomian *et al.*, 1999). Es handelt sich hierbei um Ester des 3 α -Tropanols mit Nervogensäure und davon abgeleiteten Acylkomponenten. Hierzu können auch das Consiculin aus den Wurzeln von *Convolvulus siculus* L. (Jenett-Siems, 1996; Jenett-Siems *et al.*, 1998c) und das Consabatin aus den Wurzeln von *Convolvulus sabatius* VIV. ssp. *mauritanicus* (BOISS.) MURB. (Mann, 1997) gezählt werden, die statt des Aromaten eine teilweise gesättigte Cyclohexanon-Teilstruktur aufweisen.

Mit dem nach der Stammpflanze *Convolvulus cneorum* L. benannten Concneorin (3 β -Vanilloyloxytropan) konnte zudem der erste Ester des 3 β -Tropanols aus einer Convolvulaceae gewonnen werden (Mann, 1997); bislang war nur über die Isolierung von 3 α -Tropanolestern berichtet worden.

Für die erstmalig aus der Winde *Calystegia sepium* isolierten Calystegine (Goldmann *et al.*, 1990) – polyhydroxylierte Nortropanalkaloide, die Bedeutung als Glykosidase-Inhibitoren haben – konnte gezeigt werden, daß sie charakteristische Inhaltsstoffe der Convolvulaceae sind (Schimming *et al.*, 1998). Ebenso den hydrophilen Tropanalkaloiden zuzurechnen, jedoch als Tropan α -Diolen keine Calystegine, sind die aus chinesischen *Erycibe*-Arten isolierten 2 β ,6 β - bzw. 2 β ,7 β -Dihydroxynortropane Bao Gong Teng C und Erycibellin sowie das in Position 6 acetylierte Bao Gong Teng A (Chen *et al.*, 1986; Lu *et al.*, 1986; Yao *et al.*, 1981).

Neben den Alkaloiden enthalten die Convolvulaceae eine Vielzahl anderer Sekundärstoffwechselprodukte: Sie zeigen eine ausgeprägte Neigung zur Akkumulation von Kaffeesäure-Derivaten. Nach den Erfahrungen im Arbeitskreis Eich (Trumm, 1991; Weigl, 1992; Kayser, 1994; Henrici, 1996; Jenett-Siems, 1996; eigene Vorarbeiten) können die Cumarine ebenfalls als nahezu ubiquitär angesehen werden. In erster Linie fungieren sie als Phytoalexine, also als postinfektionell von der Pflanze gebildete Abwehrstoffe gegen pathogene Organismen. Am weitesten verbreitet ist das Scopoletin, gefolgt von dessen 7-Glucosid Scopolin und Umbelliferon; sie werden vor allem in den Wurzeln angereichert.

So verwundert es nicht, daß ausgerechnet Scopoletin und Scopolin aus den Wurzelknollen von *Ipomoea mauritiana* isoliert wurden; viel interessanter erscheint die gleichzeitige Gewinnung von Taraxerol, einem pentacyclischen, einfach ungesättigten, sekundären Triterpenalkohol, und dessen Acetat, daneben β -Sitosterol (Dharmaratne *et al.*, 1997). Ebenfalls Triterpene, allerdings vom tetracyclischen Dammaran-Typ, sind die Arcapitine A-C aus den Wurzeln von *Argyrea capitata* (VAHL) CHOISY (Tofern *et al.*, 1999c).

Auch das Ipomeamaron dient bestimmten Windenarten als Phytoalexin. Diesem ähnelt strukturell das Merrekentron C, eines der variabel verknüpften Furanosesquiterpene Merrekentron A-D aus den unterirdischen Teilen von *Merremia kentrocaulos* (C. B. CLARKE) RENDLE (Jenett-Siems *et al.*, 2001).

Vorwiegend als UV-Schutz photoreaktiver Zellbestandteile dienen die Flavonoide, die bei Convolvulaceae eine weit verbreitete Inhaltsstoffgruppe darstellen. Zahlreiche Screening-

Ergebnisse und Isolierungen des Arbeitskreises bestätigen dies (Mann, 1997; Tofern, 1999); besonders erwähnenswert sind hier die sulfatierten Flavonoide (Mann *et al.*, 1999). Zu den bereits anderweitig analysierten Windengewächsen dieser Arbeit gehören *Evolvulus alsinoides*, bei der Nair *et al.* (1988a) Glykoflavone und auch Saponine detektierten; diese beiden Stoffgruppen, außerdem Proanthocyanine und Naphtochinone, fanden sie auch bei *Evolvulus nummularius*. Vom Quercetin abgeleitete Flavonoide, Saponine in Spuren und einfache Pflanzensäuren wiesen Nair *et al.* (1986) bei *Merremia hederacea* nach; für *Ipomoea mauritiana* beschrieben sie ebenfalls Quercetin-Abkömmlinge sowie einfache Pflanzensäuren, wie die bei eigenen Vorarbeiten erhaltenen Syringasäure und Vanillinsäure. Neben sechs weiteren fanden Nair *et al.* (1988b) diese beiden Säuren auch bei *Ipomoea pes-tigridis*; diese enthielt allerdings keine Flavonoide.

Aus pharmakologischer Sicht besonders erwähnenswert ist die Entdeckung neuartiger Lignane im Arbeitskreis Eich: Die von Trumm aus dem Kraut von *Ipomoea cairica* (L.) SWEET isolierten Lignanole vom Dibenzylbutyrolacton-Typ (–)-Arctigenin und (–)-Trachelogenin (Trumm, 1991) zeigten eine starke zytostatische Aktivität in lymphatischen L 5178y Zellen der Maus (Trumm *et al.*, 1989) und inhibierten die Replikation des HIV-1 (HTLV-III B) stark (Eich *et al.*, 1990; Schröder *et al.*, 1990). Aus den Samen von *Jacquemontia paniculata* var. *paniculata* (BURM. f.) HALLIER f. konnten zwei neue Lignanamide vom Tetrahydrofuran-Typ gewonnen werden, die das Interesse des National Cancer Institutes der USA (NCI) weckten (Henrici *et al.*, 1994). Die im Rahmen dieser Arbeit hinsichtlich ihres Alkaloidvorkommens untersuchte *Bonamia spectabilis* zeichnet sich durch einen besonderen Reichtum an Lignanolen aus. Tofern isolierte aus den vegetativen oberirdischen Teilen mit Bonaspectin A und B, Bonaspectin C 4''- β -glucosid und Bonaspectin D 4''- β -glucosid vier neuartige Sesquillignane sowie die beiden neuartigen Sesquieolignane Neobonaspectin A und B (Tofern, 1999; Tofern *et al.*, 2000). Kraft gelang die Darstellung vier weiterer neuartiger Sesquillignane vom Tetrahydrofuran-Typ (Bonaspectin E-H). Im Test gegen die in Erythrozyten kultivierten Stämme PoW und Dd2 des Malaria-Erregers *Plasmodium falciparum* zeigten Bonaspectin C, Bonaspectin D 4''- β -glucosid und insbesondere Bonaspectin C 4''- β -glucosid eine vergleichsweise hohe Aktivität bei geringer Zytotoxizität gegenüber endothelialen ECV-304 Zellen (Kraft, 2003; Kraft *et al.*, 2002).

An dieser Stelle müssen auch die pharmazeutisch relevanten Glykoretine, die für die Anwendung von Bestandteilen einiger *Ipomoea*-Arten als Laxantien ausschlaggebend sind, Erwähnung finden. Die Samen von *Ipomoea hederacea*, aber auch *I. coccinea* und *I. pes-tigridis* sind laut Hegnauer (1964) anstelle von *Ipomoea nil* (L.) ROTH als Kaladana im Handel. Arzneidroge wie diese oder das aus *Ipomoea purga* HAYNE gewonnene Jalapenharz sind heute jedoch aufgrund ihrer drastischen Wirkung obsolet.

1.4 Zielsetzung

Die hauptsächlich in den tropischen und subtropischen Regionen aller fünf Erdteile beheimateten Convolvulaceae dürfen mittlerweile als eine phytochemisch sehr interessante Familie gelten. Umso mehr besteht das Bedürfnis, die eher lückenhaften Kenntnisse über Vorkommen und Verbreitung ihrer Sekundärstoffe zu erweitern. Dies bezieht sich insbesondere auf die bisher kaum analysierten australischen und afrikanischen Windengewächse, die daher auch den Schwerpunkt dieser Arbeit bilden: von den insgesamt 47 analysierten Spezies sind 19 in Australien und elf in Afrika mit Madagaskar endemisch. Etwa die Hälfte der untersuchten Arten lag lediglich als Samenmaterial – zumeist aus Wildsammlung – vor; diese sollten dem Screening durch Anbau im institutseigenen Gewächshaus bzw. im Wirtschaftshof des Botanischen Gartens der FU Berlin zugänglich gemacht werden. Bei zehn weiteren Arten sollte das Wildmaterial durch Eigenanbau aufgestockt werden.

Ziel war eine genauere Charakterisierung der 47 Spezies hinsichtlich ihres Sekundärstoffvorkommens. Diese sollte anhand vorfraktionierter Extrakte aus den nach Pflanzenteilen aufgetrennten, getrockneten Drogen vorgenommen werden.

Die Fraktionen, die durch Ausschütteln mit organischen Lösemitteln aus saurer wässriger Lösung erhalten werden, beinhalten vor allem stickstofffreie Sekundärstoffe, wie Lignane, Cumarine, aromatische Pflanzensäuren oder Flavonoide. Die Untersuchung ihres Vorkommens mit den Methoden der DC und HPLC wurde aufgrund erfolgversprechender Ergebnisse im Bereich der Alkaloide im Lauf der Zeit zurückgestellt. Nichtsdestotrotz resultieren aus diesen Arbeiten zwei den Alkaloiden zuzurechnende Verbindungen.

Die klassischen Alkaloidfraktionen, deren Auszug mit organischen Lösemitteln aus der alkalisierten Wasserphase erfolgt, sollten nach vorangegangener DC- und HPLC-Analyse der sehr viel aussagekräftigeren GC-MS-Vermessung zugeführt werden. Die auf dem Gebiet der niedermolekularen stickstoffhaltigen Sekundärstoffe erhaltenen Resultate sollten gerade auch im Hinblick auf die Vergleichbarkeit und Reproduzierbarkeit der Messungen archiviert werden.

Anliegen des Screenings auf Alkaloide war außerdem, durch die phytochemischen Ergebnisse, die mithilfe des GC-MS-Screenings gewonnen wurden, einen Beitrag zur systematischen Einteilung der ca. 1700 weltweit vorkommenden Convolvulaceen-Arten zu leisten. Diese Arbeit unterstützt damit umfangreichere kladistische Analysen, die neben den phytochemischen Merkmalen auch die morphologisch-anatomischen Charakteristika und die Ergebnisse der Genom-Analyse erfassen und so Klarheit in die oft stark divergierenden systematischen Unterteilungen durch verschiedene Autoren in Sectiones, Triben und Untertriben bringen können.

Das wichtigste Ziel bestand jedoch in der Identifizierung noch nicht für die betreffende Spezies oder gar die Convolvulaceae allgemein beschriebener Inhaltsstoffe sowie insbesondere in der Entdeckung neuer Naturstoffe, die sich als Leitstrukturen für die Ent-

wicklung von Arzneistoffen eignen. Das Hauptaugenmerk lag hier auf den aus pharmakologischer Sicht besonders interessanten Alkaloiden. Bei Detektion entsprechender stickstoffhaltiger Verbindungen sollten diese anhand eines individuell entwickelten Fraktionierungsschemas mit den Methoden der offenen Säulenchromatographie, HPLC und DC isoliert werden. Anschließend sollten die erhaltenen Reinsubstanzen mittels verschiedener Verfahren der Massenspektrometrie (EIMS, HRMS, FABMS) und der NMR-Spektroskopie (^1H -NMR, ^{13}C -NMR, H-H-COSY, C-H-COSY, HMBC, HSQC, NOE) strukturaufgeklärt werden und gegebenenfalls durch optische Methoden oder Syntheseverfahren zusätzlich charakterisiert werden.

Aufgrund der oft stark ausgeprägten pharmakologischen Wirkung von Alkaloiden auf den menschlichen Organismus und der damit verbundenen Potenz als Arzneistoffe sollten neuartige Verbindungen außerdem an einem geeigneten Rezeptor-Modell getestet werden.

2

Hauptteil

2.1 Screening

Diese Arbeit befaßt sich neben der Isolierung und Strukturaufklärung einzelner Inhaltsstoffe mit dem Screening von etwa fünfzig Convolvulaceenspezies auf Sekundärstoffe. Ziel war deren phytochemische Charakterisierung; das Hauptaugenmerk lag hierbei auf den Alkaloiden. Die Ergebnisse des Screenings lieferten außerdem die Basis für Isolierungen. Die untersuchten Arten gehören den Gattungen *Astripomoea*, *Bonamia*, *Calystegia*, *Convolvulus*, *Dichondra*, *Evolvulus*, *Falkia*, *Ipomoea*, *Lepistemon*, *Maripa*, *Merremia*, *Operculina* und *Polymeria* an, wobei etwa die Hälfte zu den Ipomoeen zählen. Die meisten von ihnen wurden bisher gar nicht oder nur äußerst begrenzt phytochemisch beleuchtet. Andere wurden lediglich bezüglich einzelner Inhaltsstoffgruppen analysiert. Zu 29 der 47 Spezies dieser Arbeit liegt überhaupt keine Literatur vor. Von nur 14 der 47 Arten war ausreichend Wildmaterial für einen Screening-Ansatz vor-

handen; von allen anderen mußten eigens Pflanzen aus den von den Expeditionsreisen stammenden Samen herangezogen werden. Die Anzucht erfolgte im institutseigenen Gewächshaus sowie im Außenbereich des Wirtschaftshofs des Botanischen Gartens zu Berlin.

2.1.1 Extraktherstellung

Die Pflanzen wurden bei ihrer Ernte nach Pflanzenteilen getrennt, und zwar in erster Linie Kraut und Wurzeln; reife Früchte wurden abgesammelt und eventuell für den Anbau genutzt. Bei ausreichender Größe bzw. Menge wurden desweiteren Blüten, Ausläufer und lignifizierte Sproßachsen gesondert analysiert. Waren nur wenige Exemplare einer Art vorhanden und die Pflanzen sehr zierlich, so wurden sie als Ganzpflanze bearbeitet. Die Drogen wurden grob zerkleinert, um das Trocknen zu beschleunigen und damit Welkprozesse und enzymatische Abbaureaktionen möglichst zu unterbinden. Sie wurden im Trockenschrank bei etwa 40°C schonend getrocknet. Pflanzenteile aus Wildsammlung wurden vor Ort luftgetrocknet. Erst kurz vor ihrer Verarbeitung wurden die Drogen fein gemahlen.

Bei der Extraktherstellung gilt es zu beachten, daß ein Methanol-Auszug ein Vielstoffgemisch darstellt, in dem sich neben den Substanzen des Sekundärstoffwechsels (Cumarine, Flavonoide, etc., und die für diese Arbeit maßgeblichen Alkaloide) auch ubiquitäre Primärstoffwechselprodukte (Aminosäuren, Fette, Zucker, aromatische Säuren, usw.) befinden. Grundlage des Screenings war daher die Auftrennung dieses Auszugs in einzelne Extrakte gemäß der eluotropen Reihe. Durch den unten beschriebenen Trennungsgang wurden die Stoffe nicht nur nach ihrer Polarität fraktioniert, nämlich von lipophil nach hydrophil, sondern durch den Wechsel des Milieus auch in eher **sauer** und eher **basisch** reagierende. In **Abb. 13** ist der Extraktionsvorgang schematisch dargestellt.

Es handelt sich hierbei gewissermaßen um eine Konventionsmethode, die verschiedene Mitglieder des Arbeitskreises im Laufe der Jahre entwickelten und optimierten (Weigl, 1992; Jenett-Siems, 1996; Henrici, 1996; Mann, 1997):

Zunächst wurde – mit Ausnahme von Früchten und Samen – die fein gemahlene Droge mit Methanol extrahiert (Mengenangaben s. 5.4.1). Nach Entfernen des Lösemittels im Vakuum wurde der Trockenrückstand der vereinigten Methanol-Extrakte in 2%iger wäßriger Weinsäure-Lösung aufgenommen. Die Abtrennung lipophiler Bestandteile erfolgte durch Ausschütteln mit Petrolether.

Da Samen- und Fruchtdrogen besonders fetthaltig sind, wurden diese im Vorfeld mehrere Stunden mit Petrolether im Soxhlet extrahiert. Die so entfettete Droge wurde getrocknet, dann erst folgte die Extraktion mit Methanol. Wie oben wurde der Trockenrückstand in 2%iger wäßriger Weinsäure-Lösung aufgenommen. Der saure Petrolether-Extrakt entfiel, ebenso wie bei einigen Wurzeldrogen, da dort der Anteil lipophiler Verbindungen sehr gering ist.

Nun wurde die weinsaure Wasserphase erst mit Dichlormethan, dann mit Ethylacetat ausgeschüttelt. Es folgte das Alkalisieren mit wäßriger Ammoniaklösung auf pH 9-10. Die nun

basische Wasserphase wurde erneut mit Dichlormethan, in einigen Fällen mit einem Gemisch aus Dichlormethan/Isopropanol (3:1; V/V) ausgeschüttelt. Hieraus resultierte der Basen-Extrakt.

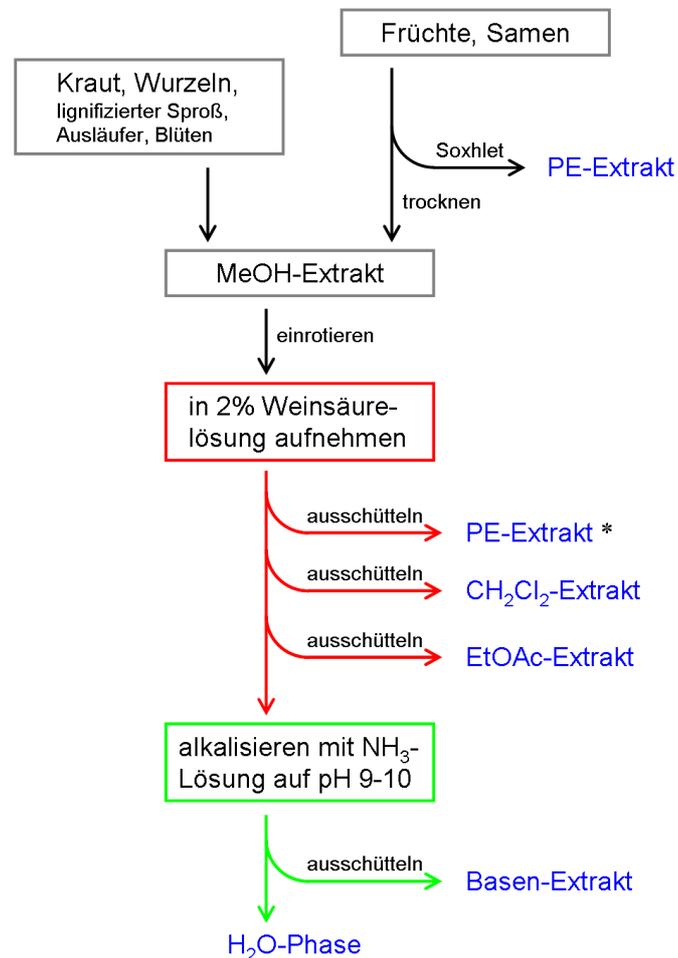


Abb. 13: Extraktionsschema für die getrockneten und gemahlene Drogen (* entfällt bei Frucht- und Samendrogen)

Die einzelnen Stoffgruppen verteilen sich wie folgt auf die Extrakte:

Der **Petrolether-Extrakt** (PE) diente lediglich der Abtrennung von:

Chlorophyll-Bestandteilen, Fetten, Hydroxyzimtsäurealkylestern

Im **Dichlormethan-Extrakt** (CH_2Cl_2) fanden sich:

Lignane, Hydroxyzimtsäureamide, einfache aromatische Säuren, Cumarin-Aglyka

Der **Ethylacetat-Extrakt** (EtOAc) bestand im wesentlichen aus:

Chlorogensäuren, Flavonoiden

Mit dem **Basen-Extrakt** erfolgte die gezielte Extraktion der:

Alkaloide

In der ammoniakalischen **Wasserphase** verblieben teilweise:

Alkaloid-N-oxide, Flavonol-Glykoside

Alle Extrakte wurden zur Analyse der enthaltenen Verbindungstypen standardmäßig hochdruckflüssigchromatographisch mit dem Gradient 70:30 H₂O^{Sre}/MeOH, nach 20 min 30:70, nach 30 min 1:99 aufgespalten und bezüglich der einzelnen UV-Spektren untersucht.

Zusätzlich wurden sie – ebenfalls standardmäßig – dünnschichtchromatographisch in drei Fließmittelsystemen aufgetrennt:

CHCl₃/MeOH (40:10); drei Platten

CHCl₃/MeOH/NH₃ (40:10:1); zwei Platten

EtOAc/H₂O/HCOOH/CH₃COOH (40:4:4:8); eine Platte

Anschließend wurden je eine der mit neutralem und basischem Fließmittel entwickelten Platten mit Dragendorffs Reagenz und mit van Urk-Reagenz besprüht. Die im sauren Fließmittel entwickelte und eine der neutralen Platten wurden mit Naturstoffreagenz besprüht. Da das Entfernen von Wasser als Lösungsmittel sehr arbeitsaufwändig und zeitintensiv ist, wurde die ammoniakalische Wasserphase nur in einigen Fällen dem Screening zugeführt.

Die umfangreichen Arbeiten im Bereich der nicht-alkaloidischen Pflanzeninhaltsstoffe einschließlich Isolierungen wurden zugunsten einer Konzentration auf die pharmazeutisch bedeutsameren Alkaloide nicht in diese Arbeit aufgenommen. Allerdings konnten die Ergebnisse der DC- und HPLC-Untersuchungen gewissermaßen als Vorproben genutzt werden. Als Verfahren der Wahl beim Screening der alkaloidhaltigen Basen-Extrakte hat sich in unserem Arbeitskreis die GC-MS-Analytik etabliert – nicht nur aufgrund der hohen Trennleistung des Gaschromatographen im Vergleich zu den oben beschriebenen Trennmethode, sondern auch wegen der sehr guten Detektierbarkeit der Substanzen mittels Massenspektrometer. Da die mit dem oben beschriebenen Extraktionsverfahren erhaltenen Basen-Extrakte für die hochsensible GC-MS-Analytik in der Regel noch zu stark mit Begleitstoffen verunreinigt sind, wurden sie mit entsprechend kleineren Lösemittelmengen ein zweites Mal ausgeschüttelt oder alternativ über SCX-Kartuschen aufgereinigt. Die Ergebnisse des GC-MS-Screenings werden in den folgenden Kapiteln veranschaulicht.

2.1.2 GC-MS-Screening

Als Nachweismethode für das Alkaloidvorkommen bei Windengewächsen hat sich im AK Eich die GC-MS-Analytik etabliert, da die Untersuchung mittels HPLC und DC deutliche Grenzen hat. So können viele Alkaloide, z. B. 3 α - und 3 β -Tropanol, Cuscohygrin oder die im Rahmen dieser Arbeit erstmals isolierten Bonabiline, mittels der dem Arbeitskreis zur Verfügung stehenden Geräte für die Hochdruckflüssigkeitschromatographie nicht detektiert werden, da sie kein UV-detektierbares Chromophor aufweisen. Auch die Möglichkeiten der Dünnschichtchromatographie sind begrenzt; so zeigen viele der stickstoffhaltigen Stoffe keine Löschung auf der DC-Platte. Sie sind dann durch Besprühen mit Dragendorffs Reagenz detektierbar, können dadurch also sichtbar gemacht werden. Zwar unterscheiden sie sich in ihren R_f-Werten, und verschiedene Stoffklassen weisen unterschiedliche Farbnuancen auf (Hygrin-Derivate haben im Vergleich zu Tropanolestern eine kräftigere

Orangefärbung, 3α - und 3β -Tropanol hingegen verfärben sich weinrot), doch lassen sich die einzelnen Komponenten der komplexen Stoffgemische eines Basenextraktes mit dieser Methode nur bedingt exakt zuordnen.

Zum Zwecke des Screenings auf Alkaloide bzw. zur Erstorientierung bei Isolierungen erwies sich somit die GC-MS-Analyse als Mittel der Wahl. Dieses gekoppelte Verfahren zeichnet sich durch eine hohe Trennleistung aus, und die einzelnen Substanzen lassen sich anhand ihres Retentionsindex und des zugehörigen Massenspektrums eindeutig zuordnen. Für die Auftrennung der meist sehr komplexen Alkaloidgemische wurde das im AK Hartmann (TU Braunschweig) unter L. Witte entwickelte und optimierte Temperaturprogramm (s. 5.3.2) verwendet; es wurde auch für die an der FU Berlin durchgeführten Messungen übernommen. Es zielt u. a. auf eine Separation leicht verdampfbarer Substanzen wie den Hygrinen von schwer flüchtigen Verbindungen wie aromatischen Tropanolestern oder Ergolinen ab. Die Identifizierung der Naturstoffe erfolgte über den Vergleich der Retentionsindices (RIs) und des zugehörigen Massenspektrums mit den Daten von Referenzsubstanzen und -spektren bzw. anhand von Literaturdaten. Unbekannte Verbindungen wurden, wenn möglich, einer Stoffklasse zugeordnet, z. T. konnten sogar konkrete Strukturvorschläge formuliert werden.

Von entscheidender Wichtigkeit für die Aussagekraft des Screenings ist hierbei eine Katalogisierung der Substanzen; diese orientiert sich am RI einer Substanz gekoppelt mit Molpeak MG und Basispeak BP. Desweiteren erfolgt die Angabe charakteristischer Fragmentationen und/oder das Archivieren eines Referenzspektrums. Entsprechende Tabellen der Convolvulaceen-Inhaltsstoffe gegliedert nach Alkaloidtypen finden sich im Experimentellen Teil unter 5.3.3 und 5.3.4.

Durch das Splitting der Probe im Gaschromatographen wird jeder Substanz eine Retentionszeit zugeordnet, die anhand der Kováts-Alkane als allgemeingültigerer Retentionsindex (RI) berechnet werden kann (s. 5.3.3), der bei gleicher stationärer Phase und gleichem Temperaturprogramm von Probe zu Probe reproduzierbar ist. Bei den RIs können Abweichungen bis zu etwa fünf Einheiten auftreten, die u. a. durch die Auswertung der GC-Spektren mittels graphischer Interpolation bedingt sind. So ist es manchmal schwer, die Peakmitte zu bestimmen, z. B. wenn ein Peak tailt oder sehr breit ist; in einigen Fällen treten Überlagerungen auf. Bei komponentenreichen oder durch Begleitstoffe verunreinigten Proben kann es außerdem zu Ungenauigkeiten kommen, da Stoffe nur nach und nach von der Säule eluiert werden. In der Substanzklasse der Mutterkornalkaloide tritt das Phänomen auf, daß die Substanzpeaks „wandern“, d. h. daß die Retentionindices sogar um ca. 10-15 Einheiten abweichen können. Anhand der charakteristischen Massenspektren lassen sich die Verbindungen jedoch einwandfrei den Referenzsubstanzen zuordnen. Überhaupt hat man durch die Kopplung der gaschromatographischen Auftrennung mit der Massenspektrometrie ein sehr empfindliches und spezifisches Verfahren an der Hand, da sich über das Massenspektrum nicht nur bekannte Stoffe sehr genau identifizieren lassen. Auch unbekannte Komponenten können anhand charakteristischer Fragmentierungsmuster oft in Teilstrukturen bestimmt werden, oder es werden zumindest Anhaltspunkte für die Zugehörigkeit einer Verbindung zu einer der Substanzklassen von Interesse

erhalten. Hierfür ist auch die Isolierung und Strukturaufklärung einzelner Verbindungen zur Abklärung des Auftretens bestimmter Stoffgruppen von Bedeutung. Hierdurch konnten sogar stereochemische Gesetzmäßigkeiten aufgedeckt werden, die sich sowohl auf den Alkaloid-Grundkörper, als auch auf die angeesterten Acylkomponenten beziehen.

Dem Screening per GC-MS wurden die nach 2.1.1 hergestellten Basen-Extrakte zugeführt, die durch Extraktion von – soweit vorhanden – 50 g getrockneter und gemahlener Droge und Durchführung des dort beschriebenen Trennungsganges erhalten wurden. In der Regel wurden die Pflanzen in ober- und unterirdische Organe aufgeteilt. Handelte es sich um recht kleine Individuen mit geringer Ausbeute wurde als Droge die Ganzpflanze verwendet. Bei größeren Individuen mit ausgeprägten Sproßachsen wurden die Blätter abgetrennt und beide Pflanzenteile separat analysiert. Soweit möglich wurden auch die Blüten und Früchte bzw. die von den Fruchtschalen befreiten Samen vermessen. Im Fall von *Ipomoea plebeia* standen sogar Keimlinge in ausreichender Menge für die Anfertigung eines Basen-Extraktes zur Verfügung.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden GC-MS-Spektren von insgesamt 163 Drogen der 47 analysierten Convolvulaceen-Spezies ausgewertet, da in vielen Fällen zusätzlich Wildmaterial zur Verfügung stand bzw. mehrere Provenienzen vorlagen. Auf eine detaillierte Wiedergabe der Ergebnisse in Textform wird im Folgenden aufgrund der umfangreichen Datensätze verzichtet; es sollen jedoch die Resultate des GC-MS-Screenings zusammengefaßt und Besonderheiten aufgezeigt werden. Die exakte Zusammensetzung der untersuchten Basen-Extrakte kann den Tabellen **Tab. 1** bis **Tab. 8** und **Tab. 10** bis **Tab. 13** entnommen werden.

Zur Strukturierung der Befunde wird eine Einteilung nach Stoffgruppen vorgenommen. Die erste Gruppe bilden die Pyrrolidine (2.1.2.1), gefolgt von den Tropanen. Letztere sauerstoffsubstituierten Derivate des zumeist N-methylierten 8-Aza-bicyclo[3.2.1]octans einschließlich ihrer Ester mußten als die alkaloidische Hauptinhaltsstoffgruppe der Convolvulaceae schlechthin weiter untergliedert werden. Aufgrund ihrer ähnlich ubiquitären Verbreitung werden die einfachen, unsubstituierten Tropane den Pyrrolidinen angegliedert (2.1.2.1; **Tab. 1** und **Tab. 2**); dasselbe gilt für die 3-Acetoxytropane, die bei diversen Arten die einzigen veresterten 3-Tropanole überhaupt darstellen. Als umfangreichster Bereich werden die 3-Tropanolester (2.1.2.2) anhand ihrer Substituenten weiter unterteilt: Ester mit aliphatischen Acylkomponenten finden sich in **Tab. 3** und **Tab. 4**, Ester mit aromatischen Acylkomponenten in **Tab. 5** und **Tab. 6**. Die mutmaßlich Convolvulaceen-spezifischen Merresectine und Bonabiline sind zusammen mit den nicht identifizierbaren 3-Tropanolestern in **Tab. 7** und **Tab. 8** aufgeführt. In **Tab. 10** schließlich werden die Untersuchungsergebnisse bezüglich di- und trisubstituierter Tropane (2.1.2.3) aufgelistet. Eine weitere Steigerung des Hydroxyierungsgrades am Tropan-Grundkörper führt zu den sogenannten Calysteginen, wobei die Triole in der A-Reihe, die Tetraole in der B-Reihe und die Pentaole in der C-Reihe zusammengefaßt werden. Diese zunehmend polaren Polyole machen als hydrophile Tropanalkaloide allerdings eine Modifikation des Extraktionsverfahrens erforderlich und werden daher an anderer Stelle abgehandelt (s. 2.1.3; **Tab. 14**).

Ebenfalls wichtige Inhaltsstoffgruppen der Convolvulaceae sind die Pyrrolizidine (2.1.2.4;

Tab. 11) und die Ergoline (2.1.2.5; **Tab. 12**); die übrigen per GC-MS nachgewiesenen stickstoffhaltigen Verbindungen unterschiedlicher Stoffklassen finden sich unter 2.1.2.6; **Tab. 13**.

2.1.2.1 Pyrrolidine und einfache Tropane

Längst nicht mehr gelten Hygrin und Cuscohygrin lediglich als Coca-Alkaloide, vielmehr sind sie seit ihrer Identifizierung bei *Convolvulus hamadae* (Lazur'evskii, 1939) zu Begründern einer eigenständigen Stoffklasse, den Pyrrolidin-Alkaloiden, geworden. Neben ihrer Anreicherung bei der Gattung *Erythroxylum* (Erythroxylaceae; Ordnung Malpighiales) konnten sie nicht nur in vielen weiteren Convolvulaceae detektiert werden, auch in Solanaceae wurden sie vermehrt gefunden. Sie können so zum einen als chemotaxonomische Gemeinsamkeit innerhalb der Ordnung Solanales angesehen werden, der sowohl die Solanaceae, als auch die Convolvulaceae angehören. Zum anderen verdient ihre intrafamiliäre Verbreitung hinsichtlich ihrer Eigenschaft als Familienmerkmal ein besonderes Augenmerk. Anders als bei den Kokastrauchgewächsen, bei denen sie nur auf die Gattung *Erythroxylum* beschränkt scheinen, dürften sie innerhalb der Convolvulaceae sehr viel weiter verbreitet sein.

Die Tatsache, daß sie bei Raumtemperatur als ölige Flüssigkeiten vorliegen, veranlasste Wöhler (1862), in dessen Laboratorien sie erstmalig – allerdings als Gemisch – gefunden wurden, zu der dem Griechischen entlehnten Namensgebung Hygrin (*υγρος* = flüssig). Im Folgenden wird die Bezeichnung Hygrine gleichbedeutend mit Pyrrolidin-Alkaloide verwendet.

Wohl am häufigsten wurde in Zusammenhang mit Windengewächsen über die Gewinnung von Cuscohygrin berichtet (s. 2.2.2). Dies bestätigte sich auch in diesem Arbeitskreis: Mann (1997) isolierte es aus den Wurzeln von *Convolvulus cneorum* und *Merremia cissoides* und Jenett-Siems (1996) aus den Wurzeln von *Convolvulus farinosus* und aus *Convolvulus arvensis* und *Ipomoea hederifolia*. Bei der Strukturaufklärung stellte Jenett-Siems fest, daß es sich um ein Gemisch verschiedener Konfigurationsisomere handelt, die im GC-MS und auch präparativ nicht unterschieden werden können. Daher ging sie dazu über, Cuscohygrin laborchemisch herzustellen. Im Zuge dieser Synthese gelang ihr auch die Darstellung zweier isomerer N-Methylpyrrolidinylhygrine. Die Strukturanalyse zeigte, daß C-2' des zusätzlichen N-Methylpyrrolidinyl-Ringes bei Isomer A (RI 1570) mit C-4 des Hygrin-Grundkörpers verknüpft ist, bei Isomer B (RI 1580) mit C-3. Anhand ihrer Fragmentierungsmuster im GC-MS und ihrer Summenformel aus der Hochauflösung wurden beide von Witte *et al.* (1987) trotz unklarer Ringverknüpfung bereits als Solanaceen-Inhaltsstoffe postuliert. Nun aber standen sie als Referenzen zur Verfügung und ermöglichten Jenett-Siems ihre Identifizierung in 15 von 19 untersuchten Convolvulaceen-Spezies.

Doerk-Schmitz *et al.* (1994) formulierten bei ihrer Untersuchung von *Hyoscyamus albus* zwei N-Methylpyrrolidinylcuscohygrine, Stellungsisomere, deren Retentionsindices und

Massenzerfall mit hier gefundenen Convolvulaceen-Inhaltsstoffen übereinstimmen. Aufgrund der unklaren Stellung des N-Methylpyrrolidinyl-Restes am Cuscohygrin-Grundkörper werden sie durch die Buchstaben A (RI 2165) und B (RI 2176) unterschieden.

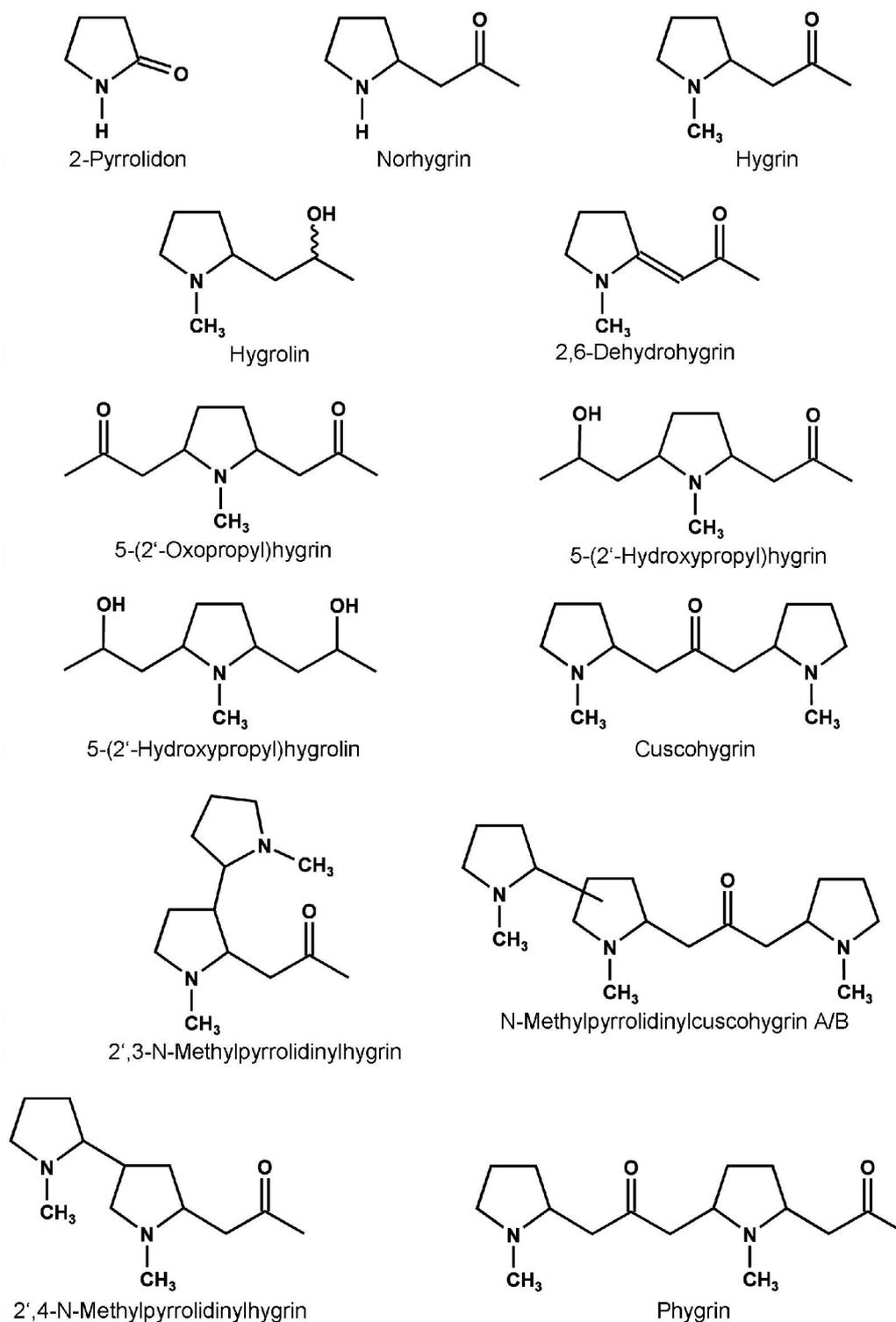


Abb. 14: Strukturformeln einiger nachgewiesener Pyrrolidin-Alkaloide

Neben der Einführung von N-Methylpyrrolidinyll-Ringen entstehen weitere Abkömmlinge des Hygrins durch Anlagerung einer zusätzlichen Oxopropyl-Seitenkette und gegebenenfalls Reduktion der Ketogruppe(n). Anhand der GC-MS-Analyse als Solanaceen-Inhaltsstoffe beschrieben (Witte *et al.*, 1987), konnten 5-(2'-Oxopropyl)hygrin, 5-(2'-Hydroxypropyl)hygrin und 5-(2'-Hydroxypropyl)hygrolin auch in Convolvulaceae detektiert werden (Jenett-Siems, 1996). Daß diese Strukturen als Naturstoffe auftreten, beweist die Isolierung von 5-(2'-Oxopropyl)hygrin aus der Solanaceae *Physalis alkekengi* (Basey *et al.*, 1992).

Norhygrin, Hygrin, die beiden mutmaßlichen Enantiomerenpaare (Hartmann *et al.*, 1986) Hygrolin A und Hygrolin B, 2,6-Dehydrohygrin und Phygrin konnten auf der Grundlage von Literaturangaben und Referenzwerten bestimmt werden (Jenett-Siems, 1996; Henrici, 1996; Mann, 1997; Tofern, 1999). Hinzu kommt das Hygrin-5-on, das anhand interner Vergleichsdaten identifiziert werden konnte. Zudem werden das 2-Pyrrolidon und das N-Methyl-2-pyrrolidon aufgeführt, bei denen es sich um Biosynthese-Vorstufen des Hygrins handelt.

Wichtigstes Merkmal für das Auffinden der Hygrine im GC-MS-Spektrum ist ihr Basispeak, der in der Regel bei m/z 84 liegt. Bei Derivaten mit zusätzlicher Oxopropyl-Kette treten die Massenfragmente m/z 140 bzw. m/z 142 in den Vordergrund. Weiterführende Informationen zu Retentionsindices, Molpeaks und anderen Fragmenten des Massenspektrums finden sich unter 5.3.3.1. Neben den in **Tab. 1** und **Tab. 2** aufgeführten Verbindungen – geordnet nach steigendem Retentionsindex – können zahlreiche unbekannte Derivate beobachtet werden, die sich jedoch mangels Vergleichsdaten und wegen zu geringer Konzentration für eine Isolierung der Identifizierung entziehen. Ihr Vorhandensein verwundert nicht, sind doch aufgrund des Bausteinprinzips der Hygrine aus N-Methylpyrrolidinyll- und Oxopropyl-Einheiten viele weitere Varianten denkbar; zudem treten oft auch reduzierte Formen auf. (Zusammenstellung einiger Strukturformeln s. **Abb. 14**)

Bei einigen Verbindungen liefert das Massenspektrum Anhaltspunkte, wie die Verschiebung prägnanter Peaks um 14 Einheiten für die Ausbildung von Methylethern.

In der Literatur finden sich in erster Linie Berichte über die Identifizierung von Cuscohygrin und auch Hygrin; Quelle sind hierbei hauptsächlich *Convolvulus*-Arten (siehe auch 2.2.2). Im Rahmen dieser Arbeit war es nun von Interesse, inwieweit sich das Auftreten von Pyrrolidin-Alkaloiden auch für andere Gattungen der Convolvulaceae feststellen läßt, und welche Strukturvarianten auftreten.

Durch die umfassenden Untersuchungen der vorliegenden Arbeit an 47 Convolvulaceen-Spezies mit Subtypen kann grundsätzlich festgestellt werden, daß Pyrrolidine in der Tat ein gattungsübergreifendes Familienmerkmal sind. Wie **Tab. 2** zeigt, können Alkaloide vom Hygrin-Typ für die Gattungen *Bonamia*, *Convolvulus*, *Evolvulus*, *Maripa*, *Merremia*, *Operculina* und *Polymeria* mehrfach beschrieben werden; Einzelnachweise liegen für die Genera *Astripomoea*, *Calystegia*, *Dichondra*, *Falkia* und *Lepistemon* vor. Die GC-MS-Analyse der insgesamt 25 Vertreter des Genus *Ipomoea*, der bei weitem umfangreichsten Gattung der Convolvulaceae, erbrachte in 23 Fällen positive Resultate (**Tab. 1**).

	<i>Ipomoea abrupta</i>	<i>I. arborescens</i>	<i>I. argillicola</i>	<i>I. asarifolia</i>	<i>I. bonariensis</i>	<i>I. cholulensis</i>	<i>I. coccinea</i>	<i>I. coptica</i>	<i>I. cristulata</i>	<i>I. hederacea</i>	<i>I. hildebrandtii</i>	<i>I. lonchophylla</i>	<i>I. mauritiana</i>	<i>I. muelleri</i>	<i>I. ochracea</i>	<i>I. pes-tigridis</i>	<i>I. plebeia</i>	<i>I. pubescens</i>	<i>I. shirambensis</i>	<i>I. tenuirostris</i>	<i>I. tiliacea</i>	<i>I. tricolor</i> cv. „Flying Saucers“	<i>I. tricolor</i> cv. „Heavenly Blue“ (Kanarische Inseln)	<i>I. tricolor</i> cv. „Heavenly Blue“ (BAYWA)	<i>I. velutina</i>
N-Methyl-2-pyrrolidon		+ 3																				3		+ 1,3	
2-Pyrrolidon					+ 1								+ 1									+ 3	+ 3	+ 1,3	
Norhygrin																							1		
Hygrin	+ 1,3	? 4	+ 3,4	+ 1,2	+ 1	+ 1			+ 1,3,7	+ 1	+ 3	+ 1,3	+ 1	+ 3,5		+ 3	+ 1,3,9	+ 1	+ 1	+ 1,3		+ 1,3	+ 1,3	+ 1	+ 1
Hygrolin A														? 3											
Hygrolin B												+ 1,3													
2,6-Dehydrohygrin														+ 5			+ 1								
Hygrin-5-on														+ 5							+ 1			+ 1	
5-(2'-Oxopropyl)hygrin	+ 1		+ 3,4		+ 1				+ 3					+ 3			+ 1				+ 1			+ 1	
5-(2'-Hydroxypropyl)hygrin	+ 1				+ 1	+ 1								+ 3,5			+ 1							+ 1	+ 3
5-(2'-Hydroxypropyl)hygrolin	+ 1			+ 4	+ 1	+ 1				+ 1				+ 3			+ 3		+ 1		+ 1		+ 1		+ 1
2',4-N-Methylpyrrolidinyhygrin			+ 3,4		+ 1	+ 1			+ 1					+ 5			+ 1			+ 1		+ 1		+ 1	
2',3-N-Methylpyrrolidinyhygrin			+ 3,4		+ 1	+ 1			+ 1	+ 1		+ 1		+ 5			+ 1		+ 1	+ 1		+ 1		+ 1	+ 1
Cuscohygrin	+ 1	+ 1	+ 3,4	+ 1,2	+ 1	+ 1	+ 3		+ 1	+ 1	+ 3	+ 1,3		+ 3,5			+ 1,3,9	+ 1	+ 1	+ 1,3	+ 1,2	+ 1	+ 1,6,8	+ 1,3	+ 1,3
Phygrin																				+ 1		? 1			
N-Methylpyrrolidinyl-cuscohygrin A																				+ 1					
N-Methylpyrrolidinyl-cuscohygrin B																				+ 1					
Nicotin	+ 3		+ 3,4	+ 2,8	+ 1				+ 7		+ 3	+ 3		+ 3,5		+ 3	+ 3	+ 3	+ 1		+ 2	+ 3	+ 1,3,8	+ 1,3	
Nortropan-3-on			+ 3,4	+ 1	+ 1									+ 3,5					+ 1			+ 3	+ 1,3	+ 1,3	
Cyclotropin			? 4	+ 1,2,8	+ 1									+ 3,5			+ 1,3			+ 1			+ 1,3,6	+ 1	
Tropan-3-on			+ 4	+ 1,8	+ 1				+ 7					+ 3,5		+ 3	+ 1,3,9		+ 1	+ 1		+ 1,3	+ 1,3,6,8	+ 1,3	+ 1
Nortropan-3 α -ol																					+ 1		+ 1,3		
Nortropan-3 β -ol				+ 1,2													+ 1		+ 1		+ 1		+ 1		
Tropan-3 α -ol			+ 3,4	+ 8	+ 1				+ 7			+ 1,3		+ 3,5			+ 1,3,9			+ 1,3	+ 1,2,3	+ 1,3	+ 1,3,6	+ 1,3	? 1
Tropan-3 β -ol			+ 4	+ 1,2,4,8	+ 1	+ 1			+ 1,7	+ 1		+ 1,3		+ 3,5			+ 1,3,7,9	+ 1	+ 1		+ 1	+ 1,3	+ 1,3,6	+ 1,3	+ 1
3 α -Acetoxynortropan												+ 1		+ 3,5			+ 1,3			+ 1					
3 β -Acetoxynortropan																									
3 α -Acetoxytropan	+ 1,2		+ 3,4			+ 1			+ 7			+ 1,3		+ 3,5			+ 1,3,9			+ 1			+ 8		
3 β -Acetoxytropan			+ 4						+ 7								+ 3							+ 3	

Tab. 1: GC-MS-Tabelle Hygrine und einfache Tropane in *Ipomoea*-Arten

Legende: 1 Wurzeln (ggf. mit Rhizomen) 4 Blätter 7 Früchte mit Samen + vorhanden
2 (verholzter) Sproß 5 Ganzpflanze 8 Samen ? unsicher
3 Kraut 6 Blüten 9 Keimlinge

	<i>Astripomoea maluacea</i>	<i>Bonamia dietrichiana</i>	<i>Bonamia spectabilis</i>	<i>Bonamia trichantha</i>	<i>Calystegia silvatica</i>	<i>Convolvulus graminetinus</i>	<i>Convolvulus sabatius</i>	<i>Convolvulus sagittatus</i>	<i>Dichondra sericea</i>	<i>Evolvulus alsinoides</i>	<i>Evolvulus glomeratus</i> cv. „Blue Daze“	<i>Evolvulus nummularius</i>	<i>Falkia repens</i>	<i>Lepistemon urceolatum</i>	<i>Maripa nicaraguensis</i>	<i>Maripa panamensis</i>	<i>Merremia hederacea</i>	<i>Merremia pterygocaulos</i>	<i>Merremia quinata</i>	<i>Operculina aequiseipala</i>	<i>Operculina riedeliana</i>	<i>Polymeria ambigua</i>	<i>Polymeria calycina</i>
N-Methyl-2-pyrrolidon				+ 1			+ 6,7				+ 3												
2-Pyrrolidon							+ 6,7			+ 3	+ 1,3										+ 2,3		
Norhygrin				+ 1			? 6			+ 3,5										+ 1,3			
Hygrin	+ 3	+ 1	+ 1,3	+ 1,2	+ 3	+ 1	+ 1,7	+ 1	+ 3	+ 3	+ 6	+ 5	+ 1,3,5	+ 1,3	+ 2,4	+ 2,4	+ 1,3	+ 3	+ 3	+ 3	+ 1,3	? 3	+ 3
Hygrolin A															? 4								
Hygrolin B																		+ 3					
2,6-Dehydrohygrin				+ 1						+ 3													
Hygrin-5-on	+ 1,3			+ 1,2						+ 3					+ 2,4	+ 2,4	+ 1,3						
5-(2'-Oxopropyl)hygrin	+ 1,3	+ 1	+ 1	+ 1				+ 1	+ 3	+ 3		+ 5	+ 5	+ 1		+ 2,4	+ 1,3						
5-(2'-Hydroxypropyl)hygrin	+ 1,3	+ 1	+ 1,3	+ 1			+ 1		+ 3	+ 3,5		+ 5		+ 1,3			+ 1,3						
5-(2'-Hydroxypropyl)hygrolin			+ 3	+ 1,2					+ 3	+ 3,5				+ 1			+ 1						
2',4-N-Methylpyrrolidinylhygrin	+ 3	+ 1	+ 1,3		+ 3	+ 1	+ 1	+ 1	+ 3	+ 3		+ 5	+ 1,5	+ 1			+ 1,3						
2',3-N-Methylpyrrolidinylhygrin	+ 3	+ 1	+ 1,3	+ 1	+ 3	+ 1	+ 1	+ 1	+ 3	+ 3		+ 5	+ 1,5	+ 1			+ 1,3						
Cuscohygrin	+ 1	+ 1	+ 1,3	+ 1,2	+ 3	+ 1,3	+ 1	+ 1	+ 3	+ 3	+ 6	+ 5	+ 1,5	+ 1,3			+ 1,3		+ 3		+ 2,3	+ 3	
Phygrin			? 3	+ 1	+ 3			+ 1					+ 1,5	+ 1			+ 3						
N-Methylpyrrolidinyl-cuscohygrin A					+ 3			+ 1					+ 5										
N-Methylpyrrolidinyl-cuscohygrin B					+ 3			+ 1					+ 5										
Nicotin	+ 3	+ 1	+ 3	+ 1	? 3	+ 3	+ 3,6,7		+ 3		+ 3,6	+ 5			+ 2,4	+ 2,4	+ 1,3	+ 3	+ 3		+ 1,2,3		
Nortropan-3-on			+ 1,3	+ 1,2	+ 1,3		+ 1,3	+ 1						+ 1				+ 3					
Cyclotropin	+ 3	? 1	+ 1,3	+ 1,2,3	+ 1,3	? 1	+ 1		+ 3	+ 3	+ 3	+ 5	+ 3,5	+ 1		+ 2	+ 1,3						
Tropan-3-on	+ 3	+ 1	+ 1,3	+ 1	+ 3	+ 1	+ 1,3,7	+ 1	+ 3	+ 3		+ 5	+ 1,3,5	+ 1			+ 1,3				? 3		
Nortropan-3 α -ol			+ 3	+ 1									+ 5					+ 3					
Nortropan-3 β -ol			+ 3	+ 1,2,3	+ 1		+ 3						+ 5										
Tropan-3 α -ol		+ 1	+ 1,3	+ 1			+ 1,3	+ 1	+ 3		+ 3		+ 5	+ 1		+ 2	+ 1				+ 2,3		
Tropan-3 β -ol		+ 1	+ 1,3	+ 1,2,3	+ 1,3	+ 1	+ 1	+ 1	+ 3	+ 3	+ 3	+ 5	+ 1,3,5				+ 1				+ 3		
3 α -Acetoxynortropan													+ 1,3,5	+ 1									
3 β -Acetoxynortropan				+ 1																			
3 α -Acetoxytropan			+ 3	+ 1		+ 1,3			+ 3				+ 1,3,5	+ 1,3			+ 1						
3 β -Acetoxytropan				+ 1					+ 3			+ 5	+ 1,3										

Tab. 2: GC-MS-Tabelle Hygrine und einfache Tropane in anderen Gattungen

Legende: 1 Wurzeln (ggf. mit Rhizomen) 4 Blätter 7 Früchte mit Samen + vorhanden
2 (verholzter) Sproß 5 Ganzpflanze 8 Samen ? unsicher
3 Kraut 6 Blüten 9 Keimlinge

Ausnahmen bilden *Ipomoea coptica*, vermutlich aufgrund der geringen Drogenmenge von nur 20 g Ganzpflanze, und *Ipomoea ochracea*, bei der im GC-MS ausschließlich Alkaloide mit Indol-Grundgerüst, nämlich Agroclavin (s. 2.1.2.5) sowie Harman und 1-Acetyl- β -carbolin (s. 2.1.2.6), detektiert werden konnten; weitere Inhaltsstoffe letzterer Art sind die ebenfalls eine Indol-Partialstruktur aufweisenden Ipobscurine, die sich zwar der GC-MS-Analytik entziehen, jedoch dünnschichtchromatographisch nachgewiesen werden konnten. Normalerweise kommt eine ganze Reihe von Verbindungen vom Hygrin-Typ nebeneinander vor; nur in den Gattungen *Maripa*, *Operculina* und *Polymeria* sind sie eher vereinzelt anzutreffen.

Die beiden wichtigsten Vertreter der Pyrrolidin-Alkaloide mit fast ubiquitärem Vorkommen sind Hygrin und Cuscohygrin. In nahezu jeder Art präsentieren sie sich als die Hauptverbindungen dieses Typs, wobei Cuscohygrin vor allem in den Wurzeln akkumuliert wird und oft die überragende Hauptkomponente des Basenextraktes darstellt. Hygrin ist meist in geringerer Konzentration enthalten.

Auffällig im Hinblick auf Verbreitung und Gehalt sind auch das 2',4- und das 2',3-N-Methylpyrrolidinyhygrin, reichen sie doch bezüglich ihrer Konzentration in mehreren Fällen an die beiden vorgenannten heran. Diese zwei Stellungsisomere des Cuscohygrins treten meist vergesellschaftet auf.

Derivate mit einem zusätzlichen Oxopropyl-Rest einschließlich der hydrierten Formen sind regelmäßig in den Proben festzustellen. Sie sind in etwa der Hälfte der untersuchten Arten vorzufinden; von den verwendeten Referenzsubstanzen liegen meist zwei oder alle drei nebeneinander vor.

Norhygrin und die Enantiomere Hygrolin A und Hygrolin B, sowie Hygrin-5-on, 2,6-Dehydrohygrin und Phygrin lassen sich in nicht ganz einem Fünftel der untersuchten Arten detektieren, völlig unabhängig von der Zugehörigkeit zu bestimmten Genera.

Die beiden N-Methylpyrrolidinylcuscohygrine treten nur in Einzelfällen und dabei stets vergesellschaftet auf. Sie konnten gefunden werden in *Calystegia silvatica*, *Convolvulus sagittatus*, *Falkia repens* und *Ipomoea tenuirostris*. Ihr Auftreten kann also als sporadisch bezeichnet werden und ist ebenfalls nicht auf eine bestimmte Gattung begrenzt.

Nicotin kann in 32 von 48 Fällen nachgewiesen werden, teilweise in nicht unerheblicher Konzentration. Da es neben dem Pyrrolidin- auch einen Piperidin-Ring aufweist, nimmt es hier eine Sonderrolle ein. Hinsichtlich seiner Bedeutung für die Pflanze steht fest, daß es eine repellente Wirkung gegenüber Schädlingen, insbesondere Blattläusen, besitzt. Außerdem ließ sich beobachten, daß Pflanzen in der Lage sind, es aus der Luft aufzunehmen. So führte der Zigarettenkonsum einiger Handwerker im Gewächshaus zu einer signifikanten Erhöhung des Nicotin-Gehalts bei den dort angebauten Winden. Daher lassen sich leider nur vage Aussagen über die tatsächliche Verbreitung und den Gehalt bei Convolvulaceae machen.

Aufgrund der ähnlich weiten Verbreitung innerhalb der Convolvulaceae sind die einfachen Tropane mit den Hygrinen jeweils in einer Tabelle zusammengefaßt (**Tab. 1** und **Tab. 2**; unterer Bereich). Dies macht auch deshalb Sinn, weil die Substanzpeaks dieser Verbindungsgruppen im selben Bereich des GC-MS-Spektrums zu finden sind – begründet durch die strukturelle Verwandtschaft zwischen Alkaloiden vom Pyrrolidin-Typ und unsubstituierten Tropanen, deren ähnliche Molmassen und der demzufolge eng zusammenliegenden Retentionsindices im GC-MS. Da bereits in der Einleitung ausführlich über die Geschichte und Bedeutung der Tropan-Alkaloide berichtet wurde, sei dieser Aspekt hier ausgespart.

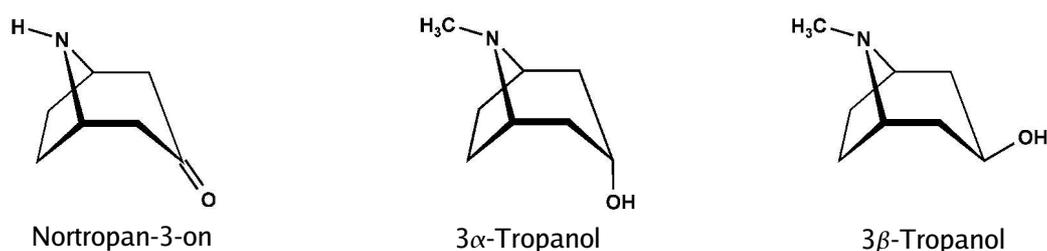


Abb. 15: Nortropan-3-on, 3 α -Tropanol und 3 β -Tropanol

Neben den beiden Epimeren 3 α - und 3 β -Tropanol und dem um zwei Wasserstoff-Atome ärmeren Tropan-3-on werden auch die demethylierten Nor-Derivate erfaßt, außerdem Cyclopropin. In vorangegangenen Arbeiten wurde das Auftreten dieser lediglich Sauerstoff-substituierten Tropane bei Convolvulaceae mittels GC-MS-Vermessung der Basen-Extrakte schon mehrfach beschrieben (Jenett-Siems, 1996; Henrici, 1996; Mann, 1997; Tofern, 1999; Schimming, 2003). Bestätigt wurden diese Befunde zudem durch Isolierung von Tropan-3-on (Mann, 1997) und 3 α - und 3 β -Tropanol (diese Arbeit unter 2.2.4.1).

Anhand der erzielten Ergebnisse läßt sich ein ähnlich ubiquitäres Vorkommen wie bei den Pyrrolidin-Alkaloiden konstatieren. In nur elf der analysierten Arten waren keine einfachen Tropane detektierbar, wobei allerdings allein bei *Ipomoea coccinea* und bei *Polymeria ambigua* sowie bei den oben erwähnten zugleich Hygrin-freien *Ipomoea coptica* und *Ipomoea ochracea* keinerlei Verbindungen vom Tropan-Typ nachgewiesen werden konnten. Die übrigen Spezies lieferten im Bereich der 3-Tropanolester durchaus positive Ergebnisse, was zu der Annahme führt, daß die einfachen Tropane lediglich mengenmäßig unterhalb der Nachweisgrenze lagen, da sie als biosynthetische Vorstufen genuin vorhanden sein sollten.

In der Regel liegen mehrere unsubstituierte Tropane vergesellschaftet vor, also von zwei bis zu allen sieben nebeneinander. Die 3-Epimeren treten hierbei oft paarweise auf, wobei allerdings beobachtet werden kann, daß zumeist eines stark überwiegt.

In diesem Zusammenhang ist die Gattung *Bonamia* besonders zu erwähnen. Bei den untersuchten Arten tritt 3 β -Tropanol und z. T. auch das korrespondierende 3 β -Nortropanol in sehr hohen Konzentrationen auf. Dies ist beispielsweise im Kraut von *Bonamia spectabilis* der Fall. Denkbar wäre hier, daß kein 3 α -Tropanol akkumuliert wird, da dieses als Acylkomponente der Bonabiline weiterverestert wird, wobei zur Esterverknüpfung ein spezifisches Enzym vonnöten ist, das nur 3 α -Tropanol als Substrat umsetzen kann.

Gesondert zu erwähnen ist auch die mittelamerikanische *Bonamia trichantha*, da hier ausschließlich Tropanole der 3 β -Reihe nachgewiesen werden können. Dies sind ganz vorherrschend 3 β -Tropanol, das im Wurzelextrakt sogar die absolute Hauptverbindung darstellt, begleitet von nicht unerheblichen Mengen an 3 β -Nortropanol. Weder einfache 3 α -Tropanole noch deren Ester sind detektierbar, dafür aber in Wurzeln und Sprossachsen die am Stickstoff substituierten homologen N-Carbomethoxy- und N-Carboethoxy-nortropan-3 β -ol. In keiner weiteren der knapp 50 untersuchten Convolvulaceen-Spezies konnten diese Acetamidtropane detektiert werden. Dies mag auch darauf beruhen, daß diese Art scheinbar nicht zur Synthese von Calysteginen in der Lage ist (s. 2.1.3), was im Gegenzug zu einer Akkumulation von deren Vorstufen, insbesondere von 3 β -Tropanol führt.

Anders bei der Gattung *Convolvulus*: Hier tritt ganz deutlich 3 α -Tropanol in den Vordergrund. Es ist beispielsweise die dominierende Komponente des Basenextrakts des Krautes von *Convolvulus sabatius*.

Ebenfalls in **Tab. 1** und **2** aufgeführt sind die 3-Acetytropane. Sie wurden den einfachen Tropanen angeschlossen, da diese simplen Ester in mehreren Fällen die einzigen detektierbaren veresterten Tropane sind, so bei *Bonamia trichantha*, *Ipomoea cholulensis*, *Ipomoea tenuirostris* und *Lepistemon urceolatum*. Insgesamt konnten in 18 Arten ein bis drei Vertreter dieser Substanzgruppe, die 3 α -Acetoxynortropan, 3 β -Acetoxynortropan, 3 α -Acetytropan und 3 β -Acetytropan umfaßt, gefunden werden.

Zusätzlich zu den publizierten Resultaten (Jenett-Siems *et al.*, 2005b) konnte durch Hinzuziehen einer weiteren GC-MS-Messung der Wurzeln von *Merremia hederacea* (Wildmaterial) das Inhaltsstoffspektrum um 3 β -Tropanol und 3 α -Acetytropan erweitert werden.

Die Acetytropane nehmen unter biogenetischen Gesichtspunkten innerhalb der 3-Tropanolester vermutlich eine Sonderstellung ein. Auf diese wird in der Diskussion unter 3.1 näher eingegangen.

2.1.2.2 3-Tropanolester

Die ersten aus Convolvulaceae isolierten Alkaloide überhaupt waren Ester des 3 α -Tropanols mit aromatischen Acylkomponenten: Orechhoff und Konowalowa gewannen aus den Samen von *Convolvulus pseudocantabricus* SCHRENK. ein Alkaloid, das sie als Convolvin bezeichneten (1933), und außerdem das Convolamin, das sie als Ester mit Veratrumsäure identifizierten (1934). Convolvin wurde als N-demethylierte Form des Convolamins strukturaufgeklärt (1935). Später beschrieben Aripova *et al.* (1977) die Gewinnung von Convalidin, dem 3 α -Vanilloyloxynortropan, aus den Wurzeln von *Convolvulus krauseanus* RGL. & SCHMALH. sowie des 3 α -Vanilloyloxytropans (Aripova und Yunusov, 1979).

Der Zuwachs an Referenzsubstanzen durch Isolierungen und die über Jahre gewonnenen Erfahrungswerte ermöglichten in der Zwischenzeit die Identifizierung einer Vielzahl von

Tropanalkaloiden. Mittlerweile kann behauptet werden, daß die Ester der beiden epimeren 3-Tropanole angesichts ihrer weiten Verbreitung sowie der Vielfalt der Strukturvarianten der Acylkomponente die größte Inhaltsstoffgruppe innerhalb der Convolvulaceae darstellen. Durch die Vermessung zahlloser Basen-Extrakte von Convolvulaceae war es außerdem möglich, bezüglich des Auftretens von Stereoisomeren folgende Gesetzmäßigkeiten aufzustellen: Im GC-MS erscheint unter den als Standardbedingungen etablierten Versuchsparametern stets der 3α -Tropanolester vor dem 3β -Tropanolester und bei aliphatischen Acylresten die *threo*-Form vor der *erythro*-Form. So läßt sich bei Basenpaaren – also Verbindungen gleicher Molmasse mit übereinstimmendem Massenspektrum, aber unterschiedlichen RIs – meist die Konfiguration aus ihrer Reihenfolge im GC-MS ableiten. Während in den vorangeegangenen Arbeiten des Arbeitskreises (Jenett-Siems, 1996; Henrici, 1996; Mann, 1997; Tofern, 1999) noch alle Tropane in einer Tabelle zusammengefaßt werden, wurde hier aufgrund des umfangreichen Datenmaterials dazu übergegangen, diese Verbindungsklasse in verschiedene Kategorien einzuteilen. Die per GC-MS nachgewiesenen 3-Tropanolester einschließlich der am Stickstoff demethylierten Derivate werden aus Gründen der Übersichtlichkeit im Folgenden anhand ihrer Substituenten aufgeteilt. Dies erschien auch vor dem Hintergrund mutmaßlicher biogenetischer Zusammenhänge sinnvoll. Die Verbindungen sind jeweils nach steigenden Retentionsindices (RIs) geordnet; diese Vorgehensweise wurde vereinzelt zugunsten der Gliederung nach Substituentengruppen aufgeweicht.

In den ersten beiden Tabellen **Tab. 3** und **Tab. 4** finden sich die aliphatischen 3-Tropanolester in *Ipomoea*-Arten und in Spezies anderer Gattungen; um ein besseres Gesamtbild zu vermitteln, werden auch die 3-Acetoxytropane hier nochmals aufgeführt, da sie ja ebenfalls aliphatische Tropanolester darstellen.

Tab. 5 und **Tab.6** enthalten die 3-Tropanolester mit aromatischen Substituenten. Acylkomponenten sind fast durchgängig Benzoesäure und Hydroxyzimtsäure, wobei diese jeweils in den verschiedensten Varianten hydroxyliert und/oder methoxyliert sein können; hinzu kommt Nicotinsäure.

Den dritten Teil bilden die als Convolvulaceen-spezifisch zu erachtenden 3-Tropanolester – zum einen die Merresectine mit ihren hydrierten Formen wie Consabatin und Consiculin (Merresectine s.l.), zum anderen die Bonabiline – in den **Tab. 7** und **Tab.8**. Mit in die **Tab. 7** und **Tab.8** aufgenommen wurden 3-Monoester mit nicht abschließend identifizierbaren Substituenten (s. a. weiter unten).

Dreizehn Spezies finden keinen Niederschlag in den Tabellen des Kapitels 2.1.2.2:

Bonamia dietrichiana, *B. trichantha*, *Evolvulus glomeratus*, *Ipomoea cholulensis*, *I. coccinea*, *I. ochracea*, *I. pes-tigridis*, *I. pubescens*, *I. tenuirostris*, *I. tiliacea*, *Lepistemon urceolatum* und *Polymeria ambigua*, bei denen außer einfachen Tropanolen und/oder deren acetylierten Derivaten keine weiteren Tropan-Alkaloide gefunden werden konnten. Außerdem entfällt *Ipomoea ternifolia* var. *leptotoma*, von der nicht genügend Biomasse für einen Screening-Ansatz zur Verfügung stand. Grenzfälle bilden *Ipomoea coptica*, *Merremia pterygocaulos* und *Operculina riedeliana*, die nur unbekannte Verbindungen enthalten, bei denen es sich aber laut Massenspektrum um 3-Tropanolester handeln könnte.

	<i>Ipomoea abrupta</i>	<i>I. arborescens</i>	<i>I. argillicola</i>	<i>I. asarifolia</i>	<i>I. bonariensis</i>	<i>I. coptica</i>	<i>I. cristulata</i>	<i>I. hederacea</i>	<i>I. hildebrandtii</i>	<i>I. lonchophylla</i>	<i>I. mauritiana</i>	<i>I. muelleri</i>	<i>I. plebeia</i>	<i>I. shirambensis</i>	<i>I. tricolor</i> cv. „Flying Saucers“	<i>I. tricolor</i> cv. „Heavenly Blue“ (Kanarische Inseln)	<i>I. tricolor</i> cv. „Heavenly Blue“ (BAYWA)	<i>I. velutina</i>
3 α -Acetoxynortropan										+ 1		+ 3,5	+ 1,3					
3 β -Acetoxynortropan																		
3 α -Acetoxytropan	+ 1,2		+ 3,4				+ 7			+ 1,3		+ 3,5	+ 1,3,9			+ 8		
3 β -Acetoxytropan			+ 4				+ 7						+ 3				+ 3	
3 α -Propionyloxytropan					? 1							+ 3,5						
3 β -Propionyloxytropan																		
3 α -Isobutyryloxytropan																		
3 β -Isobutyryloxytropan							+ 7											
3-(Hydroxybutyryloxy)tropan																		
3 α -(2'-Methylbutyryloxy)nortropan																		
3 α -(2'-Methylbutyryloxy)tropan							+ 7											
3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan	+ 2						+ 7											
3 α -Isovaleroyloxytropan																		
3 β -Isovaleroyloxytropan																		
3-(Hydroxypentanoyloxy)nortropan																		
3-(Hydroxypentanoyloxy)tropan																		
3 β -Tigloyloxyntropan																		
3 α -Tigloyloxytropan	+ 1									+ 3								
3 β -Tigloyloxytropan													+ 3					
3 α -(Hydroxyisovaleroyloxy)tropan																		
3 β -(Hydroxyisovaleroyloxy)tropan																		
3 α -(Hydroxybutyryloxy)tropan																		
3 β -(Hydroxybutyryloxy)tropan																		
3 α -(3'-Hydroxy-2'-methyl-butiryloxy)tropan	+ 1																	
3 β -(3'-Hydroxy-2'-methyl-butiryloxy)tropan (Astrimalvin B)	+ 1												+ 3					
Astrimalvin A-N-oxid																		

Tab. 3: GC-MS-Tabelle aliphatischer 3-Tropanolester in *Ipomoea*-Arten

1 Wurzeln (ggf. mit Rhizomen)
2 (verholzter) Sproß
3 Kraut

4 Blätter
5 Ganzpflanze
6 Blüten

7 Früchte mit Samen
8 Samen
9 Keimlinge

	<i>Astripomoea malvaceae</i>	<i>Bonamia spectabilis</i>	<i>Calystegia silvatica</i>	<i>Convolvulus graminetinus</i>	<i>Convolvulus sabatius</i>	<i>Convolvulus sagittatus</i>	<i>Dichondra sericea</i>	<i>Evolvulus alsinoides</i>	<i>Evolvulus nummularius</i>	<i>Falkia repens</i>	<i>Maripa nicaraguensis</i>	<i>Maripa panamensis</i>	<i>Merremia hederacea</i>	<i>Merremia pterygocaulos</i>	<i>Merremia quinata</i>	<i>Operculina aequisejala</i>	<i>Operculina riedeliana</i>	<i>Polymeria calycina</i>
3 α -Acetoxynortropan										+ 1,3,5								
3 β -Acetoxynortropan																		
3 α -Acetoxytropan		+ 3		+ 1,3			+ 3			+ 1,3,5			+ 1					
3 β -Acetoxytropan							+ 3		+ 5	+ 1,3								
3 α -Propionyloxytropan				+ 3						+ 1		+ 2,4						
3 β -Propionyloxytropan										+ 1		+ 4						
3 α -Isobutyryloxytropan										+ 1,5							+ 1	
3 β -Isobutyryloxytropan										+ 1								
3-(Hydroxybutyryloxy)tropan																	+ 1	
3 α -(2'-Methylbutyryloxy)nortropan										+ 5							+ 1	
3 α -(2'-Methylbutyryloxy)tropan										+ 1,3,5								
3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan										+ 1,3,5								
3 α -Isovaleroyloxytropan							+ 3			+ 3								
3 β -Isovaleroyloxytropan							+ 3			+ 3								
3-(Hydroxypentanoyloxy)nortropan																	+ 1	
3-(Hydroxypentanoyloxy)tropan																	+ 1,3	
3 β -Tigloyloxynortropan						+ 1												
3 α -Tigloyloxytropan							+ 3			+ 1,3,5								
3 β -Tigloyloxytropan	+ 3						+ 3			+ 1,5								
3 α -(Hydroxyisovaleroyloxy)tropan										+ 1		+ 4						
3 β -(Hydroxyisovaleroyloxy)tropan												+ 4						
3 α -(Hydroxybutyryloxy)tropan										+ 1							+ 1,3	
3 β -(Hydroxybutyryloxy)tropan										+ 1		? 4						
3 α -(3'-Hydroxy-2'-methyl-butiryloxy)tropan										+ 1,5							+ 1	
3 β -(3'-Hydroxy-2'-methyl-butiryloxy)tropan (Astrimalvin B)	+ 1,3					+ 1		+ 3		+ 1,5							+ 1	
Astrimalvin A-N-oxid	+ 1,3																	

Tab. 4: GC-MS-Tabelle aliphatischer 3-Tropanolester in anderen Gattungen

1 Wurzeln (ggf. mit Rhizomen)
2 (verholzter) Sproß
3 Kraut

4 Blätter
5 Ganzpflanze
6 Blüten

7 Früchte mit Samen
8 Samen
9 Keimlinge

	<i>Ipomoea abrupta</i>	<i>I. arborescens</i>	<i>I. argillicola</i>	<i>I. asarifolia</i>	<i>I. bonariensis</i>	<i>I. coptica</i>	<i>I. cristulata</i>	<i>I. hederacea</i>	<i>I. hildebrandtii</i>	<i>I. lonchophylla</i>	<i>I. mauritiana</i>	<i>I. muelleri</i>	<i>I. plebeia</i>	<i>I. shirambensis</i>	<i>I. tricolor</i> cv. „Flying Saucers“	<i>I. tricolor</i> cv. „Heavenly Blue“ (Kanarische Inseln)	<i>I. tricolor</i> cv. „Heavenly Blue“ (BAYWA)	<i>I. velutina</i>
3 α -Benzoyloxynortropan															+ 3	+ 3		
3 α -Benzoyloxytropan			+ 3						+ 3						+ 1	+ 3		
3 β -Benzoyloxytropan (Tropacocain)			+ 3,4						+ 3									
3 α (?)-Nicotinoyloxynortropan															+ 1,3		+ 1,3	
3 α -Nicotinoyloxytropan			+ 3,4						+ 3			+ 3	+ 3		+ 1,3		+ 1,3	
3 β -Nicotinoyloxytropan																		
3 α -(4'-Methoxy-benzoyloxy)nortropan		+ 1													+ 1,3	+ 1,3,6,8	+ 1,3	
3 β -(4'-Methoxy-benzoyloxy)nortropan															+ 3		+ 1	
3 α -(4'-Methoxy-benzoyloxy)tropan (Datumetin)									+ 1						+ 1	+ 1,3,6,8	+ 1,3	
3 α -(4'-Hydroxy-benzoyloxy)tropan (3 α - <i>p</i> -Cochlearin)		+ 1	+ 3,4						+ 1,3			+ 5	+ 9		+ 1,3	+ 1,3	+ 3	
3 β -(4'-Hydroxy-benzoyloxy)tropan (3 β - <i>p</i> -Cochlearin)		+ 1													+ 1	+ 8	+ 1,3	
3 α -Vanilloyloxytropan (Phyllalbin)		+ 1							+ 1,3				+ 1,3,9		+ 1	+ 1	+ 1,3	
3 β -Vanilloyloxytropan (Concneorin)									+ 1,3								+ 1	
3 α -Veratroyloxynortropan (Convolvulin)				+ 8														
3 α -Veratroyloxytropan (Convolamin)				+ 8														
3-(Hydroxy-methoxy-benzoyloxy)-tropan																+ 1		
3 β -(<i>x</i> , <i>y</i> '-Dimethoxy-4'-hydroxybenzoyloxy)tropan													+ 1,3					
3 β -Cumaroyloxytropan									+ 1				+ 1					
3 α -(Dimethoxy-hydroxy-benzoyloxy)tropan																		
3 β -(Dimethoxy-hydroxy-benzoyloxy)tropan																		
3 α - <i>trans</i> -Feruloyloxytropan					+ 1								+ 1		+ 1		+ 1	
3 β - <i>trans</i> -Feruloyloxytropan					+ 1				+ 1,3				+ 1					
3 α - <i>trans</i> -Isoferuloyloxytropan													? 3					
3 β - <i>trans</i> -Isoferuloyloxytropan													+ 1					
3 α -(3',4',5'-Trimethoxy-cinnamoyloxy)tropan																		
3 β -(3',4',5'-Trimethoxy-cinnamoyloxy)tropan																		
3 α -Sinapoyloxytropan																		
3 β -Sinapoyloxytropan																		

Tab. 5: GC-MS-Tabelle aromatischer 3-Tropanolester in *Ipomoea*-Arten

1 Wurzeln (ggf. mit Rhizomen)
2 (verholzter) Sproß
3 Kraut

4 Blätter
5 Ganzpflanze
6 Blüten

7 Früchte mit Samen
8 Samen
9 Keimlinge

	<i>Astripomoea malvaceae</i>	<i>Bonamia spectabilis</i>	<i>Calystegia silvatica</i>	<i>Convolvulus graminetinus</i>	<i>Convolvulus sabatius</i>	<i>Convolvulus sagittatus</i>	<i>Dichondra sericea</i>	<i>Evolvulus alsinoides</i>	<i>Evolvulus nummularius</i>	<i>Falkia repens</i>	<i>Maripa nicaraguensis</i>	<i>Maripa panamensis</i>	<i>Merremia hederacea</i>	<i>Merremia pterygocaulos</i>	<i>Merremia quinata</i>	<i>Operculina aequiseipala</i>	<i>Operculina riedeliana</i>	<i>Polymeria calycina</i>
3 α -Benzoyloxynortropan																		
3 α -Benzoyloxytropan									+ 5									
3 β -Benzoyloxytropan (Tropacocain)									+ 5									
3 α (?)-Nicotinoyloxynortropan																		
3 α -Nicotinoyloxytropan		+ 1					? ₃			+ 1								
3 β -Nicotinoyloxytropan							+ 3			+ 1								
3 α -(4'-Methoxy-benzoyloxy)nortropan																		
3 β -(4'-Methoxy-benzoyloxy)nortropan																		
3 α -(4'-Methoxy-benzoyloxy)tropan (Datumetin)																		
3 α -(4'-Hydroxy-benzoyloxy)tropan (3 α - <i>p</i> -Cochlearin)					+ 1											+ 1		
3 β -(4'-Hydroxy-benzoyloxy)tropan (3 β - <i>p</i> -Cochlearin)					+ 1,6						+ 2,4	+ 2						
3 α -Vanilloyloxytropan (Phyllalbin)			+ 1		+ 1		+ 3			+ 1,3	+ 2	+ 2,4	+ 3					
3 β -Vanilloyloxytropan (Concneorin)		+ 3		+ 1			+ 3			+ 1,3	+ 2,4	+ 2,4				+ 1		
3 α -Veratroyloxynortropan (Convolvulin)																		
3 α -Veratroyloxytropan (Convolamin)																		
3-(Hydroxy-methoxy-benzoyloxy)-tropan										+ 3								
3 β -(x',y'-Dimethoxy-4'-hydroxybenzoyloxy)tropan																		
3 β -Cumaroyloxytropan				+ 1					+ 5									
3 α -(Dimethoxy-hydroxy-benzoyloxy)tropan										+ 1,3								
3 β -(Dimethoxy-hydroxy-benzoyloxy)tropan					+ 1					+ 1,3								
3 α - <i>trans</i> -Feruloyloxytropan						+ 1						+ 2						
3 β - <i>trans</i> -Feruloyloxytropan				+ 1		+ 1					+ 2	+ 2	+ 1					
3 α - <i>trans</i> -Isoferuloyloxytropan							+ 3			+ 3								
3 β - <i>trans</i> -Isoferuloyloxytropan							+ 3			+ 3								
3 α -(3',4',5'-Trimethoxy-cinnamoyloxy)tropan										+ 1								
3 β -(3',4',5'-Trimethoxy-cinnamoyloxy)tropan							+ 3			+ 1								
3 α -Sinapoyloxytropan										+ 1		+ 2						
3 β -Sinapoyloxytropan										+ 1,3								

Tab. 6: GC-MS-Tabelle aromatischer 3-Tropanolester in anderen Gattungen

1 Wurzeln (ggf. mit Rhizomen)
2 (verholzter) Sproß
3 Kraut

4 Blätter
5 Ganzpflanze
6 Blüten

7 Früchte mit Samen
8 Samen
9 Keimlinge

	<i>Ipomoea abrupta</i>	<i>I. arborescens</i>	<i>I. argillicola</i>	<i>I. asarifolia</i>	<i>I. bonariensis</i>	<i>I. coptica</i>	<i>I. cristulata</i>	<i>I. hederacea</i>	<i>I. hildebrandtii</i>	<i>I. lonchophylla</i>	<i>I. mauritiana</i>	<i>I. muelleri</i>	<i>I. plebeia</i>	<i>I. shirambensis</i>	<i>I. tricolor</i> cv. „Flying Saucers“	<i>I. tricolor</i> cv. „Heavenly Blue“ (Kanarische Inseln)	<i>I. tricolor</i> cv. „Heavenly Blue“ (BAYWA)	<i>I. velutina</i>
3 α -(4'-Methoxybenzoyloxy)nortropan (Merresectin A)		+ 1													+ 1,3	+ 1,3,6,8	+ 1,3	
3 β -(4'-Methoxybenzoyloxy)nortropan (3 β -Merresectin A)															+ 3		+ 1	
Consabatin													+ 3					
4'-Dihydroconsabatin-Isomer																		
3 α -Dehydromerresectin E (Merresectin H)																		
4'-Dihydroconsabatin																		
Consiculin																		
3 α -(4'-Hydroxy-3'-prenyl-benzoyloxy)tropan (Merresectin E)			+ 3,4									+ 3,5				+ 1,3		+ 1
3 β -(4'-Hydroxy-3'-prenyl-benzoyloxy)tropan (3 β -Merresectin E)																		
3 α -(4'-Hydroxy-3'-methoxy-5'-prenyl-benzoyloxy)tropan (Merresectin D)																		
3 β -(4'-Hydroxy-3'-methoxy-5'-prenyl-benzoyloxy)tropan (3 β -Merresectin D)								? 2										
3 α -Dehydromerresectin C (Merresectin F)														? 1		? 3		
3 α -Merresectin C		+ 1									+ 1	+ 3		? 1		+ 1,3		
3 β -Merresectin C													+ 3					
Bonabilin B																		
Bonabilin A																		
unbekannte 3-Nortropanolester *													+ 3		+ 3		+ 3	
unbekannte 3-Tropanolester *	+ 3		+ 3,4			? 5						+ 3,5	+ 1,3,9		+ 1	+ 1,3,6		

Tab. 7: GC-MS-Tabelle Convolvulaceen-spezifischer 3-Tropanolester in *Ipomoea*-Arten

1 Wurzeln (ggf. mit Rhizomen)
2 (verholzter) Sproß
3 Kraut

4 Blätter
5 Ganzpflanze
6 Blüten

7 Früchte mit Samen
8 Samen
9 Keimlinge

* Anzahl der Verbindungen: + 1-5
++ 6-10
+++ 11-15
++++ 16-20

	<i>Astripomoea malvaceae</i>	<i>Bonamia spectabilis</i>	<i>Calystegia silvatica</i>	<i>Convolvulus graminetinus</i>	<i>Convolvulus sabatius</i>	<i>Convolvulus sagittatus</i>	<i>Dichondra sericea</i>	<i>Evolvulus alsinoides</i>	<i>Evolvulus nummularius</i>	<i>Falkia repens</i>	<i>Maripa nicaraguensis</i>	<i>Maripa panamensis</i>	<i>Merremia hederacea</i>	<i>Merremia pterygocaulos</i>	<i>Merremia quinata</i>	<i>Operculina aequiseipala</i>	<i>Operculina riedeliana</i>	<i>Polymeria calycina</i>
3 α -(4'-Methoxybenzoyloxy)nortropan (Merresectin A)																		
3 β -(4'-Methoxybenzoyloxy)nortropan (3 β -Merresectin A)																		
Consabatin					+ _{1,3,6,7}			+ ₃					? ₃		+ ₃			+ ₃
4'-Dihydroconsabatin-Isomer					+ _{1,3,6,7}										+ ₃			
3 α -Dehydromerresectin E (Merresectin H)					+ _{1,3}													
4'-Dihydroconsabatin					+ _{1,3,6,7}			+ ₃							+ ₃			
Consiculin					+ _{1,3}													
3 α -(4'-Hydroxy-3'-prenyl-benzoyloxy)tropan (Merresectin E)		+ _{1,3}			+ _{1,3,7}										+ ₃	+ ₁		
3 β -(4'-Hydroxy-3'-prenyl-benzoyloxy)tropan (3 β -Merresectin E)					+ ₁													
3 α -(4'-Hydroxy-3'-methoxy-5'-prenyl-benzoyloxy)tropan (Merresectin D)					+ ₁										+ ₃			
3 β -(4'-Hydroxy-3'-methoxy-5'-prenyl-benzoyloxy)tropan (3 β -Merresectin D)																+ ₁		
3 α -Dehydromerresectin C (Merresectin F)					+ ₁										+ ₃			
3 α -Merresectin C					+ ₁			? ₃							+ ₃	+ ₁	? ₂	
3 β -Merresectin C					+ ₁											+ ₁		? ₃
Bonabilin B		+ _{1,3}																
Bonabilin A		+ _{1,3}																
unbekannte 3-Nortropanolester *	+ _{1,3}	+ ₁ ++ ₃			+ ₁													
unbekannte 3-Tropanolester *	++ _{1,3}	+++ _{1,3}			+ _{3,6,7} ++ ₁	+ _{1,3}	+ ₃	++ ₃		+ ₃ ++++ ₁	+ _{2,4}	+ _{2,4}	+ ₁	? ₃	? ₃		? ₂	+ ₃

Tab. 8: GC-MS-Tabelle Convolvulaceen-spezifischer 3-Tropanolester in anderen Gattungen

1 Wurzeln (ggf. mit Rhizomen)
2 (verholzter) Sproß
3 Kraut

4 Blätter
5 Ganzpflanze
6 Blüten

7 Früchte mit Samen
8 Samen
9 Keimlinge

* Anzahl der Verbindungen: + 1-5
++ 6-10
+++ 11-15
++++ 16-20

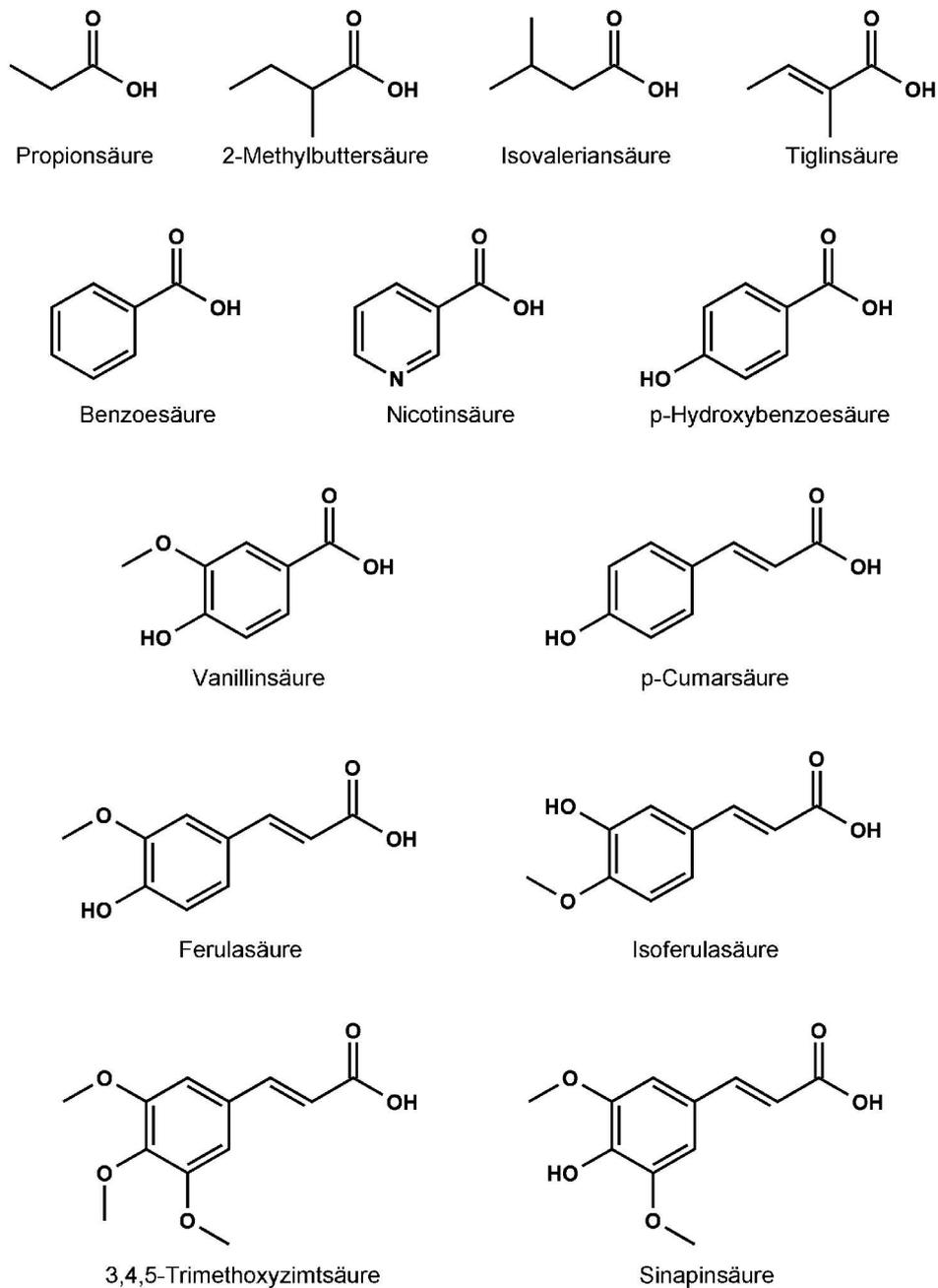


Abb. 16: Acylkomponenten detektierter aliphatischer und aromatischer 3-Tropanolester

Das Basenpaar bei RI 1700 und RI 1707 im GC-MS-Spektrum der Wurzeln und Rhizome von *Falkia repens* (Tab. 4) konnte durch die Gewinnung des Astrimalvin B aus der Wurzelrinde von *Astripomoea malvacea* eindeutig als 3α -(*threo*-3'-Hydroxy-2'-methylbutyryloxy)tropan und 3β -(*threo*-3'-Hydroxy-2'-methylbutyryloxy)tropan identifiziert

werden, wobei letzteres dem Astrimalvin B entspricht. Diese hier erstmals aus einer Convolvulaceae isolierte Substanz konnte auch in den Wurzeln von *Convolvulus sagittatus* und im Kraut von *Evolvulus alsinoides* und *Ipomoea plebeia* sowie zusammen mit dem 3α -Epimer in den Wurzeln von *Ipomoea abrupta* und *Operculina aequisejala* nachgewiesen werden. Weitere anhand ihres Massenerfalls (s. a. 2.2.4.2) als 3-Tropanolester identifizierbare Substanzen mit MG 241 BP 124 traten als Verbindungspaar bei RI 1671 und RI 1678 in den Blättern von *Maripa panamensis* (Provenienz Guanche) auf. In Zusammenhang mit dem von Jenett-Siems *et al.* (2005b) publizierten 3-(Hydroxyisovaleroyloxy)tropan bei RI 1669 können sie mit 3α - und 3β -(Hydroxyisovaleroyloxy)tropan gleichgesetzt werden. In dieser Blattdroge fand sich außerdem eine Substanz mit RI 1723 MG 241 BP 124, die zudem in der Stengelprobe aus Guanche enthalten war sowie in einer früheren Krauternte von *Ipomoea plebeia*. In einer zusätzlichen Stengelprobe von *Maripa panamensis* aus Gamboa hingegen wurde eine Substanz mit RI 1738 MG 241 BP 124 beobachtet, die auch in den Blättern von *Maripa nicaraguensis* und im Kraut von *Ipomoea abrupta* detektiert werden konnte. Denkbar wäre angesichts der oben beschriebenen Gesetzmäßigkeit, derzufolge im GC-MS zuerst die *threo*-Form einer Verbindung und danach die *erythro*-Form von der Säule eluiert wird, daß RI 1723 und RI 1738 das *erythro*-Basenpaar des 3-(3'-Hydroxy-2'-methylbutyryloxy)tropan darstellen. Da es sich hier allerdings eher um eine Hypothese handelt, fließen diese Verbindungen in die unbekanntenen 3-Tropanolester (**Tab. 7** und **Tab. 8**) ein.

Aus dem Bereich der aromatischen 3-Tropanolester seien die Feruloyloxytropane herausgegriffen, da es sich hier um eine Gruppe nah verwandter Verbindungen handelt, deren Zuordnung sich in der Vergangenheit oft als schwierig erwies – denn neben den 3α -/ 3β -Epimeren treten vor allem Strukturvarianten in der Acylkomponente in Form von *cis*- und *trans*-Ferulasäure sowie deren Isoformen auf. Eingedenk dieser Problematik synthetisierte P. Bachmann die acht möglichen Isomere als Referenzsubstanzen zur GC-MS-Vermessung (Witte, 2000).

3α - <i>cis</i> -Feruloyloxytropan	2497	3α - <i>trans</i> -Feruloyloxytropan	2680
3β - <i>cis</i> -Feruloyloxytropan	2520	3α - <i>trans</i> -Isoferuloyloxytropan	2730
3α - <i>cis</i> -Isoferuloyloxytropan	2546	3β - <i>trans</i> -Feruloyloxytropan	2733
3β - <i>cis</i> -Isoferuloyloxytropan	2570	3β - <i>trans</i> -Isoferuloyloxytropan	2775

Tab. 9: von P. Bachmann synthetisierte 3-Feruloyloxytropane mit RIs (nach Witte, 2000)

Es wird sofort ersichtlich, daß die *cis*-Isomere insgesamt sehr viel niedrigere RIs als die entsprechenden *trans*-Isomere aufweisen. Damit können in den 47 Spezies dieser Arbeit alle 3-Feruloyloxytropane der *cis*-Reihe ausgeschlossen werden. Sehr gut zuordnen läßt sich das 3α -*trans*-Feruloyloxytropan, da es als einziger Vertreter der *trans*-Reihe einen Retentionsindex unter 2700 besitzt. Aufgrund des mehrfachen Auftretens als 3-Epimerenpaar war außerdem die Identifizierung des 3β -*trans*-Feruloyloxytropan möglich. Beide sind

Bestandteil des Inhaltsstoffspektrums von *Convolvulus sagittatus*, *Ipomoea bonariensis*, *Ipomoea plebeia* und *Maripa panamensis*. Nur das 3α -Isomer enthielten die Wurzeln beider Kultivare von *Ipomoea tricolor*, nur das 3β -Isomer war in den Wurzeln von *Convolvulus graminetinus* und *Maripa nicaraguensis* und in der Stengelprobe aus Gamboa von *Maripa panamensis* zu finden.

Auffällig ist, daß bei beiden Vertretern der Dichondreae, *Dichondra sericea* und *Falkia repens*, zwei Verbindungen mit abweichenden Retentionsindices aufgefunden wurden. Sie konnten mithilfe der Isolierung von 3β -*trans*-Isoferuloyloxytropan aus den Wurzeln und Rhizomen von *Falkia repens* (s. 2.2.4.2.1.8) als 3-Epimerenpaar der *trans*-Isoferulasäure identifiziert werden. Dies kann als erfolgreiche Verknüpfung zwischen der Isolierung von Einzelsubstanzen und der GC-MS-Analyse der Extrakte gewertet werden, denn hinsichtlich der Substitution mit *trans*-Ferulasäure bzw. *trans*-Isoferulasäure lassen sich kaum signifikante Unterschiede in den $^1\text{H-NMR}$ - und den EI-Massenspektren erkennen; die Identität als 3β -*trans*-Isoferuloyloxytropan kann allerdings aufgrund des deutlich höheren RIs klar festgestellt werden. Diese gemeinsame Besonderheit ist nicht weiter verwunderlich, denn auch sonst weisen diese zwei Spezies ein ähnliches Inhaltsstoffspektrum auf. Beide enthalten in erster Linie aliphatische und aromatische Ester der 3-Tropanole, wobei diese meist als Isomerenpaare auftreten. Allerdings überwiegt bei *Dichondra sericea* stets deutlich der 3α -Tropanolester, wohingegen bei *Falkia repens* die Ester beider epimerer 3-Tropanole in nahezu gleicher Menge bzw. eher mit einem leichten Überschuß des 3β -Tropanolesters vorliegen (s. a. 3.3).

Die oben zitierten Inhaltsstoffe von *Convolvulus*-Arten Convolvin und Convolamin konnten mittlerweile nicht nur für eine lateinamerikanische *Evolvulus*-Art beschrieben werden (Fonseca und Salive, 1972), sondern wurden im Rahmen dieser Arbeit auch in den Samen von *Ipomoea asarifolia* nachgewiesen, womit deren Verbreitung um die Gattung *Ipomoea* erweitert werden kann.

Interessant sind außerdem die Ergebnisse bezüglich *Ipomoea tricolor*, bei der neben den Tropanen zugleich die Ergoline Hauptalkaloidtyp sind:

Bei zwei der drei untersuchten Exemplare – nämlich dem Kultivar „Flying Saucers“ und dem Kultivar „Heavenly Blue“ Provenienz BAYWA, Gunzenhausen – stellen 3α (?)-Nicotinoxyloxytropan und Merresectin A die basischen Hauptinhaltsstoffe dar, im Kraut gefolgt von Tropan-3-on, in den Wurzeln von Cuscohygrin und den beiden epimeren 3-Tropanolen. Bemerkenswerterweise tritt Merresectin A im Kraut des Kultivars „Flying Saucers“ als Basenpaar auf, was die Existenz eines 3β -Isomers nahelegt. Dieselbe Verbindung kann in den Wurzeln der aus Gunzenhausen stammenden Individuen des Kultivars „Heavenly Blue“ wiedergefunden werden, zusammen mit größeren Mengen Datometin, das als N-methyliertes Merresectin A verstanden werden kann. Daß es sich bei RI 2228 MG 261 BP 110 tatsächlich um das 3β -Merresectin A handeln dürfte, läßt sich zudem aus der Beobachtung ableiten, daß hier von den ebenso benzylierten 3-Tropanolestern *p*-Cochlearin und Vanilloyloxytropan ebenfalls ganz überwiegend die 3β -Isomere akkumuliert werden. Während bei *Ipomoea tricolor* cv. „Flying Saucers“ keinerlei Mutterkornalkaloide gefunden werden können (s. dazu 3.1.4), sind sie bei *Ipomoea tricolor* cv.

„Heavenly Blue“ (BAYWA) durchaus als Peaks mittlerer Größe präsent (s. a. 2.1.2.5), wobei der im Vergleich zu der im Folgenden beschriebenen Provenienz geringere Gehalt möglicherweise auch auf die durch den Postversand bedingte längere Zeit bis zur Verarbeitung der Droge zurückgeführt werden kann.

Etwas abweichend gestalten sich nämlich die Ergebnisse bezüglich der von den Kanarischen Inseln stammenden *Ipomoea tricolor* cv. „Heavenly Blue“, vermutlich auch weil das Saatgut am wenigsten chemisch behandelt wurde (Begasung, Fungizide; s. a. 3.1.4). Die oberirdischen Teile sind dominiert von den Ergolinen (s. 2.1.2.5) mit Chanoclavin als Hauptkomponente; dies gilt erwartungsgemäß insbesondere für die Samen und überraschenderweise außerdem für die hier erstmals untersuchten Blüten. Im Kraut werden zunehmend Tropanalkaloide – allen voran Merresectin A und 3α -*p*-Cochlearin – angereichert, die in den Wurzeln dann die vorherrschende Stoffgruppe darstellen, wohingegen Ergoline nur noch in kleineren Mengen anzutreffen sind. Interessanterweise kommt es in den Wurzeln auch zu einer Akkumulation von 3β -Tropanol; im Gegensatz zu den anderen Wurzelproben dieser Spezies übersteigt dessen Konzentration die des 3α -Tropanols bei Weitem, was 3β -Tropanol zugleich zur Hauptkomponente des Basen-Extraktes macht. Diese Befunde können gleichsam als Splitting des der Pflanze zur Verfügung stehenden chemischen Abwehrarsenals angesehen werden: Während die Tropanalkaloide die Wurzeln vor Fraßfeinden schützen, sind es in den oberirdischen Teilen, insbesondere in den reproduktiven Organen, die Ergoline.

Da Merresectin A als Nor-Derivat des aus Solanaceae bekannten Datumetin (Erstbeschreibung: Siddiqui *et al.*, 1986) unter Umständen keine Convolvulaceen-spezifische Verbindung ist und zudem keine bei den Merresectinen s.l. sonst durchgängig auftretende Isoprenyl-Seitenkette am Aromaten trägt, seine Erstbeschreibung jedoch zeitgleich mit dem Merresectin B erfolgte, was sich auch im Namen niederschlägt, ist es sowohl bei den aromatischen 3-Tropanolestern (**Tab. 5** und **Tab. 6**), als auch bei den Merresectinen s.l. (**Tab. 7** und **Tab. 8**) aufgeführt.

Hinsichtlich des Vorkommens der bisher nur für Convolvulaceae beschriebenen Merresectine kann beobachtet werden, daß sich deren Verbreitung auf einzelne Mitglieder der Genera *Convolvulus* und *Merremia* konzentriert. Eine ausgesprochene Akkumulation dieser Ester der Kuramersäure und abgeleiteter Verbindungen ist bei *Convolvulus sabatius* und auch bei *Merremia quinata* festzustellen. Allerdings können durchaus auch für die Gattungen *Bonamia*, *Evolvulus*, *Operculina* und *Polymeria* positive Resultate verzeichnet werden und für etwas mehr als ein Drittel der *Ipomoea*-Arten (9 von 23). Keinerlei Hinweise auf diesen Strukturtyp fanden sich bei fünf Gattungen, von denen jedoch jeweils nur ein Vertreter dem Screening unterzogen wurde. Im Einzelnen sind dies *Astripomoea malvacea*, *Calystegia silvatica*, *Dichondra sericea*, *Falkia repens* und *Lepistemon urceolatum*. Zusammenfassend können – wie auch innerhalb des Genus *Merremia* (Jenett-Siems *et al.*, 2005b) – Merresectin C und Merresectin E am häufigsten nachgewiesen werden.

Die aus den Wurzeln von *Bonamia spectabilis* gewonnenen Bonabiline, Ester des 3α -Tropanols mit bisher einzigartigen monoterpenoiden Acylkomponenten (s. 2.2.4.2.4), konnten in keiner anderen Spezies detektiert werden.

2.1.2.3 Di- und trisubstituierte Tropane

Trotz der weiten Verbreitung von Tropanalkaloiden innerhalb der Convolvulaceae wurden Tropan-diester bisher nur vereinzelt aus Windengewächsen isoliert: Aripova und Abdilalimov (1993) erhielten 6 β -Acetoxy-3 α -veratroyltropan als Convolacin aus den Wurzeln von *Convolvulus subhirsutus* RGL. & SCHMALH. und Henrici (1996) 3 α ,6 β -Di-*p*-methoxybenzoyloxytropan als Merredissin aus den Wurzeln von *Merremia dissecta* (JACQ.) HALLIER f.. Über das Vorkommen von trisubstituierten Tropanen wurde bei dieser Familie überhaupt noch nicht berichtet.

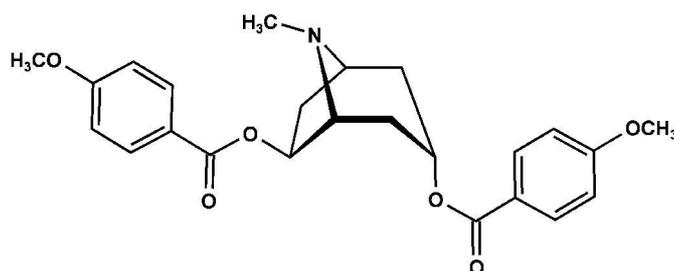


Abb.17: Merredissin

Das mag auch darin begründet liegen, daß diese komplexeren Verbindungen nicht so einfach zu identifizieren sind, treten doch je nach Substitutions- und Acylierungsmuster ganz unterschiedliche Basispeaks auf. Von den Solanaceae und den Erythroxylaceae her sind zahlreiche 3,6- bzw. 3,7-disubstituierte und 3,6,7-trisubstituierte Tropane bekannt, somit auch eine Reihe von Kernfragmenten der Massenspektrometrie beschrieben. Wesentliche Anhaltspunkte liefert die Arbeit von Christen *et al.* (1993): Als Indiz für eine 3,6-Disubstitution beispielsweise kann m/z 94 als Basispeak herangezogen werden; hierbei ist die 3-Hydroxy-Gruppe acyliert, während die Ethylenbrücke, die von C-6 und C-7 ausgebildet wird, nur hydroxyliert sein kann oder ebenfalls eine Acyloxy-Gruppe trägt. Denselben BP 94 weisen die trisubstituierten 3-Acyloxy-6,7-dihydroxytropane auf. Anhand der Zerfallsionen im Massenspektrum können neben Angaben über die Stellung der Substituenten auch Aussagen über ihre Art getroffen werden. Bei Tropanalkaloiden, die sowohl am Piperidin-Ring, als auch am Pyrrolidin-Ring substituiert sind, entsteht das wichtigste Massenfragment zur Ermittlung der Positionen der Substituenten durch Abspaltung der Ethylenbrücke. Trägt diese beispielsweise eine Hydroxy-Gruppe, so resultiert ein auffälliges Signal bei $[M - 44]^+$; sind die Positionen 6 und 7 hydroxyliert, liegt es bei $[M - 60]^+$. Bei Veresterung der Hydroxygruppe(n) vergrößert sich die Abgangsgruppe um die Acylkomponente.

Befindet sich hingegen in Position 3 eines brückensubstituierten Tropanes lediglich eine Hydroxy-Gruppe, liegt der Basispeak bei m/z 113, beim entsprechenden Tropan-3-on bei m/z 111. Die analogen 3-Hydroxy-6-acyloxy-nortropane weisen einen Basispeak m/z 99 auf (Jenett-Siems *et al.*, 2005b).

Laut Al-Said *et al.* (1986) prägen auch 3-Acyloxy-7-hydroxy-tropane einen Basispeak m/z 94 aus. Bei dem am Stickstoff demethylierten entsprechenden Nortropan erscheint als

Basispeak m/z 81 sowie ein deutliches Zerfallsion m/z 125. Als einen weiteren Monoester eines Dihydroxynortropans beschreiben Johns *et al.* (1971) das (+)-2 α -Benzoyloxy-3 β -hydroxy-nortropan. Das Massenspektrum weist als größtes Signal des fragmentierten Tropankörpers m/z 108 aus; m/z 125 ist ebenfalls ein auffälliges Fragment. Das Hydrolyseprodukt 2,3-Dihydroxynortropan zeigt als Basispeaks m/z 82 und m/z 140.

Die in dieser Arbeit aufgeführten mutmaßlichen 2-Acyloxy-7-hydroxy-nortropane weisen mit m/z 81 und m/z 125 als Basispeaks und einem halbmaximalen m/z 108 identische Zerfallsionen wie die 3-Acyloxy-7-hydroxy-nortropane und die 2-Acyloxy-3-hydroxy-nortropane auf. Die entsprechenden Tropane zeichnen sich durch Basispeaks bei m/z 95 und m/z 81 bzw. m/z 82 aus. Die postulierte 7 β -Konfiguration leitet sich daraus ab, daß die Substituenten der Ethylenbrücke aus sterischen Gründen in der Regel *exo*-ständig sind.

Die folgenden Ausführungen basieren zudem auf der Erfahrung – z. B. im Bereich der Pyrrolizidin-Alkaloide oder bei den 3-Tropanolestern aus *Falkia repens* (s. 2.2.4.2.1 und 3.3) und *Astripomoea malvacea* (s. 2.2.4.2.2 und 3.4), daß die in einer Droge vorhandenen Konglomerate verwandter Verbindungen in der Regel identische bzw. voneinander abgeleitete Einzelkomponenten aufweisen. Anhand dessen können in **Tab. 10** recht konkrete Strukturvorschläge gemacht werden. Ist ein zweiter Basispeak angegeben, so treten bei mehreren Nachweisen beide auf oder sie sind äquivalent.

Tab. 10: per GC-MS detektierte di- und trisubstituierte Tropane

Weil es sich bei den Strukturvorschlägen um nicht durch Isolierung bestätigte Molekülstrukturen handelt, sind diese mit Anführungszeichen versehen. Bezüglich Referenzliteratur für die übrigen Substanzen s. a. 5.3.3.2. Die Substituenten am Tropan-Grundkörper sind aus systematischen Gründen numerisch geordnet. Sind zwei Positionen durch „/“ getrennt (z. B. 6/7), kann der Substituent sich alternativ in beiden befinden. Da im AK Hartmann (TU Braunschweig) die Vergabe der Positionen der Kohlenstoff-Atome genau umgekehrt wie in dieser Arbeit (s. a. 2.2.4.3) erfolgt, ist das von Ionkova *et al.* (1994) beschriebene 3-Tigloyloxy-6-hydroxy-tropan hier als 3-Tigloyloxy-7-hydroxy-tropan aufgeführt.

Verbindung	RI	MG	BP	Droge
3,6/7				
7 β -Hydroxy-tropan-3-on?	1346	155	43(59)	<i>Polymeria calycina</i> , Kraut <i>Merremia hederacea</i> , Kraut (GH '95)
3,6-Dihydroxytropan (3 β ?,6 β ?)	1365	157	96(113)	<i>Ipomoea tiliacea</i> , Wurzeln <i>Ipomoea tiliacea</i> , Ausläufer
3-Hydroxy-6-butyryloxy-tropan	1634	227	113	<i>Operculina aequisepala</i> , Wurzeln <i>Operculina aequisepala</i> , Kraut
3-Hydroxy-6-(2'-methylbutyryloxy)tropan	1730	241	113	<i>Operculina aequisepala</i> , Wurzeln <i>Operculina aequisepala</i> , Kraut
„3 α ?-Tigloyloxy-7 β -hydroxy-tropan“	1778	239	94	<i>Evolvulus alsinoides</i> , ganze Pflanze <i>Evolvulus alsinoides</i> , Kraut
„3 β ?-Tigloyloxy-7 β -hydroxy-tropan“	1786	239	94	<i>Evolvulus alsinoides</i> , ganze Pflanze <i>Evolvulus alsinoides</i> , Kraut <i>Polymeria calycina</i> , Kraut

Verbindung	RI	MG	BP	Droge
3-Tigloyloxy-7-hydroxy-tropan	1825	239	94	<i>Evolvulus alsinoides</i> , Kraut
„x-Hydroxy-y-tigloyloxy-tropan“	1834	239	94	<i>Ipomoea abrupta</i> , Kraut <i>Evolvulus alsinoides</i> , Kraut
„3-Tigloyloxy-6/7-hydroxy-tropan“	1868	239	94	<i>Evolvulus alsinoides</i> , Kraut
„3-Tigloyloxy-6 β /7 β -methylbutyryloxy-6 β /7 β -hydroxy-tropan“	2013	339	94	<i>Evolvulus alsinoides</i> , Kraut <i>Polymeria calycina</i> , Kraut
„3-Tigloyloxy-6 β ,7 β -dihydroxy-tropan“	2037	255	94	<i>Evolvulus alsinoides</i> , Kraut
„3-Tigloyloxy-6 β /7 β -methylbutyryloxy-6 β /7 β -hydroxy-tropan“	2088	339	94	<i>Evolvulus alsinoides</i> , Kraut
„x-Hydroxy-y-(2'-methylbutyryloxy)-6 β /7 β -tigloyloxy-tropan“	2131	339	82(124)	<i>Evolvulus alsinoides</i> , Kraut <i>Polymeria calycina</i> , Kraut
„x-Hydroxy-y-(2'-methylbutyryloxy)-6 β /7 β -tigloyloxy-tropan“	2156	339	(82)124	<i>Evolvulus alsinoides</i> , Kraut <i>Polymeria calycina</i> , Kraut
„x-(3'-Hydroxy-2'-methylbutyryloxy)-y-tigloyloxy-6 β /7 β -hydroxy-tropan“	2308	355	94	<i>Evolvulus alsinoides</i> , Kraut
3 β ?(3'-Methylbutyryloxy-2'-methylbutyryloxy)-6/7-hydroxy-tropan	2261	341	94	<i>Astripomoea malvacea</i> , Kraut
3 β ?(3'-Tigloyloxy-2'-methylbutyryloxy)-6/7-hydroxy-tropan (6/7-Hydroxy-Astrimalvin A)	2332	339	94	<i>Astripomoea malvacea</i> , Kraut <i>Astripomoea malvacea</i> , Wurzelrinde
3 β ?(3'-Tigloyloxy-2'-methylbutyryloxy)-6,7-epoxy-tropan (6,7-Epoxy-Astrimalvin A)	2445	337	138	<i>Astripomoea malvacea</i> , Wurzelrinde <i>Astripomoea malvacea</i> , Kraut
2,(6)7				
„2 β ,7 β ?-Dihydroxy-nortropanol“	~1335	143	99	<i>Ipomoea asarifolia</i> , Wurzeln&Rhizom
„2 β ,7 β ?-Dihydroxy-nortropanol“	~1350	143	99	<i>Ipomoea asarifolia</i> , Wurzeln&Rhizom
„2-Methylbutyryloxy-7 β ?-hydroxy-nortropan“	1700	227	81	<i>Ipomoea asarifolia</i> , Wurzeln&Rhizom
„2 α -Methylbutyryloxy-7 β -hydroxy-tropan“	1708	241	(81)95	<i>Ipomoea velutina</i> , Kraut <i>Ipomoea velutina</i> , Wurzeln
„2 β ?-Methylbutyryloxy-6/7 β -hydroxy-tropan“	1717	241	82(95)	<i>Convolvulus graminetinus</i> , Kraut <i>Ipomoea plebeia</i> , Kraut (2001)
„2 β ?-Tigloyloxy-6/7 β -hydroxy-tropan“	1760	239	55(82)	<i>Ipomoea velutina</i> , Kraut <i>Convolvulus graminetinus</i> , Kraut
„2-Tigloyloxy-6/7-hydroxy-tropan“	1778	239	(95)96	<i>Convolvulus sagittatus</i> , Kraut

Verbindung	RI	MG	BP	Droge
„2 α ?-Tigloyloxy-7 β -hydroxy-nortropan“	1802	225	81(125)	<i>Ipomoea asarifolia</i> , Wurzeln&Rhizom <i>Ipomoea asarifolia</i> , Sproßachsen <i>Ipomoea asarifolia</i> , Blätter <i>Convolvulus sagittatus</i> , Wurzeln
„2-Tigloyloxy-6/7-hydroxy-tropan“	1806	239	95(96)	<i>Convolvulus sagittatus</i> , Wurzeln
„2-Tigloyloxy-6/7 β ?-hydroxy-tropan“	1813	239	55/82	<i>Ipomoea velutina</i> , Wurzeln <i>Ipomoea abrupta</i> , Sproßachsen <i>Ipomoea abrupta</i> , Wurzeln
„2?-Hydroxy-7 β ?-tigloyloxy-nortropan“	1815	225	81(125)	<i>Convolvulus graminetinus</i> , Wurzeln
2 α -Tigloyloxy-7 β -hydroxy-tropan (deacetyliertes Ipvelutin)	1818	(281) 239	82/95	<i>Ipomoea velutina</i> , Kraut <i>Ipomoea abrupta</i> , Sproßachsen <i>Convolvulus graminetinus</i> , Kraut <i>Convolvulus sagittatus</i> , Kraut
„2-Tigloyloxy-6/7-hydroxy-tropan“	1825	239	95(96)	<i>Convolvulus sagittatus</i> , Kraut
„2/3-Tigloyloxy-6/7-hydroxy-tropan“	1845	239	82(124)	<i>Convolvulus graminetinus</i> , Kraut
„2-Tigloyloxy-7 β -hydroxy-nortropan“	1860	225	(81)125	<i>Ipomoea velutina</i> , Wurzeln <i>Convolvulus sagittatus</i> , Kraut
„2 α ?-Hydroxymethylbutyryloxy-7 β -hydroxy-tropan“	1870	257	95	<i>Ipomoea velutina</i> , Kraut
„2 β ?-Hydroxymethylbutyryloxy-7 β -hydroxy-tropan“	1877	257	95	<i>Ipomoea velutina</i> , Kraut
„x-Hydroxy-2 α ?-tigloyloxy-7 β -hydroxy-tropan“	2088	255	95	<i>Ipomoea velutina</i> , Kraut
„x-Hydroxy-2 β ?-tigloyloxy-7 β -hydroxy-tropan“	2097	255	95	<i>Ipomoea velutina</i> , Kraut
„2/3-Tigloyloxy-2/3,6/7-dihydroxy-tropan“	2113	255	82(94)	<i>Convolvulus graminetinus</i> , Kraut
2,3				
2-Hydroxytropan-3 α -ol	1348	157	82	<i>Bonamia spectabilis</i> , Kraut

Aus der Gruppe der an der Ethylenbrücke sowie in Position 3 substituierten Tropan- und -triole einschließlich Estern konnten vier bekannte Verbindungen detektiert werden. In den Wurzeln und Ausläufern von *Ipomoea tiliacea* wurde das bei Freitas *et al.* (1996) beschriebene 3,6-Dihydroxytropan (RI 1365) nachgewiesen; da beide Proben ganz überwiegend 3 β -Tropanol enthalten und aus sterischen Gründen der Brückensubstituent zu- meist *exo*-ständig ist, kann eine 3 β ,6 β -Konfiguration vermutet werden. Kraut und Wurzeln

von *Operculina aequisejala* enthalten sowohl das bei Jenett-Siems *et al.* (2005b) aufgeführte 3-Hydroxy-6-butyryloxy-tropan (RI 1634), als auch eine von Ionkova *et al.* (1994) als 3-Hydroxy-6-(2'-methylbutyryloxy)tropan (RI 1730) identifizierte Verbindung. Dort ist außerdem das im Kraut von *Evolvulus alsinoides* nachweisbare 3-Tigloyloxy-7-hydroxy-tropan (RI 1825) aufgeführt.

Daneben können in diesem Bereich auch unbekannt Substanzen beschrieben werden: Wegen der Ähnlichkeit des Massenzerfalls, jedoch des um 20 erhöhten Retentionsindex im Vergleich zu dem von Henrici (1996) und Jenett-Siems *et al.* (2005b) beschriebenen 6 β -Hydroxy-tropan-3-on, könnte es sich bei RI 1346 MG 155 BP 43/59 um dessen 7-Isomer, also das 7 β -Hydroxy-tropan-3-on handeln.

Der Nachweis von fünf Verbindungen unterschiedlicher Retentionsindices (RI 1778, RI 1786, RI 1825, RI 1834 und RI 1868) mit MG 239 BP 94 konzentriert sich vor allem auf die oberirdischen Teile von *Evolvulus alsinoides*. Wie jeweils ein Fragment m/z 55 bestätigt, ist eine der beiden Hydroxygruppen mit Tiglinsäure verestert. Daß es sich hier und in den folgenden Fällen nicht um die konstitutionsisomere Angelikasäure handeln dürfte, kann aus der Tatsache abgeleitet werden, daß aus Convolvulaceae bisher ausschließlich Tiglinsäure als Acylkomponente isoliert wurde. Als Brückensubstituent kann in vier Fällen die unveresterte Hydroxygruppe ausgemacht werden, da ein auffälliges Fragment m/z 195 auftritt, das $[M - 44]^+$ entspricht und durch Abspaltung der für 6/7-hydroxylierte Tropane charakteristischen Abgangsgruppe $H_2C-CHOH$ entsteht. Bestätigend wurde RI 1825 bereits bei Witte *et al.* (1987) und Ionkova *et al.* (1994) als 3-Tigloyloxy-6-hydroxy-tropan (hier: 7!) beschrieben. Lediglich bei RI 1834 ist m/z 195 nur gering ausgeprägt, dafür jedoch das Zerfallsion m/z 156 von hoher Intensität, was auf ein abweichendes Substitutionsmuster hinweist.

Hinzu kommen sechs weitere Stoffe, die vermutlich einen zusätzlichen Substituenten tragen, was sich in ihrer deutlich erhöhten Molmasse niederschlägt. Bei einem dieser trisubstituierten Tropane, RI 2037 MG 255 BP 94, dürfte es sich aufgrund der Differenz von 16 Masseinheiten zu MG 239 um eine Hydroxygruppe handeln; begründet durch $[M - 60]^+$ mit m/z 195, das durch Verlust der Abgangsgruppe $HOHC-CHOH$ entsteht, kann von einer dihydroxylierten Ethylenbrücke ausgegangen werden. Eine Erhöhung der Molmasse auf MG 339, wie sie bei RI 2013, RI 2088, RI 2131 und RI 2156 zu verzeichnen ist, macht mit einer Massedifferenz von 100 Einheiten Methylbuttersäure als dritten Substituenten wahrscheinlich, wofür auch das stets vorhandene Massenfragment m/z 57 spricht. Die Lokalisation der Methylbuttersäure und der Hydroxygruppe an der C-6-C-7-Brücke kann bei RI 2013 MG 339 BP 94 und RI 2088 MG 339 BP 94 durch ein deutliches Zerfallsion m/z 195 – entsprechend $[M - 144]^+$ – untermauert werden. Da dieses bei RI 2131 MG 339 BP 82/124 und RI 2156 MG 339 BP 82/124 fehlt, und zudem eine Verschiebung der Basispeaks beobachtet werden kann, ist von einem veränderten Substitutionsmuster auszugehen. Anhand der auffälligen Fragmente $[M - 83]^+$ mit m/z 256 und $[M - 127]^+$ mit m/z 212 ist anzunehmen, daß Tiglinsäure hier als einziger Brückensubstituent fungiert. Für RI 2308 MG 355 BP 94 wäre entsprechend die hydroxylierte Methylbuttersäure als zusätzlicher Substituent vorstellbar. Daß die Ethylenbrücke lediglich OH-substituiert ist, könnte anhand von $[M - 44]^+$ mit m/z 311 vermutet werden. Das Piperidin-Ringsystem des

Tropans trüge folglich die beiden anderen Substituenten. Denkbar wäre auch eine Hydroxygruppe und ein dimerer Substituent vergleichbar der Acylkomponente des Astrimalvin A-N-oxid (s. 2.2.4.2.2.1).

Die GC-MS-Spektren der Basen-Extrakte der ober- und unterirdischen Teile von *Astripomoea malvacea* weisen neben den unter 3.4 ausführlich beschriebenen 3-monosubstituierten Tropanol- und Nortropanolestern auch anhand ihrer Basispeaks m/z 94 und m/z 138 als di- und trisubstituierte Tropane identifizierbare Verbindungen auf. Da die beiden aus der Wurzelrinde isolierten Astrimalvine 3β -Tropanolester darstellen, liegt wahrscheinlich auch bei diesen Substanzen eine 3β -Konfiguration vor. Der in Kraut und Wurzelrinde detektierte RI 2332 MG 339 BP 94 dürfte den beim Astrimalvin A-N-oxid (s. 2.2.4.2.2.1) als 3-Tigloyloxy-2-methylbuttersäure strukturaufgeklärten Substituenten und zusätzlich an der Ethylenbrücke eine Hydroxy-Gruppe tragen, und kann somit als 6/7-Hydroxy-Astrimalvin A angesehen werden. Dementsprechend könnte bei dem nur im Kraut vorkommenden RI 2261 MG 341 BP 94 die Tiglinsäure durch 2-Methylbuttersäure ersetzt sein. Der Basispeak von RI 2445 MG 337 BP 138 stellt interessanterweise ein für Scopin-Ester typisches Fragment dar (El-Shazly *et al.*, 1997); auch mit der Summenformel stimmig wäre ein 6,7-Epoxy-Astrimalvin A. Diese Strukturvorschläge für die oligosubstituierten Tropane in *Astripomoea malvacea* können durch die Isolierung der Astrimalvine und die darauffolgende Strukturaufklärung ihrer Acylreste als derart wahrscheinlich angesehen werden, daß die Anführungszeichen entfallen.

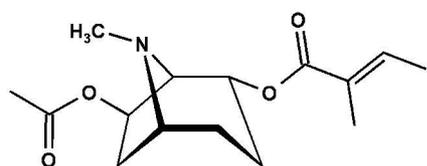


Abb. 18: Ipvelutin

Ausgehend von dem im Rahmen dieser Arbeit aus den oberirdischen Teilen von *Ipomoea velutina* gewonnenen Ipvelutin (s. 2.2.4.3.1 und 3.7), das im GC-MS deacetyliert als 2α -Tigloyloxy- 7β -hydroxy-tropan vorliegt (RI 1818 MG 239 BP 82/95), lassen sich einige Aussagen über weitere, offensichtlich verwandte Verbindungen treffen.

Im GC-MS-Spektrum des Krautes von *Ipomoea velutina* finden sich zwei Isomerenpaare mit ähnlicher Fragmentierung wie Ipvelutin, allerdings differierender Molmasse. Zum einen ist dies MG 257 BP 95 bei RI 1870 und RI 1877; anhand von m/z 73 kann auf Hydroxymethylbuttersäure als Substituent geschlossen werden. MG 255 BP 95 bei RI 2088 und RI 2097 hingegen erzeugen ein auffälliges Zerfallsion m/z 55, was auf Tiglinsäure als Acylkomponente hinweist. Daß die Hydroxygruppe jeweils an der Ethylenbrücke sitzt, beweisen die Zerfallsionen $[M - 44]^+$ bei m/z 213 bzw. m/z 211. Aufgrund übereinstimmender Massenspektren und der Differenz der Retentionsindices um knapp zehn Einheiten kann vermutet werden, daß hier Epimerenpaare vorliegen, vergleichbar den 3α - und 3β -Tropanolestern. Naheliegender ist, daß es sich um die 2-Epimere handelt. Der im Kraut von *Convolvulus graminetinus* detektierte RI 2113 MG 255 BP 82 dürfte – begründet durch die Unterschiede im Massenzerfall – über ein abweichendes Substitutionsmuster verfügen. Nicht nur im Kraut, sondern auch in den Wurzeln von *Ipomoea velutina* findet sich RI 1708 MG 241 BP (81)95, bei dem es sich aufgrund der Fragmente m/z 197 ($[M - 44]^+$)

und m/z 57 (C_4H_9) um das 2 α -Methylbutyryloxy-7 β -hydroxy-tropan handeln dürfte. Ein Isomer mit RI 1717 tritt in den Krautdrogen von *Convolvulus graminetinus* und *Ipomoea plebeia* auf. Bei RI 1860 erscheint ein dem Ipvelutin strukturell verwandtes Nortropan; es weist neben dem durch Demethylierung um 14 verringerten Molpeak MG 225 einen Basispeak bei m/z 125 auf sowie ein auffälliges Fragment bei m/z 81. Neben RI 1813 ist es die Hauptverbindung der Wurzeln von *Ipomoea velutina*. Trotz gleicher Molmasse wie Ipvelutin zeigen RI 1760 (Kraut) und RI 1813 (Wurzeln) abweichende Basispeaks bei m/z 82 und m/z 55 und stellen demnach Konfigurationsisomere dar. RI 1760 kann außerdem im Kraut von *Convolvulus graminetinus* nachgewiesen werden, RI 1813 in den Wurzeln und Sproßachsen von *Ipomoea abrupta*. In deren Sproßachsen tritt zudem Ipvelutin selbst auf. Als weitere Verbindung, die im Kraut von *Ipomoea abrupta* gefunden werden kann, weist RI 1834 MG 239 mit m/z 94 einen abweichenden Basispeak auf und dürfte damit zur Gruppe der weiter oben beschriebenen 3-substituierten Tropane zählen.

Auch im Kraut von *Convolvulus graminetinus* findet sich als Hauptkomponente Ipvelutin. Der Basen-Extrakt der Wurzelprobe wird (neben Cuscohygrin) dominiert vom Nortropan RI 1815 MG 225 BP 81(125). Bei dieser Substanz existiert kein Fragment $[M - 44]^+$, dafür jedoch ein auffälliger Peak mit m/z 100, was dahingehend interpretiert werden kann, daß die Tiglinsäure in diesem Fall den Brückensubstituenten darstellt.

Die basische Hauptverbindung des Krautes von *Convolvulus sagittatus* weist wie Ipvelutin einen Molpeak MG 239 auf. Das Massenspektrum zeigt allerdings gewisse Unterschiede, und auch der Retentionsindex ist mit RI 1825 leicht erhöht. Trotz Zuhilfenahme eines 1H -NMR der Basenfraktion konnte nicht abschließend festgestellt werden, ob überhaupt, und wenn ja, in welcher Position, Abweichungen in der Stereochemie auftreten (s. a. 2.2.4.3.1). Aufgrund der charakteristischen Signale der Protonen (s. 2.2.3.1, 2.2.4.2.1.7 und 2.2.4.2.2) läßt sich allerdings Tiglinsäure als Acylkomponente bestätigen. Aus dem Massenfragment $[M - 44]^+$ mit m/z 195 kann geschlossen werden, daß sich die Hydroxygruppe an der Ethylenbrücke befindet. Ein ähnliches Zerfallsspektrum weist RI 1778 MG 239 BP (95)96 auf. Es findet sich zudem der Nortropanolester RI 1860 MG 225 BP (81)125 aus den Wurzeln von *I. velutina* (s. o.). In den Wurzeln von *Convolvulus sagittatus* ist (auch hier neben Cuscohygrin) die Hauptverbindung ein Nortropanolester mit RI 1802 MG 225 und dem zugehörigen Basispeak m/z 81 mit m/z 125, begleitet von geringen Mengen einer N-methylierten Verbindung RI 1806 MG 239 BP 95(96), die – wie aus den Massenspektren ersichtlich wird – den Tropanen im Kraut verwandt ist.

Interessanterweise kann der Nortropanolester RI 1802 in allen untersuchten Pflanzenteilen von *Ipomoea asarifolia*, also in unterirdischen Teilen, Sproßachsen und Blättern, wiedergefunden werden. In den Wurzeln und Rhizomen findet sich zusätzlich ein Nortropanolester RI 1700 mit einer um zwei Masseeinheiten erhöhten Molmasse MG 227, was – zusammen mit einem intensiven Fragment bei m/z 57 – auf Methylbuttersäure als Substituenten schließen läßt. Desweiteren treten zwei Verbindungen mit MG 143 BP 99 bei RI 1335 und RI 1350 auf, die die unveresterten Grundstufen darstellen dürften.

Mit dem 2-Hydroxy-tropan-3 α -ol im Kraut von *Bonamia spectabilis* konnte außerdem ein Strukturtyp ohne Brückensubstitution nachgewiesen werden.

2.1.2.4 Pyrrolizidine

Seit der Erstbeschreibung von Pyrrolizidinalkaloiden bei Convolvulaceae (Jenett *et al.*, 1991) formte sich mehr und mehr das Bild, daß diese als chemotaxonomische Marker für den Subgenus Quamoclit, Sectio Mina (Austin, 1975 und 1980; Verdcourt, 1957), innerhalb der Gattung *Ipomoea* aufgefasst werden können. Daher war es auch in dieser Arbeit von Interesse, speziell Arten dieser Sektion der Analyse zuzuführen bzw. sämtliche Arten anhand von Vergleichsspektren gezielt auf diese Stoffklasse hin zu untersuchen.

Alle 18 Vertreter der Sectio Mina sind auf dem amerikanischen Kontinent, von den USA bis Argentinien, endemisch. *Ipomoea cholulensis* und *Ipomoea cristulata* stammen, wie die meisten von ihnen, aus Mexico. Neben den weitreichenden morphologischen Gemeinsamkeiten, wie den auffällig roten, röhrenförmigen Korollen mit tellerartigem Endstück, ähneln sie sich auch in phytochemischer Hinsicht sehr stark.

Typisch für Winden der Sectio Mina sind Ester des (-)-Trachelanthamidins (Minalobine) und vor allem des (-)-Platynecins (Ipanguline). Verknüpft sind diese beiden Necinbasen mit sonst recht seltenen Necinsäuren, die daher als charakteristisch für Convolvulaceae angesehen werden können. Im Vordergrund steht hierbei, neben ebenfalls ungewöhnlichen Salicylsäure- und Phenyllessigsäure-Resten, die 2,3-Dihydroxy-2-methyl-buttersäure. Sie wird von Roeder (1995) als so spezifisch erachtet, daß dieser in seinem Review der *erythro*-Form den Namen Ipangulinsäure und dem *threo*-konfigurierten Pendant den Namen Isoipangulinsäure gab. Bisher konnten 48 Ipanguline, bei denen es sich um 7- bzw. 9-Monoester und 7,9-Diester des (-)-Platynecins handelt, detektiert werden. Zudem wurden mittlerweile 21 verschiedene Minalobine entdeckt, die allesamt 9-Monoester sind, da das ihnen zugrundeliegende (-)-Trachelanthamidin über nur eine Hydroxyfunktion verfügt.

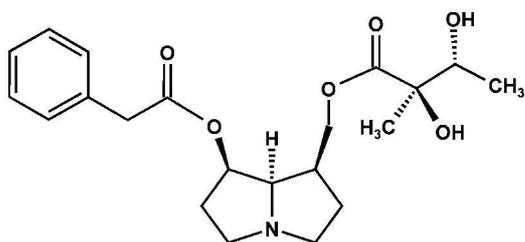


Abb. 19: Ipangulin A

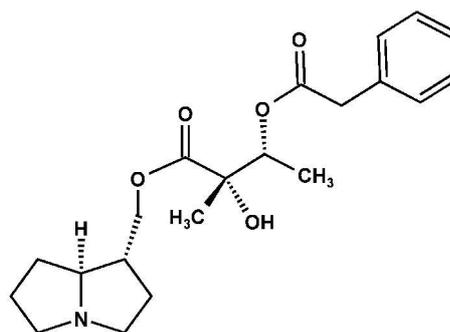


Abb. 20: Minalobin R

Bezüglich des Pyrrolizidin-Grundkörpers lassen sich die gefundenen Substanzen anhand ihrer massenspektrometrischen Fragmentierung leicht unterscheiden. Die wichtigsten Signale der Ipanguline sind m/z 82, 95, 122 und 138-140. Je nach Substitutionsmuster fungieren unterschiedliche Fragmente als Basispeak: bei den 7-Monoestern findet er sich in der Regel bei m/z 82 zusammen mit einem stark ausgeprägten Signal bei m/z 139; teilweise wird er von letzterem in seiner Intensität noch übertroffen. Bei den 9-Monoestern hingegen ist neben m/z 82 der Peak bei m/z 95 von großer Bedeutung; diese beiden

dominieren das Massenspektrum, einer von ihnen stellt den Basispeak. Die 7,9-Diester verfügen über Basispeaks größerer Masse: m/z 122, 138 und 140 prägen das Bild; auch hier sind die Fragmente bei m/z 82 und m/z 95 markant.

Die Minalobine zeigen ihren Basispeak stets bei m/z 124, zusammen mit einem Fragment großer Intensität bei m/z 83. Im Gegensatz zu den 3-Tropanolestern, die durch den gleichen Basispeak charakterisiert sind, haben sie nur ein sehr schwaches Signal bei m/z 140 und keine Fragmentation bei m/z 94. Dafür weisen sie einen Ausschlag bei m/z 95 auf; dieses Signal fehlt bei den Tropanen.

Außerdem verfügen alle Ipanguline und Minalobine über unterschiedliche Retentionsindices (RI) im GC-MS, sodaß die gefundenen Verbindungen anhand ihres RIs in Kombination mit dem Massenspektrum eindeutig den Referenzen zugeordnet werden können.

In Kraut und Wurzeln von *Ipomoea cholulensis* liegen, wie in den meisten in diesem Arbeitskreis untersuchten Arten der Sectio Mina, ausschließlich Ester des Platynecins vor. Insgesamt lassen sich 19 verschiedene zur Ipangulin-Reihe zu zählende Verbindungen verifizieren, wobei die mengenmäßig dominierenden Isoipangulin A₁ und Ipangulin C₁ sind. Weitere deutliche Signale können als Ipangulin A₁, Isoipangulin und Ipangulin B₁, Ipangulin D₁₀ und Ipangulin X₂ identifiziert werden. Alle anderen sind nur in Spuren vorhanden. Im Kraut, aber vor allem in den Wurzeln finden sich zudem zwei respektive vier weitere Verbindungen dieses Typs, die sich allerdings keiner der bekannten Substanzen zuordnen lassen.

Allein Isoipangulin D₁₀ konnte im Kraut von *Ipomoea coccinea* nachgewiesen werden, was bereits von Jenett-Siems *et al.* (2005a) publiziert wurde. Nun kann der Ipangulin-Befund durch die Untersuchung weiterer Pflanzenteile untermauert werden: in den Früchten mit Samen tritt in großer Menge Ipangulin D₁₅ auf, daneben Ipangulin D₁₄. Dort Nebenalkaloid ist Ipangulin D₁₄ in der außerdem analysierten Samenprobe das Hauptalkaloid, begleitet von Ipangulin D₁₃. Der Unterschied bezüglich der vorherrschenden Base muß nicht auf der Verschiedenheit der Drogen beruhen, sondern könnte mit dem Entwicklungsgrad der Samen zusammenhängen: die Früchte mit Samen wurden teilweise noch unreif geerntet; die Samen hingegen waren bereits voll ausgereift und konnten so problemlos von ihren Fruchtschalen getrennt werden.

Tab. 11: GC-MS-Tabelle Pyrrolizidinalkaloide in *Ipomoea* sp. der Sectio Mina

<i>linke Seite</i>	<i>rechte Seite</i>
1 Wurzel	* in Spuren
3 Kraut	+ deutlicher Peak
7 Früchte mit Samen	++ mittelgroßer Peak
8 Samen	+++ Hauptkomponente
	A I junge Individuen der Provenienz A mit ersten Blüten
7! eines dieser Ipanguline ist Hauptkomponente	B Individuen der Provenienz B, die hinsichtlich ihrer Entwicklung zwischen A I und A II liegen
	A II Individuen der Provenienz A mit zahlreichen reifen Früchten

	<i>I. cholulensis</i>	<i>I. coccinea</i>	<i>I. cristulata</i>		<i>I. cristulata</i> A I, Wu	<i>I. cristulata</i> B, Wu	<i>I. cristulata</i> A II, Wu	<i>I. cristulata</i> A I, Kr	<i>I. cristulata</i> B, Kr	<i>I. cristulata</i> A II, Kr
Anhydroplatynecin	+ 1,3	+ 3,7,8	+ 1,3,7		*	+	*	*	*	+
9-Acetylplatynecin			+ 7							
7-(2'-Methylbutyryl)platynecin	+ 3									
Minalobin E			+ 7							
9-(2'-Methylbutyryl)platynecin	+ 3									
Minalobin G			+ 1,3		*					
Isoipangulin D ₅	+ 3									
Ipangulin D ₅	+ 3		+ 7							
Minalobin L			+ 1,3				*	*		
Minalobin M			+ 1,3			*	+	*		
Ipangulin D ₇	+ 3									
Ipangulin D ₈	+ 1,3									
Minalobin O			+ 1,3,7		+	+++	+++	+++	*	*
Isoipangulin D ₉	+ 1,3		+ 7							
Ipangulin D ₉	+ 1		+ 1,3,7		*					
Ipangulin C ₁	+ 1,3									
Minalobin Q			+ 1,3				*	*		
Ipangulin C ₆			+ 1,3		*					
Isoipangulin D ₁₀		+ 3	+ 7							
Ipangulin D ₁₀	+ 1		+ 1,3		*	+	*	*		
Ipangulin D ₁₃		+ 8								
Ipangulin D ₁₄		+ 7,8	+ 1,3,7		++		*	*		++
Ipangulin X ₂	+ 1,3									
Ipangulin D ₁₅		+ 7	+ 1,3,7		+++	++	+	+	+++	+++
Isoipangulin C ₂	+ 1,3									
Ipangulin C ₂	+ 3									
Ipangulin D ₁₇			+ 1,3,7		*			*		
Ipangulin D ₁₈			+ 1,3,7		*	+	*	*	*	
Ipangulin C ₇			+ 1							
Ipangulin C ₅	+ 1,3									
Isoipangulin A ₁	+ 1,3									
Ipangulin A ₁	+ 1,3									
Isoipangulin B ₁	+ 1,3									
Ipangulin B ₁	+ 1,3									
Ipangulin A ₂	+ 3									
unbekannte Ipanguline (Anzahl)	+ 1,3		+ 1,3,7		+ (1)	+ (3)		+ (3)	+ (1)	
unbekannte Minalobine (Anzahl)			+ 3,7					+ (3)		

Die basischen Hauptinhaltsstoffe von *Ipomoea cristulata* sind Minalobin O und Ipangulin D₁₅ – eine Besonderheit, da in der Regel lediglich Ester mit identischem Grundkörper auftreten. Dieses Phänomen findet sich sonst nur noch bei *Ipomoea sloteri*, allerdings enthalten die Basenextrakte von Wurzeln und Kraut neben Isoipangulin C₁ in hoher Konzentration nur geringe Mengen fünf weiterer Ipanguline und zweier Minalobine (Jenett-Siems *et al.*, 2005a). Der Befund konnte aufgrund der beschränkten Drogenmenge nicht durch Isolierung überprüft werden. Anders bei *Ipomoea cristulata*, aus der Minalobin O in Reinform gewonnen werden konnte und durch die Aufklärung seiner Struktur und relativen Stereochemie zur Identifizierung weiterer Verbindungen beiträgt. Zusätzlich können acht andere Minalobine gefunden werden, darunter Minalobin E, G, L, M und Q. Insgesamt zwölf Ipanguline lassen sich bekannten Verbindungen zuordnen, wobei Ipangulin D₁₄ und vor allem Ipangulin D₁₅ in ihrer Quantität alle anderen übertreffen. In Kraut und Wurzeln können zudem vier noch nicht identifizierte Verbindungen dieses Typs detektiert werden, die gleichermaßen in beiden Drogen auftreten. Es wurden jeweils zwei Provenienzen untersucht, bezeichnet mit A und B, die sich in ihrer phytochemischen Zusammensetzung jedoch kaum voneinander unterscheiden. Auffällig bei den Früchten ist, daß die Hauptkomponente ein bisher nicht beobachtetes Ipangulin darstellt, das im Weiteren als RI 2540 MG 397 BP 82/95 geführt wird. Sein Massenspektrum erlaubt den Schluß, daß es sich um einen Platynecin-9-ester handelt. Drei andere mutmaßliche Ipanguline mit ähnlichen RIs, von denen sich zwei mit denen in Kraut und Wurzeln decken, begleiten es, abgesehen von den in **Tab. 11** aufgeführten bekannten Substanzen.

Interessant ist die Tatsache, daß im Kraut von *Ipomoea cristulata* (**A I**, Kr) die Minalobine G, L, M, O und Q und außerdem drei unbekannte Verbindungen, die sich u. a. anhand ihres Basispeaks bei m/z 124 aber durchaus als weitere Minalobine identifizieren lassen, zu finden sind, daneben die Ipanguline D₁₀, D₁₅ und D₁₈. In den Wurzeln (**A I**, Wu) hingegen treten fast ausschließlich Ipanguline auf, von denen das Ipangulin D₁₅ mengenmäßig die vorherrschende Verbindung ist; hinzu kommt nur ein einziges Minalobin, nämlich das Minalobin O, das im Kraut von überragender Dominanz, in den Wurzeln jedoch in weitaus geringerer Konzentration vorhanden ist. Hierzu muß festgestellt werden, daß es sich bei den untersuchten Individuen um recht junge Pflanzen handelte, die nur vereinzelt zur Blüte gekommen sind; Fruchtbildung fand noch nicht statt.

Erstaunlicherweise kehrt sich das Verhältnis mit zunehmendem Alter der Pflanzen mehr und mehr um (s. **Tab. 11**, rechte Seite): So nimmt die Menge an Minalobinen im Kraut (**B**, Kr; **A II**, Kr) konstant ab, bis nur noch die einstige Hauptkomponente Minalobin O in Spuren zu finden ist, wohingegen die Peaks von Ipangulin D₁₅ zusammen mit seiner Isoform Ipangulin D₁₄ in immer größerem Maß das GC-MS-Spektrum dominieren. In den Wurzeln (**B**, Wu; **A II**, Wu) ist dies genau umgekehrt, d. h. Minalobin O wird zur bestimmenden Leitsubstanz in Begleitung anderer Trachelanthamidin-Ester, insbesondere seines *threo*-Derivats Minalobin M, während von den Ipangulinen nur noch Spuren enthalten sind. Es stellt sich somit die Frage, inwiefern biogenetische Vorgänge und die Speicherung der Pyrrolizidinalkaloide einen Einfluß auf die Verteilung der Minalobine und Ipanguline in der Pflanze haben.

Betrachtet man die Ipanguline D₁₄ und D₁₅ (Jenett-Siems *et al.*, 2005a), läßt sich feststellen,

daß beide die 2-Hydroxy-2-methyl-3-tigloyloxybuttersäure als Substituenten tragen, zudem fast identische Massenspektren und nur einen geringen Unterschied in ihren Retentionsindices aufweisen. Eingedenk der Tatsache, daß die *threo*-Form im GC-MS immer vor der *erythro*-Form von der Säule kommt, deutet alles darauf hin, daß bei Ipangulin D₁₄ (RI 2375) der Substituent *threo*-, bei Ipangulin D₁₅ (RI 2387) *erythro*-konfiguriert ist. Damit ist die Necinsäure der Hauptbestandteile der Alkaloidfraktionen des Krautes (Minalobin O) und der Wurzeln (Ipangulin D₁₅) identisch, nämlich *erythro*-2-Hydroxy-2-methyl-3-tigloyloxybuttersäure. Man kann nun spekulieren, ob lediglich die enzymatische Ausstattung von *Ipomoea cristulata* die Bildung dieses Substituenten begünstigt, oder ob die Pflanze möglicherweise in der Lage ist, zum Zwecke des Transports eine nachträgliche Hydroxylierung zum Ipangulin D₁₅ durchzuführen bzw. dieses zur Speicherung zum lipophileren Minalobin O zu reduzieren. Dieser Sachverhalt wäre eine eingehendere Untersuchung wert.

Fraglich ist die Rolle des Anhydroplatynecins. Es wurde in allen acht der in diesem Arbeitskreis untersuchten Spezies der Sectio Mina gefunden (Jenett-Siems *et al.*, 2005a). Stelljes *et al.* (1991) vermuten, daß es im Sinne eines Artefakts durch Hitzeeinwirkung bei der Aufarbeitung und gaschromatographischen Vermessung aus Estern des Platynecins entsteht. Die vorgenommenen Analysen zeigen jedoch, daß es auch bei der ausschließlich Minalobine-führenden *Ipomoea lobata* (CERV.) THELL. (Syn.: *Mina lobata* CERV.) auftritt. Die Minalobine tragen als Trachelanthamidin-Ester keinen Sauerstoff-haltigen Substituenten in Position 7 der Necinbase; somit ist ein Ringschluß, der bei den Platynecin-Estern unter Wasserabspaltung zwischen den beiden Hydroxygruppen stattfinden kann, eher unwahrscheinlich. Anhydroplatynecin könnte also vielleicht doch eine Substanz biogenen Ursprungs sein.

2.1.2.5 Ergoline

Die Ergoline sind die wohl bekannteste Sekundärstoffgruppe der Convolvulaceae. Vor ihrer Entdeckung in Windengewächsen (s. 1.3) waren sie bereits als Stoffwechselprodukte des bevorzugt auf Roggen parasitierenden Pilzes *Claviceps purpurea* beschrieben worden. Dessen hornartige Sklerotien fanden schon im 16. Jahrhundert Einsatz in der Geburtshilfe, woher auch der Name Mutterkorn stammt. Die vom Tryptophan abgeleiteten Inhaltsstoffe, auch Mutterkornalkaloide genannt, werden von pharmazeutischen Chemikern gerne als „dirty drugs“ bezeichnet, da sie sowohl an serotonergen, als auch an dopaminergen sowie an α -adrenergen Rezeptoren angreifen. Die Wirkung ist dabei insbesondere vom zugrundeliegenden Strukturtyp abhängig sowie vom Substitutionsmuster. Die größten Gruppen stellen die Clavine, die einfachen Lysergsäureamide und die Ergopeptide dar.

Die Detektion der Ergoline im Labor erfolgt anhand ihrer Indol-Partialstruktur, die mit van Urk-Reagenz eine himmelblaue bis dunkelblaue Färbung entwickelt. Detailliertere

Informationen konnten durch das GC-MS-Screening der unter 2.1.1 hergestellten Basen-Extrakte erhalten werden.

In der nachfolgenden **Tab. 12** sind die im Rahmen dieser Arbeit nachgewiesenen Mutterkornalkaloide nach Spezies aufgeschlüsselt. Verbindungen, denen keine exakte Strukturformel zugeschrieben werden kann, deren Massenspektrum aber ganz klar eine Zugehörigkeit zur Substanzgruppe der Ergoline erkennen läßt, sind durch ihr Molekulargewicht (MG), ihren Basispeak (BP) und ihren Retentionsindex (RI) charakterisiert. Stoffe, bei denen diese Kennzahlen nicht eindeutig auszumachen sind, werden unter „weitere Ergoline“ zusammengefaßt.

Tab. 12: GC-MS-Tabelle Ergolinalkaloide

	<i>Ipomoea argillicola</i>	<i>Ipomoea asarifolia</i>	<i>Ipomoea bonariensis</i>	<i>Ipomoea hildebrandtii</i>	<i>Ipomoea muelleri</i>	<i>Ipomoea ochracea</i>	<i>Ipomoea tricolor</i> cv. „Heavenly Blue“ (Kanarische Inseln)	<i>Ipomoea tricolor</i> cv. „HB“ (BAYWA), Freiland	<i>Ipomoea tricolor</i> cv. „HB“ (BAYWA), Gewächshaus	<i>Ipomoea tricolor</i> cv. „Flying Saucers“	<i>Ipomoea velutina</i>
N-Methyl-seco-agroclavin	+ 3,4				+ 3,5		+ 8	+ 3	+ 3		
Cycloclavin				+ 3							
MG 224 BP 167 RI 2197				+ 3			+ 8				
MG 226 BP 226 RI 2248				+ 3							
8-Epicostaclavin ?				+ 3							
Festuclavin				+ 3	+ 3,5						
Agroclavin	+ 3,4			+ 3	+ 3,5	+ 1,3	+ 3,6,8	+ 3	+ 3		+ 1,3
Chanoclavin	+ 3,4	+ 1,2,4,8	+ 1	+ 3	+ 3,5		+ 1,3,6,8	+ 3			
MG 270 BP 168 RI 2458	+ 3	+ 2	? 1								
MG 270 BP 168 RI 2468		+ 4			+ 3,5				+ 3		
MG 268 BP 237 RI 2479	+ 3,4	+ 2,4,8	+ 1		+ 3,5		+ 6,8	+ 3	+ 3		
Elymoclavin	+ 3,4	+ 2,4,8	+ 1		+ 3,5		+ 3,6,8	+ 3			
MG 252 BP 252 RI 2658	+ 3,4		+ 1		+ 3		+ 8	+ 3	+ 3		
Lysergsäureamid (Ergin)	+ 3,4	+ 1,2,4,8	+ 1	+ 3			+ 3,6,8	+ 3	+ 3		
x-Hydroxylysergsäureamid		+ 1,2,4,8					+ 1,3,6				
y-Hydroxylysergsäureamid		+ 2,4,8									
Ergometrin (Ergobasin)	+ 3,4										
weitere Ergoline	+ 3,4			+++++ 3	+++ 3 ++ 5	+ 1,3	+ 3 +++++ 8	+++ 3	++ 3		

Legende zu Tab. 12:

		Abstufung	≅	Anzahl
1 Wurzeln (ggf. mit Rhizomen)	6 Blüten	+		1-5
2 (verholzter) Sproß	7 Früchte mit Samen	++		6-10
3 Kraut	8 Samen	+++		11-15
4 Blätter	9 Keimlinge	++++		16-20
5 Ganzpflanze		+++++		über 20

Ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal im Massenspektrum ist das Molekulargewicht, denn die Lysergsäureamide weisen bedingt durch den dritten Stickstoff eine ungerade Massenzahl auf. Clavine und Lysergsäure-Derivate hingegen haben eine geradzahlige Molmasse, was auf alle nur durch ihre Kennzahlen charakterisierten Ergoline zutrifft. Allen gemeinsam sind die Zerfallsionen, die durch Fragmentierung des Ergolin-Ringsystems entstehen: m/z 209-207, m/z 183-181, m/z 167, m/z 154, m/z 144, m/z 130. $\Delta^{9,10}$ -Ergoline weisen ein typisches Fragmentenpaar bei m/z 168/167 auf. Clavine zeichnen sich durch einen auffällig großen Molpeak aus, der zugleich als Basispeak fungieren kann, wenn dieser nicht alternativ bei $[M-1]^+$ liegt. (Voigt *et al.*, 1974)

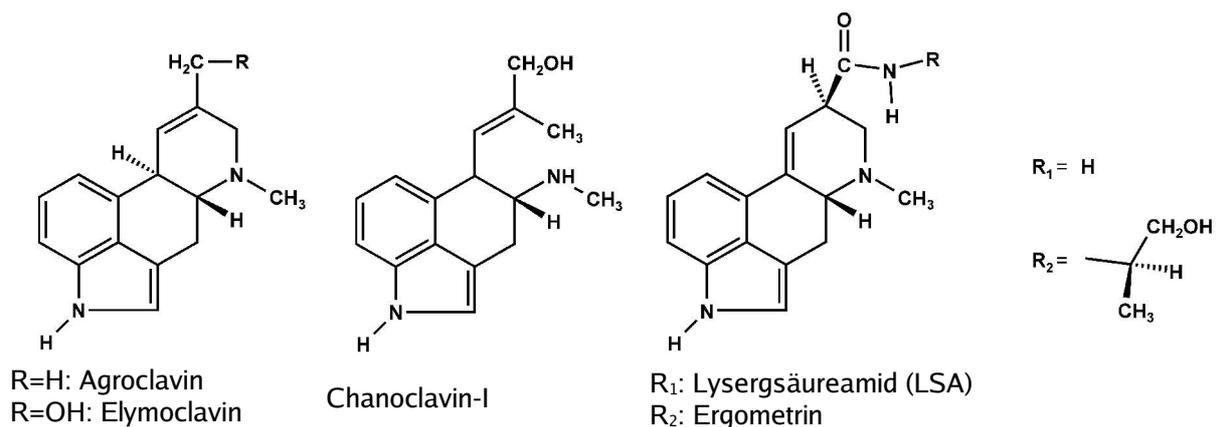


Abb. 21: bei Convolvulaceae häufig auftretende Ergoline

Anhand dessen können folgende Aussagen über die in **Tab. 12** aufgeführten Verbindungen getroffen werden:

- MG 224 BP 167 RI 2197 dürfte aufgrund des Zerfallsionenpaares bei m/z 168/167 über eine 9,10-Doppelbindung verfügen.
- Da Molpeak und Basispeak bei MG 226 BP 226 RI 2248 identisch sind, kann hier von einem an C-10 gesättigten Clavin ausgegangen werden.
- MG 270 BP 168 RI 2458 weist nicht nur ein starkes Signal als Molpeak auf, sondern auch ein Fragmentenpaar m/z 168/167. Es könnte sich hier um das bereits mehrfach in Convolvulaceae detektierte, vermutlich aus Elymoclavin gebildete Penniclavin handeln (Gröger, 1963b; Lee *et al.*, 1979).
- Nur 10 RI-Einheiten höher im GC-MS-Spektrum liegt MG 270 BP 168 RI 2468. Aufgrund des nahezu identischen Zerfallsmusters wäre ein Isomer wie Isopenniclavin denkbar.
- MG 252 BP 252 RI 2658 wird nach Elymoclavin von der GC-Säule eluiert und tritt meist mit diesem vergesellschaftet auf. Die Molmasse entspricht zudem der des aus den

Wurzeln von *Securidaca longipedunculata* isolierten Dehydroelymoclavin (Costa *et al.*, 1992).

Gerade bei Ergolinen ist jedoch die exakte Aufklärung der Molekülstruktur essentiell, da mehrere Stereozentren vorliegen, was eine Isolierung unabdingbar macht.

Vergleicht man die unter Forschungsstand (1.3) aufgeführten Literaturstellen mit den erhaltenen Resultaten, so können die positiven Befunde für *Ipomoea tricolor*, *I. muelleri* und *I. hildebrandtii* sowie *I. asarifolia* und *I. argillicola* durchweg bestätigt werden, ebenso die negativen für *Ipomoea arborescens*, *I. coptica*, *I. plebeia* und *I. shirambensis* sowie *Evolvulus nummularius*. Wie erwartet, fiel insbesondere *Ipomoea hildebrandtii* durch ihren ausnehmend hohen Gehalt an Ergolinen auf.

Denkwürdig ist die Tatsache, daß in einem der untersuchten Kultivare der als reichhaltige Quelle an Ergolinen bekannten Prunkwinde *Ipomoea tricolor*, nämlich in *Ipomoea tricolor* cv. „Flying Saucers“, keine Mutterkornalkaloide nachgewiesen werden konnten, zumal dies den von Der Marderosian und Youngken (1966) und Genest und Sahasrabudhe (1966) erhaltenen Ergebnissen widerspricht. Für beide Provenienzen des Kultivars „Heavenly Blue“ hingegen konnte der Reichtum an Ergolin-Alkaloiden deutlich untermauert werden; zudem konnte gezeigt werden, daß nicht nur in den eingehend untersuchten viersamigen Kapsel Früchten, sondern auch in anderen Pflanzenteilen wie Kraut, Blüten und sogar Wurzeln Ergoline enthalten sind. Mögliche Gründe werden in der Diskussion erörtert (s. 3.1.4).

Im Falle von *Ipomoea bonariensis* (Wurzeln) sind die Ergebnisse kritisch zu beurteilen, da eine Verwechslung der Droge mit den Wurzeln einer zeitgleich aus dem Arboretum Châtenay-Malabry bei Paris zugesandten *Stictocardia*-Art aufgrund unzureichender Etikettierung nicht abschließend ausgeschlossen werden konnte. Abgesehen von diesem Zweifel an der Identität der Droge kann aber definitiv festgehalten werden, daß es sich um eine Wurzel droge handelt, die eine ganze Reihe an Ergolinen enthält, darunter Chano-clavin, Elymoclavin und Lysergsäureamid. Bisher war man davon ausgegangen, daß Wurzelmaterial keine Vertreter dieser Stoffklasse enthält (z. B. Taber *et al.*, 1963b). Anhand der vorliegenden GC-MS-Daten kann gezeigt werden, daß Mutterkornalkaloide durchaus in allen Pflanzenteilen auftreten. Dies trifft ebenfalls für *Ipomoea asarifolia* und *Ipomoea tricolor* cv. „Heavenly Blue“ zu. Auch bei den Proben von *Ipomoea velutina* und *Ipomoea ochracea*, in denen Agroclavin als einzige (bekannte) Verbindung gefunden werden konnte, wurde dieses sowohl im Kraut, als auch in den Wurzeln detektiert. Daß bisher nur in seltenen Fällen in den Wurzeln von Convolvulaceae Ergoline nachgewiesen wurden, mag auch darauf beruhen, daß bei den zahlreichen Untersuchungen ab den 60er Jahren in der Regel nur Samenmaterial der betreffenden Arten der Analyse zugeführt wurde.

Die Erfahrung im Labor hat gezeigt, daß nicht nur Ergoline, sondern durchaus auch andere Sekundärstoffe mit Indol-Partialstruktur eine positive van Urk-Reaktion hervorrufen – in diesem Zusammenhang sei auf die Ipobscurine und das Tryptophol-gentiobiosid hingewiesen. Selbst Benzofurane wie die Bonaseminole können eine falsch-positive Reaktion auslösen. Auch diese Tatsache sollte bei den nachfolgend beschriebenen Fällen berück-

sichtigt werden.

Die Literatur zu *Ipomoea hederacea* bezüglich des Ergolinvorkommens ist – wie unter 1.3 ausgeführt – nicht einheitlich. Wilkinson *et al.* (1986) verzeichnen ein positives Ergebnis, Beyerman *et al.* (1963), Gröger (1963a) und Der Marderosian *et al.* (1964) aber konnten keine Blaufärber nachweisen. Allein bei Gröger wird der Benenner dieser Art mit JACQUIN korrekt angegeben. Es könnte sich bei Wilkinson *et al.* also durchaus um eine Verwechslung mit der Ergolinalkaloid-reichen Spezies *I. nil* handeln, was darauf beruht, daß *I. hederacea* unter anderen Autorennamen laut Austin (1986) ein Synonym für *Ipomoea nil* (L.) ROTH darstellt; dies vermutet auch Hegnauer (1964 und 1989). Der positive Ergolin-Befund muß außerdem deshalb in Frage gestellt werden, weil die GC-MS-Analyse von Kraut und Wurzeln nicht nur keine Mutterkornalkaloide, sondern gar keine Alkaloide zutage brachte, was für eine sehr eingeschränkte Biosyntheseleistung der Pflanze in diesem Bereich spricht.

Die Identifizierung von Elymoclavin in den Samen von *Ipomoea coccinea* wird von Gröger (1963a) und von Wilkinson *et al.* (1987; hier zusammen mit sechs weiteren Ergolinen) beschrieben. Der Nachweis erfolgte jedoch nur anhand von 0.5 g respektive 2 g Droge, zudem lediglich dünnschichtchromatographisch, und konnte durch die um einiges exaktere GC-MS-Analyse nicht bestätigt werden. O. g. Befunde sind daher als eher unwahrscheinlich anzusehen, zumal die Drogenmenge für den Screening-Ansatz dieser Arbeit mit 50 g Früchten mit Samen deutlich größer war, noch dazu ausreichend um eine Reihe von Pyrrolizidinalkaloiden nachzuweisen.

Ähnlich verhält es sich mit *Ipomoea pes-tigridis*. Weder in Kraut und Wurzeln, noch in den bei Nair *et al.* (1987) als Ergolin-positiv (per DC) beschriebenen Samen konnten Mutterkornalkaloide nachgewiesen werden. Damit unterstützt die vorliegende Arbeit die negativen Befunde von Jirawongse *et al.* (1977) und Amor-Prats und Harborne (1993a).

2.1.2.6 Sonstige

Im GC-MS finden sich weitere stickstoffhaltige Verbindungen, die jedoch keine einheitliche Stoffklasse bilden (s. **Tab. 13**). In der Hauptsache handelt es sich um biogene Amine, die durch Decarboxylierung aus Aminosäuren entstehen. Auffällig ist, daß diese biogenen Amine fast ausschließlich in oberirdischen Organen detektiert wurden.

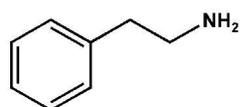


Abb. 22: Phenylethylamin

Phenylethylamin leitet sich vom Phenylalanin ab und konnte im Kraut von *Evolvulus glomeratus*, *Ipomoea tricolor* (beide Kultivare), *Operculina aequise-pala* und *Operculina riedeliana*, in der Ganzpflanze von *Ipomoea muelleri* und in den Blüten von *Convolvulus sabatius* nachgewiesen werden. In etwa der Hälfte der Proben traten zudem homologe Amide auf. Das Methanamid und das Ethanamid wurden bereits als Inhaltsstoffe von *Hewittia sublobata* (Henrici, 1996), *Merremia quinquefolia* – neben einer Reihe weiterer Derivate – (Mann, 1997) und *Merremia medium* (Tofern, 1999) identifiziert.

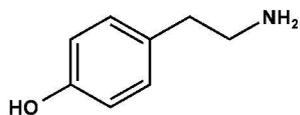


Abb. 23: Tyramin

Das aus Tyrosin gebildete Tyramin tritt im Kraut von *Bonamia spectabilis*, *Evolvulus glomeratus*, *Merremia quinata* und *Operculina riedeliana*, in den Sproßachsen von *Ipomoea asarifolia* und in Kraut und Wurzeln der von den Kanarischen Inseln stammenden *Ipomoea tricolor* cv. „Heavenly Blue“ auf. In beiden

Drogen von *Ipomoea tricolor* fand sich zusätzlich dessen N-Acetyl; die methoxylierte Form konnte im Kraut von *Bonamia spectabilis* nachgewiesen werden.

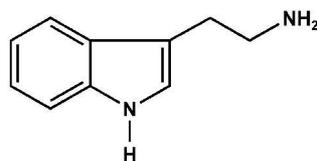


Abb. 24: Tryptamin

Aus Tryptophan entsteht das Tryptamin, das lediglich in den Blüten von *Evolvulus glomeratus* zusammen mit mehreren N-substituierten Derivaten und im Kraut von *Operculina riedeliana* gefunden werden konnte.

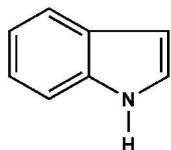


Abb. 25: Indol

Der unsubstituierte Grundkörper des Tryptamins/Tryptophans ist Indol. Dieses 2,3-Benzopyrrol konnte jeweils im Kraut von *Convolvulus sabatius*, *Evolvulus glomeratus* cv. „Blue Daze“, *Ipomoea tricolor* cv. „Heavenly Blue“ (beide Provenienzen) und *Operculina riedeliana* detektiert werden, bei *Convolvulus sabatius* auch in den Blüten. Im Vorfeld wurde es bereits als Inhaltsstoff des Krauts von *Hewittia sublobata* und *Merremia aegyptia* beschrieben (Henrici, 1996).

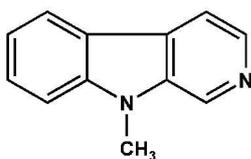


Abb. 26: Harman

Ebenso vom Tryptophan leiten sich die β -Carbolin- oder auch Harmala-Alkaloide ab. Über deren Vorkommen bei Convolvulaceae wurde bereits berichtet: Harman (2-Methyl- β -carbolin) und Norharman konnten im Kraut von *Merremia quinquefolia* (Mann, 1997) detektiert werden, nur Norharman in den Blättern von *Argyreia hookeri* und im Kraut von *Ipomoea batatas* (Tofern, 1999).

Bei der vorliegenden Arbeit konnte anhand von Referenzmaterial außerdem 1-Acetyl- β -carbolin in das Screening miteinbezogen werden. Verbindungen dieses Typs treten bei Convolvulaceae offensichtlich ausgesprochen häufig auf, nämlich in 20 der 47 untersuchten Arten. Sie konnten in neun der dreizehn Gattungen nachgewiesen werden, wobei von den Carbolinalkaloid-freien Gattungen jeweils nur eine Spezies untersucht wurde. Ein negativer Gattungsbefund muß somit als begrenzt aussagekräftig gelten. Die von Henrici (1996) aus dem Kraut von *Merremia aegyptia* isolierte 1,2,3,4-Tetrahydro- β -carbolin-3 β -carbonsäure konnte in keiner der gescreenten Arten gefunden werden.

	<i>Bonamia dietrichiana</i>	<i>Bonamia spectabilis</i>	<i>Convolvulus sabatius</i>	<i>Evolvulus alsinoides</i>	<i>Evolvulus glomeratus</i> cv. „Blue Daze“	<i>Falkia repens</i>	<i>Ipomoea asarifolia</i>	<i>Ipomoea bonariensis</i>	<i>Ipomoea muelleri</i>	<i>Ipomoea ochracea</i>	<i>Ipomoea pes-tigridis</i>	<i>Ipomoea plebeia</i>	<i>Ipomoea tenuirostris</i>	<i>Ipomoea tricolor</i> cv. „Heavenly Blue“ (Kanarische Inseln)	<i>Ipomoea tricolor</i> cv. „Heavenly Blue“ (BAYWA)	<i>Ipomoea tricolor</i> cv. „Flying Saucers“	<i>Lepistemon urceolatum</i>	<i>Maripa nicaraguensis</i>	<i>Maripa panamensis</i>	<i>Merremia hederacea</i>	<i>Merremia pterygocaulus</i>	<i>Merremia quinata</i>	<i>Operculina aequiseipala</i>	<i>Operculina riedeliana</i>	<i>Polymeria ambigua</i>	<i>Polymeria calycina</i>
Phenylethylamin			+ 6		+ 3				+ 5					+ 1,3	+ 3								+ 3	+ 3		
N-(2-Phenylethyl)methanamid (= N-Formylphenylethylamid)			+ 6											+ 3	+ 3											
N-(2-Phenylethyl)ethanamid (= N-Acetylphenylethylamid)															+ 3								+ 3			
andere mit BP 104																							+ 3			
Tyramin		+ 3			+ 3		+ 2							+ 1,3								+ 3		+ 2,3		
Methoxytyramin		+ 3																								
N-Acetyltyramin														+ 1,3												
Tryptamin					+ 6																			+ 2,3		
Tryptolin																								? 3		
N-Formyltryptamin					+ 6																					
N-Acetyltryptamin					+ 6																					
N-Acyltryptamin(e)					+ 6																					
Indol			+ 3,6		+ 3									+ 3	+ 1,3									+ 2,3		
Harman				+ 3				+ 3	+ 3				+ 3	+ 3	+ 3	+ 3									+ 3	
Norharman			+ 6	+ 3									+ 3	+ 6	+ 1,3	+ 3	+ 3			+ 3	+ 3					
1-Acetyl- β -carbolin	+ 3		+ 6	+ 3,5		+ 1		+ 1	+ 3	+ 3	+ 3	+ 3	+ 3	+ 6	+ 1,3	+ 3	+ 3	+ 2	+ 2,4	+ 3	+ 3	+ 3	+ 3	+ 1	+ 3	

Tab. 13: GC-MS-Tabelle sonstiger stickstoffhaltiger Verbindungen

Legende: 1 Wurzel (ggf. mit Rhizomen) 6 Blüten + vorhanden
2 (verholzter) Sproß 7 Früchte mit Samen ? unsicher
3 Kraut 8 Samen
4 Blätter 9 Keimlinge
5 Ganzpflanze

2.1.3 Calystegin-Analytik

Bezüglich ihrer Analytik nehmen die Calystegine unter den Tropan-Alkaloiden eine Sonderrolle ein. Diese liegt vor allem darin begründet, daß sie als polyhydroxylierte und somit ausgesprochen polare Verbindungen nicht mit organischen Lösemitteln aus der Wasserphase extrahiert werden können. Demzufolge müssen sie mit einem vom konventionellen Trennungsgang (s. 2.1.1) abweichenden Verfahren gewonnen werden, wobei sich die Ionenaustausch-Chromatographie als sehr hilfreich erwies. Auch bei der Detektion sind besondere Maßnahmen erforderlich: Bevor die Calystegine der hochsensiblen GC-MS-Analytik zugeführt werden können, müssen sie – um ihre Verdampfbarkeit zu gewährleisten – silyliert werden (s. 5.3.4). Daher wurden sie bei Mann (1997) und Tofern (1999) als hydrophile Alkaloide gesondert abgehandelt. In Anlehnung hieran erhalten die Calystegine im Hauptteil und im Experimentellen Teil dieser Arbeit ein eigenes Kapitel. Andererseits zählen sie aus biogenetischer Sicht ganz klar zu den Tropanen und werden daher an dieser Stelle diskutiert.

Calystegine sind polyhydroxylierte Nortropane mit mindestens drei OH-Gruppen, von denen sich eine an einem Brückenkopf-Kohlenstoff befindet. Tritt ein Substituent in Position 3 auf – was bei allen bisher bekannten Derivaten mit Ausnahme der Calystegine A₆ und A₇ der Fall ist – ist dieser β -ständig; es handelt sich also durchweg um 3β -Tropanol-Abkömmlinge. Ihre Einteilung erfolgt anhand der Anzahl der OH-Gruppen: Die trihydroxylierten Calystegine gehören der A-Reihe an, die tetrahydroxylierten der B-Reihe und die pentahydroxylierten der C-Reihe. Desweiteren treten N-methylierte Verbindungen auf (Asano *et al.*, 1997), die bisher allerdings nur in Solanaceae gefunden werden konnten. Die Calystegine entstammen dem bekannten Biosyntheseweg der Tropanalkaloide mit 3β -Tropanol als Zwischenstufe, was auch für Convolvulaceae eindeutig bewiesen werden konnte (Scholl *et al.*, 2001).

Entdeckt wurden die Calystegine bei der Suche nach Mediatoren zwischen höheren Pflanzen und symbiotischen Bakterien der Rhizosphäre. Tepfer *et al.* (1988) fanden heraus, daß diese Inhaltsstoffe der einheimischen Winde *Calystegia sepium* das Bodenbakterium *Rhizobium meliloti* 41 selektiv im Wachstum fördern, da dieses in der Lage ist, die Tropane als Kohlenstoff- und Stickstoff-Quelle zu nutzen. Neben anderen polyhydroxylierten Alkaloiden, wie z. B. den Indolizidinen Swainsonin und Castanospermin, fielen die Calystegine außerdem durch ihren Hemmeffekt gegenüber verschiedenen Glykosidasen auf. Ihre Wirkung als Glykosidase-Inhibitoren variiert dabei je nach Lage und Stellung der Hydroxygruppen. Beispielsweise zeigt Calystegin C₁ eine etwa hundertmal stärkere inhibitorische Aktivität gegenüber β -Glukosidase als Calystegin C₂, das ebenfalls die α -Mannosidase hemmt, die jedoch von Calystegin C₁ nicht beeinflusst wird (Kato *et al.*, 1997). Auswirkung hat dies unter anderem auf die Glykoproteinbiosynthese, da die Calystegine als Zuckermimeten die Metabolisierung gewisser Kohlenhydrate und Glykoproteine unterbrechen können. Das prädestiniert sie für die Erforschung ihrer antiviralen und zytostatischen Potenz (Dräger, 1996; Asano *et al.*, 2000).

Übereinstimmend mit Schimming *et al.* (2005) enthalten etwas weniger als die Hälfte der untersuchten Proben mindestens ein Calystegin.

Für die Gattungen *Bonamia*, *Calystegia*, *Convolvulus*, *Dichondra*, *Falkia*, *Lepistemon* und *Maripa* wurden deutlich positive Befunde erhalten. Von den fünf untersuchten *Ipomoea*-Arten konnte allein in den Blüten von *Ipomoea tricolor* Calystegin B₂ nachgewiesen werden, was für ein eher sporadisches Auftreten innerhalb dieses Genus spricht. Dies scheint ebenso für die Gattung *Merremia* zu gelten, von der allerdings nur ein Exemplar untersucht wurde, für das zudem das Vorkommen von Calystegin C₁ nicht eindeutig belegt werden konnte. Keine Calystegine wurden in den Gattungen *Evolvulus*, *Operculina* und *Polymeria* detektiert. Bei den beiden letzten Genera wird vermutet, daß das Fehlen von Calysteginen ein taxonspezifisches Merkmal darstellt.

Als am weitesten verbreitet gelten die Calystegine der B-Reihe. Die erhaltenen Resultate stimmen hiermit überein: Calystegin B₂ tritt am häufigsten auf, gefolgt von Calystegin B₁. Dritthäufigste Verbindung ist das Calystegin A₃, wobei festgestellt werden kann, daß die Calystegine der A-Reihe insbesondere in den beiden nah verwandten Gattungen *Calystegia* und *Convolvulus* akkumuliert werden.

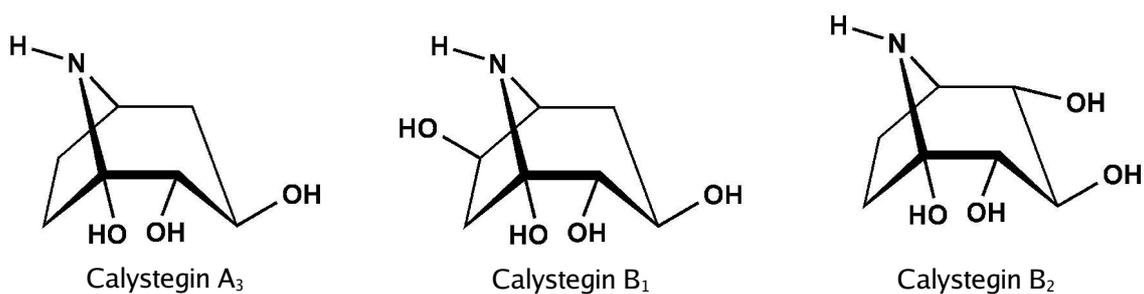


Abb. 27: die am häufigsten nachgewiesenen Calystegine A₃, B₁ und B₂

2.2 Isolierung und Strukturaufklärung von Alkaloiden

Im nun folgenden Teil der Arbeit werden die anhand der Ergebnisse des GC-MS-Screenings angestrebten Isolierungen beschrieben. Die Strukturaufklärung der Einzelstoffe erstreckt sich über Alkaloide aus den Bereichen Pyrrolidine, Pyrrolizidine und ganz überwiegend Tropane. Eine Ausnahme bilden die Hydroxyzimtsäureamide, die sich wegen ihrer fehlenden basischen Eigenschaften ganz grundlegend von den übrigen, hier bearbeiteten Alkaloidtypen unterscheiden. Dies hat zur Folge, daß sie nicht im Basen-Extrakt lokalisiert sind und somit auch nicht per GC-MS nachgewiesen wurden. Anstedessen erfolgte ihre Detektion mittels HPLC und DC. Entsprechend ihres Auftretens im sauren Dichlormethan-Extrakt zu einem früheren Zeitpunkt des Trennungsgangs werden sie den im Basen-Extrakt enthaltenen Alkaloiden vornangestellt.

2.2.1 Hydroxyzimtsäureamide

Die Hydroxyzimtsäureamide zählen aufgrund ihrer nicht-basischen Eigenschaften erst nach neueren Definitionen zu den Alkaloiden. Sie setzen sich aus einer Hydroxyzimtsäure und einem primären Amin zusammen, die säureamidisch miteinander verknüpft sind. Vertreter dieser Stoffgruppe konnten aus diversen Convolvulaceae gewonnen werden. In den Samen von *Ipomoea obscura* wurden – aufgrund ihrer positiven van Urk-Reaktion – die Serotonin-Konjugate Ipobscurin A, B, C und D entdeckt (Eich *et al.*, 1986; Eich *et al.*, 1989; Weigl, 1992; Jenett-Siems *et al.*, 2003). Die einzelnen Ipobscurine können gleichsam als Stufen eines mutmaßlichen Biosyntheseweges angesehen werden, der vom Ipobscurin A, dem Säureamid von Serotonin mit *p*-Cumarsäure, über Veretherung mit einem Phenylpropan zum Ipobscurin B führt, aus dem durch Cyclisierung die beiden makrolactamartigen Ipobscurine C und D gebildet werden, die *cis*-/*trans*-Isomere darstellen. Im Arbeitskreis Eich erfolgte außerdem die Isolierung von *N-trans*-Feruloyltyramin (Trumm, 1991; Jenett-Siems, 1996; Mann, 1997) und *N-trans-p*-Cumaroyltyramin (Tofern, 1999), beide Säureamide des in β -Stellung aromatisch substituierten Ethylamins Tyramin.

Hydroxyzimtsäureamide werden überwiegend in Zusammenhang mit den reproduktiven Organen höherer Pflanzen und ihrer Abwehrreaktion auf Noxen beschrieben. Beispielsweise wurden sie als dominierende phenolische Komponenten der reproduktiven Organe verschiedenster Blütenpflanzen identifiziert, wobei ihre Anreicherung durch das Kappen blühender Individuen induziert werden kann (Martin-Tanguy *et al.*, 1978). Bei mechanischer Verletzung der Pflanze kommt es in der Umgebung der Wunde zu einem Konzentrationsanstieg: In den Blättern der Tomate läßt sich eine Verzehnfachung des Gehalts an *N-trans-p*-Cumaroyltyramin und *N-trans*-Feruloyltyramin feststellen. Neben *Lycopersicon esculentum* zeigten auch *Solanum tuberosum* und *Nicotiana tabacum* (alle Solanaceae) eine signifikante Erhöhung des Gehalts an *N-trans*-Feruloyltyramin bei Verletzung der

Pflanze. Von den beiden Tyraminamiden kann angenommen werden, daß sie Teil des chemischen Abwehrarsenals bei Verwundung sind, um die Pflanze gegen Pathogene und Angriffe von Fraßfeinden zu schützen (Pearce *et al.*, 1998). Zur Pathogeneinkapselung induziert die Pflanze einen lokalen Zelltod. Unterstützend werden die Wände der apoptotischen Zellen durch Einlagerung phenolischer Verbindungen verstärkt; dazu zählen u. a. *p*-Cumaroyl- und Feruloyltyramin, die mit anderen vermutlich auch zu der charakteristischen Autofluoreszenz des befallenen Gewebes führen (Beerhues, 1992). Dies wird durch die Arbeiten von Keller *et al.* (1996) untermauert: Insgesamt vierzehn Verbindungen wurden in Zusammenhang mit der Infektion sowohl einer Zellsuspensionskultur oberflächensterilisierter Blätter von *Solanum tuberosum* L. cv. „Datura“ mit Kulturfiltrat, als auch von Blättern der Kartoffelpflanze mit einer Sporensuspension von *Phytophthora infestans*, eines bei Pflanzen Mehltau verursachenden Oomyceten, identifiziert. Neben den Putrescinamiden und *p*-Hydroxybenzaldehyd zeigten die beiden hier zellwandgebundenen Hydroxyzimtsäureamide den stärksten Anstieg der Akkumulationsrate; *N-trans-p*-Cumaroyltyramin wurde außerdem in großen Mengen ins Kulturmedium abgegeben. Es ist auffällig, daß gerade Solanaceae als Untersuchungsobjekte für das Auftreten und die physiologische Erforschung dieser beiden bei Convolvulaceae regelmäßig auftretenden Hydroxyzimtsäureamide genutzt werden. Dies ist jedoch nicht verwunderlich, berücksichtigt man deren enge Verwandtschaft als Schwesterfamilien innerhalb der Ordnung Solanales.

Auch aus pharmakologischer Sicht scheinen die Hydroxyzimtsäureamide nicht uninteressant zu sein: Im Zuge der aktivitätsgeleiteten Fraktionierung des Ethanolauszugs der Knollen von *Allium bakeri* („Xiebai“; Liliaceae) wurden *N-trans-p*-Cumaroyltyramin und *N-trans*-Feruloyltyramin als aktives Prinzip bei der Inhibierung der Aggregation menschlicher Blutplättchen (Thrombozyten) isoliert. Es wurde vermutet, daß diese Hemmwirkung in Zusammenhang steht mit einer inhibitorischen Aktivität gegenüber 5-Lipoxygenase oder Thromboxan-Synthetase (Okuyama *et al.*, 1986). In zwei weiteren Arbeiten wurden *N-cis*- und *N-trans*-Feruloyltyramin als Hemmstoffe der *in vitro* Prostaglandin-Biosynthese aus dem Aceton-Extrakt der Sproßachsen der indonesischen Arzneipflanze *Ipomoea aquatica* („Kangkung“; Convolvulaceae) isoliert. *N-trans*-Feruloyltyramin und das ebenfalls getestete *N-p*-Cumaroyltyramin zeigten aufgrund ihrer Phenol-Teilstruktur moderate inhibitorische Aktivität gegenüber der Prostaglandin-Synthetase (IC₅₀: 270 µM bzw. 280 µM), jedoch keine Aktivität gegenüber der Arachidonat-5-lipoxygenase, da dafür eine 3,4-Dihydroxy-Substitution essentiell erscheint (Tseng *et al.*, 1986 und 1992). Ebenfalls einen interessanten Ansatz liefern die Versuche von Nishioka *et al.* (1997): Nach Gewinnung aus dem Methanolextrakt der genießbaren Teile der Frühlingszwiebel (*Allium fistulosum*; Alliaceae) zeigte *N-trans-p*-Cumaroyltyramin eine recht hohe inhibitorische Aktivität gegenüber der α-Glucosidase der Hefe; erstaunlicherweise hemmte es die intestinale α-Glucosidase der Ratte kaum.

N-trans-Feruloyltyramin und *N-trans-p*-Cumaroyltyramin sind im Alkaloid-Trennungsgang (s. 2.1.1) wegen ihrer fehlenden Basizität im sauren Dichlormethan-Extrakt anzu-

treffen. Detektierbar sind sie anhand ihrer Eigenfluoreszenz auf der DC-Platte, wobei ersteres intensiv blau leuchtet, letzteres schwächer und dunkler, sowie ihrer Anfärbbarkeit mit Echtblausalz B – beide reagieren nach Besprühen mit einer braunen Färbung. Beim Screening mittels HPLC sind sie aufgrund ihrer charakteristischen UV-Spektren gut zu erkennen. Ihre Anreicherung in zwei der untersuchten Spezies ermöglichte ihre jeweilige Isolierung, was in den folgenden beiden Kapiteln dargelegt wird.

2.2.1.1 Isolierung und Strukturaufklärung von *N-trans-p*-Cumaroyltyramin (1)

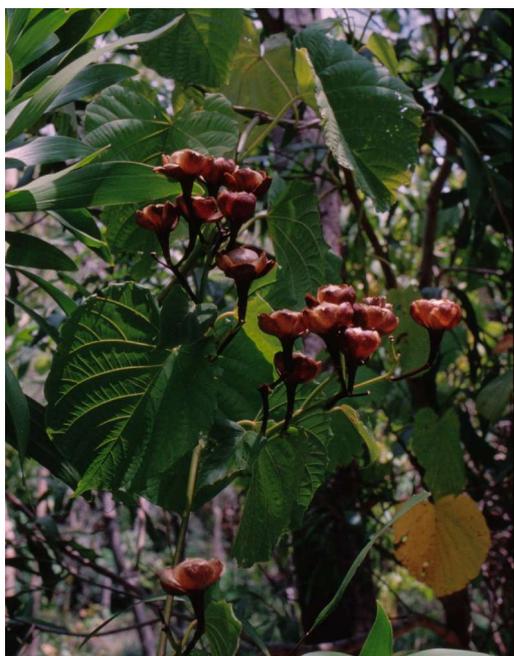


Abb. 28:

Operculina riedeliana (OLIVER) OOSTSTR.
in Queensland, Australien

Herkunft:
Australien

Beschreibung:
The Convolvulaceae of Malaysia (Ooststroom, 1939);
Australian Plant Census (CHAH, 2006)

Die in Australien heimische *Operculina riedeliana* (OLIVER) OOSTSTR. ist bezüglich ihrer basischen Inhaltsstoffe eher unspektakulär, enthält sie doch nur einige einfache Pyrrolidin- und Tropanalkaloide (s. 2.1.2). Ihre vorrangige Überlebensstrategie ist vielmehr die Produktion von Biomasse: Zum einen bildet sie große Blätter mit einem Durchmesser von bis zu 20 cm aus und klettert schnell in die Höhe, zum anderen ist ihr die Ausbreitung über ein großes Territorium mittels flacher kabelartiger Ausläufer möglich, wobei jeweils etwa vier bis acht Sproßachsentriebe miteinander verwachsen und so einen robusten Seitenarm bilden.

Der Rückstand des methanolischen Extraktes dieser Ausläufer wurde in 2%iger wässriger Weinsäurelösung aufgenommen und entsprechend der elutropen Reihe ausgeschüttelt. Die saure Dichlormethan-Phase zeigte in der HPLC einige ungewöhnliche Peaks, die genauer untersucht werden sollten. Dazu wurde der Trockenrückstand in Chloroform aufgenommen und an einer Kieselgel-Säule mit einem Gradientensystem aus Chloroform mit steigendem Anteil Methanol aufgetrennt. Nach dünnschichtchromatographischer Kontrolle wurden Fraktionen gleicher Zusammensetzung vereinigt (**Abb. 29**). Fraktionen **20-23** wurden mittels präparativer HPLC (Gradient: 90:10 H₂O^{Sre}/MeOH nach 50:50 in 50 min)

weiter separiert. Der nach 29.5 min aufgefangene Peak **B** mit UV-Maxima bei 204, 226, 293 und 309 nm wurde der Strukturaufklärung zugeführt.

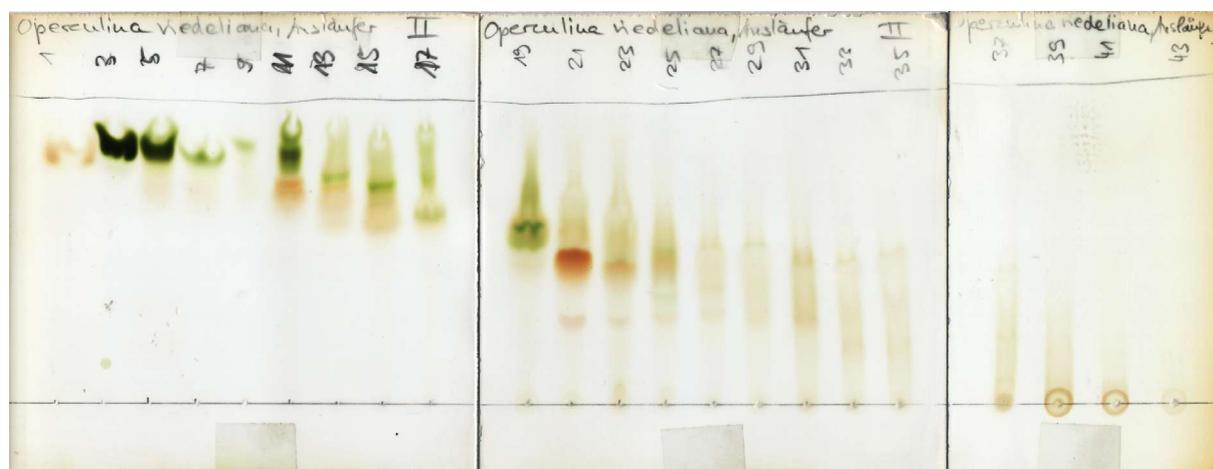


Abb. 29: DC der Kieselgel-Säule der Ausläufer von *Operculina riedeliana* (Fließmittel: EtOAc/H₂O/Ameisensäure/Eisessig, 40:4:4:8)

Im ¹H-NMR fallen zunächst die Signale im aromatischen bzw. olefinischen Bereich auf: vier Dubletts mit je zwei Protonen bei δ 7.39 (H-2/H-6), δ 7.05 (H-2'/H-6'), δ 6.78 (H-3/H-5) und δ 6.71 (H-3'/H-5') mit $J \approx 8.5$ Hz, die sich anhand ihrer leicht unterschiedlichen Kopplungskonstanten zwei *para*-disubstituierten Aromaten zuordnen lassen, desweiteren zwei Dubletts je eines Protons bei δ 7.43 (H-7) und bei δ 6.38 (H-8) und einer auffällig großen Kopplungskonstante ($J = 15.7$ Hz), die in Zusammenhang mit den chemischen Verschiebungen der Wasserstoffatome typisch für eine *trans*-Doppelbindung ist. Das Signal bei δ 7.43 weist eine Tieffeld-Shift auf; vermutlich befindet sich dieses Proton in β -Position zu einer Carbonyl-Gruppe. Auffällig tieffeldverschoben ist auch das aromatische Signal bei δ 7.39. Es liegt nahe, daß der elektronenziehende Einfluß einer Doppelbindung dafür verantwortlich ist, und damit der Aromat in Konjugation zu dieser steht. Das alles spricht für *trans-p*-Cumarsäure als Acylkomponente.

Im aliphatischen Bereich finden sich zwei Triplets (δ 3.45 und δ 2.75) mit einer identischen Kopplungskonstante von 7.4 Hz, die einen Dacheffekt zeigen. Da beide zwei Protonen entsprechen, muß es sich um miteinander koppelnde, also benachbarte Methylengruppen handeln. Das recht tiefe Signal bei δ 3.45 (CH₂-8') spricht für den Einfluß eines Sauerstoff- oder Stickstoffatoms. Der Molpeak im EIMS liegt bei m/z 283; die ungeradzahlige Masse macht einen stickstoffhaltigen Naturstoff wahrscheinlich. So kann Tyramin als zweite Komponente eines Säureamids postuliert werden.

Das Massenspektrum untermauert die Vermutung, daß es sich um **N-*trans-p*-Cumaroyltyramin** handelt: Die Fragmente größter Intensität entstehen durch für Phenylethylamine typische McLafferty-Umlagerung (m/z 120) und durch α -Spaltung in Nachbarschaft zur Carbonyl-Gruppe (m/z 147 als Basispeak und m/z 164), wobei letztere durch CO-Verlust in m/z 119 und nach Hydrierung des Amins in m/z 137 übergehen. m/z 107 wird durch Benzyl-Spaltung im Tyramin-Teil gebildet, woraus unter Verlust der OH-Gruppe das Tropylium-Ion mit m/z 91 resultiert; als Pendant entsteht nach Hydrierung m/z 177.

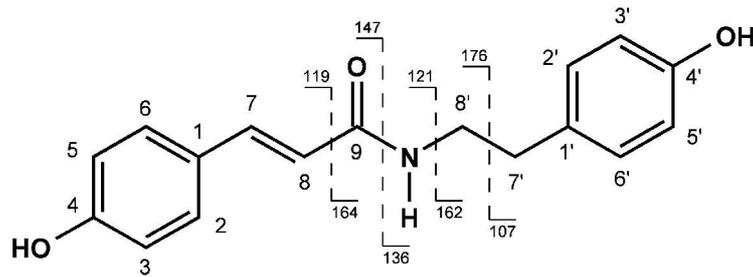


Abb. 30: Fragmentierung von *N-trans-p*-Cumaroyltyramin (1) im EIMS

Die endgültige Bestätigung der Identität der Substanz lieferte der Vergleich mit den Kopplungsmustern der Einzelstoffe (Pouchert, 1983 und 1993) sowie mit Literaturdaten (Rondelet *et al.*, 1968; Nishioka *et al.*, 1997; Tofern, 1999).

2.2.1.2 Isolierung und Strukturaufklärung von *N-trans*-Feruloyltyramin (2)

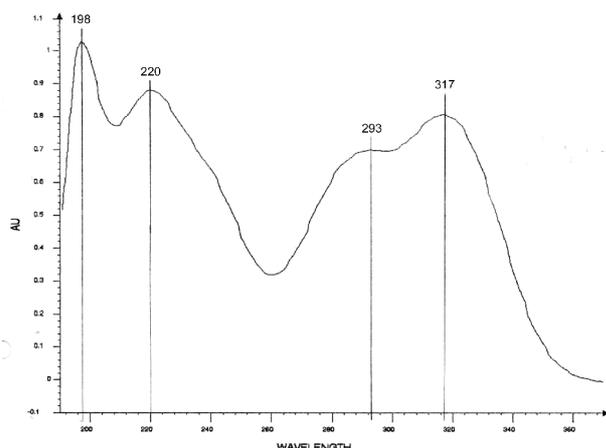
Abb.31: *Ipomoea plebeia* R. Br.

Herkunft:
Queensland, Australien

Beschreibung:
Robert Brown's vermischte botanische Schriften
(Brown, 1827);
Flora Australiensis (Bentham, 1863-1878)



Ipomoea plebeia R. Br. ist ebenfalls ein australischer Endemit; sie ist auf kieshaltigen Böden in Flußbetten und an flachen Hängen zu finden. Die zierlichen Sproßachsen, wie auch die langgezogen herzförmigen Blätter sind behaart. In den Blattachsen trägt diese auch als „Bellvine“ bezeichnete Winde kleine, weiße, trompetenförmige, gestielte Einzelblüten. Durch Selbstbestäubung ist sie in der Lage, sehr viele ihrer schwarzbraun gestreiften, ebenfalls behaarten Samen auszubilden, die nach der Reife aus den Spaltkapseln auf den Boden fallen und dort schnell neue Individuen mit tief eingeschnittenen Keimblättern hervorbringen. So ist es dieser Art möglich, trotz relativer Anfälligkeit der Pflanzen für Schädlinge und Fraßfeinde, durch ihre große Nachkommenschaft ihr Überleben zu sichern.



Beim Screening fiel der saure Dichlormethan-Extrakt des Krautes auf, da er fast ausschließlich aus einer einzigen Substanz zu bestehen schien, die im HPLC ein interessantes UV-Spektrum ($\lambda_{\max} = 198$ nm, 220 nm, 293 nm und 317 nm) zeigte.

Diese Verbindung sollte strukturaufgeklärt werden; dazu wurde der Dichlormethan-Extrakt direkt zur Vermessung gegeben.

Abb. 32:

UV-Spektrum von N-*trans*-Feruloyltyramin (2)

Die meisten Signale des $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums liegen im olefinischen/aromatischen Bereich. So finden sich dort zwei Dubletts bei δ 7.43 und δ 6.40 für je ein Proton einer *trans*-Doppelbindung, die sich durch ihre große Kopplungskonstante von $J \approx 15.7$ Hz deutlich von einer *cis*-ständigen unterscheiden läßt. Das eine Dublett liegt mit δ 7.43 (H-7) sehr tief, ist also eher elektronenarm, was für den ^-M -Effekt durch die Nachbarschaft beispielsweise eines Aromaten spricht. Es gibt außerdem drei Signale, die aufgrund ihrer gemeinsamen Kopplungskonstanten zusammengehören müssen: ein Dublett bei δ 7.11 (H-2) mit einer *meta*-Kopplung ($J = 1.7$ Hz), ein Dublett bei δ 6.79 (H-5) mit einer *ortho*-Kopplung ($J = 8.1$ Hz) und ein Doppeldublett bei δ 7.02 (H-6) mit einer *meta*- und einer *ortho*-Kopplung ($J = 1.8$ Hz und 8.6 Hz). Es handelt sich hierbei um einen 1,3,4-trisubstituierten Aromaten. Einer der Substituenten ist vermutlich die bei δ 3.87 auszumachende Methoxy-Gruppe, ein Singulett bestehend aus drei Wasserstoffatomen mit charakteristischem ppm-Wert. Dazwischen finden sich die typischen Signale für das AA'BB'-System eines *para*-disubstituierten Aromaten (δ 7.05 und δ 6.71), d. h. je zwei Protonen bilden ein Dublett aus und koppeln mit $J \approx 8.3$ Hz. Die beiden Triplets im aliphatischen Bereich (δ 3.46 und δ 2.75) zeigen neben einem Dacheffekt identische Kopplungskonstanten ($J = 7.3$ Hz) und entsprechen je zwei Protonen, sind also vermutlich zwei benachbarte Methylengruppen. Das tieffeldverschobene Triplett bei δ 3.46 (CH_2 -8') muß unter dem Einfluß eines elektronenziehenden Heteroatoms wie Stickstoff oder Sauerstoff stehen. Da die chemischen Verschiebungen und auch die Kopplungskonstanten des *para*-disubstituierten Aromaten und der beiden Methylengruppen nahezu identisch mit denen des N-*trans*-*p*-Cumaroyltyramin sind, kann man auch hier von einem säureamidisch gebundenen Tyramin ausgehen.

Durch Vergleich mit Literaturdaten (Yoshihara *et al.*, 1978; Okuyama *et al.*, 1986) konnte abgesichert werden, daß es sich bei Verbindung **2** um das N-*trans*-Feruloyltyramin handelt.

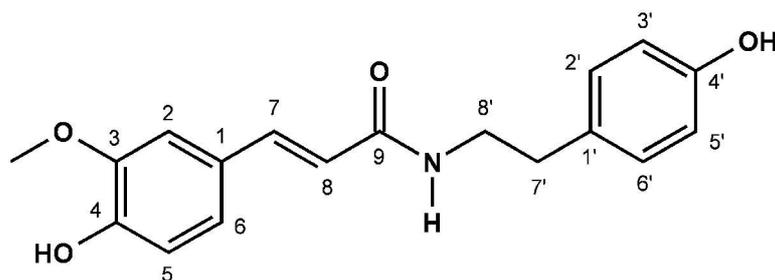


Abb.33: N-*trans*-Feruloyltyramin (2)

2.2.2 Pyrrolidinalkaloide

Der Grundkörper der Pyrrolidin-Alkaloide besteht aus einem N-Methylpyrrolidin-Ring, der in α -Stellung zum Stickstoff mit einer C₃-Seitenkette verknüpft ist, welche eine ketonische Sauerstoffsabstitution am mittleren C-Atom trägt. Der einfachste Vertreter dieser Stoffgruppe ist das Hygrin. Strukturvarianten entstehen durch Einführung eines weiteren Oxopropyl-Restes, Konjugatbildung mit einem oder zwei weiteren N-Methylpyrrolidin-Ringsystemen oder durch Reduktion einer oder beider Ketofunktionen zum Alkohol. Die wohl bekannteste Verbindung dieser Stoffgruppe ist das Cuscohygrin, bei dem der endständige Kohlenstoff der 2-Oxopropyl-Kette mit dem dem Stickstoff benachbarten Kohlenstoff eines zweiten N-Methylpyrrolidin-Ringes verbunden ist.

Bekannt wurden die Pyrrolidinalkaloide erstmalig durch Gewinnung der rohen Hygrinbasen aus den Blättern des Coca-Strauches (Wöhler und Lossen, 1862; Lossen, 1865); die beiden Hauptkomponenten dieser Fraktion konnten von Liebermann in Reinform gewonnen und nach eingehenden Analysen als Hygrin und Cuscohygrin formuliert werden (1889 und mit Cybulski 1895).

Lange Zeit firmierten die Pyrrolidine lediglich als Inhaltsstoffe der Gattung *Erythroxylum*, bis 1939 Lazur'evskii im Rahmen der Untersuchung einer Reihe von *Convolvulus*-Arten über die Isolierung von Hygrin und Cuscohygrin aus *Convolvulus hamadae* berichtete. Weitere diesbezügliche Ergebnisse folgten: Aripova *et al.* (1972) gewannen aus den Wurzeln von *Convolvulus erinacius* und dem Kraut von *Convolvulus subhirsutus* neben dem Tropan Convolvin auch Cuscohygrin. 1974 beschrieben Evans und Somanabandhu ebenfalls Cuscohygrin als charakteristischen Bestandteil der Wurzeln einiger britischer Convolvulaceae, namentlich *Calystegia sepium*, *C. soldanella*, *C. sylvestris* und *Convolvulus arvensis*.

Aus pharmakologischer Sicht sind die Pyrrolidin-Alkaloide wohl eher zu vernachlässigen, wengleich das Cuscohygrin bei den Untersuchungen von Watson *et al.* (1983) die primäre

zelluläre Immunantwort bei Mäusen deutlich hemmte; zudem zeigte es einen leicht immunsuppressiven Effekt bei der humoralen Abwehr. In Bezug auf Hygrin findet sich kein Bericht über eine biologische Aktivität (Woker, 1953a; Novák *et al.*, 1984).

Chemotaxonomisch hingegen kommt ihnen hinsichtlich ihrer eventuellen Rolle als Familienmerkmal eine gewisse Bedeutung zu. Daher wurde ihr Vorkommen im Rahmen des Alkaloid-Screenings via GC-MS dokumentiert. Die Ergebnisse in diesem Bereich sind in Kapitel 2.1.2.1 aufgeführt und erläutert.

Aus den Wurzeln von *Bonamia spectabilis* und den Wurzeln und Rhizomen von *Falkia repens* konnte das bei den Windengewächsen wohl am weitesten verbreitete Pyrrolidin, das Cuscohygrin, gewonnen werden. Im Folgenden wird exemplarisch die Isolierung aus den Wurzeln der *Bonamia*-Art beschrieben.

2.2.2.1 Cuscohygrin (3)

Die Wurzeln von *Bonamia spectabilis* wurden gemäß dem Extraktionsschema unter 2.1.1 fraktioniert. Der so erhaltene Basen-Extrakt (s. 5.4.2.1 bzw. 5.4.4.5) wurde säulenchromatographisch an Kieselgel aufgetrennt; das Elutionsmittel setzte sich aus Chloroform, Methanol und einer kleinen Menge wässriger Ammoniak-Lösung zusammen, wobei der Anteil an Methanol stetig erhöht wurde. Die mit reinem Methanol bzw. einer Methanol-Ammoniak-Mischung von der Säule eluierten Fraktionen **96-Ende** zeigten nach Besprühen mit Dragendorffs Reagenz zwei positive Substanzzonen. Sie wurden vereint und mittels präparativer Dünnschichtchromatographie weiter separiert. Die im Fließmittelgemisch Chloroform/Methanol/NH₃ konz. (50:50:1; V:V:V) bei R_f 0.18-0.22 zu findende Bande **Z** wies keine Fluoreszenzlöschung bei 254 nm auf, zeigte aber nach Besprühen mit dem Detektionsmittel eine leuchtendorangene Färbung. Der entsprechende Bereich wurde mit dem Spatel von der DC-Platte gekratzt, und das Kieselgel mit 10%iger Natriumcarbonat-Lösung extrahiert. Die mit Dichlormethan ausgeschüttelte Substanz sollte als vermutlich stickstoffhaltige Verbindung strukturaufgeklärt werden.

Die Peaks im ¹H-NMR liegen alle zwischen δ 1.54 und δ 3.27; es sind also keine signalgebenden Protonen an ungesättigten C-Atomen vorhanden und somit keine aromatische Teilstruktur. Auffällig sind die jeweils drei H-Atomen entsprechenden Singulets bei δ 2.44 und δ 2.46, deren chemische Verschiebung zwei N-CH₃-Gruppen vermuten läßt. Da keine Signalaufspaltung erkennbar ist, muß es sich hierbei um zwei tertiäre Stickstoffatome handeln.

Bestimmend im EIMS ist der Basispeak mit m/z 84, der zusammen mit dem Verhalten bei der DC-Untersuchung einen deutlichen Hinweis auf ein Hygrin-Derivat gibt. Er verdankt seine Entstehung der durch den Stickstoff dirigierte α -Spaltung. Es resultiert das N-Methyl-pyrrolinium-Kation, das durch Ausbildung einer Doppelbindung am Stickstoff, da vierbindig, positiv geladen ist. Gegenstück ist das Fragment bei m/z 140. Ebenfalls einen auffälligen Peak, jedoch von weitaus geringerer Intensität, stellt das Fragmention bei

m/z 98 dar; es entsteht durch α -Spaltung zur Carbonylgruppe. Der Stickstoff bestimmt also in sehr viel stärkerem Maße die Zerfallsreaktion. Eingedenk der Tatsache, daß es sich aufgrund der zwei N-Atome um einen Molpeak geradzahligter Masse handeln muß, findet sich ein sehr kleiner Peak bei m/z 224, jedoch mit korrespondierenden Signalen bei m/z 223 (M–H) und m/z 209 (M–CH₃). Für m/z 224 kann die Summenformel C₁₃H₂₄N₂O postuliert werden.

Das ¹³C-NMR-Spektrum weist insgesamt sieben Peaks auf. Aufgrund des Sachverhalts, daß relativ wenige Signale auftreten, ist davon auszugehen, daß es sich um ein symmetrisches Molekül handelt, und somit mehrere davon zusammenfallen. Das Signal bei 203.97 ppm läßt sich anhand seines ppm-Wertes einer zweifach alkylsubstituierten Carbonylgruppe zuschreiben. Bei 42.11 ppm findet sich eine Methylgruppe, die aufgrund ihrer Lage im Spektrum an ein Stickstoffatom gebunden sein muß. Da das Molekül zwei N–CH₃-Gruppen aufweist, entspricht das Signal zwei C-Atomen. Die übrigen Peaks, die sich einer Methin- und vier Methylen-Gruppen zuordnen lassen und in ihrer Intensität dem Signal der N–CH₃-Gruppen ähneln, beinhalten also ebenfalls jeweils zwei Kohlenstoff-Atome.

Bringt man all diese Daten in Zusammenhang, liegt die Vermutung nahe, daß es sich bei der isolierten Substanz um **Cuscohygrin** handelt.

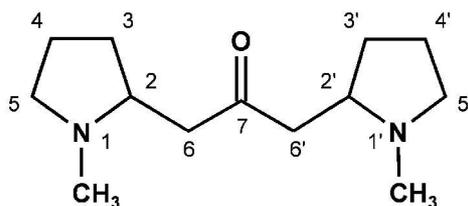


Abb. 34: Cuscohygrin (3)

Da Cuscohygrin im Arbeitskreis bereits aus den Wurzeln von *Convolvulus farinosus* (Jenett-Siems, 1996) und aus den Wurzeln von *Convolvulus cneorum* und *Merremia cissoides* (Mann, 1997) isoliert wurde, konnten die Signale anhand der Referenzdaten zugeordnet werden.

2.2.3 Pyrrolizidin-Alkaloide

Seit der Isolierung von Ipangulin/Isoipangulin A und Ipangulin/Isoipangulin B aus *Ipomoea hederifolia* (Jenett *et al.*, 1991; Jenett-Siems *et al.*, 1993) und damit der Erstbeschreibung von Pyrrolizidinalkaloiden als Inhaltsstoffe einer Convolvulaceae haben sie sich als eine charakteristische Stoffgruppe insbesondere für die Sectio Mina etabliert. Ursprünglich selbst ein Gattungsname (z. B. hieß *Ipomoea lobata* früher *Mina lobata*) wird Mina nun als Sektion dem Taxon Quamoclit untergeordnet (Austin und Huáman, 1996). Bezeichnete Quamoclit bei Verdcourt noch eine eigenständige Gattung, wird dieser Oberbegriff von Austin bei der Unterteilung des Genus *Ipomoea* in drei Subgenera letzt-

endlich zur Untergattung umgestaltet (Verdcourt, 1957; Austin, 1979 und 1980). Aufgrund der intrafamiliären chemotaxonomischen Bedeutung der Pyrrolizidine, namentlich ihrer Konzentration auf den Ipomoeen-Subgenus *Quamoclit* Sectio *Mina*, und der Giftigkeit zahlreicher ihrer Vertreter war die Untersuchung ihrer Verbreitung in den hier bearbeiteten Spezies Teil dieser Arbeit.

Pyrrolizidinalkaloide bestehen aus einer Necinbase, die als alkoholischer Grundkörper vorliegen kann oder mit einer oder mehreren Necinsäuren verestert ist. Necinbasen können als zwei Pyrrolkörper, bei denen der Stickstoff und das benachbarte C-Atom identisch sind, angesehen werden; am Kohlenstoff neben dem gemeinsamen C-Atom befindet sich eine Hydroxymethylgruppe. Abweichend von diesem bicyclischen Ringsystem gibt es auch die sog. Otonecine, die als N-methylierte Azacyclooctan-4-one aufgefasst werden können. Der Pyrrolizidin-Grundkörper kann über Hydroxygruppen verfügen, die vornehmlich in Position 7, aber auch an C-2 oder C-6 lokalisiert sind; viele weisen eine Doppelbindung zwischen C-1 und C-2 auf. Je nach räumlicher Anordnung der Wasserstoffatome und Substituenten in den Positionen 1, 8 und, wenn vorhanden, 7 ergeben sich verschiedene Stereoisomere. Als Beispiele seien die in *Convolvulaceae* häufigen Necinbasen (-)-Trachelanthamidin ($1\alpha,8\alpha$) und (-)-Platynecin ($1\beta,8\alpha,7\beta$) aufgeführt. Die Necinsäuren können recht unterschiedlicher Natur sein, beispielsweise C_5 - oder C_7 -Carbonsäuren oder zur Ausbildung eines weiteren Makrozyklus führende C_{10} -Dicarbonsäuren. Die daraus resultierende Vielfalt an Strukturen wird nach stereochemischen Gesichtspunkten gegliedert: insbesondere ist die Stellung der Substituenten an C-7 und/oder C-9 ausschlaggebend; H-8 ist mit wenigen Ausnahmen α -orientiert. Bei der Einteilung in Gruppen, wie sie z. B. Hartmann und Witte (1995) vornehmen, spielt zudem die Art der Necinsäure(n) eine Rolle.

Bezüglich ihrer Bedeutung für die Pflanze sind die Pyrrolizidinalkaloide ganz klar als Fraßgifte einzuordnen; sie dienen der Abschreckung von Herbivoren und bieten so der Pflanze Schutz. Diese Toxizität machen sich auch bestimmte Schmetterlingsarten zunutze: die Raupen von Lepidoptera wie *Thyria jacobaeae* besitzen die Fähigkeit, die Alkaloide ihrer Nahrungsquelle, in diesem Fall *Senecio*-Arten, zu akkumulieren und sich dadurch selbst vor Fraßfeinden zu schützen.

Für den Menschen sind nicht alle Pyrrolizidinalkaloide giftig. Voraussetzung für ihre Toxizität sind eine 1,2-Doppelbindung im Necinteil und eine mindestens fünf C-Atome besitzende verzweigte Carbonsäure als Esterkomponente. Erst dann können sie ihre cancerogenen, mutagenen und teratogenen Eigenschaften entfalten. In Form von Dehydropyrrolizidinen fungieren sie aktiviert durch die Allylstruktur als Alkylantien, die Biopolymere angreifen. Dies können z. B. RNS oder DNS sein, bei denen sie durch ihre Anlagerung zu Strangbrüchen und anderen Schädigungen führen und damit insbesondere die Zellteilung unterbinden. Besonders giftig sind die Diester, die in der Lage sind, gleich zweifach mit nukleophilen Systemen zu interagieren; dadurch kann es zum sog. Cross-linking, also der irreversiblen Vernetzung zweier DNS-/RNS-Stränge kommen. Als Ort ihrer Metabolisierung ist die Leber besonders gefährdet.

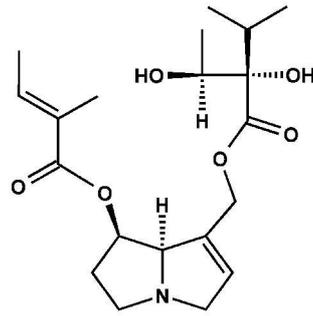


Abb. 35: das für den Menschen toxische Pyrrolizidinalkaloid Symphytin

Die bei den Windengewächsen gehäuft auftretenden Ipanguline und Minalobine sind also für Menschen nicht giftig. Gegenüber anderen Fraßfeinden wie Insekten oder Raupen könnten die Pflanzen jedoch zumindest ungenießbar sein.

2.2.3.1 Minalobin O (4)

Aus Samen von *Ipomoea cristulata*, die dem Herbar des Arizona Sonora Desert Museums (ASDM) entstammten, konnten im institutseigenen Gewächshaus mehrere Individuen angezogen werden. Die eher schlanken Sproßachsen dieser Winde werden einige Meter lang und tragen drei- oder fünffach gelappte spitz zulaufende glattrandige Blätter. Augenfällig sind die meist mehrfach verzweigten Blütenstände mit ihren roten Blüten, wobei die Kronblätter zu einer schmalen Röhre verwachsen sind und einen tellerartigen Rand ausbilden, der von den fast weißen Staubblättern überragt wird. Dieses Erscheinungsbild ist typisch für Ipomoeen des Subgenus Quamoelit Sectio Mina.



Abb. 36:

Ipomoea cristulata HALLIER f.
in ihrem natürlichen Habitat
(Gila Wilderness, Arizona, USA)

Herkunft: Mexiko, Südwesten und Zentrum der USA

Beschreibung: Vascular Plants of Arizona (Austin, 1998);

Mededeelingen van 's Rijks Herbarium Leiden (Herzog, 1922)

Wie aufgrund ihrer morphologischen Merkmale erwartet, zeigten die GC-MS-Untersuchungen von Kraut und Wurzeln das Vorhandensein mehrerer Pyrrolizidin-Alkaloide, wobei diese sich überraschenderweise sowohl Verbindungen der Ipangulin-Reihe, erstmalig beschrieben für *Ipomoea hederifolia* (Jenett-Siems *et al.*, 1993), als auch solchen der aus *Ipomoea lobata* bekannten Minalobin-Reihe (Jenett-Siems *et al.*, 1998a) zuordnen ließen. Der Basenextrakt des Krautes von *Ipomoea cristulata* wurde von einer Substanz dominiert und daher als Verbindung **4** direkt der Strukturaufklärung zugeführt.

Der Basispeak im EIMS bei m/z 124 zusammen mit einem ausgeprägten Peak bei m/z 83 deutet auf ein verestertes 1-Hydroxymethyl-Pyrrolizidin hin (Mohanraj *et al.*, 1982). Dies ist auch bei den Minalobinen stets der Fall, unabhängig von der angeesterten Necinsäure (Jenett-Siems *et al.*, 2005a). Aus Analogiegründen, insbesondere aufgrund der Übereinstimmung der GC-MS-Daten einiger Inhaltsstoffe (s. o.) mit den eindeutig als Trachelanthamidin-Derivate identifizierten Minalobinen aus *Ipomoea lobata* (Jenett-Siems *et al.*, 1998a), kann davon ausgegangen werden, daß es sich auch hier um einen Ester des (-)-Trachelanthamidins handeln muß, d. h. das Proton an C-8 und der Substituent an C-1 sind beide α -ständig. Der Vergleich mit den NMR-Daten von (-)-Trachelanthamidin und seinem 1β -Isomer (-)-Isoretronecanol (Knight *et al.*, 1997) und die von Röder (1984) angestellte Beobachtung, daß Necinbasen ganz überwiegend in der 8α -Form auftreten, untermauern dies.

Die Methylengruppen in den Positionen 2, 6 und 7 prägen im $^1\text{H-NMR}$ zwei Multipletts aus: H-2u und H-6u bei δ 1.20-1.28; und H-2d, H-6d, beide Protonen an C-7 zusammen mit dem Methin-Proton H-1 bei δ 1.36-1.44. Im $^{13}\text{C-NMR}$ lassen sich die Werte den entsprechenden Kohlenstoffatomen wie folgt zuordnen: C-1 liegt bei 40.4 ppm, C-7 bei 25.8 ppm, C-2 und C-6 bei 31.4 und 30.9 ppm (vgl. Jenett-Siems *et al.*, 1998a). Folgt man den Ergebnissen von Hagan und Robins (1990) und von Mohanraj und Herz (1982), so kann man der weiter von der Hydroxymethylgruppierung entfernten Position 6 stets den niedrigeren Wert im $^{13}\text{C-NMR}$ zuordnen, hier also 30.9 ppm dem C-6 und damit 31.4 ppm dem C-2.

In ihren detaillierten Untersuchungen fanden Mohanraj und Herz (1982) außerdem heraus, daß die Anordnung der Protonen an C-3, C-5 und C-8 im $^1\text{H-NMR}$ einer stets gleichen Abfolge unterliegt, wobei es bei den beiden Methylengruppen zur Ausbildung von zwei Einzelsignalen kommt. Vom Hochfeld zum Tieffeld gehend ergibt sich bei verschiedenen 1-Hydroxymethylpyrrolizidin-Estern jeweils diese Reihenfolge: H- 3_β und H- 5_β bilden nahe beieinander liegende Signale aus (**4**: δ 2.20), gefolgt von je einem Proton entsprechenden Multipletts für H- 5_α (**4**: δ 2.49), H- 3_α (**4**: δ 2.8-2.9) und H-8 (**4**: δ 2.8-2.9); wie im Fall der hier isolierten Verbindung **4** können die Signale für H- 3_β und H- 5_β und die für H- 3_α und H-8 zusammenfallen.

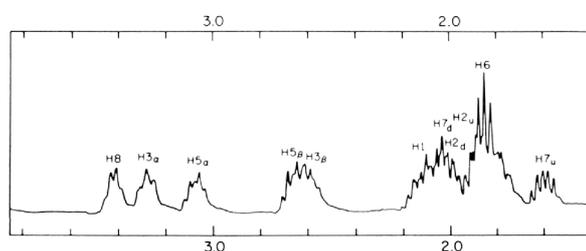


Abb. 37:

Abfolge der Signale am Beispiel von Curassavin

(aus Mohanraj und Herz, 1982)

Durch die Nachbarschaft zum Stickstoff liegen die ppm-Werte im ^{13}C -NMR ebenfalls im tieferen Feld: C-3 und C-5 bei 53.1 bzw. 52.0 ppm, und C-8 bei 65.3 ppm. Von Mohanraj und Herz (1982) und in der übrigen von Roeder (1990) in seinem Review zitierten Literatur wird C-3 in der Regel der höhere Wert zugeschrieben. Dementsprechend kann man bei Verbindung **4** also C-3 53.1 ppm und C-5 52.0 ppm zuordnen.

Auch Richtung Tieffeld verschoben, nämlich bei 67.9 ppm, befindet sich das Signal für C-9 bedingt durch den Einfluß des Sauerstoffs. Dieser bewirkt auch bei den zugehörigen Protonen dieser Methylengruppe eine charakteristische Tieffeld-Shift mit Werten von δ 4.35 und δ 4.21 ppm. Die beiden Signale werden in der Literatur (Culvenor *et al.*, 1965; u. a.) bevorzugt anhand der Buchstaben „d“ und „u“ unterschieden, wobei „d“ für downfield und „u“ für upfield steht, δ 4.35 also H-9d und δ 4.21 also H-9u entspricht. H-9d und H-9u liegen als Doppeldoublets vor und zeigen eine deutliche geminale Kopplung von $J = 11.4$ Hz. Mohanraj und Herz (1982) kommen zu dem Ergebnis, daß die Differenz der chemischen Verschiebungen $\Delta\text{H-9}$ der beiden Protonen an C-9 bedingt wird durch die Stereochemie der Necinsäure und die daraus resultierende Behinderung der freien Drehbarkeit. Je weniger die Rotation um die C-9/Sauerstoff-Bindung eingeschränkt ist, desto geringer ist die Differenz. Bei mit einer *threo*-ständigen dihydroxylierten aliphatischen Säure veresterten liegt $\Delta\text{H-9}$ bei Werten um die 0.5-0.6 ppm; eine *erythro*-Ausrichtung zieht weitaus niedrigere $\Delta\text{H-9}$ -Werte zwischen 0.0 und 0.2 ppm nach sich. Bei Verbindung **4** beträgt $\Delta\text{H-9}$ 0.14 ppm.

Massenspektrometrisch ergibt sich ein Molgewicht von m/z 339; mittels Hochauflösung kann eine Summenformel von $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{NO}_5$ postuliert werden. Das ^{13}C -NMR weist im Tieffeld bei 174.7 ppm und 169.2 ppm zwei Signale von tertiären C-Atomen auf. Chemische Verschiebung und Art der Signale deuten darauf hin, daß es sich um zwei Carbonyl-Gruppen handelt, die jeweils Teil einer Esterpartialstruktur sind. Gesucht werden also zwei kurzkettige Säuren, auf die insgesamt zehn Kohlenstoff-, fünfzehn Wasserstoff- und fünf Sauerstoffatome entfallen, wobei eine der beiden zur Esterbildung mindestens eine Hydroxygruppe tragen muß.

Durch die hochauflösende Massenspektrometrie kann gezeigt werden, daß das Signal bei m/z 83 nicht nur von dem durch α -Spaltung entstandenen Fragment des Pyrrolizidin-Grundkörpers $\text{C}_5\text{H}_9\text{N}^+$ hervorgerufen wird, sondern auch von einem Zerfallsion, das die Summenformel $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}$ aufweist und einem einfach ungesättigten Carbonyl-Rest entspricht. Das Pendant mit m/z 256 ($\text{M}-\text{C}_5\text{H}_7\text{O}$) tritt ebenfalls auf. In Zusammenhang mit zwei olefinischen Methylgruppen à drei Protonen bei δ 1.78 (*s*) und δ 1.77 (*d*), von denen letztere mit einem olefinischen Proton bei δ 6.87 (*q*) koppelt, kann als Substituent eine 2-Methyl-2-butensäure formuliert werden.

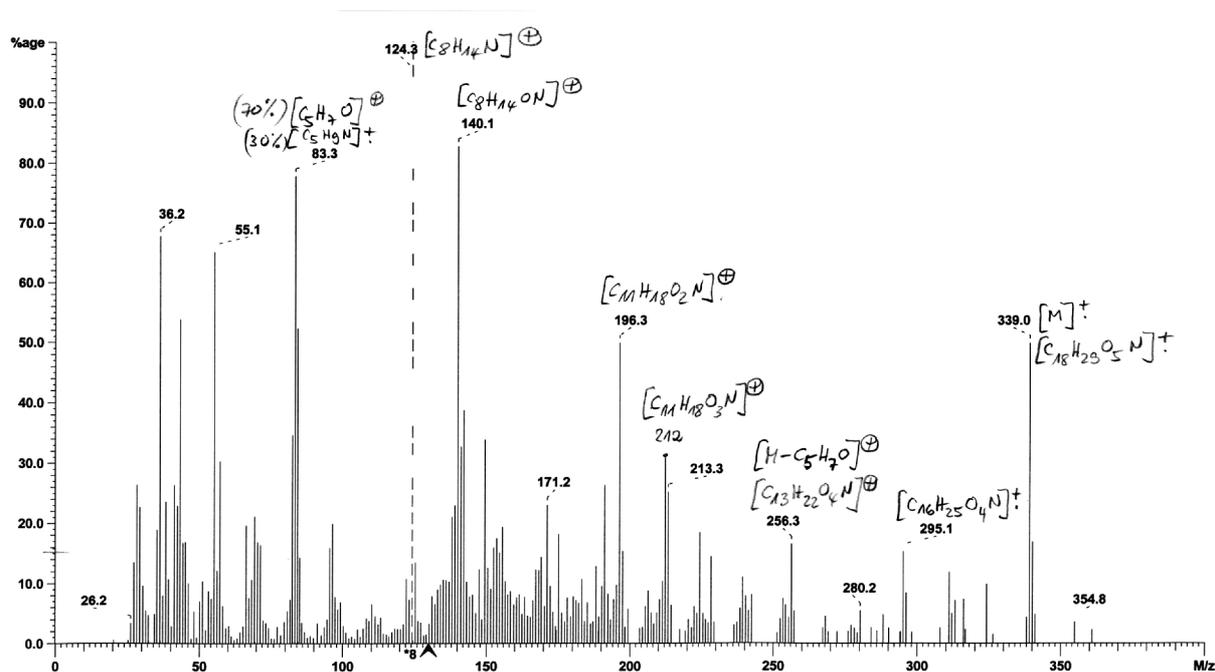


Abb. 38: HRMS von Verbindung 4 mit Zerfallsionen

Naheliegender ist eine Verknüpfung mit Angelikasäure oder Tiglinsäure, die als Komponenten von Naturstoffen – gerade auch bei Pyrrolizidinalkaloiden – weit verbreitet sind. Um welche von beiden es sich hier handelt, ergibt der Vergleich mit den $^1\text{H-NMR}$ -Daten im umfangreichen Review von Logie *et al.* (1994) und in der dort zitierten Literatur (Bohlmann *et al.*, 1977 und 1979; Roeder *et al.*, 1984 und 1991): Während bei Angelikasäure als Esterbestandteil das olefinische Proton einen Wert von etwa δ 6.1 aufweist und die Methylgruppen bei etwa δ 1.9 und δ 2.0 liegen, befindet es sich bei Tiglinsäure bei etwa δ 6.8 und die Methylgruppen haben eine fast identische chemische Verschiebung um δ 1.78. Auch anhand der Signalaufspaltung, insbesondere der Methylgruppe in Position 2, die bei Angelikasäure ein Dublett oder gar ein Dublettquartett ausbildet, bei Tiglinsäure hingegen meist nur als Singulett erscheint, lassen sie sich gut differenzieren. Hinzu kommen charakteristische Unterschiede im $^{13}\text{C-NMR}$ (Asibal *et al.*, 1989; Huizing *et al.*, 1985; Mody *et al.*, 1979; Roeder und Rengel, 1990): Liegen die Signale für die Methylgruppen weit auseinander bei Werten von ca. 16 und 20 ppm, kann man auf Angelikasäure rückschließen, bei hochfeldverschobenen Werten (etwa 12 und 14 ppm) und enger stehenden Signalen auf Tiglinsäure. Der 2-Methylgruppe entspricht jeweils der höhere Wert. Da bei der vorliegenden Verbindung 4 die Methylgruppen bei 12.2 und 14.4 ppm zu finden sind und auch die $^1\text{H-NMR}$ -Werte eindeutig dafür sprechen, muß es sich hier also um einen Tiglinsäure-Baustein handeln.

Auf die zweite Necinsäure entfallen demnach ebenfalls fünf C-Atome, dazu acht H- und zwei O-Atome. Im $^{13}\text{C-NMR}$ verbleiben außer der Carbonylgruppe bei 174.7 ppm und zwei Methylgruppen bei 13.9 und 22.6 ppm noch zwei Signale bei 77.1 ppm (quartäres C-Atom) und 75.2 ppm (tertiäres C-Atom), an die – ersichtlich aus der chemischen Verschiebung – jeweils ein Sauerstoffatom angrenzen muß. Aus dem $^1\text{H-NMR}$ wird ersichtlich, daß eine

der Methylgruppen (δ 1.25, *d*) mit dem Methin-Wasserstoff (δ 5.09, *q*) koppelt, die andere (δ 1.38, *s*) jedoch nicht. Daraus läßt sich schließen, daß es sich um 2,3-Dihydroxy-2-methyl-buttersäure handelt. Nun existieren zwei Möglichkeiten der sterischen Anordnung der Methylgruppen CH_3 -4' und CH_3 -5': Sie können sich entweder in räumlicher Nähe befinden und dementsprechend *erythro*-konfiguriert sein, oder sie stehen einander gegenüber und sind damit *threo*-ständig. Dieser stereochemischen Thematik haben sich Greiner und Ortholand (1992) gewidmet und beide Isomere stereoselektiv synthetisiert. Dabei konnten sie beobachten, daß man anhand der chemischen Verschiebungen der Methylgruppen im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum Rückschlüsse auf die Konfiguration ziehen kann. Bei der *threo*-Form unterscheiden sie sich kaum (δ 1.29 und δ 1.20); $\Delta\delta$ liegt damit unterhalb 0.1 ppm. Anders bei *erythro*-Anordnung der Methylgruppen (Singulett bei δ 1.43 und Dublett bei δ 1.15), bei der die Differenz der δ -Werte mit 0.28 ppm deutlich darüber liegt. Die daraus abgeleiteten Aussagen von Stermitz *et al.* (1993) über Ipangulin und Isoipangulin konnten von Jenett-Siems (1996) durch die synthetische Herstellung *threo*-konfigurierter 2,3-Dihydroxy-2-methyl-buttersäure aus Tiglinsäure und Vergleich mit den Hydrolyseprodukten von Ipangulin A und Isoipangulin A bestätigt werden. Bezieht man in die Überlegungen mit ein, daß das Signal für das Methyl-Dublett hier – bedingt durch die Veresterung der Hydroxygruppe am benachbarten Kohlenstoff – etwas tiefer liegen muß, ergibt sich für den Substituenten von Verbindung 4, daß er in der *erythro*-Konfiguration vorliegen muß. Verbindung 4 kann somit als **9-O-(*erythro*-2-Hydroxy-2-methyl-3-tigloyloxy-buteryl)-(-)-trachelanthamidin** identifiziert werden.

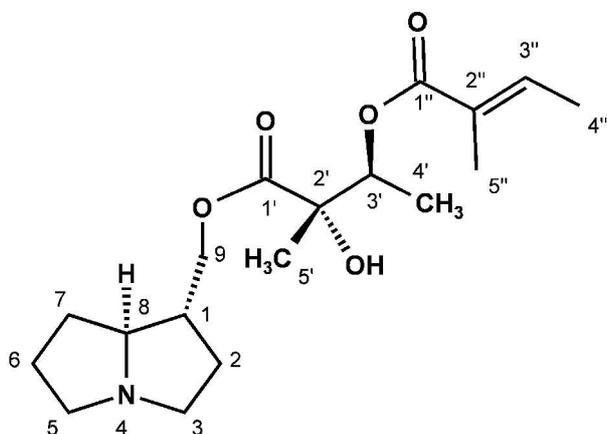


Abb. 39: Minalobin O (4)

Da mittels GC-MS zahlreiche Minalobine detektiert werden konnten, die sich nur bezüglich ihrer Substituenten unterscheiden, wurde eine fortlaufende alphabetische Kennzeichnung in Korrelation mit steigendem Retentionsindex gewählt. Daran orientiert trägt der isolierte Naturstoff die Bezeichnung **Minalobin O**. Aufgrund der Beobachtung, daß im GC-MS stets das *threo*- vor dem *erythro*-Isomer von der Säule eluiert wird, dürfte das als Nebenalkaloid auftretende Minalobin M das 9-O-(*threo*-2-Hydroxy-2-methyl-3-tigloyloxy-buteryl)-(-)-trachelanthamidin sein (s. 2.1.2.4).

2.2.4 Tropanalkaloide

Wie in der Einleitung ausgeführt, sind Tropan-Alkaloide fester Bestandteil des Inhaltsstoffspektrums der Convolvulaceae. Erste Hinweise auf ihr Vorkommen lieferte die positive Reaktion mit Dragendorffs Reagenz auf der DC-Platte. Die so detektierten Verbindungen ließen sich jedoch aufgrund der begrenzten Zahl an Vergleichssubstanzen nur bedingt identifizieren, d. h. lediglich über Anhaltspunkte wie unterschiedliche Farbnuancen, R_f -Werte oder Fluoreszenzlöschung bei 254 nm. Sehr viel detailliertere Hinweise konnten den von den Basen-Extrakten angefertigten GC-MS-Spektren entnommen werden: Anhand der Retentionsindices und vor allem der zugehörigen Massenspektren können Inhaltsstoffe einer bestimmten Substanzgruppe zugerechnet werden, und bereits bekannte Verbindungen durch den Vergleich mit Referenzdaten identifiziert werden. Durch dieses Screening erhielt man eine Vorstellung von Art und Menge der enthaltenen Stoffe. Denn entscheidend für die Extraktion und Fraktionierung einer größeren Drogenmenge im Sinne einer Isolierung einzelner Verbindungen war nicht nur die Entdeckung bisher noch nicht aus Convolvulaceae isolierter oder gar gänzlich unbekannter Inhaltsstoffe, sondern auch deren relativer Gehalt und damit die Realisierbarkeit ihrer Gewinnung als Reinsubstanz. Aufgrund ihrer chemotaxonomischen Bedeutung und auch ihrer pharmakologischen Relevanz waren Tropanalkaloide von besonderem Interesse. Unter diesen Gesichtspunkten fielen insbesondere die Basen-Extrakte der unterirdischen Teile von *Atripomoea malvacea*, *Bonamia spectabilis*, *Convolvulus sabatius* und *Falkia repens* auf, wobei die GC-MS-Daten vor allem auf 3-Tropanolester schließen ließen.

Die zumeist durch intensive Kultivierung dieser Arten erhaltene Biomasse wurde getrocknet und gemahlen zu Extrakten verarbeitet, und diese mittels verschiedener Techniken fraktioniert. Grundlage aller Auftrennungen des Methanol-Extraktes war eine Art modifizierter Stas-Otto-Trennungsgang (s. 2.1.1), bei dem der Trockenrückstand zum einen anhand eines Polaritätsgradienten von apolar zu polar aufgeschlossen wird und zum anderen durch die basischen Eigenschaften der Alkaloide, die erst durch Zusatz von Weinsäure-Lösung in ihre Salze und dann durch Zugabe von Ammoniak-Lösung wieder in die freien Basen umgewandelt werden. Sodann wurde die Basen-Fraktion mittels diverser säulen- und dünnschichtchromatographischer Verfahren weiter aufgeschlossen.

Maßgeblich für die Aufklärung der Molekülstruktur der so erhaltenen Einzelstoffe war die Aufnahme von EIMS- und ^1H -NMR-Spektren. Bei unbekanntem oder nicht abschließend identifizierten Substanzen wurden weitere spektrometrische Methoden, wie HRMS oder FABMS, und spektroskopische, wie ^{13}C -NMR oder NOE, sowie zweidimensionale, wie H-H-COSY, C-H-COSY/HSQC oder HMBC, hinzugezogen.

Auf diesem Wege gelang die Isolierung und Strukturaufklärung der im Folgenden beschriebenen Tropanalkaloide.

2.2.4.1 Einfache Tropane

Der Grundkörper aller in Convolvulaceae auftretenden Tropane ist das 8-Aza-bicyclo [3.2.1]octan, welches am Stickstoff zumeist methyliert ist. Ist der Grundkörper lediglich sauerstoffs substituiert oder hydroxyliert, handelt es sich um Vertreter der in diesem Unterpunkt zusammengefassten unveresterten oder auch einfachen Tropane.

Da an ihnen das prinzipielle Verhalten der Substanzklasse der Tropane gegenüber gängigen Analysemethoden, wie Fragmentierung im Massenspektrometer oder Signalbeschaffenheit bei der Kernresonanzspektroskopie, besonders gut ersichtlich wird, sollen diese Mechanismen hier ausführlich abgehandelt werden – zumal sie die Grundlage für die Strukturaufklärung der komplexeren Verbindungen in den darauffolgenden Kapiteln darstellen.

2.2.4.1.1 Tropan-3-on (5)

Im Zuge der Isolierung mehrerer 3-Tropanolester aus den Wurzeln und Rhizomen von *Falkia repens* (s. 2.2.4.2.1 und 5.4.4.2) konnte eine Verbindung gewonnen werden, die ebenfalls positiv mit Dragendorffs Reagenz reagierte, jedoch nicht die klassische orangene Färbung aufwies, sondern eher zum Sepiafarbenen tendierte.

Das Signal für die relative Molekülmasse im EIMS fand sich bei m/z 139, was in Zusammenhang mit den GC-MS-Daten von *Falkia repens* die Vermutung nahelegte, daß es sich hier um das **Tropan-3-on (5)** handelt. Sein Fragmentierungsmuster und die diesem zugrundeliegenden Zerfallskaskaden wurden in verschiedenen Publikationen dokumentiert (Blossey *et al.*, 1964; Budzikiewicz *et al.*, 1964). Die mithilfe deuterierter Derivate gewonnenen Erkenntnisse sollen im Folgenden erläutert werden.

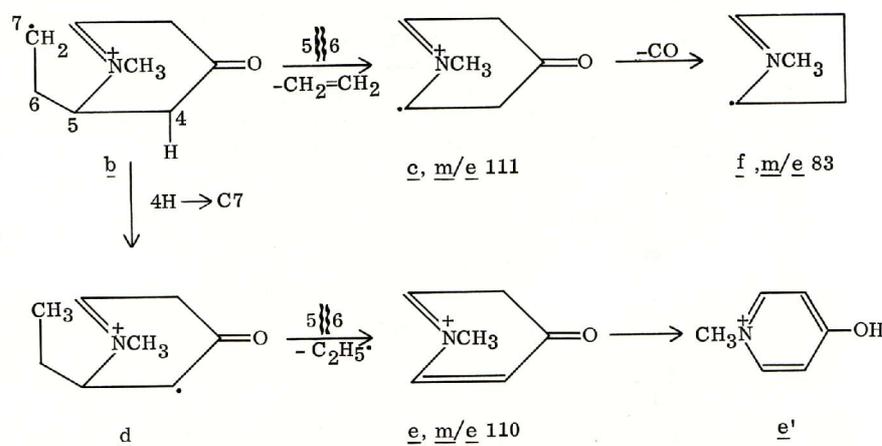


Abb. 40: Massenerfall des Tropan-3-on unter α -Spaltung der C_1 - C_7 -Bindung (aus Budzikiewicz *et al.*, 1964)

Der Massenerfall wird von zwei funktionellen Gruppen dirigiert, nämlich der Carbonylfunktion und vor allem der Methylamino-Gruppe. Stark begünstigt ist die Spaltung der C–C-Bindung in Nachbarschaft zum Stickstoff, da die positive Ladung durch Bildung eines Ammoniumions unter Einbeziehung des freien Elektronenpaares des Heteroatoms stabilisiert wird.

Diese α -Spaltung kann auf zwei Arten vollzogen werden, nämlich zum einen durch Bruch der C₁–C₇-Bindung (**Abb. 40**) und anschließende homolytische Spaltung zwischen C-5 und C-6 (bzw. umgekehrt, da es sich um ein symmetrisches Molekül handelt). Dies führt zum Verlust von Ethylen und damit zum Fragment m/z 111; durch CO-Abspaltung entsteht hieraus m/z 83. Durch Deuterierung wurde bewiesen, daß es alternativ dazu zu einer Umlagerung eines der beiden Wasserstoff-Atome an C-4 nach C-7 kommt und somit ein sekundäres Radikalion entsteht, welches sich unter Verlust eines Ethylradikals weiter zersetzt. Das so gebildete Fragment m/z 110 (HRMS: 110.06049; entspricht C₆H₈NO⁺) liegt wohl hauptsächlich in Form seines aromatischen Tautomers, dem 4-Hydroxy-N-methylpyridinium-Kation, vor.

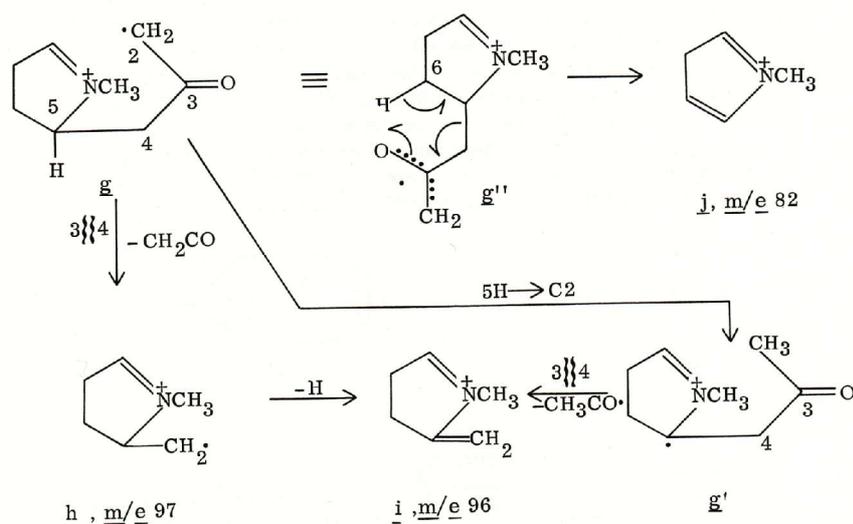


Abb. 41: Massenerfall des Tropan-3-on unter α -Spaltung der C₁–C₂-Bindung (aus Budzikiewicz *et al.*, 1964)

Wahrscheinlicher ist jedoch die Spaltung der C₁–C₂-Bindung (**Abb. 41**), da in diesem Fall das freie Radikal durch die Nachbarschaft zur Carbonylgruppe resonanzstabilisiert ist. Dies läßt sich auch aus der größeren Intensität der Signale der im Folgenden beschriebenen Fragmente ableiten (äquivalent gültig ausgehend vom Bruch der C₄–C₅-Bindung). Aus dem so entstandenen primären Radikalion resultieren durch Spaltung der C₃–C₄-Bindung Keten und das Fragment m/z 97. Auch hier kann es – ebenfalls durch Deuterierungsexperimente untermauert – zur Ausbildung eines sekundären Radikalions kommen, wobei der Wasserstoff an C-5 nach C-2 wandert. Durch Abspaltung eines Acetyl-Radikals entsteht das 2-Methylen-N-methyl-pyrrolinium-Kation mit m/z 96 (HRMS: 96.081261; entspricht C₆H₁₀N⁺). Im Sinne der Regel, daß Fragmente mit gerader Elektronenzahl sehr viel stabiler sind als solche mit ungerader, kann letzteres unter Protonenabspaltung auch aus m/z 97 gebildet werden.

Den wichtigsten Prozeß stellt die nach Bruch der C₁–C₂-Bindung stattfindende McLafferty-Umlagerung dar, bei der sich unter Ausbildung eines sechsgliedrigen Übergangszustandes eines der Wasserstoff-Atome an C-6 alternativ an den Carbonylsauerstoff oder an C-2 anlagert. Hieraus resultiert das N-Methyl-pyrrolium-Kation mit m/z 82, das den Basispeak im Massenspektrum verkörpert (HRMS: 82.065648; entspricht C₅H₈N⁺).

Als zweitgrößten Peak kann man im EIMS-Spektrum m/z 42 ausmachen, wahrscheinlich das N-methylierte Hydrocyanat HC≡N⁺–CH₃. Nach Deuterierung in den Positionen 2, 4, 6 und 7 resultierte jeweils das identische Fragment (Blossey *et al.*, 1964), woraus geschlossen werden kann, daß es sich bei dem dreifach gebundenen Kohlenstoff um C-1 respektive C-5 handeln muß. Aufgrund seiner hohen Stabilität stellt m/z 42 den Endpunkt der Zerfallskaskade dar.

Die hochauflösende Massenspektrometrie fördert für das Fragment m/z 110 noch eine weitere Zusammensetzung zutage, nämlich C₇H₁₂N⁺ (HRMS: 110.09693). Ein entsprechendes Ion konnte in keiner der herangezogenen Literaturstellen wiedergefunden werden. So läßt sich nur vermuten, daß es durch direkten CO-Verlust und anschließende Abspaltung eines Protons entsteht.

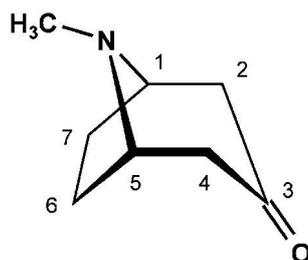


Abb. 42: Tropan-3-on (5)

Zur Absicherung der Struktur wurde die Substanz außerdem Kernresonanz-Messungen unterzogen; es wurden ein ¹H-NMR-, ein H-H-COSY- und ein ¹³C-NMR-Spektrum aufgenommen.

Im ¹H-NMR-Spektrum ist der auffälligste, da drei Protonen umfassende Peak das Singulett der isoliert liegenden N-Methyl-Gruppe bei δ 2.34. Da es sich bei Tropan-3-on um ein symmetrisches Molekül handelt, bilden magnetisch äquivalente Protonen jeweils ein gemeinsames Signal aus. Das ist bei H-1 und H-5 der Fall, die zu einem breiten Singulett zusammenfallen; aufgrund der Nachbarschaft zum Heteroatom Stickstoff ist es mit δ 3.57 das am meisten tieffeldverschobene Signal. Durch die Nähe zur Carbonylgruppe ebenfalls stark entschirmt sind die beiden äquatorialen Protonen an C-2 und C-4 (δ 2.84). H-2e und H-4e prägen ein gemeinsames Doppeldoublett (*dd*) aus, da sie zum einen mit den benachbarten H-1 und H-5 koppeln ($J = 3.4$ Hz) und zum anderen mit den an denselben C-Atomen befindlichen axialen Protonen H-2a und H-4a ($J = 16.2$ Hz). Letztere zeigen nur diese geminale Kopplung und erscheinen daher als Doublett (*d*; ebenfalls $J = 16.2$ Hz) bei δ 2.25. Die Methylen-Protonen in den Positionen 6 und 7 werden anhand ihrer Stellung bezüglich des gewinkelten Grundkörpers unterschieden: So werden die in Richtung des Cycloheptan-Ringes, insbesondere C-3 weisenden als *endo*-ständig, und die von diesem

fort gerichteten in räumlicher Nähe zum Piperidin-Stickstoff befindlichen als *exo*-ständig bezeichnet. Die beiden *endo*-ständigen Protonen H-6n und H-7n bilden bei δ 1.68 ein charakteristisches Dublett aus, das aufgrund ihrer nahezu axialen Orientierung eine vicinale Kopplungskonstante von 8.2 Hz aufweist. Zusätzlich dazu interagieren die *exo*-ständigen Protonen mit den wie sie selbst äquatorialen H-1 und H-5. Aufgrund des hierdurch recht komplexen Kopplungsmusters ist das Signal für H-6x und H-7x bei δ 2.18 nur noch als Multiplett zu deuten. Die Zuordnung der ^1H -NMR-Signale erfolgte mithilfe des H-H-COSY und wurde durch Vergleich mit Referenzdaten (Ohashi *et al.*, 1971) abgesichert.

Auch aus dem ^{13}C -NMR wird klar ersichtlich, daß es sich bei Tropan-3-on um ein symmetrisches Molekül handelt. So weist das Spektrum für die acht C-Atome nur fünf Signale auf, da jeweils die von C-2 und C-4, von C-1 und C-5 und von C-6 und C-7 zu einem etwa doppelt so großen zusammenfallen. Auffällig ist das Signal für C-3, ein Singulett (s), das als Teil einer Carbonyl-Gruppe einen ppm-Wert von 209.4 hat. Im aliphatischen Bereich sind die Signale für C-2/C-4 und C-6/C-7 anzutreffen, nämlich bei 47.3 ppm und 27.4 ppm. Im 135 DEPT weisen beide nach unten, sind also Triplettts (*t*), was ihre Eigenschaft als Methylen-Gruppen bestätigt. Durch den Einfluß des benachbarten Stickstoffs tieffeldverschoben finden sich C-1/C-5 bei 60.9 ppm. Als tertiäre C-Atome prägen sie ein Dublett (*d*) aus, d. h. im 135 DEPT bleiben die Signale oberhalb der Nulllinie. Die N-CH₃-Gruppe zeigt mit 38.3 ebenfalls einen erhöhten ppm-Wert. Signale für Methylgruppen werden als Quartetts (*q*) bezeichnet. Die ^{13}C -NMR-Signale wurden anhand der Publikation von Wenkert *et al.* (1974) zugeordnet. Die hier ermittelten Werte weichen – wie auch im Falle des ^1H -NMR – aufgrund der recht unterschiedlichen technischen Voraussetzungen geringfügig von den in der Literatur angegebenen ab.

Bei ihren Untersuchungen zur Konformation der Tropane stellten Bishop *et al.* (1966) fest, daß die N-Methylgruppe bevorzugt die äquatoriale Position einnimmt. Eine Unterscheidungsmöglichkeit der beiden N-Konformere findet sich bei Wang *et al.* (1987): Im ^{13}C -NMR-Spektrum weist eine äquatoriale N-Methylgruppe Werte von 40-43 ppm auf, wohingegen eine axiale bei 32-33 ppm zu finden ist. Aufgrund der räumlichen Nähe weisen bei axialer N-Methylgruppe die Kohlenstoffe in den Positionen 2 und 4 zudem Werte unter 30 ppm auf, während sie bei äquatorialer Ausrichtung in der Regel über 35 ppm liegen. Damit kann für das Tropan-3-on (**5**) und alle weiteren in dieser Arbeit beschriebenen Tropanalkaloide eine äquatoriale Orientierung der N-Methylgruppe angenommen werden. Die Stereochemie der N-Oxide wird im *Exkurs* zu den Kapiteln 3.3 und 3.4 gesondert behandelt.

2.2.4.1.2 3 α -Tropanol (**6**)

Die Isolierung neuartiger 3-Tropanolester aus den Wurzeln von *Bonamia spectabilis* (s. 2.2.4.2.4 und 5.4.4.5) erbrachte außerdem eine Verbindung, die nach Besprühen mit Dragendorffs Reagenz eine dunkelweine Färbung aufwies.

In deren EI-Massenspektrum fällt neben dem Molpeak m/z 141 ein Fragment bei m/z 124 ins Auge. Die Massendifferenz von 17 Einheiten weist auf das Vorhandensein einer Hydroxylgruppe hin und kommt durch deren Verlust zustande. Im Übrigen ähnelt das Spektrum dem des Tropan-3-on (s. 2.2.4.1.1). Die GC-MS-Ergebnisse im Blick ist Verbindung **6** also vermutlich 3α -Tropanol.

Wie beim 3-Tropanon ist auch der Massenerfall des 3α -Tropanols (vgl. Budzikiewicz *et al.*, 1964; Ethier und Neville, 1986) geprägt von den durch den Stickstoff dirigierte α -Spaltungen. So entsteht durch das Aufbrechen der Bindungen zwischen C-1 und C-7 und zudem C-5 und C-6 unter Ethenabspaltung das Fragment m/z 113. Aufgrund der alkoholischen Teilstruktur kommt es jedoch nicht zum CO-Verlust; stattdessen wird die Hydroxylgruppe an C-3 abgespalten, und die freien Elektronen an C-3 und C-5 bilden eine Bindung aus (m/z 96). Aufgrund der nun paarweise vorliegenden, also geradzahigen Elektronen ist dieses Fragment besonders stabil. Alternativ dazu findet nach Spaltung der C₁-C₇-Bindung auch beim Tropanol eine Wasserstoff-Wanderung von C-4 nach C-7 statt, die unter Verlust eines Ethylradikals zur Bildung eines 3-Hydroxy-N-methyl-3,4-dihydropyridinium-Kations mit m/z 112 führt.

Die homolytische Spaltung der C₁-C₂-Bindung führt zu einem durch McLafferty-Umlagerung zur Ausbildung des N-Methyl-pyrrolium-Kations, also des Basispeaks m/z 82, wobei sich einer der Wasserstoffe in Position 6 an C-2 anlagert und ein Isopropyl-Radikal abgespalten wird. Fragment m/z 83 entsteht vermutlich durch einen ähnlichen Prozeß, jedoch mit zweifacher Wasserstoff-Umlagerung. Zum anderen erfolgt im Anschluß der Bruch der Bindung zwischen C-3 und C-4, und damit die Abspaltung von Acetaldehyd. Hieraus resultiert das Fragment m/z 97, das sich durch Abstoßen eines Wasserstoffs unter Ausbildung einer Doppelbindung in das stabilere 2-Methylen-N-methyl-pyrrolinium-Kation mit m/z 96 umwandelt. Laut Blossey *et al.* (1964) ist dies der dominierende Bildungsweg; zwei Drittel des Peaks sind hierauf zurückzuführen. Endprodukt der Massenfragmentierung ist auch beim Tropanol aufgrund weiterer Bindungsbrüche $\text{HC}\equiv\text{N}^+-\text{CH}_3$ mit m/z 42.

Zur Abklärung der Stereochemie wurde das ¹H-NMR-Spektrum herangezogen. Neben dem durch Nachbarschaft zum Stickstoff bei δ 3.37 liegenden breiten Singulett der beiden Methin-Protonen an C-1 und C-5 findet sich im tieferen Feld ein Triplett bei δ 4.11 – das Signal für H-3, da unter dem Einfluß der geminalen Hydroxygruppe stehend. Die Signalaufspaltung als Triplett ist kennzeichnend für ein β -ständiges Proton in Position 3 und somit für 3α -Tropanol. Die Kopplungskonstante von 4.9 Hz entsteht durch Resonanz mit den beiden axialen Protonen an C-2 und C-4 (Sarazin *et al.*, 1991). Deren Signal befindet sich bei δ 2.47 und kann lediglich als Multiplett gedeutet werden; im Spektrum der kommerziell erworbenen Reinsubstanz ist das Triplett eines Dubletts (*td*) mit $J = 4.0$ Hz und 14.7 Hz klar zu erkennen. Das Dublett der äquatorialen H-2e und H-4e zeigt auch diese charakteristische geminale Kopplungskonstante von $J = 14.7$ Hz und liegt mit δ 1.81 wesentlich höher. Ebenfalls charakteristisch ist das Dublett bei δ 2.32 mit $J = 8.1$ Hz, also der vicinalen Kopplungskonstante der *endo*-ständigen Protonen H-6n und H-7n. Durch den Einfluß der räumlich nahen 3-OH-Gruppe liegt das Signal tieffeldverschoben in

Relation zu dem der beiden *exo*-ständigen H-6x und H-7x, die sich als Multipllett bei δ 2.07 wiederfinden. Das gut zu erkennende, da drei Protonen entsprechende Singulett der N-Methyl-Gruppe ist bei δ 2.49 angesiedelt. Zum Datenabgleich wurden die Arbeiten von Chazin und Colebrook (1986) und Lounasmaa (1988) herangezogen.

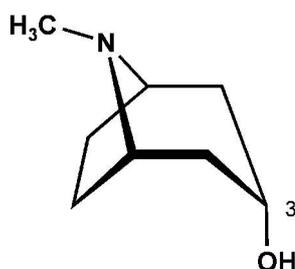


Abb. 43: 3 α -Tropanol (**6**)

Die Identität von Verbindung **6** wird durch die Aufnahme eines ^{13}C -NMR-Spektrums abschließend bestätigt. Im Hochfeld finden sich die Signale für die Methylen-Gruppen in den Positionen 2, 4, 6 und 7, wobei C-6 und C-7 bei 24.5 ppm und C-2 und C-4 bei 37.3 ppm zusammenfallen. Im Bereich der Methyl-Gruppen erscheint ein Peak bei 39.3 ppm, was auf die Nachbarschaft zu einem Heteroatom – in diesem Fall Stickstoff – hinweist. Die beiden Signale im Tieffeld sind Dubletts und damit tertiären C-Atomen zuzuordnen, die ebenfalls deutlich den Einfluß eines benachbarten Heteroatoms zeigen. Im Falle von C-1 und C-5 (62.2 ppm) ist das der Piperidin-Stickstoff; die Hydroxygruppe an C-3 entschirmt noch etwas mehr und verschiebt das Signal zu 62.8 ppm. Die Werte wurden analog der Arbeiten von Wenkert *et al.* (1974) und Lounasmaa *et al.* (1975) zugeteilt.

Der Vergleich mit den von der Reinsubstanz aufgenommenen Spektren und den Literaturdaten beweist eindeutig, daß es sich bei Verbindung **6** um **3 α -Tropanol** handelt.

2.2.4.1.3 3 β -Tropanol (**7**)

Die im Trennungsgang (s. 2.1.1) erhaltene Wasserphase der Wurzelrinde von *Astripomoea malvacea* wurde aufgeschlossen (s. 2.2.4.2.2 und 5.4.4.3.2) und lieferte eine Verbindung, deren dunkelweine Färbung nach Besprühen mit Dragendorffs Reagenz ebenfalls ein zwar hydroxyliertes, jedoch unverestertes Tropan vermuten ließ.

Die Aufnahme eines EI-Massenspektrums zeigte dann, daß es sich wie bei Verbindung **6** (s. 2.2.4.1.2) auch hier um ein 3-Tropanol handeln muß. So finden sich neben dem Basispeak bei m/z 82 und m/z 141 als Molpeak identische Fragmente bei m/z 124, m/z 113, m/z 112, m/z 97, m/z 96, m/z 83 und m/z 42.

Im ^1H -NMR hingegen sind in Hinblick auf die Lage der Signale und auch auf die Signalaufspaltung deutliche Unterschiede zu erkennen, was auf die Eigenschaft von Verbindung **7** als Stereoisomer, sprich **3 β -Tropanol**, hindeutet. Da dieses allerdings noch nicht aus Convolvulaceae isoliert wurde, bestand ein gewisses Interesse an seiner Strukturauf-

klärung und damit der Bestätigung seiner Identität.

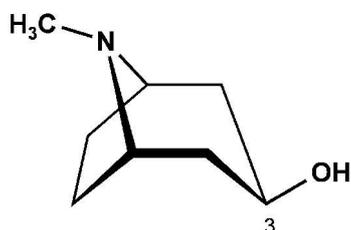


Abb. 44: 3 β -Tropanol (7)

Beim 3 β -Tropanol kann das hier axiale H-3 als Teil eines A₂B₂X-Systems aufgefasst werden und müßte theoretisch ein Triplet eines Triplets ausbilden; das Signal erscheint jedoch durch Zusammenfallen einiger nahe beieinander liegender Peaks als Quintett-artiges bzw. Septett-artiges Multipllett (Parello *et al.*, 1963) bei δ 4.02 bzw. δ 3.87 ($J = 5.6$ Hz). Da das äquatoriale H-3 des 3 α -Tropanol im Gegensatz dazu als einfaches Triplet ausgeformt ist, fungiert es im Sinne eines Unterscheidungsmerkmals.

Die Existenz eines weiteren benachbarten Protons wirkt sich im Vergleich zum Tropan-3-on (s. 2.2.4.1.1) ganz klar auf die Beschaffenheit der Signale der Protonen an C-2 und C-4 aus. Analog zu diesem läßt sich das Dublett eines Doppeldubletts bei δ 2.03 den äquatorialen Protonen H-2e und H-4e zuordnen, wobei sich $J = 3.0$ Hz auf die Kopplung mit H-1/H-5 bezieht und $J = 5.9$ Hz auf die mit H-3. Die Kopplungskonstante der geminalen Kopplung von 11.9 Hz findet sich auch bei den axialen Protonen H-2a und H-4a wieder, deren Signal eine Verschiebung von δ 1.78 aufweist. Verglichen mit 3 α -Tropanol kehrt sich also die Reihenfolge der Signale um. Dies ist auch bei den Protonen an C-6 und C-7 der Fall. Zur Erklärung kann das Molekülmodell herangezogen werden, an dem klar ersichtlich wird, daß die starke Tieffeldverschiebung der *endo*-ständigen H-6n und H-7n beim 3 α -Tropanol (δ 2.32) verglichen mit 3 β -Tropanol (δ 1.91 bzw. δ 1.55) in der räumlichen Nähe zur Hydroxygruppe an C-3 begründet liegt. Der δ -Wert des Multipletts der *exo*-ständigen H-6x und H-7x bleibt mit δ 2.22 bzw. δ 2.00 relativ konstant. Das von H-1 und H-5 gemeinsam ausgeprägte breite Singulett liegt bei δ 3.68.

Da die chemischen Verschiebungen in Abhängigkeit vom Lösungsmittel stark variieren können, sollen an dieser Stelle auch die Werte in deuteriertem Chloroform aufgeführt werden, die sich aus der Vermessung einer aus den Wurzeln und Rhizomen von *Falkia repens* isolierten Verbindung – ebenfalls identifiziert als 3 β -Tropanol – ergeben.

Durch Aufnahme des ¹H-NMR-Spektrums in deuteriertem Chloroform (CDCl₃) resultiert im Vergleich zu deuteriertem Methanol (MeOD) als Lösemittel eine deutliche Signalverschiebung in Richtung Hochfeld. Außerdem ist die Signalaufspaltung der in CDCl₃ gelösten Verbindung teilweise feiner.

Tab. 15: ¹H-NMR-Daten von 3 β -Tropanol in deuteriertem Methanol und Chloroform

	in MeOD *	Signal (J in Hz)	in CDCl ₃ **	Signal (J in Hz)
H-1 / H-5	3.68	<i>br s</i>	3.18	<i>t</i> (3.2)
H-2e / H-4e	2.03	<i>ddd</i> (3.0; 5.9; 11.9)	1.82	<i>ddd</i> (3.0; 6.0; 12.9)
H-2a / H-4a	1.78	<i>dt</i> (2.1; 12.4)	1.67	<i>dt</i> (2.1; 12.6)
H-3	4.02	„ <i>quint</i> “ (5.6)	3.87	„ <i>sept</i> “ (5.6)
H-6x / H-7x	2.22	<i>m</i>	2.00	<i>m</i>
H-6n / H-7n	1.91	<i>d</i> (8.0)	1.55	<i>d</i> (8.0)
N-CH ₃	2.63	<i>s</i>	2.30	<i>s</i>

* *Astripomoea malvacea*, Wurzelrinde ** *Falkia repens*, Wurzeln und Rhizome

Betrachtet man das ¹³C-NMR, so sind die Unterschiede bezüglich der chemischen Verschiebungen nur minimal, und zwar sowohl beim Vergleich der Spektren von 3 α - und 3 β -Tropanol, als auch in MeOD verglichen mit CDCl₃ als Lösungsmittel. Die Werte der in CDCl₃ vermessenen Verbindung aus *Falkia repens* sind in Klammern angegeben. Da es sich beim 3 β -Tropanol ebenfalls um ein symmetrisches Molekül handelt, fallen auch hier einige Signale zusammen. So bilden die beiden Methylen-Gruppen in Position 6 und 7 ein Triplet bei 25.9 (26.7) ppm aus, die in Position 2 und 4 ein Triplet bei 39.5 (39.7) ppm. Die in Nachbarschaft zu einem Heteroatom befindlichen C-Atome zeigen auffallend größere ppm-Werte: Die an den Stickstoff angrenzenden C-1 und C-5 bilden ein gemeinsames Dublett bei 62.0 (60.6) ppm aus; als Träger der Hydroxygruppe ist C-3 bei 64.0 (63.6) ppm angesiedelt. Das Quartett der N-Methyl-Gruppe befindet sich bei 38.6 (38.7) ppm.

2.2.4.2 Ester der 3-Tropanole

Bereits in der Einführung zu Kapitel 2.2.4 wurden *Astripomoea malvacea*, *Bonamia spectabilis*, *Convolvulus sabatius* und *Falkia repens* als Quellen für eine Vielzahl von Tropanalkaloiden aufgeführt. Hierbei stellen die Ester der beiden 3-Hydroxytropane, also des 3 α - und des 3 β -Tropanols, den überwiegenden Teil dieser Verbindungen dar. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit der im Folgenden beschriebenen Substanzen soll an dieser Stelle einleitend auf die Grundzüge der Analytik von 3-Tropanolestern eingegangen werden. Die Schilderung der Strukturaufklärung der einzelnen Verbindungen baut dann jeweils darauf auf.

Die Ester der beiden Stereoisomere des 3-Tropanols weisen allesamt ein charakteristisches Fragmentierungsschema im EIMS auf. Die folgenden Ausführungen basieren auf den Untersuchungen von Parello *et al.* (1963), Blossey *et al.* (1964) sowie Kan-Fan und Lounasmaa (1973).

Schlüsselbruchstücke im Spektrum sind m/z 124 als Basispeak und m/z 140. Ersteres entsteht durch homolytische Spaltung der C–O-Bindung unter Eliminierung des radikalischen Acylats. Parello *et al.* (1963) formulieren dieses Fragment durch Brückenbildung zwischen dem Stickstoff und C-3. Das würde bedeuten, daß hierbei eine Konformationsumkehr des Piperidin-Ringes von der Sessel- zur Wannenform stattfinden müßte. In einer neueren Arbeit stellen Ethier und Neville (1986) es als 2-Propenyl-N-methyl-pyrrolinium-Kation dar, das unter Abspaltung von Propen oder Cyclopropan weiter zu m/z 82 zerfallen kann. Sie postulieren außerdem eine indirekte Entstehung von m/z 124 durch Sauerstoff-Verlust aus m/z 140. Ebendieses markante Bruchstück entsteht durch α -Spaltung am Carbonyl unter Bildung eines Acyl-Radikals. Schon Parello *et al.* machten die Beobachtung, daß bei den Estern des 3β -Tropanols m/z 140 kleiner ausfällt als bei denen des 3α -Tropanols, was im Folgenden durchaus seine Bestätigung findet.

Die weitere Zerfallskaskade folgt prinzipiell ähnlichen Gesetzmäßigkeiten wie die der beiden 3-Hydroxytropane. Auch bei den veresterten 3-Tropanolen findet eine Abspaltung von C-6 und C-7 als Ethylen statt, und zwar entweder nach Verlust der Acylkomponente über Tropidin zu m/z 95 und dem N-Methylpyridinium-Ion mit m/z 94 oder auch unter deren Beibehaltung als $[M-28]^+$ bzw. $[M-29]^+$. Alternativ kann einleitend der Bruch der C₁–C₂-Bindung erfolgen. Unter Verlust zweier oder dreier der Piperidin-C-Atome einschließlich der Acylkomponente entstehen identische Fragmente wie beim Zerfall des 3-Tropanols (s. 2.2.4.1.2 und 2.2.4.1.3), nämlich m/z 97 und m/z 96 sowie m/z 83 und m/z 82. Ihre relative Intensität ist allerdings geringer.

Auch die Kernresonanzspektren der Ester ähneln denen der Alkohole; es ergeben sich lediglich kleinere Abweichungen in den chemischen Verschiebungen aufgrund des elektronenziehenden Effekts des Acylrestes. Die Spektren wurden zumeist in deuteriertem Chloroform aufgenommen; die folgenden Angaben beziehen sich also darauf. In anderen Lösemitteln wie Methanol oder Aceton in deuterierter Form können die Signalaufspaltung und die δ -Werte zum Teil leicht variieren.



Abb.45: Grundstruktur der 3α - und 3β -Tropanolester

Kennsignale bei der $^1\text{H-NMR}$ -Spektreninterpretation sind die im tieferen Feld liegenden Signale für die Protonen, die sich an den Heteroatomen benachbarten Kohlenstoffen befinden. Das ist insbesondere das Signal für H-3 mit einer Kopplungskonstante von ca. 5 Hz. Wie bei den unveresterten Verbindungen erscheint es bei den Estern des 3α -Tropanols

als deutliches Triplett, bei denen des 3β -Tropanols hingegen als Quintett-/Septett-artiges Multiplett. Aufgrund der Nachbarschaft zum Sauerstoff liegt H-3 bei etwa 5 ppm, bei den 3α -Estern etwas tiefer als bei den 3β -Estern (Singh *et al.*, 1979). Die unter dem Einfluß des Stickstoffs stehenden H-1 und H-5 sind auch bei den Estern isochron, d. h. sie bilden ein gemeinsames breites Singulett bei δ -Werten um 3.1-3.2 ppm aus. Sehr viel größer – da drei Protonen entsprechend – und schlanker erscheint das Signal der N-Methyl-Gruppe bei etwa δ 2.3.

Angrenzend hieran im höheren Feld finden sich die Methylengruppen, wobei jeweils chemisch äquivalente Protonen zu einem Signal zusammenfallen. So prägen die beiden *endo*-ständigen H-6n und H-7n ein zumeist gut erkennbares Dublett mit typischen $J \approx 8$ Hz bei ungefähr δ 1.9 aus, während die *exo*-ständigen H-6x und H-7x als Multiplett bei δ 2.0-2.2 zu finden sind. Abhängig von der Stereochemie an C-3 variiert die Lage und Beschaffenheit der Signale der Protonen in Position 2 und 4. Bei den 3α -Tropanolestern sind die äquatorialen H-2e und H-4e als charakteristisches breites Dublett mit einer geminalen Kopplungskonstante von etwa 15 Hz leicht wiederzufinden; das Signal liegt um δ 1.7. Das Dublett eines Triplets der axialen H-2a und H-4a ist tiefer angesiedelt (δ 2.1-2.4) und in der Regel nur noch als Multiplett zu deuten. Umgekehrt verhält es sich bei den 3β -Tropanolestern: Hier liegt das Signal der axialen Protonen H-2a und H-4a im höheren Feld bei ca. δ 1.8; in einigen Fällen ist als Grundmuster noch das Triplett erkennbar. Die geminale Kopplungskonstante fällt bei den 3β -Estern mit ungefähr 12 Hz etwas kleiner aus. Das Dublett-Dublett-Dublett der äquatorialen H-2e und H-4e hingegen ist im tieferen Feld angesiedelt bei meist über δ 2.0. Oft erscheint es nur als einfaches Dublett mit der charakteristischen geminalen Kopplung. Je nach Menge und Reinheitsgrad der isolierten Substanz sowie der Art der Acylkomponente ergeben sich in bestimmten Fällen kleinere Abweichungen von diesem Schema; sind diese gravierender bzw. nur punktuell, so können sie als gezielte Hinweise auf strukturelle Besonderheiten gedeutet werden.

Im ^{13}C -NMR ähneln die Werte denen der unveresterten Tropanole (s. 2.2.4.1.2 und 2.2.4.1.3). Lediglich das Signal für C-3 ist durch die Veresterung der Hydroxyfunktion ins tiefere Feld verschoben (vgl. hierzu Wenkert *et al.*, 1974, und Lounasmaa *et al.*, 1975).

2.2.4.2.1 3-Tropanolester aus *Falkia repens* L. f.

Anders als die klassischen Vertreter der Convolvulaceae ist *Falkia repens* L. f. ein ausdauernder Bodendecker. Die Verbreitung dieses zierlichen, leicht behaarten Krautes ist auf den Süden Afrikas mit Schwerpunkt auf der östlichen Kapregion begrenzt. Man findet es dort im grasigen Flachland, gerne in der Nähe von Wasser. Die kriechenden Sproßachsen tragen langgestielte, herz- bis nierenförmige Blättchen und von September bis Dezember auch etwa ebensolange einblütige Pedunkel mit blaßvioletten, am Rand leicht gelappten Trichterblüten.

**Abb. 46:**

Falkia repens L. f. im Schaugewächshaus des Botanischen Gartens Berlin

Herkunft: Kapland, Südafrika

Beschreibung:

Flora of the Cape Peninsula (Salter, 1950);

Flora of Southern Africa (Meeuse und Welman, 2000);

The Levyns Guide to the Plant Genera of the Southwestern Cape (Trinder-Smith, 2003)

Die in Afrika beheimatete Gattung *Falkia* gehört zum phytochemisch bisher kaum beleuchteten Tribus Dichondreae s.l.. Nach der GC-MS-Untersuchung der Ganzpflanze konstatierte Tofern (1999) „eine für Convolvulaceen einzigartige Vielfalt an aliphatischen Tropanol-Estern“. Im Einzelnen beschrieb sie: 3α - Acetoxynortropan, 3α - Acetoxytropan, 3α - und 3β -Tigloyloxytropan, 3α -Isobutyryloxytropan, 3α - und 3β -(2- oder 3-Methylbutyryloxy)tropan und 3α - und 3β -(3-Hydroxy-2-methylbutyryloxy)tropan. Es sollte nun versucht werden, mehrere dieser Verbindungen zur Bestätigung ihrer Molekülstruktur zu gewinnen, zumal es sich fast ausschließlich um noch nicht aus Convolvulaceae isolierte Substanzen handelt.

Hierfür wurde diese Art über mehrere Jahre im gemäßigt-temperierten Gewächshaus des Wirtschaftshofs des Botanischen Gartens der Freien Universität Berlin kultiviert und in regelmäßigen Abständen durch Vereinzeln vermehrt. Die ober- und unterirdischen Teile der Individuen wurden separiert, getrocknet und gemahlen. Von den 560 g Wurzeln und Rhizomen wurde ein Methanol-Extrakt hergestellt, und der Trockenrückstand dem Trennungsgang unterzogen (s. 2.1.1). 512 mg Basen-Extrakt wurden an einer Kieselgel-Säule fraktioniert; Fließmittel waren Portionen von je 100 mL Chloroform mit steigendem Anteil Methanol unter Zusatz von 0.5 mL wässriger Ammoniaklösung (s. 5.4.4.2). Einzelne Verbindungen konnten direkt der Analyse zugeführt werden; ein Teil der Fraktionsgruppen wurde der präparativen Dünnschichtchromatographie unterzogen. Fraktionen 2-5 enthielten ein aliquotes Gemisch mehrerer Substanzen nahezu identischer Polarität, das daher dem innovativen Verfahren der Alkaloid-Trennung durch Größenausschlusschromatographie an Sephadex LH-20 unterzogen wurde. Neben Tropan-3-on und 3β -Tropanol konnten insgesamt acht 3-Tropanolester gewonnen werden, deren Isolierung und Strukturaufklärung im Folgenden beschrieben wird.

2.2.4.2.1.1 3α -Acetoxytropan

Fraktionen 20-32 wurden bei einem Fließmittelverhältnis von 98:2:0.5 (Chloroform: Methanol:NH₃ konz.) von der Kieselgel-Säule (s. o.) eluiert. Die dünnschichtchromatographische Überprüfung anhand von Dragendorffs Reagenz wies sie als ein und dieselbe Verbindung aus. Sie wurden direkt der Strukturanalyse unterzogen.

Das $^1\text{H-NMR}$ weist alle für 3-Tropanolester typischen Signale auf: das breite Singulett von H-1 und H-5 bei δ 3.10, das drei Protonen entsprechende Singulett der N-Methyl-Gruppe bei δ 2.28, das Dublett mit $J = 7.7$ Hz der *endo*-ständigen H-6n und H-7n bei δ 1.93 und ein Dublett-Dublett bei δ 2.01 für H-6x und H-7x. Betrachtet man das Signal von H-3 bei δ 4.97, erkennt man ein klares Triplet mit $J = 5.3$ Hz. Hieraus wird ersichtlich, daß es sich um einen Ester des 3 α -Tropanols handelt. Dafür sprechen auch Lage und Signalaufspaltung der Methylen-Protonen in den Positionen 2 und 4. Das breite Dublett der äquatorialen H-2e und H-4e liegt bei δ 1.70 und das Triplet eines Dubletts der axialen H-2a und H-4a bei δ 2.12. Die Signalzuordnung wurde durch Aufnahme eines H-H-COSY bestätigt. Zusätzlich findet sich bei δ 2.04 ein drei Protonen entsprechendes Singulett. Die Art des Signals und seine chemische Verschiebung sprechen für eine Methyl-Gruppe in Nachbarschaft zur Carbonyl-Funktion eines Esters oder eines Säureamids.

Mit einem Basispeak von m/z 124 und charakteristischen Fragmenten bei m/z 140, m/z 97, m/z 96, m/z 95, m/z 94, m/z 83, m/z 82 und m/z 42 weist auch das EI-Massenspektrum deutlich auf einen 3-Tropanolester hin. Der Molpeak liegt bei m/z 183, wofür durch hochauflösende Massenspektrometrie (HRMS) eine molekulare Zusammensetzung von $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{NO}_2$ ermittelt werden kann. In Verbindung mit einem auffälligen Fragment bei m/z 43, entsprechend der elementaren Zusammensetzung $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}$, wird der Verdacht auf Acetylierung der 3 α -Hydroxygruppe des Tropanols erhärtet. Durch α -Spaltung auf der anderen Seite der Carbonyl-Gruppe entsteht zudem das Bruchstück m/z 168, das durch Verlust der Methylgruppe zustandekommt. m/z 155 resultiert aus der Abspaltung von C-6 und C-7 als Ethylen. Als Referenz diente die Arbeit von Brachet *et al.* (1997).

Zur endgültigen Absicherung der Struktur wurde ein $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum aufgenommen. Von den insgesamt sieben Peaks entfallen fünf auf den Tropan-Teil der isolierten Verbindung: die Triplets der Methylen-Gruppen bei 36.5 ppm (C-2 und C-4) und 25.6 ppm (C-6 und C-7), die Dubletts der Methin-Kohlenstoffe in Nachbarschaft eines Heteroatoms bei 67.5 ppm (C-3) und 59.8 ppm (C-1 und C-5) und das Quartett der N-Methyl-Gruppe bei 40.4 ppm. Es verbleiben das Signal eines quartären Kohlenstoffs bei 170.4 ppm, was für ein Carbonyl-C und zwar als Teil einer Ester-Funktion spricht, und eines bei 21.6 ppm. Die chemische Verschiebung dieses Quartetts deutet auf eine Methyl-Gruppe hin, die an ein quartäres und zudem doppelt gebundenes C-Atom angrenzt.

Zieht man all diese Ergebnisse zusammen, so ist die erhaltene Substanz zweifellos **3 α -Acetoxytropan (8)**.

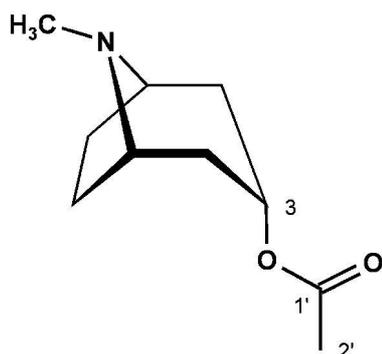


Abb. 47:
3 α -Acetoxytropan (8)

Die chemischen Verschiebungen im $^1\text{H-NMR}$ stimmen mit den von Evans und Major (1966) publizierten überein.

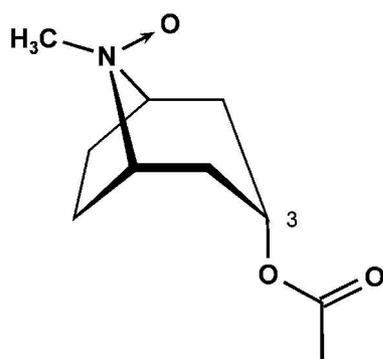
2.2.4.2.1.2 3 α -Acetoxytropan-N-oxid (9)

Bei einem Fließmittelverhältnis von 96:4:0.5 (Chloroform:Methanol:NH₃ konz.) wurden mehrere Fraktionen von der Kieselgel-Säule (s. o.) eluiert, die laut Kontroll-DC eine ganze Reihe Dragendorff-positiver Substanzen enthielten. Ähnliche Fraktionen zwischen 51 und 71 wurden vereint und exemplarisch die Fraktionsbereiche **54-56** und **61-67** GC-MS-vertommen. Hauptverbindungen in **61-67** waren neben Cyclotropin, 3 α -Acetoxynortropan und Cuscohygrin 3 α -Acetoxytropan und 3 α -(3'-Hydroxy-2'-methylbutyryloxy)tropan. Daraufhin wurde von den Fraktionsbereichen **61-67** und **68-71** eine präparative DC mit dem Fließmittel Chloroform:Methanol:32%ige wäßrige Ammoniaklösung (40:10:1; Zweifachentwicklung) angefertigt. Zone **61N** wurde der Strukturaufklärung zugeführt.

Das EIMS weist alle für 3-Tropanolester charakteristischen Fragmente auf: ein sehr großer Peak bei m/z 124 zusammen mit m/z 140 und die beim Zerfall der Tropan-Teilstruktur entstehenden m/z 96, m/z 95, m/z 94, m/z 83, m/z 82 und m/z 42. Als Pseudo-Molpeak tritt m/z 183 auf. Der übliche Basispeak m/z 124 wird noch überragt von einem Fragment mit m/z 43. Als H₃C-C \equiv O⁺ ist dies eine typische Abgangsgruppe bei acetylierten Verbindungen. Vermutlich handelt es sich also auch hier um ein Acetoxytropan, denn das ¹H-NMR zeigt ähnliche Signale wie bei Verbindung **8**. Anhand des Triplets bei δ 5.08 wird ersichtlich, daß es sich um eine 3 α -Substitution handelt. Das drei Protonen umfassende Singulett der Methyl-Gruppe des Acetyl-Restes liegt bei δ 2.07. Auffallend ist eine deutliche Tieffeldverschiebung des breiten Singuletts der Protonen an C-1 und C-5 zu δ 3.64 (statt δ 3.10) und des drei Protonen entsprechenden Singuletts der N-Methyl-Gruppe zu δ 3.36 (statt δ 2.28). Auch das breite Dublett der axialen H-2a und H-4a ist klar tieffeldverschoben, nämlich bei δ 3.18 (statt δ 2.12).

Betrachtet man das ¹³C-NMR, so konzentrieren sich die Abweichungen von Verbindung **12** ebenfalls auf den Bereich um den Stickstoff. So liegen sowohl C-1 und C-5 mit 70.5 ppm (statt 59.8 ppm), als auch das N-CH₃ mit 54.5 ppm (statt 40.4 ppm) bei sehr viel größeren Werten.

Faßt man diese Ergebnisse zusammen, weist alles auf eine Veränderung am Stickstoff hin: So könnte dieser beispielsweise oxidiert vorliegen. Zur Überprüfung wurde die Substanz dem FABMS zugeführt, in der Hoffnung, daß mit dieser Methode der Molpeak des N-Oxids sichtbar gemacht werden könnte. Dies war der Fall, denn das größte Fragment im (+)-FABMS ist m/z 200, also [M+H]⁺. So erklärt sich auch das mit 28 % rel. Int. recht große



Fragment m/z 156 im EIMS, entsteht es doch durch Abgang der Acetylgruppe direkt aus dem N-Oxid (m/z 199), dessen Molpeak allerdings nicht beobachtet werden kann; ein Pseudo-Molpeak findet sich bei m/z 183. Verbindung **9** konnte somit als das N-Oxid von Verbindung **8** identifiziert werden, nämlich als 3 α -Acetoxytropan-N-oxid.

Abb. 48: 3 α -Acetoxytropan-N-oxid (**9**)

2.2.4.2.1.3 3 β -Acetoxytropan-N-oxid (10)

Die mit dem Fließmittel 98:2:0.5 (Chloroform:Methanol:NH₃ konz.) von der Kieselgel-Säule (s. o.) eluierten Fraktionen **2-5** enthielten ein komplexes Gemisch Dragendorff-positiver Substanzen. Dessen Auftrennung an Sephadex LH-20 (s. 2.2.4.2.1.5 und 5.4.4.2.5) und anschließende präparative Dünnschichtchromatographie (s. 2.2.4.2.1.6 und 5.4.4.2.6) führten zu der Einzelsubstanz **Seph 18 C**.

Das EI-Massenspektrum ergibt ein ähnliches Bild wie bei der zuvor als 3 α -Acetoxytropan-N-oxid strukturaufgeklärten Verbindung **9**. Neben dem Pseudo-Molpeak m/z 183 zeigt es die für 3-Tropanolester typischen Fragmente bei m/z 140, m/z 124, m/z 96, m/z 95, m/z 94, m/z 83, m/z 82 und m/z 42. Das Fragment m/z 124, sonst Basispeak, wird auch hier überragt von m/z 43, das auf eine acetylierte Substanz hinweist. Zur Klärung der Frage, ob es sich bei Verbindung **10** ebenfalls um ein N-Oxid handelt, wurde wiederum ein (+)-FABMS aufgenommen. Mit dem Peak bei m/z 200, entsprechend $[M+H]^+$, ergibt sich ein positiver Befund.

Das ¹H-NMR bringt jedoch deutliche Unterschiede im Tropan-Teil zutage. Noch recht ähnlich sind die chemischen Verschiebungen der N-Methyl-Gruppe mit δ 3.49 und der Methin-Protonen an C-1 und C-5 mit δ 3.58. Allerdings erscheinen letztere als Triplet, dessen Kopplungskonstante von 3.2 Hz sich bei den äquatorialen H-2e und H-4e wiederfindet. Abweichend von Verbindung **9** bilden diese hier ein Dublett-Dublett-Dublett aus, das außerdem eine geminale Kopplung von 13.8 Hz aufweist. Die dritte Kopplungskonstante von 6.2 Hz korreliert mit der von H-3, das bei δ 5.03 als Quintett-artiges Multiplett vorliegt. Beide Signalaufspaltungen sprechen für einen 3 β -Tropanolester. Die axialen H-2a und H-4a sind bei Verbindung **10** viel höher angesiedelt, nämlich als Dublett-Dublett bei δ 2.77. Dies ist auch bei dem charakteristischen Dublett mit $J = 8.6$ Hz der *endo*-ständigen H-6n und H-7n mit δ 1.86 der Fall. Das Multiplett der *exo*-ständigen H-6x und H-7x liegt unverändert bei δ 2.15. Nahezu identisch ist auch das Methyl-Singulett des Acetyls mit δ 2.03.

Die vorliegende Substanz konnte also als 3 β -Acetoxytropan-N-oxid (**10**) identifiziert werden.

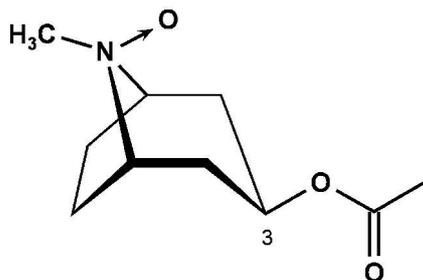


Abb. 49: 3 β -Acetoxytropan-N-oxid (**10**)

2.2.4.2.1.4 3 α -(2'-Methylbutyryloxy)tropan (11)

Die Auftrennung des Basen-Extraktes der Wurzeln und Rhizome von *Falkia repens* erfolgte an einer Kieselgel-Säule (s. 2.2.4.2.1 und 5.4.4.2). Fraktionen **9-12** enthielten laut Kontroll-DC und Besprühen mit Dragendorffs Reagenz ein und dieselbe stark dominierende Base und wurden daher vereinigt. Zur Aufreinigung wurden sie der präparativen Dünnschichtchromatographie zugeführt und mit dem Fließmittelgemisch CHCl₃/MeOH/NH₃ konz. (40:10:1; Dreifachentwicklung) separiert. Die Hauptkomponente ließ sich so als Substanz **9A** gewinnen und wurde anschließend strukturaufgeklärt.

Zwei Signale prägen das tiefere Feld des ¹H-NMR-Spektrums: ein Triplet bei δ 5.04 und ein breites Singulett bei δ 3.29. Beide sind Kennsignale für 3-Tropanolester, wobei das Triplet mit der typischen Kopplungskonstante von 5.1 Hz darauf hindeutet, daß sich der Substituent an C-3 in α -Stellung befindet. Das breite Singulett wird von H-1 und H-5 ausgebildet. Bei δ 2.40 ist das drei Protonen entsprechende Singulett der N-Methyl-Gruppe angesiedelt. Mit dem Dublett der *endo*-ständigen H-6n und H-7n ($J = 7.9$ Hz) bei δ 1.82 und dem Dublett der äquatorialen H-2e und H-4e ($J = 14.8$ Hz) bei δ 1.74 finden sich zwei weitere charakteristische Signale. Die *exo*-ständigen H-6x und H-7x liegen bei δ 2.07 als Multiplett vor, die axialen H-2a und H-4a ebenfalls als Multiplett bei δ 2.38.

Die Zuordnung der Signale wurde durch Aufnahme eines H-H-COSY bestätigt. Auch das EIMS weist darauf hin, daß es sich bei Verbindung **11** um einen 3-Tropanolester handelt: Es wird geprägt durch den Basispeak mit m/z 124 und weitere typische Fragmente mit m/z 140, m/z 96, m/z 95, m/z 94, m/z 83 und m/z 82. Der Molpeak liegt bei m/z 225, wofür mittels HRMS die elementare Zusammensetzung C₁₃H₂₃NO₂ ermittelt werden kann. Er wird durch das Ion [M+H]⁺ mit m/z 226 im (+)-FABMS bestätigt.

Die Acylkomponente dürfte also außer der Carbonyl-Gruppe über vier gesättigte und durchgängig protonierte C-Atome verfügen, was sich auch im Massenfragment m/z 57 (C₄H₉⁺) widerspiegelt. Im aliphatischen Bereich des ¹H-NMR-Spektrums finden sich fünf zusätzliche Signale. Ins Auge fallen zwei Dublett-Quartetts bei δ 1.69 und δ 1.50 für je ein Proton mit ähnlichen Kopplungskonstanten und zwei weitere Signale, die jeweils drei Protonen entsprechen. Bei letzteren dürfte es sich um Methylgruppen handeln, wobei die eine ein Triplet bei δ 0.93 mit $J = 7.4$ Hz ausbildet. Dieses koppelt im H-H-COSY mit beiden Dublett-Quartetts, die zudem jeweils eine geminale Kopplung aufweisen, was typisch für Methylen-Gruppen ist. Die andere Methylgruppe etabliert sich als Dublett bei δ 1.15 mit $J = 7.1$ Hz. Im H-H-COSY zeigt sie eine Korrelation zu einem Proton, das ein Multiplett bei δ 2.33 ausbildet, bei dem sich auch eine Kopplungskonstante von etwa 7 Hz wiederfindet.

Im ¹³C-NMR lassen sich die beiden Triplets bei 25.3 ppm und 35.5 ppm den vier Methylen-Gruppen (C-6/C-7 und C-2/C-4) zuordnen, das Dublett bei 60.0 ppm C-1 und C-5, das bei 65.9 ppm dem C-3 und das Quartett bei 41.4 ppm der N-Methyl-Gruppe. Neben diesen Signalen des Tropan-Grundkörpers finden sich ein weiteres Methylen-Triplett bei 22.7 ppm, ein Methin-Dublett bei 29.7 ppm und zwei Methyl-Quartetts bei 16.4 und 11.7 ppm. Außerdem erscheint das markante Singulett eines Carbonyl-Kohlenstoffs bei 175.5 ppm.

Anhand dieser Daten lässt sich als Acylkomponente die 2-Methylbuttersäure postulieren. Diese Vermutung kann durch folgende Fragmente im EIMS untermauert werden: m/z 183 wird durch Ethylen-Verlust – einhergehend mit der Wanderung eines der γ -ständigen Protonen an die Carbonylgruppe unter Ausbildung eines sechsgliedrigen cyclischen Intermediats (McLafferty-Umlagerung) – und Abspaltung von Methylen gebildet, m/z 196 entsteht durch den Verlust der terminalen $\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2$ -Kette und m/z 210 durch Abgang der endständigen Methyl-Gruppe.

Bei Verbindung **11** handelt es sich also um das **3 α -(2'-Methylbutyryloxy)tropan**.

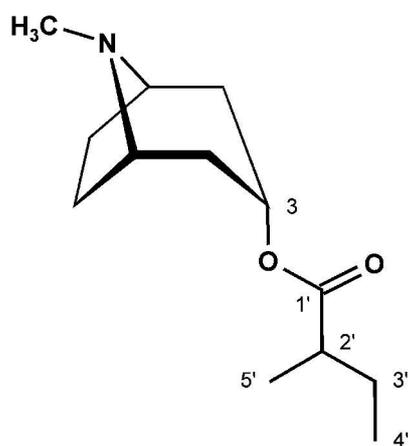


Abb. 50: 3 α -(2'-Methylbutyryloxy)tropan (**11**)

2.2.4.2.1.5 3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan (12)

Mit den Fraktionen **2-5** der zur Auftrennung des Basen-Extraktes der Wurzeln und Rhizome von *Falkia repens* verwendeten Kieselgel-Säule wurde ein reichhaltiges komplexes Gemisch einer Reihe von Dragendorff-positiven Substanzen eluiert. Es wurden zahlreiche Versuche unternommen, dieses Konglomerat auf der DC-Platte zu trennen. Verschiedenste Fließmittelzusammensetzungen wurden herangezogen; hier einige Beispiele:

- Aceton/H₂O/wäßr. NH₃-Lösung 25% (90:7:3)
- Ethylacetat/Isopropanol/wäßr. NH₃-Lösung 25% (45:35:15)
- Chloroform/Methanol/wäßr. NH₃-Lösung konz. (45:5:1; 1x und 2x entwickelt)

Anstelle von wäßriger Ammoniak-Lösung kam auch Diethylamin zum Einsatz.

Doch mit keinem dieser Fließmittel konnte der angestrebte Trennungserfolg erzielt werden. Daher wurde eine bisher noch nicht für Alkaloide verwendete Trennmethode ausprobiert, nämlich der Aufschluß des Mehrkomponentengemisches durch Größenausschlußchromatographie an Sephadex LH-20 (Henke, 1994). Als Elutionsmittel diente Aceton. Aufgrund ihrer Einheitlichkeit wurden Fraktionen **13-15** der Sephadex-Säule vereint und der Strukturaufklärung zugeführt. Eine weitere Aufreinigung war nicht notwendig.

Anhand des EIMS wird ersichtlich, daß es sich um einen 3-Tropanolester handelt: dominant ist der Basispeak m/z 124, daneben treten die üblichen Fragmente bei m/z 140, m/z 96, m/z 95, m/z 94, m/z 83 und m/z 82 auf. Der Molpeak ist mit dem von Verbindung **11** identisch und liegt bei m/z 225. Auch die Fragmente m/z 210, m/z 196 und m/z 183 sind vorhanden. Davon abweichend erscheint ein auffälliges Fragment mit m/z 208, das laut HRMS die molekulare Zusammensetzung C₁₃H₂₂NO⁺ hat. In Zusammenhang mit der mittels HRMS ermittelten Summenformel C₁₃H₂₃NO₂ und dem Fragment m/z 57 (C₄H₉⁺) wird ein weiteres 3-(2'-Methylbutyryloxy)tropan wahrscheinlich.

Das ¹H-NMR korrespondiert mit dem von Verbindung **11**. Die chemischen Verschiebungen liegen bei ähnlichen Werten: das breite Singulett von H-1 und H-5 bei δ 3.23, das schlanke Singulett der N-Methyl-Gruppe mit dreifacher Intensität bei δ 2.34, das markante Dublett ($J = 8.1$ Hz) der *endo*-ständigen Protonen H-6n und H-7n bei δ 1.67 und das Multipllett der *exo*-ständigen H-6x und H-7x bei δ 2.05. Auch die Signale des 2-Methylbutyryl-Restes stimmen überein: Die beiden drei Protonen entsprechenden Peaks der Methyl-Gruppen liegen als Dublett bei δ 1.10 und als Triplet bei δ 0.88 vor, die jeweils mit etwas über 7 Hz koppeln. Die Methylen-Gruppe findet sich in zwei aufeinanderfolgenden Dublett-Quartetts bei δ 1.63 und δ 1.44 wieder, die außer dieser Kopplungskonstante von 7 Hz eine geminale von 14 Hz aufweisen. Der Methin-Wasserstoff bildet hier ein Sextett bei δ 2.31 mit $J = 6.8$ Hz aus.

Allerdings weist das Spektrum bei genauerer Betrachtung einige gravierende Unterschiede auf. So weichen die Signale der Protonen an C-2 und C-4 in Lage und Art von denen der Verbindung **15** ab. Die axialen H-2a und H-4a bilden ein breites Triplet mit einer gemina-

len Kopplung von 11.4 Hz aus. Diese Kopplungskonstante findet sich bei den äquatorialen H-2e und H-4e wieder, zusammen mit $J = 3.0$ Hz und $J = 5.6$ Hz. Letztere stellt die Kopplung der äquatorialen Protonen an C-2 und C-4 mit dem unter Einfluß des alkoholischen Estersauerstoffs stehenden H-3 bei δ 5.00 dar. Wie bei Parello *et al.* (1963) beschrieben erscheint das α -ständige H-3 als unregelmäßiges Septett, das keine einheitliche Kopplungskonstante aufweist. In die Wertetabelle wurde das Signal daher als Multipllett aufgenommen. Es handelt sich hier also um das 3β -Stereoisomer.

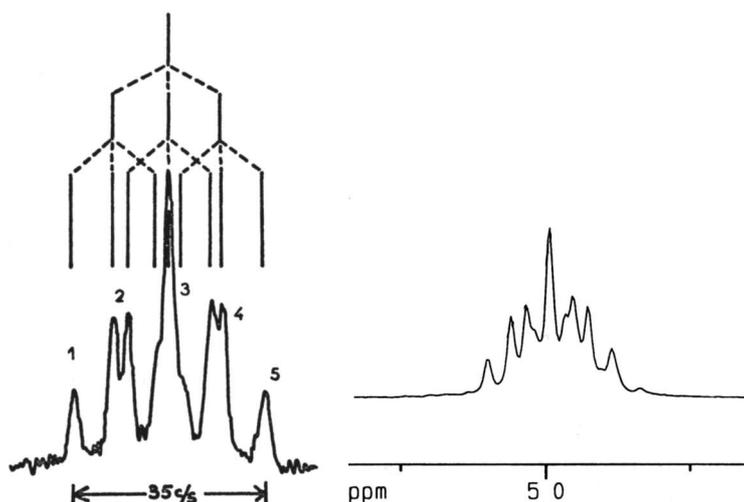


Abb. 51: Signalaufspaltung von H-3 bei Parello *et al.* (links) und bei Verbindung **12** (rechts)

Die Kopplungssequenzen von Alkohol und Acylkomponente finden im H-H-COSY ihre Bestätigung: Die beiden Methylen-Protonen in Position 3' koppeln nicht nur untereinander, sondern auch mit $\text{CH}_3\text{-}4'$ (δ 0.88, *t*), während $\text{CH}_3\text{-}5'$ (δ 1.10, *d*) dies mit dem Sextett bei δ 2.31, also H-2', tut. Die Signaluordnung im Bereich der Acylkomponente wird somit bekräftigt. Im Tropan-Teil korreliert das breite Singulett von H-1 und H-5 zum einen mit den *exo*-ständigen H-6x und H-7x, die wiederum mit den geminalen *endo*-ständigen H-6n und H-7n koppeln. Zum anderen zeigt es eine Korrelation zu H-2 und H-4, die mit dem Signal von H-3 in Verbindung stehen. Fraglich ist jedoch, ob es durch Lagerung der isolierten Substanz zu einer Isomerisierung in Position 3 gekommen ist. So konnte beobachtet werden, daß in dem mehrere Wochen später aufgenommenen H-H-COSY die Signale für die axialen und die äquatorialen Protonen an C-2 und C-4 zu einem breiten Multipllett zusammenfallen und aus dem von H-3 gebildeten Septett ein Quintett geworden ist.

Die Peaks im ^{13}C -NMR sind vergleichbar mit denen von Verbindung **11**: Auf den Tropan-Teil entfallen die beiden Triplets bei 26.8 ppm (C-6/C-7) und bei 35.4 ppm (C-2/C-4), die beiden Dubletts bei 60.5 ppm (H-1/H-5) und bei 66.3 ppm (H-3) und das Quartett der N-Methylgruppe bei 38.6 ppm. Nahezu identisch sind auch die ppm-Werte des 2'-Methylbuttersäure-Restes: Die Methylgruppen erscheinen bei 11.5 ppm ($\text{CH}_3\text{-}4'$) und bei 16.6 ppm ($\text{CH}_3\text{-}5'$), das Methin in Position 2' bei 29.7 ppm und das Methylen-Triplett (C-3') bei 18.9 ppm. Mit Abstand tiefstes Signal ist auch hier der Carbonyl-Kohlenstoff bei 176.4 ppm.

Somit kann Verbindung **12** zweifelsfrei als **3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan** identifiziert werden.

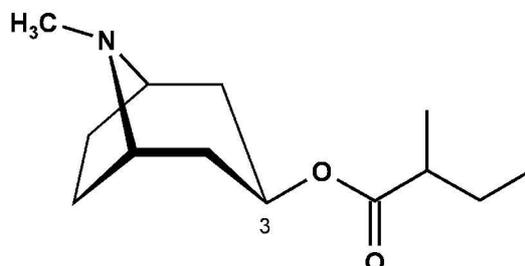


Abb. 52: 3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan (**12**)

2.2.4.2.1.6 3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan N-oxid (**13**)

Im vorhergehenden Kapitel wurde die Problematik der Auftrennung der Fraktionen **2-5** der Kieselgel-Säule beschrieben. Fraktionen **18-23** der Sephadex-Säule enthielten ein Gemisch mehrerer Dragendorff-positiver Substanzen, die anhand einer präparativen DC separiert werden sollten. Dies gelang mit dem Fließmittel CHCl₃/MeOH/NH₃ konz. (48:2:0.2) durch Zweifachentwicklung. Die als **Seph 18 B 1** gewonnene Substanz wurde der Vermessung unterzogen.

Die Ähnlichkeit des ¹H-NMR-Spektrums mit dem der Verbindung **12** fällt sofort ins Auge. Allerdings sind die Signale im Tropan-Teil durchweg tieffeldverschoben. Am auffälligsten ist dies bei den unter dem Einfluß des Stickstoffs stehenden Protonen. So liegt die N-Methyl-Gruppe bei δ 3.53 (statt δ 2.34) und das breite Singulett, das H-1 und H-5 gemeinsam ausbilden, bei δ 4.04 (statt δ 3.23). Doch auch die Methylen-Gruppen unterliegen einer Tieffeld-Shift: Die *exo*-ständigen Protonen H-6x und H-7x erscheinen als Multiplett bei δ 2.09 (statt δ 2.05), und das Dublett der *endo*-ständigen H-6n und H-7n mit der charakteristischen Kopplungskonstante von 8.5 Hz liegt bei δ 1.83 (statt δ 1.67). Die axialen H-2a und H-4a fallen zu einem breiten Multiplett bei δ 2.73 (statt δ 1.76) zusammen und die äquatorialen H-2e und H-4e zu einem bei δ 2.14 (statt δ 1.85). Anhand des unregelmäßigen Septetts bei δ 5.04 (statt δ 5.00) kann auf einen 3 β -Tropanolester geschlossen werden.

Die verbleibenden und damit der Acylkomponente zuzurechnenden Signale sind nahezu identisch mit denen der Verbindung **12**. Das einem Wasserstoff entsprechende Sextett bei δ 2.33 ($J = 6.9$ Hz) koppelt mit dem Methyl-Dublett bei δ 1.11. Auch das drei Protonen umfassende Triplet bei δ 0.88 steht für eine Methyl-Gruppe. Die beiden Protonen des Methylen-Kohlenstoffs liegen als Multipletts bei δ 1.62 und δ 1.43 vor. Es dürfte sich also hier ebenfalls um einen 2-Methylbuttersäure-Rest handeln.

Beide Strukturbestandteile können anhand ihrer Kopplungssequenz im H-H-COSY verifiziert werden. Zur weiteren Absicherung wird ein ^{13}C -NMR-Spektrum erstellt: Die Signale der dem Stickstoff benachbarten Kohlenstoffe C-1/C-5 (70.2 ppm) und N-CH₃ (50.1 ppm) weisen im Vergleich zu Verbindung **12** eine starke Tieffeldverschiebung um 10 ppm auf. Die restlichen Ring-Kohlenstoffe hingegen liegen leicht hochfeldverschoben bei 64.8 ppm (C-3), 31.9 ppm (C-2/C-4) und 24.9 ppm (C-6/C-7). Diese Abweichungen weisen erneut auf eine Oxidation des Stickstoffs hin.

Das EIMS ähnelt dem der Verbindungen **11** und **12**: Es zeigt die typischen Fragmente der 3-Tropanolester bei m/z 124 (Basispeak), m/z 140, m/z 96, m/z 95, m/z 94, m/z 83 und m/z 82. Außerdem finden sich das durch Verlust einer Methyl-Gruppe entstandene m/z 210, [M-OH]⁺ als m/z 208, m/z 196 durch Abgang der endständigen Ethyl-Gruppe und das durch McLafferty-Umlagerung gebildete m/z 183. Auffällig ist der ungewöhnlich große Molpeak mit 42% rel. Intensität. Mittels Aufnahme eines (+)-FABMS und dem dort erscheinenden Ion [M+H]⁺ 242 kann bewiesen werden, daß es sich hier um ein im EIMS nicht sichtbares N-Oxid handelt.

Verbindung **13** stellt somit das 3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan-N-oxid dar.

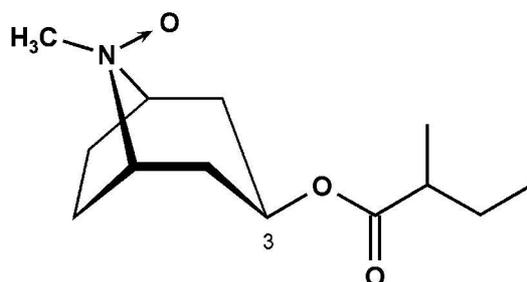


Abb. 53: 3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan-N-oxid (**13**)

2.2.4.2.1.7 3 β -Tigloyloxytropan-N-oxid (14)

Die Separation des Basen-Extraktes der Wurzeln und Rhizome von *Falkia repens* erfolgte an einer Kieselgel-Säule (s. 2.2.4.2.1 und 5.4.4.2). Die weitere Auftrennung der Fraktionen **2-5** gestaltete sich recht schwierig. Den gewünschten Erfolg brachte der Einsatz einer Sephadex-Säule, deren Fraktionen **18-23** ein Mehrkomponentengemisch enthielten (s. 5.4.4.2.5). Dieses wurde mittels präparativer Dünnschichtchromatographie in Einzelstoffe zerlegt (s. 5.4.4.2.6); Fließmittel war eine Mischung aus Chloroform, Methanol und konzentrierter wässriger Ammoniak-Lösung (48:2:0.2; Zweifachentwicklung). Anhand ihrer positiven Reaktion mit Dragendorffs Reagenz wurde Substanz **Seph 18 B 2** gewonnen und der Strukturaufklärung zugeführt.

Das EIMS weist alle für 3-Tropanolester typischen Zerfallsionen auf: m/z 124 als Basispeak, zusammen mit m/z 140, m/z 96, m/z 95, m/z 94, m/z 83, m/z 82, m/z 42, und zudem das 4-Hydroxy-N-methyl-pyridinium-Kation mit m/z 110.

Zur Bestätigung wird das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum in Kombination mit dem H-H-COSY herangezogen. Ausgehend von dem charakteristischen Dublett der *endo*-ständigen H-6n und H-7n mit einer Kopplungskonstante von 8.0 Hz lassen sich die Protonen im Tropan-Teil eindeutig zuordnen. So koppelt dieses Signal bei δ 1.64 mit einem Multiplett bei δ 2.31, das den *exo*-ständigen H-6x und H-7x zuzurechnen ist. Dieses wiederum steht in Korrelation zu dem breiten Singulett von H-1 und H-5 bei δ 3.82, das mit den axialen Protonen an C-2 und C-4 koppelt, die ein Multiplett bei δ 2.15 ausprägen. Die Kopplungssequenz läßt sich mit den geminalen äquatorialen H-2e und H-4e fortsetzen, deren Multiplett bei δ 1.95 eine Korrelation mit einem Multiplett bei δ 5.04 aufweist. Dieses ist dem unter Einfluß von Sauerstoff stehenden H-3 zugehörig; anhand der Signalaufspaltung kann auf einen 3 β -Tropanolester geschlossen werden. Das Singulett der N-Methyl-Gruppe ist bei δ 3.64 angesiedelt.

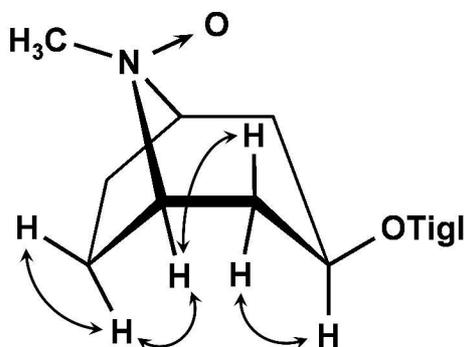


Abb. 54: Kopplungssequenz von Verbindung **14** im H-H-COSY

Als relative Pseudo-Molekülmasse kann im EIMS m/z 223 ausgemacht werden. Daraus läßt sich – in Verbindung mit einem Fragment bei m/z 55 – schließen, daß der Acyl-Rest die Zusammensetzung $\text{CO}-\text{C}_4\text{H}_7$ hat. Dementsprechend dürfte er also eine Doppelbindung enthalten. Im $^1\text{H-NMR}$ findet sich lediglich ein olefinisches Proton bei δ 6.84, das im H-H-COSY mit einem drei Wasserstoffen entsprechenden Dublett ($J = 6.5$ Hz), also einer Methylgruppe, bei δ 1.81 koppelt. Das wird durch die Aufspaltung des Signals zum Quartett mit $J = 6.4$ Hz bestätigt. Es verbleibt eine Methylgruppe, die als Singulett bei δ 1.84 vorliegt, also keine benachbarten Protonen hat. Auch im H-H-COSY findet sich keine Korrelation. Aufgrund ihrer chemischen Verschiebung liegt es nahe, daß die Methylgruppe ebenfalls an die Doppelbindung angrenzt.

Zieht man diese Informationen zusammen, kann Tiglinsäure als Acylkomponente postuliert werden. Um dies zu überprüfen, wurden Literaturdaten hinzugezogen. Im Rahmen ihrer phytochemischen Analyse von *Nierembergia hippomanica* gewannen Pomilio *et al.* (1996) 3β -Tigloyloxytropin (Tigloidin), dessen dort angeführtes Massenspektrum identische Zerfallsionen aufweist wie die hier untersuchte Substanz. Basey und Woolley (1973a) erhielten Tigloidin aus den Wurzeln und Rhizomen von *Physalis alkekengi* L. var. *franchetti*; in der Publikation sind die Signale im $^1\text{H-NMR}$ angegeben. Bezüglich der Acylkomponente und für H-3 ergeben sich vergleichbare Werte. Im Bereich um den Stickstoff hingegen sind die Signale bei der hier isolierten Verbindung **14** stark tieffeldverschoben: H-1 und H-5 liegen bei δ 3.82, nicht wie dort angegeben bei δ 3.1-3.3, die N-Methyl-Gruppe bei δ 3.64 anstelle von δ 2.32. Diese Werte lassen erneut ein N-Oxid vermuten. Für ein (+)-FABMS stand jedoch nicht mehr ausreichend Substanz zur Verfügung. Allerdings wurde von Yamaguchi *et al.* (1974) ebenfalls aus den Wurzeln von *Physalis alkekengi* L. var. *franchetti* das N-Oxid des 3α -Tigloyloxytropans isoliert. Berücksichtigt man, daß es sich hierbei um das 3-Stereoisomer handelt, stimmen die δ -Werte von H-1 und H-5 und der N-Methyl-Gruppe im $^1\text{H-NMR}$ gut überein. Auch sie konnten im EIMS lediglich die nicht oxidierte Verbindung mit m/z 223, also $[\text{M}-16]^+$, detektieren.

Demzufolge handelt es sich bei Verbindung **14** um 3β -Tigloyloxytropin-N-oxid.

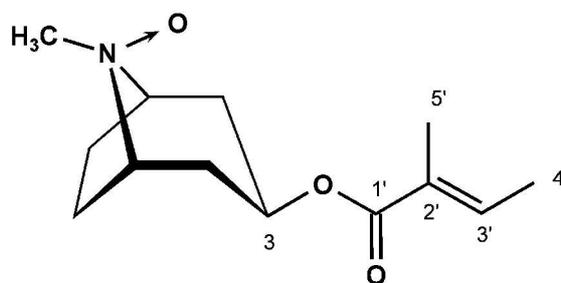


Abb. 55: 3β -Tigloyloxytropin-N-oxid (**14**)

2.2.4.2.1.8 3 β -*trans*-Isoferuloyloxytropan (15)

Der Basen-Extrakt der Wurzeln und Rhizome von *Falkia repens* wurde an einer Kieselgel-Säule aufgetrennt (s. 2.2.4.2.1). Dünnschichtchromatographisch konnten in den Fraktionen 51 bis 71 – eluiert bei einem Fließmittelverhältnis von 96:4:0.5 (Chloroform:Methanol: NH₃ konz.) – Mehrkomponentengemische Dragendorff-positiver Substanzen ausgemacht werden. Anhand einer parallel zur Säulenchromatographie an Kieselgel 60 durchgeführten DC-Reihenuntersuchung jeder zweiten Fraktion wurden mehrere Bereiche vereinigt: 51-53, 54-56, 57-60, 61-67 und 68-71. Um Anhaltspunkte für die Zusammensetzung dieser komplexen Gemische zu erhalten und etwaige Hauptkomponenten bestimmen zu können, wurden Fraktionen **54-56** und **61-67**, die laut DC die größte Anzahl verschiedener Verbindungen enthielten, exemplarisch der GC-MS-Analyse zugeführt. Dominant waren in **54-56** 3 α -Acetoxynortropan, 3 α -Acetoxytropan und ein 3-Feruloyloxytropan. Da zwei von ihnen bislang noch nicht aus Convolvulaceae isoliert wurden, sollte dies zur Absicherung des Befundes geschehen.

Aufgrund der Anreicherung einer Substanz in den Fraktionen **51-53** und des höheren Gewichts des Trockenrückstandes wurden diese zur präparativen Dünnschichtchromatographie herangezogen. Nach zweimaliger Entwicklung im Fließmittel CHCl₃:MeOH: NH₃ konz. (40:10:1) zeigte der mit Dragendorffs Reagenz besprühte Randstreifen eine positive Farbreaktion; der entsprechende Bereich wurde ausgekratzt und eluiert. So konnte die Reinsubstanz **51L** als Verbindung **15** gewonnen und alsdann der Strukturanalyse zugeführt werden.

Daß es sich bei Verbindung **15** um einen 3-Tropanolester handelt, kann aus dem EIMS abgelesen werden. Es zeigt den typischen Basispeak m/z 124 und weitere Fragmente mit m/z 140, m/z 96, m/z 95, m/z 94, m/z 83, m/z 82 und m/z 42. Damit kann das Nortropan ausgeschlossen werden.

Das ¹H-NMR bringt eine auffällige Häufung der Signale im Bereich der ungesättigten Kohlenwasserstoffe zutage. Zwei Dubletts bei δ 7.58 und δ 6.30 zeigen dieselbe große Kopplungskonstante von 15.9 Hz und korrelieren zudem über einen Dacheffekt miteinander. Es dürfte sich um olefinische Protonen handeln, wobei die sehr große Kopplungskonstante auf eine *trans*-Doppelbindung hinweist. Die Tieffeld-Shift des einen Protons zu δ 7.58 kann durch β -Stellung zu einer Carbonylgruppe erklärt werden. In besagtem Bereich des Spektrums befinden sich drei weitere Signale: ein breites Singulett bei δ 7.06, ein breites Dublett bei δ 6.98 und ein Dublett bei δ 6.85. Die Signalaufspaltung deutet auf einen 1,3,4-trisubstituierten Aromaten hin. In diesem ABX-System koppeln die benachbarten H-5' und H-6' mit $J = 8.0$ Hz und die *meta*-ständigen H-2' und H-6' mit kleiner Kopplung, die hier nur noch an der Breite der Signale zu erkennen ist. Beide Strukturelemente werden durch die Korrelationen im H-H-COSY bestätigt.

Dieses zweidimensionale Spektrum hilft auch bei der Zuordnung der Signale des Tropan-

Teils. Ausgangspunkt ist das charakteristische Dublett der *endo*-ständigen H-6n und H-7n mit 8.4 Hz, das sich bei δ 1.88 findet. Diese koppeln mit den *exo*-ständigen H-6x und H-7x, die demzufolge das Multiplett bei δ 2.14 ausbilden. Dies wiederum zeigt eine Korrelation zu dem breiten Singulett von H-1 und H-5, das durch die Nachbarschaft zum Stickstoff im tieferen Feld bei δ 3.55 liegt und mit dem Signal der äquatorialen Protonen an C-2 und C-4 bei δ 1.94, ebenfalls ein Multiplett, in Verbindung steht. Da diese in geminaler Position sind, koppeln sie mit den auch als Multiplett vorliegenden axialen H-2a und H-4a bei δ 2.06. Den Endpunkt der Kopplungssequenz stellt das Signal von H-3 dar, das durch den Einfluß des veresterten Sauerstoffs bei δ 5.16 liegt und bei der vorliegenden Verbindung **15** ein Multiplett ausprägt. Es handelt sich also um einen Ester des 3β -Tropanols. Das drei Protonen entsprechende Singulett der N-Methyl-Gruppe ist bei δ 2.52 angesiedelt. Es verbleibt ein markantes Singulett ebenso großer Intensität, das mit seiner chemischen Verschiebung zu δ 3.88 einer aromatischen Methoxy-Gruppe zuzurechnen ist.

Der Molpeak im EI-Massenspektrum ist m/z 317, was der molaren Masse von 3-Feruloyloxytropan entspricht. Außerdem finden sich die Zerfallsionen m/z 302 (Abspaltung einer Methyl-Gruppe), m/z 194 (Verlust des Aromaten mit Substituenten) und m/z 91 (Tropylium-Ion). Durch α -Spaltung am Carbonyl entsteht nicht nur m/z 140, sondern auch dessen Pendant m/z 177. Ebenfalls eine α -Spaltung ist der Bruch der Bindung zwischen Carbonyl und Doppelbindung, woraus m/z 149 resultiert. Als Referenz wurde die Arbeit von Gnecco Medina *et al.* (1983) herangezogen.

Verbindung **15** kann also in Kombination mit dem recht charakteristischen Retentionsindex im GC-MS (s. 2.1.2.2) als 3β -*trans*-Isoferuloyloxytropan strukturaufgeklärt werden.

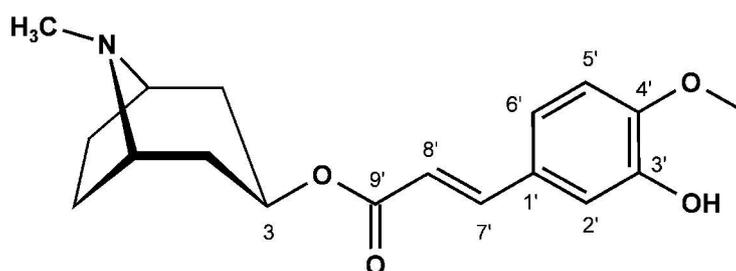


Abb. 56: 3β -*trans*-Isoferuloyloxytropan (**15**)

Zur abschließenden Bestätigung der Identität wird ein ^{13}C -NMR aufgenommen. Die Referenzdaten in der oben zitierten Arbeit beziehen sich jedoch zum einen auf 3α -*trans*-Feruloyloxytropan und zum anderen auf deuteriertes Pyridin als Lösungsmittel und können im Fall des ^{13}C -NMR daher nur bedingt als Vergleich dienen. Aus diesem Grund wird die Verteilung der chemischen Verschiebungen auf die C-Atome von Aromat und Doppelbindung anhand des Inkrementsystems vorgenommen.

Tiefstes Signal im ^{13}C -NMR ist der Carbonyl-Kohlenstoff (C-9') bei 166.4 ppm, der durch den Einfluß der in Konjugation stehenden Doppelbindung etwas höher liegt als bei anderen 3-Tropanolestern. Die olefinischen C-8' und C-7' sind bei 117.2 und 144.4 ppm angesiedelt, wobei das tiefere Dublett dem in β -Stellung zum Carbonyl befindlichen C-7' zuzuordnen ist. Daß es sich hierbei tatsächlich um die C-Atome der Doppelbindung handelt, wird unterstützt durch die Regel, daß die Addition beider Werte etwa 260 ppm ergeben muß; im vorliegenden Fall sind es 261.6 ppm. Die drei weiteren Dubletts der protonierten aromatischen Kohlenstoffe verteilen sich wie folgt: C-2' liegt bei 114.3 ppm, C-5' bei 110.9 ppm und C-6' bei 122.5 ppm. Die verbleibenden Singulets entfallen auf C-1' (130.0 ppm) und die beiden sauerstoffs substituierten C-3' (149.1 ppm) und C-4' (151.4 ppm); dabei bewirkt die Methoxy-Substitution eine stärkere Tieffeld-Shift. Die *para*-Stellung der Methoxy-Gruppe wird zudem durch den auffällig hohen ppm-Wert von C-4' untermauert.

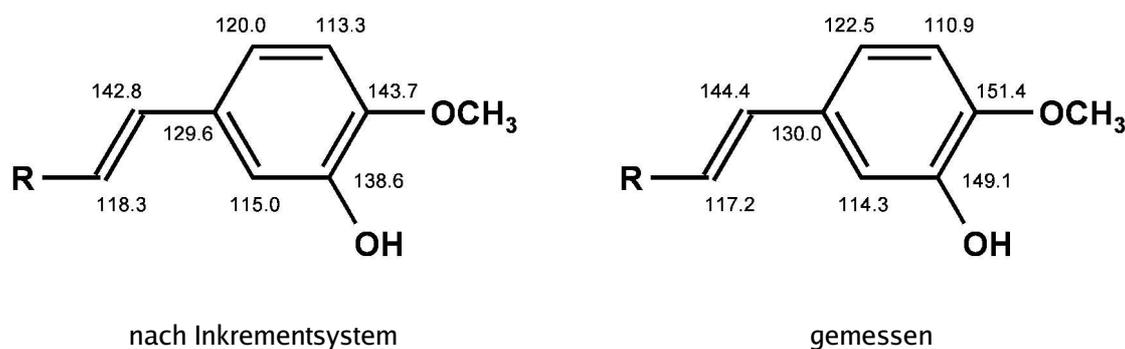


Abb. 57: ^{13}C -NMR-Werte der Acylkomponente von Verbindung **15**

Die Peaks des Tropan-Teils liegen allesamt im aliphatischen Bereich und werden analog zu den bisher erhaltenen Spektren zugeordnet: Die Triplets entfallen auf die Methylen-Gruppen, also 25.9 ppm auf C-6/C-7 und 34.7 ppm auf C-2/C-4. Das Dublett bei 60.5 ppm bezeichnet H-1 und H-5, das bei 65.8 ppm H-3. Das Quartett der N-Methyl-Gruppe liegt bei 37.7 ppm. Damit fällt das Signal bei 56.0 ppm der $\text{H}_3\text{C}-\text{O}$ -Gruppe zu.

2.2.4.2.2 Astrimalvine aus *Astripomoea malvacea* (KLOTZSCH) MEEUSE

Aus Uganda wurden dem Arbeitskreis von Dr. Bernardina Onegi Blätter und Wurzelrinde von *Astripomoea malvacea* zugesandt. Das Screening der Basen-Extrakte brachte mehrere Verbindungen zutage, bei denen es sich, da Dragendorff-positiv, allem Anschein nach um Alkaloide handelte. Anhand der Massenspektren aus dem GC-MS konnten viele jedoch keinen Referenzsubstanzen zugeordnet werden und auch nicht abschließend den Pyrrolizidin- oder Tropan-Alkaloiden zugeschrieben werden. Allerdings wies die Wurzelrinde eine mengenmäßig absolut dominierende Hauptverbindung auf, deren Isolierung sich förmlich anbot. Nach Erhalt weiterer Drogen wurden insgesamt 262 g Wurzelrinde der phytochemischen Untersuchung im Labor zugeführt, und die beiliegenden vier Samen zur Anzucht der Art im institutseigenen Gewächshaus verwendet. So gelang es, ein blühendes Exemplar von *Astripomoea malvacea* zur Verifizierung der Spezies und zur Anfertigung eines Herbarbelegs sowie photographischer Aufnahmen zu gewinnen.



Abb. 58: *Astripomoea malvacea* (KLOTZSCH) MEEUSE im instituteigenen Gewächshaus

Herkunft: Uganda, Zentralafrika

Beschreibung: Upland Kenya Wild Flowers (Verdcourt, 1974);

Flora Zambesiaca (Gonçalves, 1987);

Les Convolvulaceae dans la flore d'Afrique Centrale (Lejoly und Lisowski, 1993)

Die Gattung *Astripomoea* umfaßt etwa zwölf Spezies, deren Verbreitung auf Afrika beschränkt ist. Folgt man der Einteilung von Gonçalves (1987) bzw. Lejoly und Lisowski (1993), so handelt es sich bei der untersuchten Spezies vermutlich um *Astripomoea malvacea* (KLOTZSCH) MEEUSE var. *malvacea* VERDC., die außer in Uganda auch im trocknen und bewaldeten Grasland Kenias und in der Baumbuschsteppe Tansanias weit verbreitet ist, daneben in Zambia, Zimbabwe, Malawi, Mosambik, Zaire und Südafrika. *Astripomoea malvacea* ist ein sich über Gras und Büsche schlingendes, ausdauerndes Kraut, das als Savannenpflanze einen verholzenden Wurzelstock ausbildet, aus dem einige bis viele separate Sproßachsen austreiben. Diese leicht windenden Sproßachsen haben eine warzige

Oberfläche, die den Eindruck vermittelt, gepunktet zu sein, da sich die schwarzbraune Farbe der Warzen deutlich vom Grün des Untergrunds abhebt. Die einen cremeweißen Milchsaft führenden Pflanzen verströmen einen würzig-aromatischen Geruch. Ihre Blätter sind elliptisch bis breit eiförmig mit stumpfer Spitze und vor allem auf den Unterseiten mit Sternhaaren bedeckt. In der Blütezeit von Juni bis Oktober tragen sie auffällige altrosa Trichterblüten mit leichter Farbvertiefung im Schlund.

In ihrer Heimat wird *Astripomoea malvacea* volksmedizinisch genutzt.

In der *Acta Tropica* führt Haerdi (1964) zwei Anwendungsgebiete auf:

- „1. bei Ankylostomiasis (Hakenwurmkrankheit) Wurzelabsud trinken
2. Blätter und Wurzelabsud gegen eitrigen, verhärteten Abszeß trinken“

Es ist anzunehmen, daß der Therapieerfolg wohl wie bei der ebenfalls gegen Ankylostomiasis verwendeten *Operculina turpethum* auf Milchsaftbestandteile zurückzuführen ist, die – wie bei anderen Vertretern dieser Familie – vermutlich stark abführend wirken. Erstaunlicherweise wurden bei der Prüfung auf Alkaloide mit Mayers und Dragendorffs Reagenz negative Resultate erhalten (Haerdi, 1964). Diesem früheren Ergebnis kann durch die im Folgenden beschriebenen Isolierungen klar widersprochen werden.

Einen anderen Schwerpunkt setzt die Anwendung durch die Nyanja des Nyasalandes (Malawi): eine Infusion der Wurzeln von *Astripomoea malvacea* wird als lokal appliziertes Ophthalmikum genutzt; außerdem wird der Saft der Blätter und Blüten bei Entzündungen auf den Augapfel gegeben. Der zerkleinerte Wurzelstock wird zudem bei Schwellungen und Entzündungen in Form eines Breiumschlags verwendet. (Watt und Breyer-Brandwijk, 1962)

2.2.4.2.2.1 Astrimalvin A-N-oxid (16)

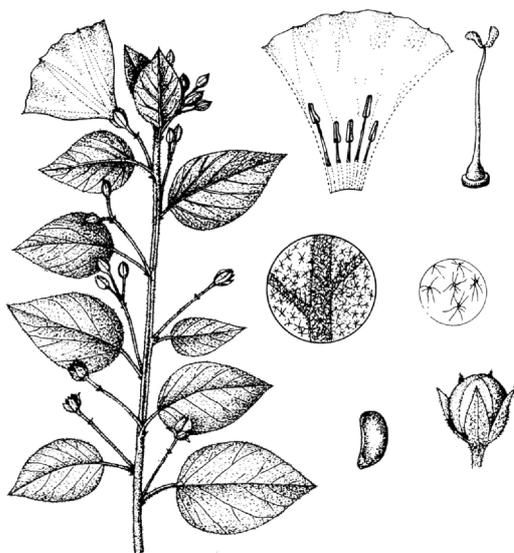


Abb. 59: wissenschaftliche Zeichnung von *Astripomoea malvacea* (nach Lejoly und Lisowski, 1993)

Die aus Uganda stammende getrocknete Wurzelrinde (262 g) von *Astripomoea malvacea* wurde fein gemahlen und dreimal mit Methanol, dann mit einer Mischung aus 2%iger wässriger Weinsäurelösung und Methanol extrahiert. Der Trockenrückstand des Auszugs wurde dem Trennungsgang (s. 2.1.1) unterzogen; hierbei wurden 78 mg Basen-Extrakt gewonnen. Dieser wurde mittels präparativer HPLC unter Verwendung eines Fließmittelmisches aus 0.5%iger wässriger Phosphorsäure und Methanol mit einem Gradienten von 75:25 nach 45:55 in 80 min aufgetrennt. Die nach 57 min aufgefangene Fraktion **13** bestand aus einer Dragendorff-positiven Substanz, die als Verbindung **16** der Strukturaufklärung zugeführt wurde.

Das EIMS zeigt – abweichend vom Fragmentierungsmuster im GC-MS – einen deutlichen Basispeak bei m/z 124, daneben weitere Zerfallsionen bei m/z 140, m/z 110, m/z 96, m/z 95, m/z 94, m/z 84, m/z 83 und m/z 82, was eher für einen 3-Tropanolester spricht als für ein Pyrrolizidin-Alkaloid. Auch die relative Intensität von m/z 140, der bei Tropanolen sehr viel stärker ausgeprägt ist als bei Pyrrolizidinen, weist in diese Richtung. Der Molpeak liegt bei m/z 323, weitere Fragmente bei m/z 309, m/z 294, m/z 240, m/z 224 und m/z 183. m/z 309 läßt das Vorliegen einer terminalen Methyl-Gruppe vermuten; m/z 294 dürfte durch Ethyl-Abspaltung entstehen.

Tab. 16: $^1\text{H-NMR}$ - und $^{13}\text{C-NMR}$ -Daten von Astrimalvin A-N-oxid und Astrimalvin B

Position	Astrimalvin A-N-oxid (16)				Astrimalvin B (17)			
	$^1\text{H-NMR}$ in CDCl_3		$^1\text{H-NMR}$ in MeOD		$^{13}\text{C-NMR}$ in MeOD	$^1\text{H-NMR}$ in MeOD		$^{13}\text{C-NMR}$ in MeOD
1	4.38	<i>br s</i>	4.14	<i>br s</i>	73.4	3.62	<i>br s</i>	63.2
2a	2.25	<i>m</i>	2.38	<i>m</i>	32.0	1.88	<i>br t</i> (12.2)	36.2
2e	2.03	<i>m</i>	2.14	<i>m</i>		2.11	<i>m</i>	
3	5.14	<i>m</i>	5.22	<i>m</i> („sept“)	64.0	5.10	<i>m</i> („sept“)	66.4
4a	2.25	<i>m</i>	2.38	<i>m</i>	32.0	1.88	<i>br t</i> (12.2)	36.2
4e	2.03	<i>m</i>	2.14	<i>m</i>		2.11	<i>m</i>	
5	4.38	<i>br s</i>	4.14	<i>br s</i>	73.4	3.62	<i>br s</i>	63.2
6x	2.25	<i>m</i>	2.38	<i>m</i>	24.6	2.23	<i>m</i>	26.1
6n	2.25	<i>m</i>	2.26	<i>d</i> (8.0)		1.93	<i>d</i> (8.0)	
7x	2.25	<i>m</i>	2.38	<i>m</i>	24.6	2.23	<i>m</i>	26.1
7n	2.25	<i>m</i>	2.26	<i>d</i> (8.0)		1.93	<i>d</i> (8.0)	
N-CH ₃	3.64	<i>s</i>	3.47	<i>s</i>	53.0	2.57	<i>s</i>	38.8
1'					174.6			176.2
2'	2.72	<i>quint</i> (7.0)	2.73	<i>quint</i> (7.0)	46.3	2.41	<i>quint</i> (7.2)	33.8
3'	5.11	<i>m</i>	5.08	<i>quint</i> (7.0)	73.0	3.86	<i>quint</i> (6.6)	70.3
CH ₃ -4'	1.26	<i>d</i> (7.0)	1.25	<i>d</i> (7.0)	17.5	1.15	<i>d</i> (6.4)	20.5
CH ₃ -5'	1.17	<i>d</i> (7.0)	1.17	<i>d</i> (7.0)	13.4	1.07	<i>d</i> (7.0)	13.5
1''					168.4			
2''					129.7			
3''	6.83	<i>q</i> (6.5)	6.84	<i>q</i> (6.5)	139.0			
CH ₃ -4''	1.79	<i>d</i> (6.5)	1.80	<i>br s</i>	12.1			
CH ₃ -5''	1.80	<i>br s</i>	1.80	<i>br s</i>	14.4			

Die ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Werte von Verbindung **16** sind in **Tab. 16** (linke Spalten) aufgeführt. Daß es sich um ein Tropan handelt, findet seine Bestätigung im H-H-COSY (in MeOD; **Abb. 60**), aus dem sich folgende Kopplungssequenz ableiten läßt: Ein unregelmäßiges Septett, wie es für H-3 der 3β -Tropanole charakteristisch ist, bei δ 5.22 koppelt mit zwei Multipletts bei δ 2.38 und δ 2.14, die den axialen und den äquatorialen Protonenpaaren an C-2 und C-4 entsprechen. Das äquatoriale Protonenpaar H-2e/H-4e bei δ 2.14 steht in Korrelation mit den Brückenkopf-Protonen H-1 und H-5 bei δ 4.14. Deren markantes breites Singulett wiederum koppelt mit dem Multiplett der *exo*-ständigen Protonen H-6x und H-7x der Ethylen-Brücke bei δ 2.38 und mit dem Dublett bei δ 2.26, das die für die *endo*-ständigen H-6n und H-7n typische Kopplungskonstante von 8.0 Hz zeigt. Die Protonen der Methylene-Gruppen an C-6 und C-7 koppeln auch untereinander. Das drei Wasserstoffen entsprechende Singulett bei δ 3.47 wird von der am Stickstoff befindlichen Methyl-Gruppe ausgebildet. Es ergibt sich das bicyclische Ringsystem der Tropane, das allem Anschein nach 3-monosubstituiert ist.

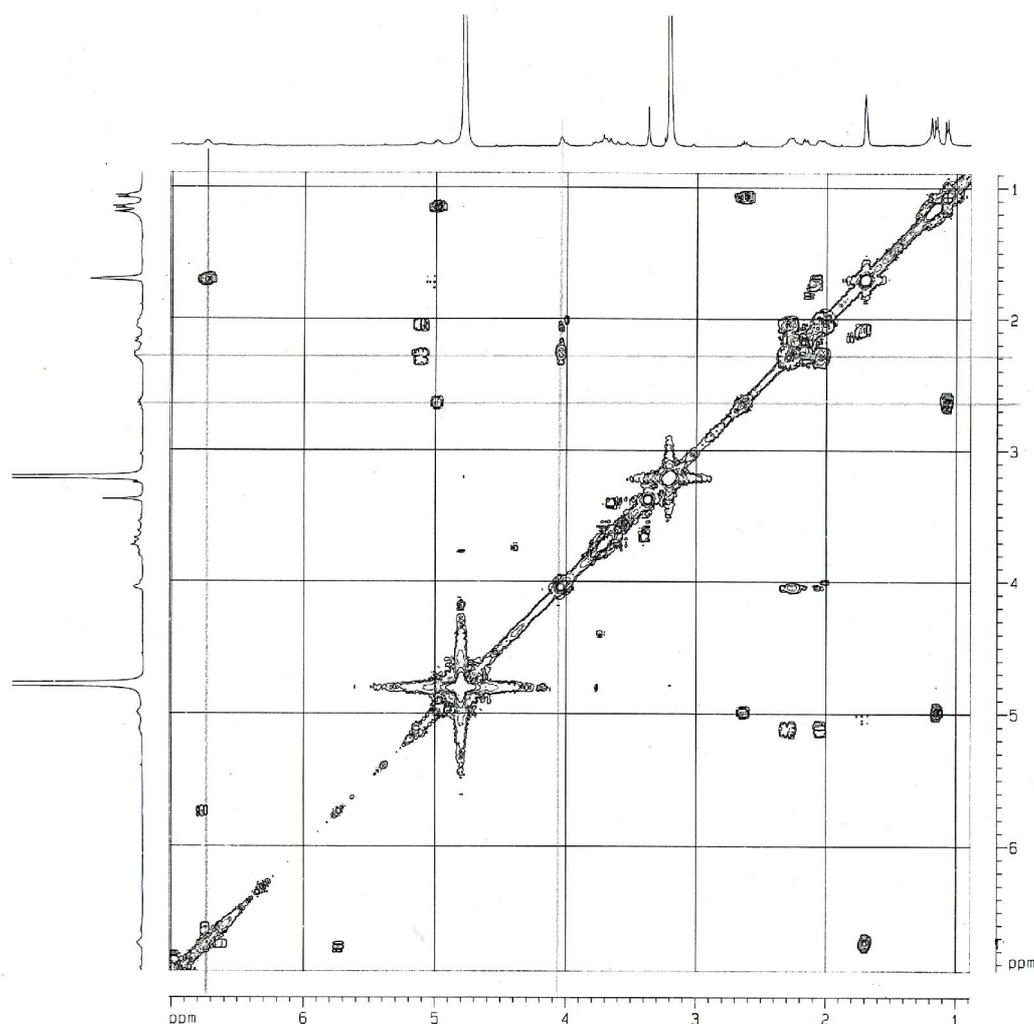


Abb. 60: H-H-COSY von Verbindung **16** (in MeOD)

Darüberhinaus kann folgende Sequenz aus dem H-H-COSY abgeleitet werden: Ein drei Protonen entsprechendes Dublett bei δ 1.17 koppelt mit einem Quintett gleicher Kopplungskonstante ($J = 7.0$ Hz) bei δ 2.73, das wiederum mit einem tieffeldverschobenen Quintett (ebenfalls $J = 7.0$ Hz) bei δ 5.08 in Korrelation steht. Dieses zeigt eine Kopplung zu einer weiteren Methyl-Gruppe in Form eines Dubletts bei δ 1.25 mit $J = 7.0$ Hz, dessen Intensität drei Protonen entspricht. Als weitere Partialstruktur können also zwei vicinale Methyl-Gruppen an zwei benachbarten Methin-Kohlenstoffen formuliert werden, von denen einer unter dem Einfluß eines Heteroatoms steht.

Es fällt zudem das zu einem Quartett aufgesplante Signal eines olefinischen Wasserstoffs bei δ 6.84 ins Auge, das mit dem entsprechend tieffeldverschobenen Signal einer Methyl-Gruppe bei δ 1.80 koppelt (in CDCl_3 : Dublett mit identischer Kopplungskonstante; in MeOD: breites Singulett). Seine chemische Verschiebung deutet auf das in β -Stellung zu einer Carbonyl-Gruppe befindliche Proton einer Doppelbindung hin (Rücker *et al.*, 1988).

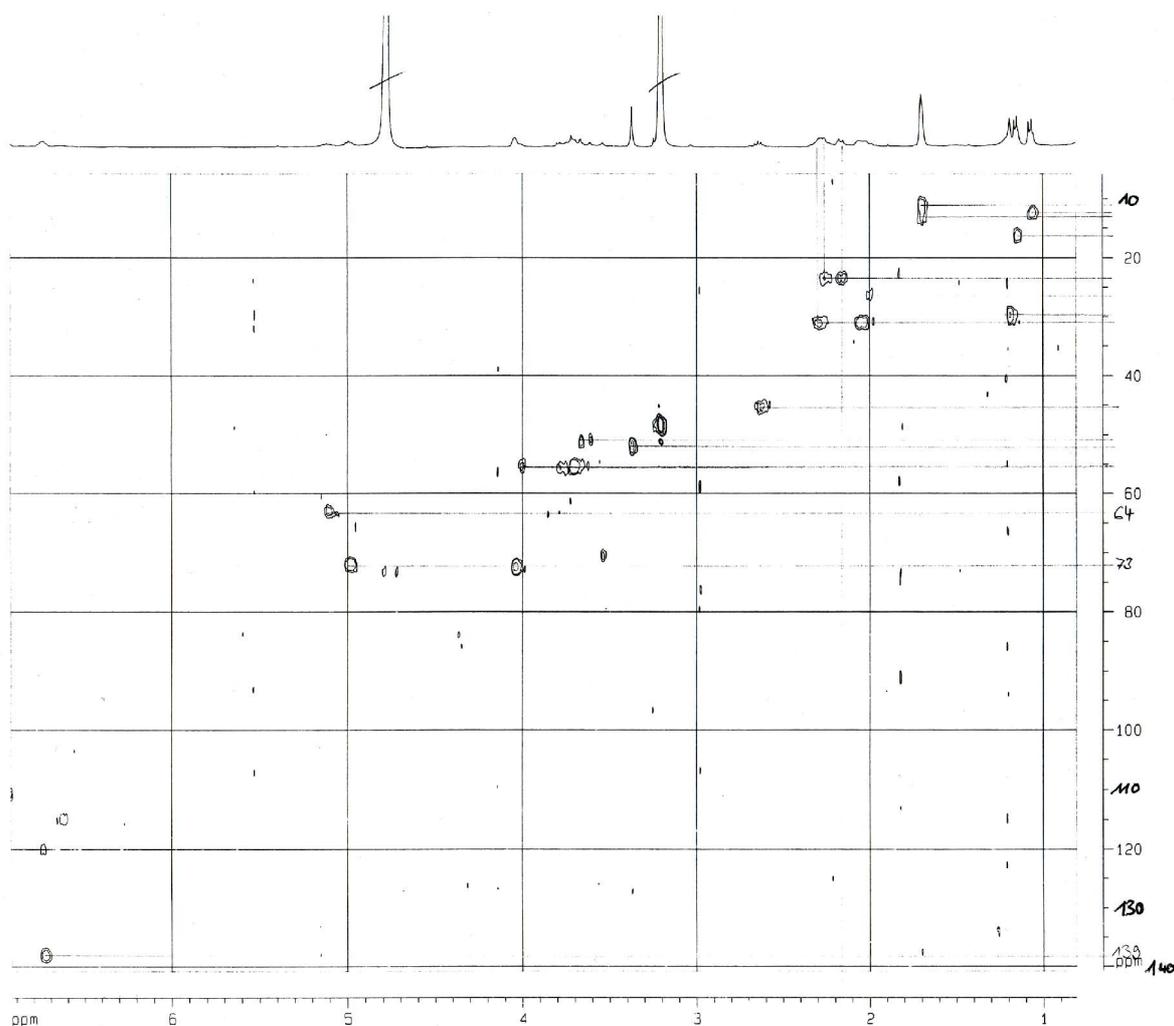


Abb. 61: C-H-COSY von Verbindung **16** (in MeOD)

Anhand des C-H-COSY können den protonierten Kohlenstoffatomen die ^{13}C -NMR-Werte zugeordnet werden. Das ^{13}C -NMR-Spektrum selbst zeigt drei weitere Signale – wie auch aus der Differenz zur im HRMS ermittelten Summenformel $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{NO}_4$ hervorgeht.

Auf den Tropan-Teil entfallen zwei Triplets für je zwei symmetrische Methylen-Gruppen bei 32.0 ppm (C-2/C-4) und 24.6 ppm (C-6/C-7), das durch die Nachbarschaft zum Stickstoff tieffeldverschobene Methin-Dublett der ebenfalls symmetrischen C-1 und C-5 bei 73.4 ppm, das durch den Einfluß des Sauerstoffs bei 64.0 ppm liegende Dublett des tertiären Kohlenstoffs C-3 und das Quartett der N-Methyl-Gruppe bei 53.0 ppm.

Die vermutete Doppelbindung wird durch das mit dem Quartett bei δ 6.84 im ^1H -NMR korrespondierende Signal im ^{13}C -NMR bei 139.0 ppm bestätigt, zusammen mit dem Singulett eines durchweg substituierten Kohlenstoffs im olefinischen Bereich bei 129.7 ppm. Hierzu gehören zwei Methyl-Quartetts bei 14.4 und 12.1 ppm, deren chemische Verschiebung im ^1H -NMR zu δ 1.80 dafür spricht, daß sie an ungesättigte Kohlenstoffatome angrenzen. Desweiteren finden sich ein Dublett im heteroaliphatischen Bereich bei 73.0 ppm, das mit dem Quintett bei δ 5.08 koppelt, und ein Dublett im aliphatischen Bereich bei 46.3 ppm mit Korrelation zu dem Quintett bei δ 2.73. Den anhängenden Methyl-Gruppen können die Quartetts bei 17.5 ppm und 13.4 ppm zugeordnet werden.

Es verbleiben zwei Singulets quartärer Kohlenstoffe bei 174.6 und 168.4 ppm. Ihre Lage im Spektrum läßt Carbonyl-Kohlenstoffe als Teil einer Ester-Funktion vermuten. In Zusammenhang mit der auf den Acyl-Rest entfallenden Summenformel von $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{O}_3$ aus dem HRMS werden zwei Acylkomponenten wahrscheinlich, d. h., daß an die mit dem Tropanol veresterte Säure eine weitere kurzkettige Säure angeestert ist. Die Zerfallsionen m/z 240 und m/z 224 aus dem EIMS weisen die Differenz von 16 Einheiten, also eines Sauerstoffs, auf. m/z 240 dürfte durch α -Spaltung an der Carbonylgruppe entstehen, m/z 224 durch zusätzliche Sauerstoffabspaltung. Die terminale Acyl-Komponente setzt sich aufgrund der Differenz zur relativen Molekülmasse ($323 - 240 = 83$) und nach Abzug der Carbonyl-Einheit ($83 - 28 = 55$) folglich aus weiteren vier C- und sieben H-Atomen zusammen.

Damit kommt als Substituent eine der ungesättigten C_5 -Säuren in Frage, also Seneciosäure, Angelikasäure oder Tiglinsäure. Anhand der von Logie *et al.* (1994) festgehaltenen signifikanten Unterschiede im ^1H -NMR können diese leicht differenziert werden. Während das olefinische Proton bei den Estern der Angelikasäure zwischen δ 6.0 und δ 6.2 liegt, findet sich das der Tiglinsäure-Ester zwischen δ 6.7 und δ 6.9. Im Fall der Verbindung **16** erscheint ein Quartett bei δ 6.84; auch die vergleichsweise kleine Kopplungskonstante von 6.5 Hz spricht für eine *cis*-Stellung der beiden Methylgruppen. Das Singulett des isolierten olefinischen Protons der Seneciosäure läge deutlich höher bei etwa δ 5.6. Ein weiteres Indiz für Tiglinsäure sind die sehr eng beieinanderliegenden Methyl-Gruppen mit einer chemischen Verschiebung um δ 1.8. Ebenso dafür spricht die Signalaufspaltung im ^1H -NMR (in CDCl_3), also ein mit dem Dublett einer Methylgruppe koppelndes Quartett und eine isolierte Methyl-Gruppe in Form eines Singulets.

Für die zweite Acylkomponente verbleiben fünf C-Atome, acht H-Atome und zwei O-Atome. Auch hier muß es sich um eine C₅-Säure handeln, in diesem Fall jedoch gesättigt und Sauerstoff-substituiert. Anhand der aus H-H-COSY und C-H-COSY ermittelten Daten ergibt sich folgende Kopplungssequenz:

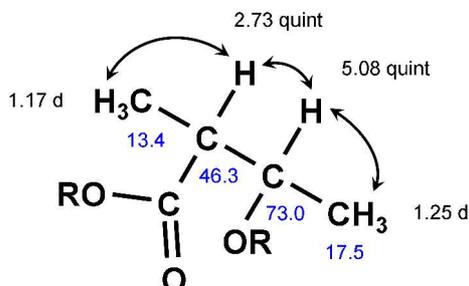


Abb. 62: aus den Kernresonanzspektren ermittelte Strukturdaten und Kopplungssequenz der zweiten Acylkomponente von Verbindung **16**

Anhand des HMBC können den zwei Estercarbonyl-Signalen die entsprechenden ¹³C-NMR-Werte zugeordnet werden: Die Carbonyl-Gruppe der Tiglinsäure erscheint bei 168.4 ppm und koppelt mit dem breiten Singulett der Methylgruppen bei δ 1.80, das seinerseits mit beiden olefinischen Kohlenstoffen bei 139.0 ppm und 129.7 ppm korreliert. Das Signal der anderen Carbonyl-Gruppe bei 174.6 ppm zeigt eine Korrelation mit dem Quintett des singulären aliphatischen Protons bei δ 2.73 und eine mit den Protonen der benachbarten Methyl-Gruppe mit δ 1.17. Diese beiden Signale wiederum koppeln mit dem durch den Einfluß des Sauerstoffs tieffeldverschobenen Methin-Kohlenstoff bei 73.0 ppm, der außerdem mit den Protonen der leicht tieffeldverschobenen Methyl-Gruppe bei δ 1.25 in Verbindung steht. Damit ist der Sauerstoff an den zur Carbonyl-Funktion β -ständigen Kohlenstoff gebunden; es handelt sich bei der zweiten Acylkomponente also um die 3-Hydroxy-2-methylbuttersäure. Deren relative Konfiguration kann unter Einbeziehung der Arbeit von Greiner und Ortholand (1992) anhand der Lage der Methyl-Gruppen im ¹H-NMR bestimmt werden. Bei der *threo*-Form nämlich liegen beide Signale nahe zusammen (δ 1.20 und δ 1.29), während sie bei der *erythro*-Form eine weitaus größere Distanz aufweisen (δ 1.43 und δ 1.15). Im Falle der Verbindung **16** befinden sie sich mit δ 1.25 bzw. δ 1.26 und δ 1.17 eng beieinander und lassen auf eine *threo*-Konfiguration schließen. Insbesondere die Verknüpfung der Tiglinsäure mit der Hydroxygruppe der 3-Hydroxy-2-methyl-buttersäure findet im HMBC Bestätigung: Das zum Sauerstoff geminale Proton bei δ 5.08 steht in Korrelation mit der Carbonyl-Funktion der Tiglinsäure bei 168.4 ppm.

Abschließend fällt eine Tieffeldverschiebung der Protonen an C-1/C-5 und C-2/C-4 und der N-CH₃-Gruppe und zugleich der an den Stickstoff angrenzenden Kohlenstoffe auf, was auf eine Abweichung von der Dialkylmethylamin-Struktur am Tropan hinweist.

Den Verdacht, daß es sich auch bei Verbindung **16** um ein N-Oxid handelt, bestätigt das (+)-FABMS; das Fragment [M+H]⁺ findet sich nicht bei m/z 324, sondern bei m/z 340. Es ist also in der Tat ein zusätzliches Sauerstoff-Atom vorhanden.

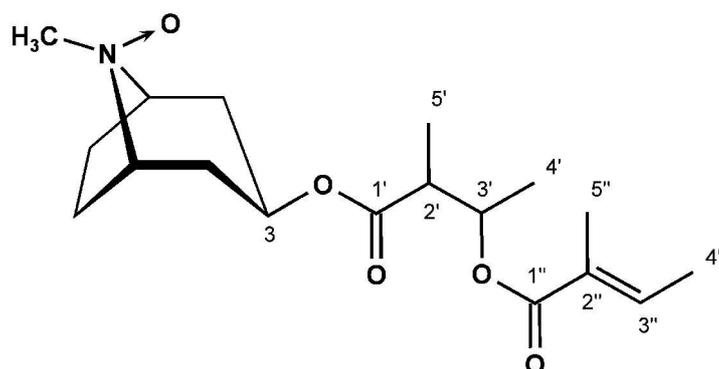


Abb. 63: Astrimalvin A-N-oxid (**16**)

Damit konnte Verbindung **16** als 3β -(*threo*-3'-Tigloyloxy-2'-methylbutyryloxy)tropan-N-oxid strukturaufgeklärt werden. Für diesen mit seinen zwei untereinander verknüpften Acylkomponenten einzigartigen Tropanolester wird der Trivialname **Astrimalvin A-N-oxid** vorgeschlagen.

2.2.4.2.2.2 Astrimalvin B (**17**)

Da es sich bei der aus dem Basen-Extrakt der Wurzelrinde von *Astripomoea malvacea* isolierten Verbindung **16** um ein N-Oxid gehandelt hatte, wurde die verbliebene Wasserphase aufgearbeitet, um eventuell weitere dieser aufgrund des zusätzlichen Sauerstoffatoms hydrophileren Substanzen zu gewinnen. Hierzu wurde die dem Trennungsgang unterzogene, nun ammoniakalische Wasserphase zur Trockne eingedampft. 25.6 g braune Paste wurden mit destilliertem Wasser, Salzsäure und Zinkpulver versetzt und der Ansatz über Nacht gerührt. Nach der Reduktion wurde das Filtrat alkalisiert, und die basischen Bestandteile mit Dichlormethan ausgeschüttelt. Zur Abtrennung der mitgeführten Cumarine wurde eine Reinigung an einer SCX-Kartusche vorgenommen. Die Basen wurden nun über präparative Dünnschichtchromatographie mit dem Fließmittelgemisch $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_3$ konz. (40:10:1) aufgetrennt. (s. 5.4.4.3.2) Zwei Dragendorff-positive Fraktionen wurden der Strukturaufklärung zugeführt, wobei Substanzbande **B** als 3β -Tropanol verifiziert wurde (s. 2.2.4.1.3). Substanzbande **A** ließ sich wie folgt identifizieren.

Betrachtet man das Zerfallsmuster im EIMS, erschließt sich schnell die vorliegende Stoffgruppe. Der Basispeak bei m/z 124 und weitere spezifische Zerfallsionen bei m/z 140, m/z 110, m/z 96, m/z 95, m/z 94, m/z 83 und m/z 82 lassen hinter Verbindung **17** einen 3-monosubstituierten Tropanolester vermuten. Fünf dieser Fragmente können durch die hochauflösende Massenspektrometrie in ihrer molekularen Zusammensetzung bestätigt werden. Diese weist außerdem $\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{NO}_3$ als Summenformel für den Molpeak bei m/z 241 aus. Ebenfalls durch die Hochauflösung untermauert werden die Massenfragmente m/z 226 nach Verlust einer Methyl-Gruppe und m/z 224 nach Abspaltung einer freien Hydroxy-Gruppe.

Das ^1H -NMR-Spektrum (s. **Tab. 16**, rechte Spalten) bekräftigt den Verdacht auf einen 3-Tropanolester und weist diesen durch das unregelmäßige Septett bei δ 5.10 als Vertreter der 3β -Reihe aus. Durch ihre Kopplungssequenz im H-H-COSY können die einzelnen Signale den entsprechenden Protonen des Tropan-Grundkörpers zugeschrieben werden.

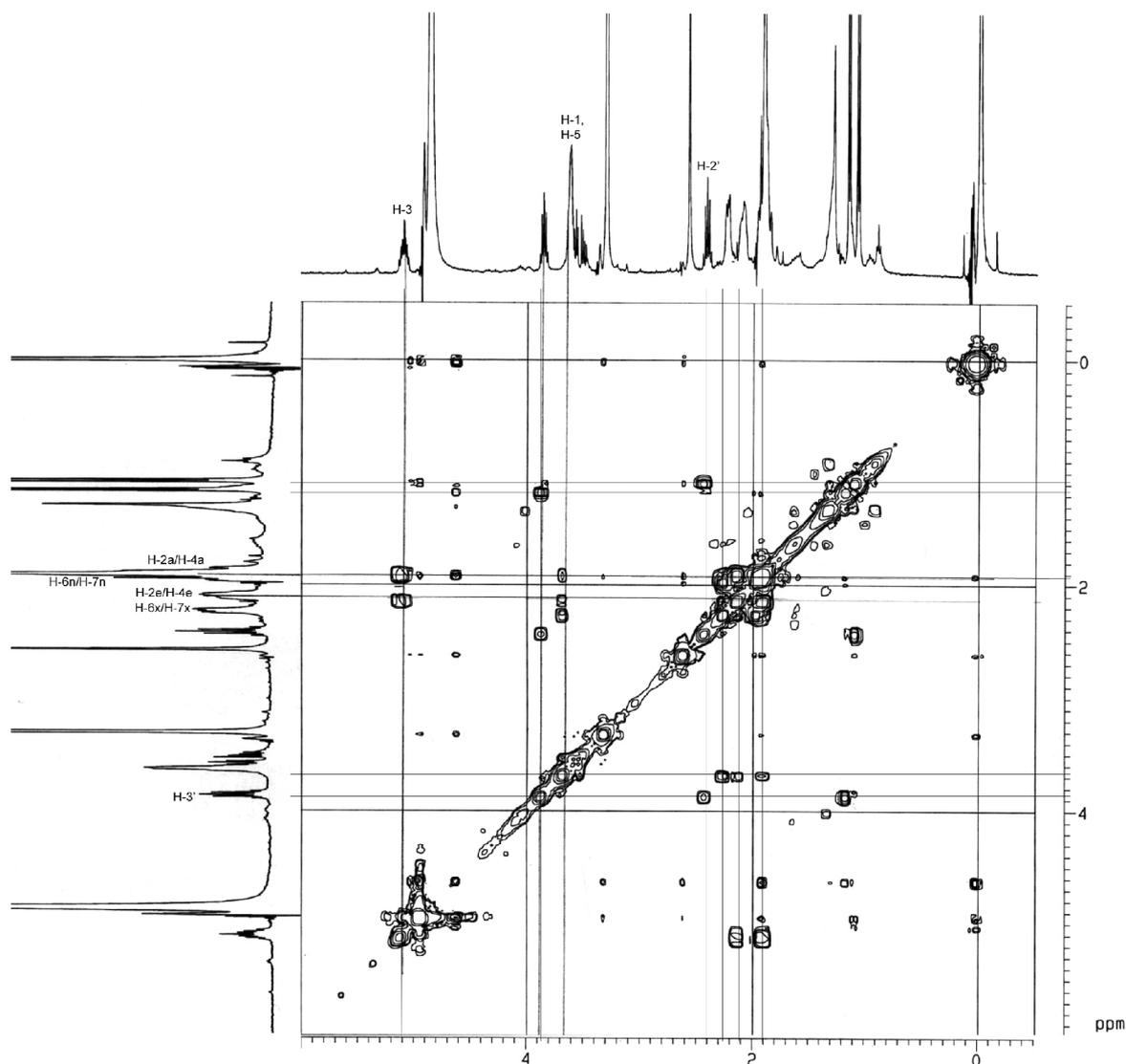


Abb. 64: H-H-COSY von Verbindung **17** (in MeOD)

Ausgehend vom markanten Signal des H-3 bei δ 5.10 können Korrelationen zu einem Multipllett bei δ 2.11 und zu einem breiten Tripletts bei δ 1.88, die auch untereinander koppeln, beobachtet werden. Erfahrungsgemäß prägen die axialen Protonen an C-2 und C-4 ein auf der Multiplizität eines Tripletts basierendes Signal aus. H-2a und H-4a bilden

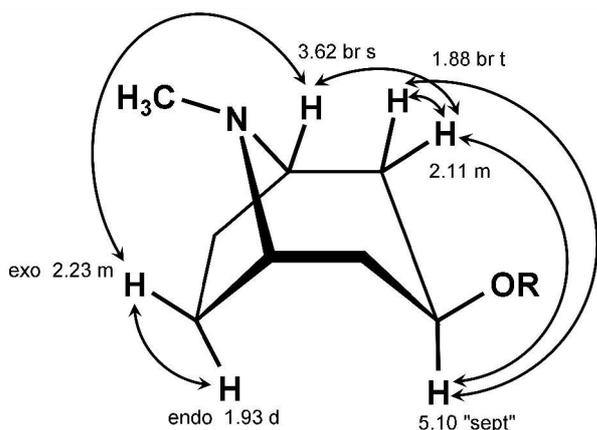


Abb. 65: Kopplungssequenz des Tropan-Teils von Verbindung **17** im H-H-COSY

also das breite Triplett bei δ 1.88, H-2e und H-4e das Multiplett bei δ 2.11. Beide Signale zeigen eine Kopplung mit dem typischen breiten Singulett der dem Stickstoff benachbarten H-1 und H-5 bei δ 3.62, das wiederum mit den *exo*-ständigen Protonen an C-6 und C-7 in Form eines Multipletts koppelt. Deren Identität wird durch die Kopplung zum charakteristischen Dublett mit $J = 8.0$ Hz der *endo*-ständigen H-6n und H-7n bekräftigt.

Eine weitere Kopplungssequenz im H-H-COSY ergibt sich ausgehend von den beiden Methylgruppen-Dubletts bei δ 1.15 und δ 1.07:

Die Methyl-Gruppe bei δ 1.07 koppelt mit dem Quintett bei δ 2.41, jedoch nicht mit dem bei δ 3.86; die Methyl-Gruppe bei δ 1.15 koppelt mit dem Quintett bei δ 3.86, nicht aber mit dem bei δ 2.41.

Allerdings weisen die beiden Quintetts eine Korrelation zueinander auf. Die Tieffeldverschiebung des Quintetts bei δ 3.86 deutet auf die Nachbarschaft zu einem Heteroatom hin. Bei diesem handelt es sich aller Wahrscheinlichkeit nach um die im EIMS beobachtete freie Hydroxylgruppe. Daß sie sich am gleichen C-Atom befindet wie die terminale Methyl-Gruppe und nicht der Carbonyl-Funktion benachbart ist, beweisen folgende Zerfallsionen im EIMS:

m/z 197 entsteht durch intramolekulare McLafferty-Umlagerung unter Bildung eines sechsgliedrigen Übergangszustandes und Wanderung des Hydroxyl-Protons an die Carbonyl-Gruppe; es kommt zur Abspaltung von Acetaldehyd. Die gleiche Bindung wird auch ohne McLafferty-Umlagerung gespalten, was zum Abgang einer Hydroxyethyl-Gruppe und damit zu m/z 196 und m/z 45 führt.

Anders als bei Verbindung **16** (Astrimalvin A-N-oxid) ist die 3-Hydroxy-2-methylbuttersäure bei Verbindung **17** unverestert. Die Lage der Methylgruppen-Dubletts im $^1\text{H-NMR}$ läßt auch hier auf eine *threo*-Konfiguration schließen (s. 2.2.4.2.2.1 und Greiner und Ortholand, 1992). Unterstützt wird dies zudem durch die Arbeit von Maskens und Polgar (1973): Dieser zufolge weist die Signalaufspaltung im $^1\text{H-NMR}$ von H-2 und H-3 der Hydroxymethylbuttersäure zu Quintetts klar auf eine *threo*-Orientierung der Substituenten hin; bei *erythro*-Stellung von H-2 und H-3 wird ein Quartett oder ein Dublett-Quartett ausgebildet. Die Differenz der chemischen Verschiebungen von H-2' und H-3' der Verbindung **17** spricht mit $\Delta\delta$ 1.45 ebenfalls für eine *threo*-Konfiguration.

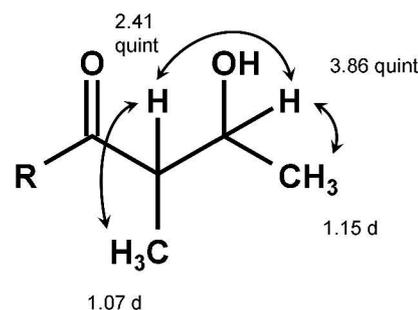


Abb. 66:

Kopplungssequenz der Acylkomponente von Verbindung **17** im H-H-COSY

Es handelt sich bei Verbindung **17** also um das 3 β -(*threo*-3'-Hydroxy-2'-methylbutyryloxy)tropan, das den Trivialnamen **Astrimalvin B** erhielt.

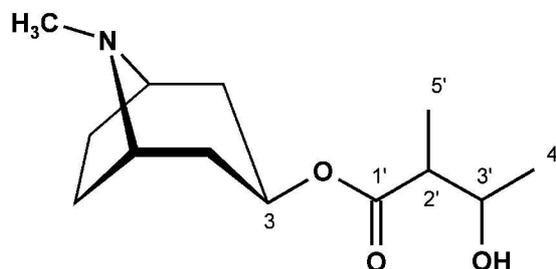


Abb. 67: Astrimalvin B (**17**)

Das ^{13}C -NMR bestärkt durch Art und Lage der Signale die vermutete Strukturformel von Verbindung **17**. Sehr einfach lassen sich den beiden im 135 DEPT nach unten gekehrten Triplets die Kohlenstoffe C-2 und C-4 (36.2 ppm) und C-6 und C-7 (26.1 ppm) des Tropan-Rings zuordnen. Das dazwischenliegende Dublett (33.8 ppm) kann dem C-2' der Hydroxymethylbuttersäure zugeschrieben werden. Im heteroaliphatischen Bereich findet sich bei 63.2 ppm das gemeinsame Dublett von C-1 und C-5 und bei 66.4 ppm das von C-3. Etwas tiefer bei 70.3 ppm angesiedelt ist das Dublett von C-3', das unter dem Einfluß der freien Hydroxygruppe steht. Am weitesten ins Tieffeld verschoben ist der Carbonyl-Kohlenstoff der Ester-Gruppierung mit 176.2 ppm. Hinzu kommen drei Methyl-Quartetts, wobei das tiefstgelegene bei 38.8 ppm von der N-Methyl-Gruppe ausgebildet wird. Erfahrungsgemäß liegt die der Hydroxy-Gruppe benachbarte Methyl-Gruppe CH_3 -4' etwas tiefer (20.5 ppm) als die an C-2' angrenzende CH_3 -5' (13.5 ppm).

Die Strukturdaten in den Kernresonanzspektren sprechen deutlich dagegen, daß es sich hier um ein N-Oxid handelt, was nach erfolgter Reduktion der Wasserphase mit Zink/HCl auch unwahrscheinlich wäre. Trotzdem wurde zur Absicherung ein (+)-FABMS aufgenommen. Dieses bestätigt die Molmasse $[\text{M}]^+$ 241 unzweideutig durch die Fragmentionen $[\text{M}+\text{H}]^+$ 242 und $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 264. Freilich spricht die Tatsache, daß Verbindung **17** im Trennungsgang nicht mit Dichlormethan aus der basischen Wasserphase ausgeschüttelt werden kann, dies nach Reduktion mit Zink/HCl allerdings gelingt, eindeutig dafür, daß **Astrimalvin B** **genuin als N-Oxid** vorliegt.

Vergleicht man die ^1H -NMR-Werte der beiden aus *Astripomoea malvacea* isolierten Verbindungen **16** und **17**, fällt die enorme Tieffeldshift des Signals der axialen Protonen H-2a und H-4a beim Astrimalvin A-N-oxid (δ 2.38 versus δ 1.88) ins Auge.

Die Lage des Signals der äquatorialen H-2e und H-4e hingegen wird kaum beeinflusst: Beim Astrimalvin A-N-oxid findet sich das entsprechende Multiplett bei δ 2.14, beim Astrimalvin B bei δ 2.11. Für Astrimalvin A-N-oxid kann dies als Hinweis auf die räumliche Nähe von H-2a und H-4a zum N-Oxid-Sauerstoff gedeutet werden, der sich damit in axialer Stellung befindet. Die N-Methylgruppe verbleibt also beim N-Oxid in äquatorialer Position (s. a. Exkurs zu 3.3 und 3.4).

2.2.4.2.3 3-Tropanolester aus *Convolvulus sabatius* Viv.

Abb. 68:

Convolvulus sabatius Viv.

Herkunft: Mittelmeerraum

Beschreibung:

Contributions à la connaissance de la flore du Maroc II (Murbeck, 1923);
Flora Europaea (Stace, 1972)



Convolvulus sabatius Viv. ist eine büschelartig wachsende, perennierende Pflanze mit verholzendem Strunk, von dem zahlreiche liegende sowie hochwachsende Sprossachsen ausgehen. Die behaarten Blätter sind langgezogen elliptisch mit abgerundeten Enden, die Trichterblüten blauviolett mit weißen Staubgefäßen. Diese *Convolvulus*-Art bevorzugt trockene, kalkreiche Felsen und ist endemisch an den Küsten Nordwest-Italiens und Siziliens; ursprünglich stammt sie aus dem Nordwesten Afrikas, namentlich Marokko und Algerien (Stace, 1972). Das Verbreitungsgebiet wurde von Hansen (1980) um die Ionischen Inseln und Korfu, und damit Griechenland, erweitert. Die Ansiedlung dieser Spezies in den Küstenregionen ist auffällig und könnte auf eine Streuung der Samen durch Treiben über das Mittelmeer hinweisen, vergleichbar der Ozeanüberquerung der Samen anderer Convolvulaceae wie etwa *Merremia discoidesperma* (Gunn, 1977).

Convolvulus sabatius Viv. umfaßt die beiden Unterarten ssp. *mauritanicus* (BOISS.) MURB. und ssp. *sabatius*. Die Abgrenzung der Subspezies *mauritanicus* durch Murbeck in den *Contributions à la flore du Maroc* (1923) erfolgt anhand ihrer auffallend langen Flaumhaare, der dünneren und an der Basis abgestumpfteren Blätter und der weicheren Kelchblätter, die zudem etwas verlängert sind. Um welche dieser beiden Unterarten es sich bei den im Gartencenter Pluta erworbenen Individuen handelte, ließ sich nicht abschließend klären. Daher wird die im Rahmen dieser Arbeit untersuchte Art im Folgenden lediglich mit *Convolvulus sabatius* Viv. bezeichnet. Als sog. *Blaue Mauritius* ist sie nicht nur hier in Europa, sondern auch im asiatischen Raum eine beliebte Zierpflanze.

Die Untersuchung der Wurzeln von *Convolvulus sabatius* Viv. ssp. *mauritanicus* (BOISS.) MURB. ergab zwei Dragendorff-positive Substanzen (Mann, 1997), von denen eine als Merresectin B (Weigl, 1992) identifiziert werden konnte. Die andere wurde als Consabatin neu beschrieben und beinhaltet – wie auch das aus den Wurzeln von *Convolvulus siculus*

isolierte Consiculin (Jenett-Siems *et al.*, 1998c) – eine cyclohexenylhaltige Acylkomponente. Am aliphatischen Kohlenstoff in Position 1 des Acylteils befindet sich zudem eine Hydroxygruppe, wodurch ein Asymmetriezentrum ausgebildet wird.

Durch Isolierung einer entsprechend großen Substanzmenge sollten weitere Analysen zur Ermittlung der absoluten Konfiguration von Consabatatin ermöglicht werden. Außerdem war von Interesse, ob weitere Tropan-Alkaloide mit der Nervogensäure verwandten Acylkomponenten auftreten.

Aus Gründen der Einheitlichkeit werden ausgehend vom Consabatatin auch die darauffolgenden Merresectine so beziffert, daß sich die Isoprenyl-Seitenkette stets in Position 3' befindet und der Rest in Position 5' variiert.

2.2.4.2.3.1 Consabatatin (18)

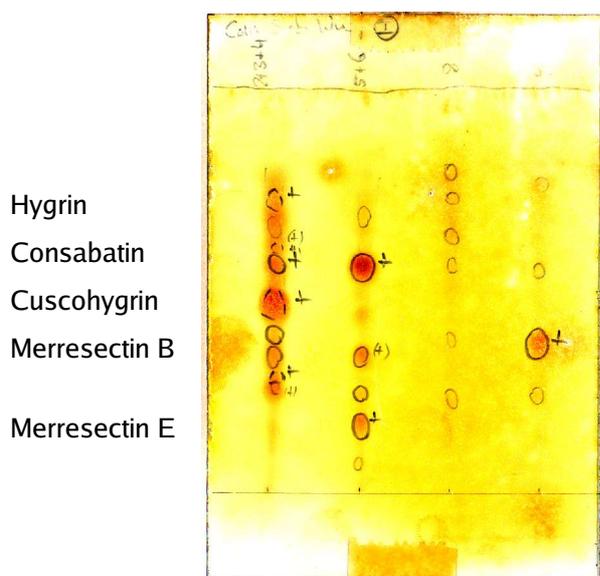


Abb. 69: DC der HPLC-Fractionen

Zur Isolierung des Consabatatin standen 1.8 kg getrocknete Wurzeln von *Convolvulus sabatius* aus dem Freilandanbau im Botanischen Garten der FU Berlin zur Verfügung. Die gemahlene Droge wurde mit Methanol extrahiert, und der Trockenrückstand dem Trennungsgang unterzogen (s. 2.1). Aus der alkalisierten Wasserphase konnten mit Dichlormethan 460 mg Rohbase gewonnen werden. Diese wurden mithilfe der präparativen HPLC fraktioniert. Der das Consabatatin enthaltende Doppelpeak 5+6 wurde der präparativen DC zugeführt.

Eine Auftrennung des Gemisches wurde durch Einsatz des Fließmittels $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_3$ konz. (80:20:2; V/V/V) erzielt. (s. 5.4.4.4.1) Zone A bei einem R_f von 0.45 konnte wie folgt als Consabatatin identifiziert werden.

Daß es sich bei der isolierten Verbindung um einen 3-Tropanolester handeln muß, wird aus dem EIMS klar ersichtlich. Neben dem markanten Basispeak bei m/z 124 finden sich die üblichen Fragmente bei m/z 140, m/z 97, m/z 96, m/z 95, m/z 94, m/z 83 und m/z 82. Hinzu kommen der Molpeak mit $[\text{M}]^+$ 347 und weitere Signale bei m/z 330 (Abspaltung einer Hydroxy-Gruppe) und m/z 223 (Pendant zu m/z 124).

Erste Informationen über die Struktur des Acylrestes können dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum entnommen werden. Es finden sich die charakteristischen Signale des Tropan-Teils, nämlich das breite Singulett von H-1 und H-5 bei δ 3.14, das drei Wasserstoff-Atomen entsprechende Singulett der N-Methylgruppe bei δ 2.30 und das Dublett der *endo*-ständigen

H-6n und H-7n mit der typischen Kopplungskonstante von 8.1 Hz bei δ 1.70. Die *exo*-ständigen H-6x und H-7x erscheinen als Multipllett bei δ 2.02, und die Protonen in den Positionen 2 und 4 bilden zwei Multipletts bei δ 2.20 und δ 1.72 aus. An der Stelle des Signals für das dem Sauerstoff geminale H-3 erscheint in deuteriertem Chloroform ein breites Tripllett, das zwei Protonen entspricht. Durch Aufnahme des ^1H -NMR-Spektrums in Aceton- D_6 kann es in zwei einzelne Tripletts aufgetrennt werden, wobei das einfache Tripllett bei δ 5.02 mit einer Kopplungskonstante von 5.1 Hz Verbindung **18** eindeutig als 3α -Tropanolester ausweist. Das andere bei δ 5.15 ist weiter aufgespalten zum Tripllett-Tripllett mit $J = 1.4$ Hz und $J = 7.4$ Hz. Letztere Kopplungskonstante findet sich in dem breiten Dublett bei δ 2.96 wieder, das der zwischen zwei Doppelbindungen befindlichen Methylen-Gruppe $\text{CH}_2\text{-1''}$ zugeordnet werden kann. Das Tripllett-Tripllett wird also von H-2'' ausgebildet. Die beiden Methyl-Gruppen der Isoprenyl-Seitenkette treten als Singulett bei δ 1.73 ($\text{CH}_3\text{-4''}$) und δ 1.60 ($\text{CH}_3\text{-5''}$) auf. Markant, da am weitesten im Tieffeld liegend, ist außerdem das Singulett des an der Doppelbindung des Cyclohexens befindlichen H-2' bei δ 6.40.

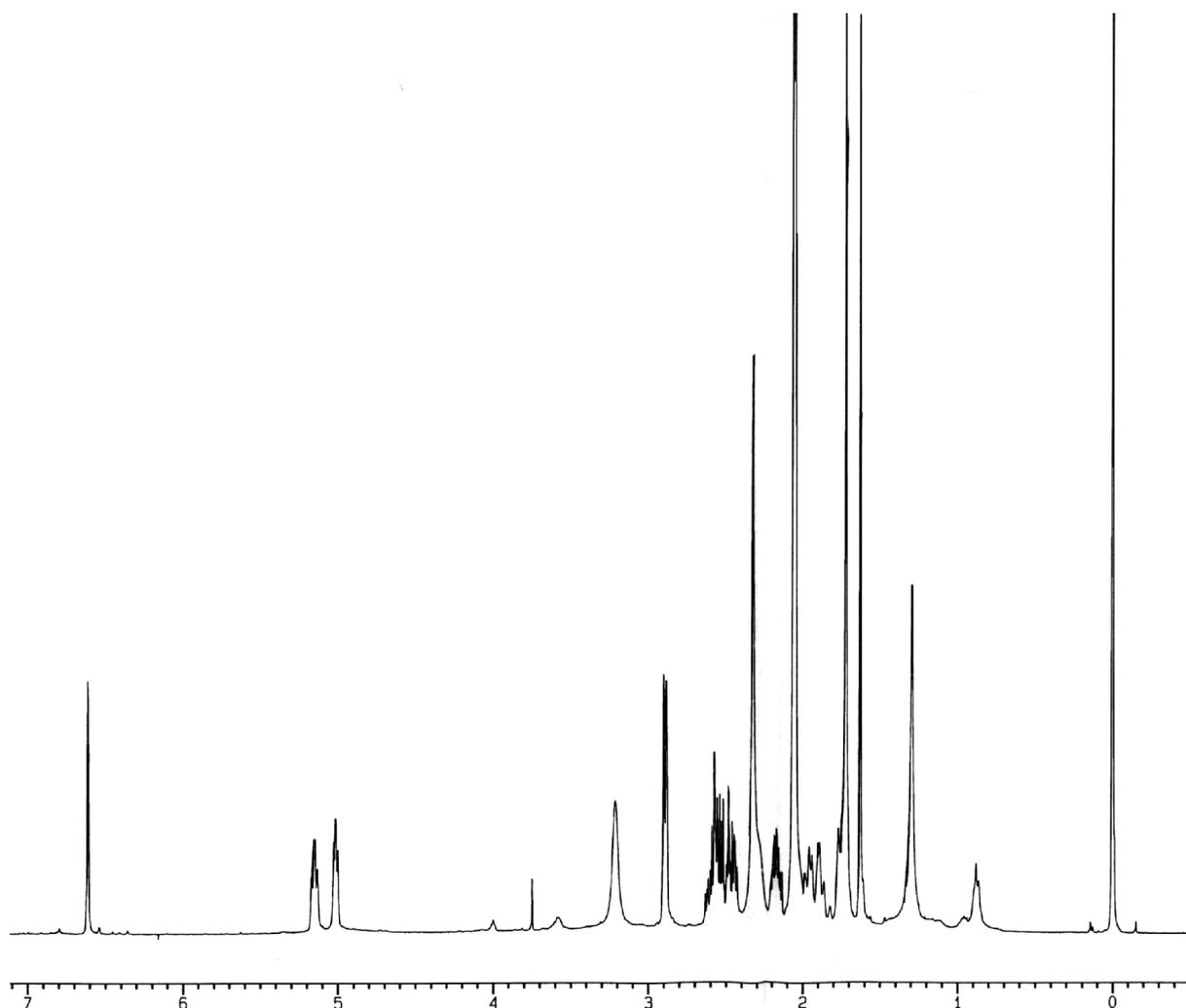


Abb. 70: ^1H -NMR-Spektrum von Verbindung **18** (in CDCl_3)

Es verbleiben mehrere Signale im aliphatischen Bereich, von denen vier den Methylen-Protonen der gesättigten Ringkohlenstoffe zugeordnet werden können: Die tieffeldverschobenen Dublett-Dublett-Dubletts bei δ 2.74 und δ 2.62 mit einer auffälligen geminalen Kopplungskonstante von 17.1 Hz entfallen auf die beiden der Carbonylgruppe benachbarten Protonen an C-5'. Das Triplett-Triplett bei δ 2.37 wird von dem einem der beiden Protonen an C-6' ausgebildet, während sich das Dublett-Triplett des anderen H-6' bei δ 2.24 mit dem Multiplett der axialen H-2a und H-4a bei δ 2.20 überschneidet.

Zur endgültigen Absicherung der Molekülstruktur wurde ein ^{13}C -NMR-Spektrum erstellt. Am weitesten im Tieffeld bei 197.7 ppm und 173.8 ppm liegen die Singulets der beiden Carbonylgruppen, wobei die chemischen Verschiebungen zum einen auf ein α,β -ungesättigtes Keton und zum anderen auf eine Ester-carboxyl-Funktion hinweisen. Im aromatischen Bereich finden sich zwei Singulets bei 140.8 und 134.8 ppm und zwei Dubletts bei 141.0 und 119.7 ppm, von denen je eins auf die beiden Doppelbindungen entfällt. Das Singulett bei 72.0 ppm und das Dublett bei 70.4 ppm sind den beiden sauerstoffs-substituierten Kohlenstoffen C-3 (*d*) und C-1' (*s*) zuzurechnen. Ebenso im heteroaliphatischen Bereich befinden sich die über den Stickstoff verbundenen C-1 und C-5, die zu dem Dublett bei 59.9 ppm zusammenfallen; die N-Methylgruppe prägt ein Quartett bei 40.2 ppm aus. Die Methyl-Gruppen des Isoprenyl-Restes liegen aufgrund ihrer Nachbarschaft zur Doppelbindung bei 25.8 und 17.7 ppm. Es verbleiben sieben Triplets, die anhand von Vergleichsdaten (Jenett-Siems *et al.*, 1998c) zugeordnet werden können: Auf die Methylen-Gruppen des Tropanrings entfallen die Signale bei 36.3 ppm (C-4), 36.2 ppm (C-2), 25.4 ppm (C-7) und 25.3 ppm (C-6). Die Peaks der Methylen-Gruppen des Cyclohexen-Ringes liegen bei 34.1 ppm (C-5') und bei 34.0 ppm, und der Peak der Methylen-Gruppe C-1'' der Isoprenyl-Seitenkette bei 27.4 ppm.

Es konnte somit zweifelsfrei gezeigt werden, daß es sich bei der erhaltenen Verbindung **18** um das von Mann (1997) aus den Wurzeln von *Convolvulus sabatius* ssp. *mauritanicus* isolierte **Consabatin** handelt. Anhand von NOE-Messungen in DMSO konnte sie zeigen, daß die tertiäre OH-Gruppe an C-1' β -ständig sein muß.

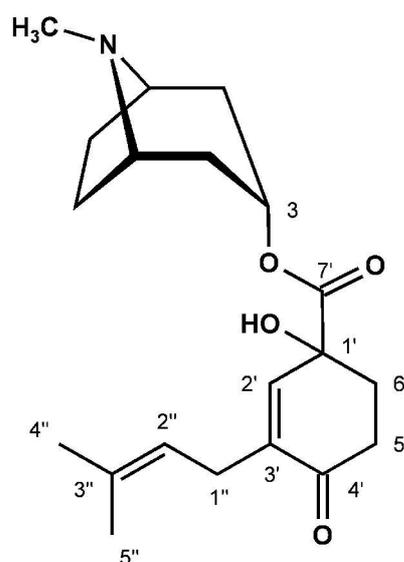


Abb. 71: Consabatin (**18**)

2.2.4.2.3.1.1 Synthese der Mosher-Ester zur Bestimmung der absoluten Konfiguration des Consabatin

Es sollte nun im nächsten Schritt die absolute Konfiguration des Chiralitätszentrums an C-1' des Consabatins (**18**) geklärt werden, also ob die angeesterte 1 β -Hydroxy-3-prenyl-cyclohex-2-en-4-on-carbonsäure in der *S*- oder in der *R*-Konfiguration vorliegt. Da die vorbereitenden Auskristallisierungsversuche für die Röntgenstrukturanalyse nicht von Erfolg gekrönt waren, wurde eine naßchemische Methode herangezogen: die Bildung der sog. Mosher-Ester (Dale und Mosher, 1973). Dieses ursprünglich für sekundäre Alkohole etablierte Verfahren läßt sich auch auf andere Stoffgruppen wie tertiäre Alkohole (Izumi *et al.*, 1994) oder sogar Hemiacetale (Broom *et al.*, 1994) übertragen.

Hierzu wurden die in Form einer braungelben, viskosen Masse zur Verfügung stehenden 12.2 mg Consabatin aliquot auf zwei Spitzkolben aufgeteilt und in wenig Dichlormethan gelöst. Unter Stickstoff-Begasung wurden den beiden Lösungen nun Dimethylamino-pyridin (DMAP) und Triethylamin (TEA) zugefügt, danach das (+)- bzw. (-)-konfigurierte 2-Methoxy-2-trifluormethyl-phenylelessigsäurechlorid ((+)- bzw. (-)-MTPA-chlorid). Beide Ansätze wurden über Nacht gerührt, und die Reaktion jeweils durch Zusatz von 3-[(Dimethylamino)propyl]amin (3-DMAPA) terminiert (s. 5.4.4.4.1.1).

Die Detektion der Mosher-Ester mit Dragendorffs Reagenz wurde durch die Tatsache erschwert, daß es sich bei den Reaktionsmitteln überwiegend um stickstoffhaltige Verbindungen handelt, die ebenfalls einen positiven Nachweis ergeben. Durch chromatographischen Vergleich mit einer Mischung aus DMAP, TEA und 3-DMAPA wurden die MTPA-Ester selektioniert und mittels präparativer DC in Reinform gewonnen. Es folgte die Aufnahme der für diese Methode erforderlichen ¹H-NMR-Spektren mit H-H-COSY.

Der *S*-MTPA-Ester und der *R*-MTPA-Ester des Consabatins zeigen identische ¹H-NMR-Spektren, allerdings treten stereochemisch bedingte Abweichungen in den chemischen Verschiebungen korrespondierender Signale auf.

Markant sind das breite Singulett von H-2' bei δ 6.92/6.89, das sich am zur Carbonyl-Gruppe β -ständigen, ungesättigten Kohlenstoff befindet, und die ebenso im tieferen Feld lokalisierten Triplets von H-3 und H-2''. Letzteres zeigt ein breites Signal bei δ 5.06/5.05 mit einer Kopplungskonstante von etwa 7 Hz, das im H-H-COSY eine Korrelation mit dem breiten Dublett der Methylen-Protonen an C-1'' bei δ 2.95/2.96 aufweist; zudem ist eine W-Kopplung mit H-2' zu erkennen. Das Triplett kleinerer Kopplungskonstante bei δ 5.22/5.25 (H-3) korreliert mit dem Signal der axialen H-2a und H-4a bei δ 3.39/3.39 und weist außerdem eine W-Kopplung zu einem Multiplett bei δ 3.09/3.18 auf, dessen Intensität zwei Protonen entspricht. Somit konnte vermutet werden, daß es sich um das sonst als markantes breites Singulett ins Auge fallende Signal von H-1 und H-5 handeln muß. Seine Aufspaltung zum Multiplett dürfte auf der durch die MTPA-Substitution außergewöhnlich großen Acylkomponente beruhen, wie dies in ähnlicher Form bei den Merresectinen B und D zu beobachten ist (s. 2.2.4.2.3.2 und 2.2.4.2.3.3). Besonders sperrige Reste können also zur Aufhebung der magnetischen Äquivalenz der Protonen an C-1 und C-5 führen.

Das Multiplett von H-1/H-5 zeigt deutliche Korrelationen mit dem breiten Dublett der äquatorialen H-2e und H-4e bei δ 1.92/1.98 mit geminalen 16 Hz. Eine weitere Kopplung zeigt auf das breite Dublett der *endo*-ständigen H-6n und H-7n bei δ 2.12/2.14, das mit etwa 16 Hz eine ungewöhnlich große Kopplungskonstante ausprägt. Den geminalen H-6x und H-7x weist eine schwache Kopplung im H-H-COSY das Multiplett bei δ 2.47/2.50 zu.

Die Signale der N-Methyl- und der Methoxy-Gruppe konnten sowohl beim S-MTPA-Consabatin, als auch beim R-MTPA-Consabatin anhand eines zuvor aufgenommenen Spektrums differenziert werden. Aufgrund der Tatsache, daß das Singulett der N-Methyl-Gruppe im Spektrum wandern kann, d. h. bei subsequenten Aufnahmen Abweichungen im ppm-Wert des Signals auftreten können, das Singulett einer Methoxy-Gruppe bezüglich seiner Lage jedoch konstant bleibt, kann das Methyl-Singulett bei δ 3.55 (S-MTPA-Consabatin) sowie das bei δ 3.50 (R-MTPA-Consabatin) der jeweiligen Methoxy-Gruppe zugeordnet werden. Im Gegensatz zu diesen in beiden Spektren identische ppm-Werte aufweisenden Signalen zeigen die chemischen Verschiebungen der anderen Methyl-Singulets eine Hochfeld-Shift: Beim S-MTPA-Consabatin wandert das Signal bei δ 3.62 (älteres Spektrum) zu δ 3.57 (neuere Aufnahme), beim R-MTPA-Consabatin von δ 3.60 nach δ 3.54. Hier handelt es sich somit um die N-Methyl-Gruppen.

Anhand ihrer H-H-COSY-Korrelation lassen sich die Methylen-Gruppen CH₂-5' und CH₂-6' als zwei Paare benachbarter Multipletts bei δ 3.78 und δ 3.76/3.78 und 3.75 sowie bei δ 2.29 und δ 2.24/2.30 und 2.25 identifizieren.

Die Methyl-Gruppen der Isopren-Einheit erscheinen als Singulets bei δ 1.76 und δ 1.61/ δ 1.73 und δ 1.57, wobei der höhere ppm-Wert CH₃-4'' zugeordnet werden kann. Die H-H-COSY-Korrelation von CH₃-5'' mit einem der beiden H-6' dürfte auf die räumliche Nähe dieser Protonen hindeuten.

Nach der Zuordnung der Signale können die ermittelten ppm-Werte in Relation gestellt werden. Daraus ergeben sich die in **Tab. 17** aufgeführten Abweichungen.

Anhand des Vorzeichens der Differenz $\Delta\delta$ (S – R) läßt sich die Lage des Strukturelements im Raum bestimmen: Ein negativer Wert deutet auf eine Position oberhalb, ein positiver auf eine Position unterhalb der MTPA-Ebene hin. Ein positives Vorzeichen spiegelt hierbei die Tieffeld-Shift der Signale wider und entspricht dem mit L₂ bezeichneten Substituenten. Der Substituent L₃ wird durch negative Vorzeichen charakterisiert. Besonders gut veranschaulicht wird die Methode (Dale und Mosher, 1973) durch die Modelle von Ohtani *et al.* (1991), wobei es zu beachten gilt, daß aufgrund der Veränderung der Prioritäten der Substituenten das (+)-MTPA-chlorid den R-MTPA-Ester ergibt und das (–)-MTPA-chlorid den S-MTPA-Ester. In **Abb. 72** ist die Verteilung der positiven und negativen $\Delta\delta$ -Werte dargestellt.

Tab. 17:¹H-NMR-Signale der Mosher-Ester und deren konfigurationsabhängige Differenzen

Position	S-MTPA-Consabatin	R-MTPA-Consabatin	$\Delta\delta$ (S – R)
1	3.09 <i>m</i>	3.18 <i>m</i>	– 0.09
2a	3.39 <i>d</i> (7.3)	3.39 <i>d</i> (7.2)	± 0
2e	1.92 <i>br d</i> (16.6)	1.98 <i>br d</i> (16.4)	– 0.06
3	5.22 <i>t</i> (4.4)	5.25 <i>t</i> (5.1)	– 0.03
4a	3.39 <i>d</i> (7.3)	3.39 <i>d</i> (7.2)	± 0
4e	1.92 <i>br d</i> (16.6)	1.98 <i>br d</i> (16.4)	– 0.06
5	3.09 <i>m</i>	3.18 <i>m</i>	– 0.09
6x	2.47 <i>m</i>	2.50 <i>m</i>	– 0.03
6n	2.12 <i>br d</i> (16.1)	2.14 <i>br d</i> (15.8)	– 0.02
7x	2.47 <i>m</i>	2.50 <i>m</i>	– 0.03
7n	2.12 <i>br d</i> (16.1)	2.14 <i>br d</i> (15.8)	– 0.02
N–CH ₃	3.57 <i>s</i>	3.54 <i>s</i>	+ 0.03
2'	6.92 <i>s</i>	6.89 <i>s</i>	+ 0.03
5'd	3.78 <i>m</i>	3.78 <i>m</i>	± 0
5'u	3.76 <i>m</i>	3.75 <i>m</i>	+ 0.01
6'd	2.29 <i>m</i>	2.30 <i>m</i>	– 0.01
6'u	2.24 <i>m</i>	2.25 <i>m</i>	– 0.01
1''	2.95 <i>br d</i> (7.4)	2.96 <i>br d</i> (7.0)	+ 0.01
2''	5.06 <i>br t</i> (7.0)	5.05 <i>br t</i> (7.3)	+ 0.01
CH ₃ -4''	1.76 <i>s</i>	1.73 <i>s</i>	+ 0.03
CH ₃ -5''	1.61 <i>s</i>	1.57 <i>s</i>	+ 0.04
Aromat	7.36-7.45 <i>m</i>	7.38-7.49 <i>m</i>	– 0.03
O–CH ₃	3.55 <i>s</i>	3.50 <i>s</i>	+ 0.05

Aus dem Verteilungsmuster positiver, negativer und neutraler Werte kann nun die Stellung der einzelnen Strukturbestandteile im Raum abgeleitet werden. Das Ringgerüst des Tropans zeigt durchweg negative Vorzeichen und entspricht somit dem mit L₃ bezeichneten Substituenten. Anders bei der an das Chiralitätszentrum angrenzenden Doppelbindung und der benachbarten Isopren-Seitenkette: Hier finden sich überwiegend positive Werte. Diese Teilstruktur kann also dem Substituenten L₂ zugeschrieben werden. Neutrale Werte deuten darauf hin, daß der betreffende Teil des Moleküls in der MTPA-Ebene liegt. Dies ist bei CH₂-5' und CH₂-6' der Fall, deren Differenzen mit – 0.01 und + 0.01 kaum von Null verschieden sind.

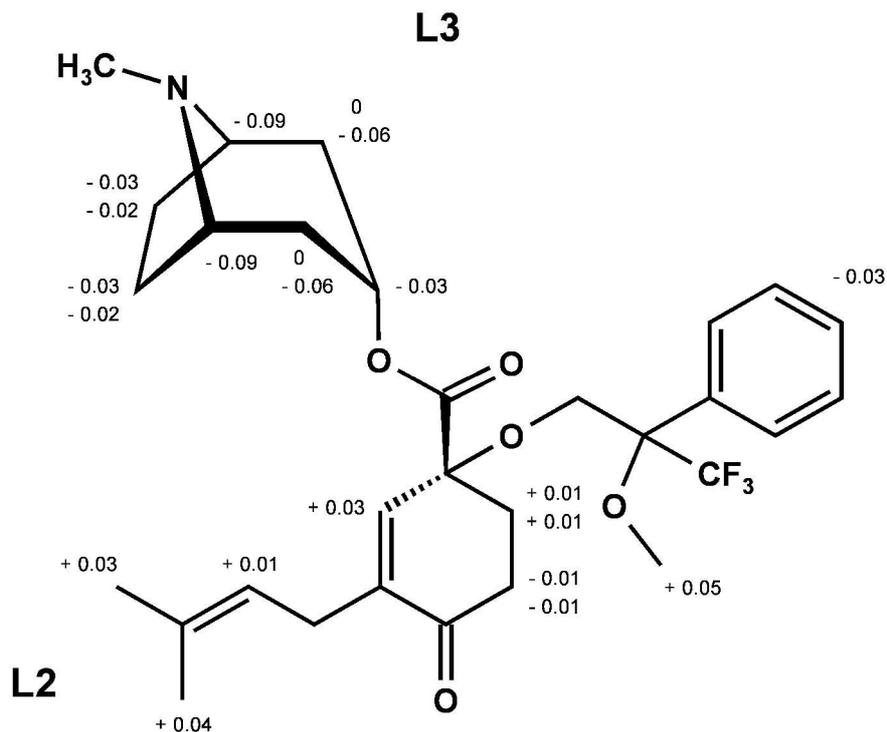


Abb. 72: Mosher-Ester des Consabatin mit Differenzen der δ -Werte

Durch die Synthese der sog. Mosher-Ester und den Vergleich ihrer Protonenresonanzspektren kann für das **Consabatin (18)** eindeutig die **1'R-Konfiguration** ermittelt werden.

2.2.4.2.3.2 Merresectin B (19)

Die Basen-Fraktion aus den Wurzeln von *Convolvulus sabatius* wurde mittels präparativer HPLC aufgetrennt. Der in einem Fließmittelgemisch aus 0.5%iger wässriger Phosphorsäure und Methanol (Gradient: 80:20 nach 40:60 in 60 min) nach 49 min eluierte Peak **9** konnte als Verbindung **19** direkt der Strukturaufklärung zugeführt werden.

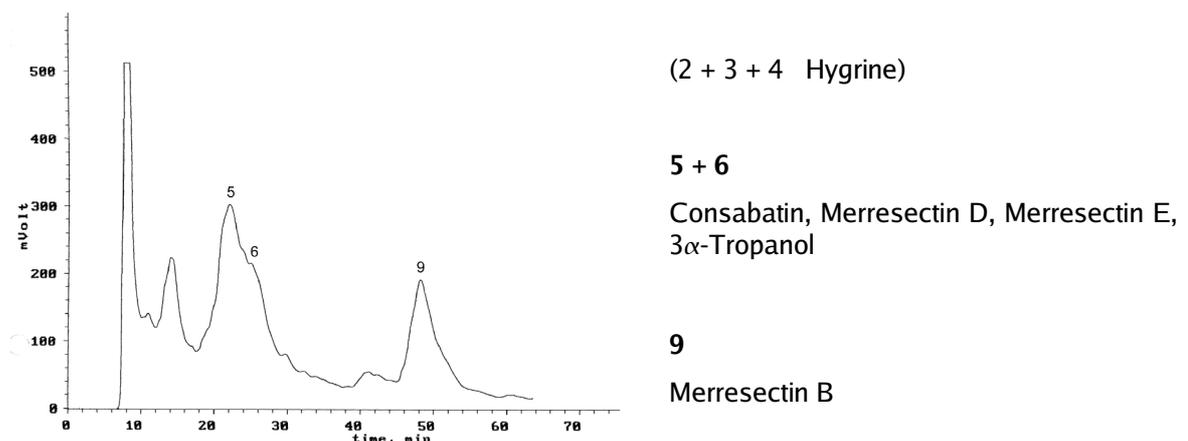


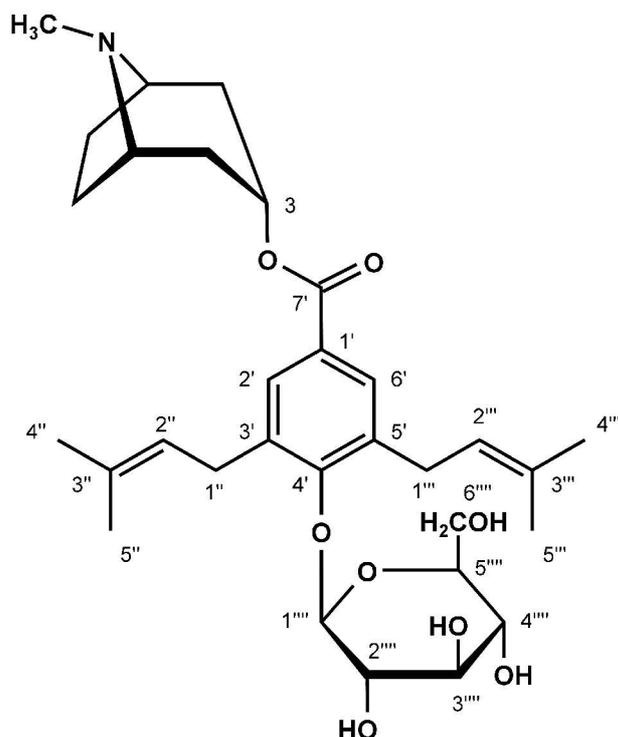
Abb. 73: HPLC-Lauf der Basen-Fraktion

Das ^1H -NMR-Spektrum weist im tieferen Feld vier markante Signale auf: Das Singulett bei δ 7.67 entspricht zwei Wasserstoff-Atomen und läßt aufgrund seiner Lage auf aromatische Protonen schließen. Das Triplett bei δ 5.24 mit $J = 4.0$ Hz macht einen 3α -Tropanolester wahrscheinlich. Bei δ 5.08 findet sich ein ähnliches Signal, das allerdings zwei Protonen entspricht und zum Quartett-Triplett mit $J = 1.5$ Hz und $J = 7.3$ Hz aufgespalten ist. Die zweite Kopplungskonstante findet sich in einem vier Protonen umfassenden Dublett bei δ 2.92 wieder. Die geringe Signalaufspaltung könnte auf einen symmetrischen Strukturbestandteil hinweisen, bei dem jeweils eine Methylengruppe an eine Doppelbindung grenzt. Bei dem Dublett bei δ 4.73 mit $J = 7.5$ Hz schließlich dürfte es sich um das anomere Proton eines β -Zuckers handeln.

Die vorliegenden Daten lassen vermuten, daß es sich bei Verbindung **19** um das ebenfalls als Hauptverbindung von Mann (1997) aus den Wurzeln von *Convolvulus sabatius* ssp. *mauritanicus* isolierte **Merresectin B** handelt.

Durch Vergleich mit dem Referenzspektrum lassen sich dem Tropan-Teil das Singulett der N-Methyl-Gruppe bei δ 2.78 und die Singulets von H-1 und H-5 bei δ 3.20 und δ 3.16 zuschreiben, außerdem die Signale der Methylen-Gruppen in Form eines Dubletts mit 15.2 Hz bei δ 2.11 (H-2e/H-4e), eines Dubletts mit 8.0 Hz bei δ 2.48 (H-6n/H-7n) und zweier Multipletts bei δ 2.38 (H-2a/H-4a) und δ 2.31 (H-6x/H-7x).

Der Nervogensäure-Teil setzt sich zusammen aus den aromatischen Protonen H-2' und H-6', die symmetriebedingt zu dem Singulett bei δ 7.67 vereint sind sowie den beiden Isopren-Seitenketten. Neben dem Methylen-Dublett (δ 2.92) und dem Quartett-Triplett des Protons der Doppelbindung (δ 5.08) werden sie durch die Signale für vier allylische Methyl-Gruppen um δ 1.7 vervollständigt.



Abgesehen von dem anomeren H-1''' (δ 4.73) wird die an den Sauerstoff in Position 4' anknüpfende β -D-Glucose durch mehrere Signale repräsentiert, die aufgrund der jeweils benachbarten Sauerstoffatome zwischen δ 3.2 und δ 3.8 liegen. Dies sind das Dublett-Dublett eines der beiden H-6''' bei δ 3.70, das eine geminale Kopplung von 14.0 Hz und eine vicinale von 7.0 Hz aufweist. Das andere H-6''' findet sich als Multiplett bei δ 3.80. Das Triplett eines Dublett bei δ 3.25 wird von H-5''' ausgebildet. H-2''', H-3''' und H-4''' fallen zu einem breiten Multiplett im Bereich δ 3.36-3.55 zusammen. (s. a. Jenett-Siems, 1996)

Abb. 74: Merresectin B (**19**)

Damit kann die Übereinstimmung von Verbindung **19** mit **Merresectin B** abschließend bestätigt werden. Zusammen mit der β -D-Glucose in Position 4' wird die Acylkomponente insgesamt als Kuramersäure bezeichnet, ihr Aglykon als Nervogensäure.

2.2.4.2.3.3 Merresectin D- β -glucosid (20)

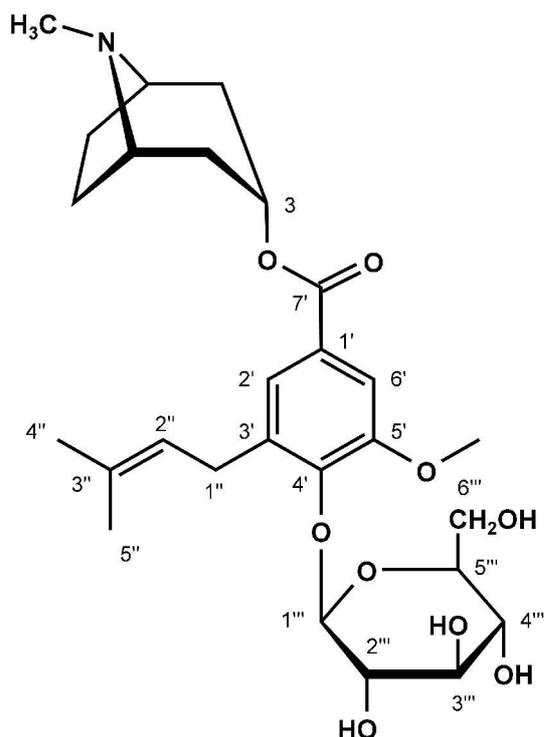
Der aus den Wurzeln von *Convolvulus sabatius* erhaltene Basen-Extrakt wurde mittels präparativer HPLC fraktioniert (s. 2.2.4.2.3.1 und 2.2.4.2.3.2). Der Doppelpeak **5+6** bei 25 min stellte ein Substanzgemisch dar, das mithilfe der präparativen Dünnschichtchromatographie unter Verwendung des Fließmittels $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_3$ konz. (80:20:2; V/V/V) weiter aufgetrennt wurde. Die Substanzzone **C** um R_f 0.23 wurde ausgeschabt, das Kieselgel extrahiert, und die hieraus resultierende Verbindung **20** den spektrometrischen Vermessungsmethoden zugeführt.

Der Basispeak m/z 124 im EIMS deutet in Kombination mit den Fragmenten bei m/z 140, m/z 95, m/z 94, m/z 83 und m/z 82 auf einen 3-Tropanolester hin. Die tripletartige Ausgestaltung des Signals von H-3 bei δ 5.27 im $^1\text{H-NMR}$ spricht für einen Ester des 3α -Tropanols. Weitere charakteristische Signale des Tropan-Teils sind das Dublett von H-2e und H-4e bei δ 1.74 mit 13.9 Hz, das Singulett der N-Methyl-Gruppe bei δ 2.48 und die Singulett von H-1 und H-5 bei δ 3.14 und δ 3.11. Die Protonen in den Positionen 6 und 7 fallen zu dem Multiplett bei δ 2.28 zusammen, H-2a und H-4a zu dem Multiplett bei δ 2.36.

Als Molpeak weist das EI-Massenspektrum m/z 359 aus. Im (+)-FABMS allerdings erscheint das Quasi-Molekülion $[\text{M}+\text{H}]^+$ bei m/z 522. Die Massendifferenz von 162 Einheiten deutet auf den Verlust einer Hexose hin, die beim EIMS meist bereits im Injektorblock abgespalten wird. Das Dublett bei δ 5.06 im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum dürfte das anomere H-Atom sein. Seine Kopplungskonstante von 7.4 Hz spricht für die axiale Orientierung von H-1''', also einen Zucker der β -Reihe. Das breite Multiplett der Protonen an den tertiären Kohlenstoffatomen des Zuckers H-2''', H-3''', H-4''' und H-5''' befindet sich im heteroaliphatischen Bereich bei δ 3.24-3.51. Die Protonen der Hydroxymethyl-Gruppe in Position 6''' prägen ein Multiplett bei δ 3.78 und eines bei δ 3.64 aus.

Als weiteres EI-Massenfragment tritt m/z 329 auf, wobei die Molmasse der Abgangsgruppe mit m/z 30 charakteristisch für Methoxy-Gruppen ist. Im $^1\text{H-NMR}$ kann eine solche als Singulett bei δ 3.93 ausgemacht werden. Der hohe δ -Wert spricht für die Anknüpfung der Methoxy-Gruppe an einen Aromaten. Dies findet seine Bestätigung in den Dubletts zweier aromatischer Protonen bei δ 7.49 und δ 7.48, die sich aufgrund ihrer kleinen Kopplungskonstante von 2.0 Hz in *meta*-Stellung zueinander befinden müssen.

Es verbleiben im $^1\text{H-NMR}$ ein breites Triplet bei δ 5.35 mit $J = 7.5$ Hz und ein breites Dublett gleicher Kopplungskonstante bei δ 3.53, außerdem zwei Methylgruppen-Singulett bei δ 1.72 und δ 1.63. Auch hier dürfte eine Isopren-Seitenkette vorliegen.



Anhand der einzelnen Strukturbestandteile und des Vergleichs der ermittelten spektrometrischen Daten mit Referenzmaterial kann Verbindung **20** eindeutig als das aus den Wurzeln von *Merremia guerrichii* isolierte **Merresectin D-β-D-glucosid** (Merreguerichin) identifiziert werden (Jenett-Siems *et al.*, 1999 und 2005b).

Abb. 75: Merresectin D-β-glucosid (**20**)

2.2.4.2.3.4 Merresectin E-β-glucosid (**21**)

Ebenfalls im Basengemisch des HPLC-Doppelpeaks **5+6** des Basen-Extraktes der Wurzeln von *Convolvulus sabatius* enthalten, wurde auch Verbindung **21** durch anschließende präparative DC zugänglich (s. 2.2.4.2.3.3). Die bei einem R_f von etwa 0.15 befindliche, mit Dragendorffs Reagenz orange anfärbare Substanzzone **D** wurde der Strukturaufklärung zugeführt.

Das EIMS deutet mit dem Basispeak m/z 124 und den Zerfallsionen m/z 140, m/z 95, m/z 94, m/z 83 und m/z 82 auf einen 3-Tropanolester hin. Der Molpeak liegt bei m/z 491, ein weiteres markantes Fragment bei m/z 329. Auffällig ist die Massendifferenz von 162 Einheiten, die erneut die Abspaltung einer Hexose vermuten läßt.

Im $^1\text{H-NMR}$ findet sich das Signal eines Anomers in Form eines Dubletts bei δ 5.03. Wie bei Verbindung **20** kann anhand der Kopplungskonstante von 7.4 Hz auf eine axiale Ausrichtung des Protons geschlossen werden, die für Zucker der β -Reihe typisch ist. Das Dublett korreliert im H-H-COSY mit einem breiten Multipllett bei δ 3.36-3.56, das von H-2''', H-3''', H-4''' und H-5''' ausgebildet wird. Dieses wiederum zeigt eine intensive Kopplung zu einem Dublett-Dublett bei δ 3.70 und eine schwache zu einem Dublett-Dublett bei δ 3.90. Beide Signale treten auch miteinander in Korrelation. Hieraus und aus der gemeinsamen geminalen Kopplungskonstante von 12.0 Hz kann geschlossen werden, daß es sich um die Protonen an C-6''' der Hydroxymethyl-Gruppe handeln muß.

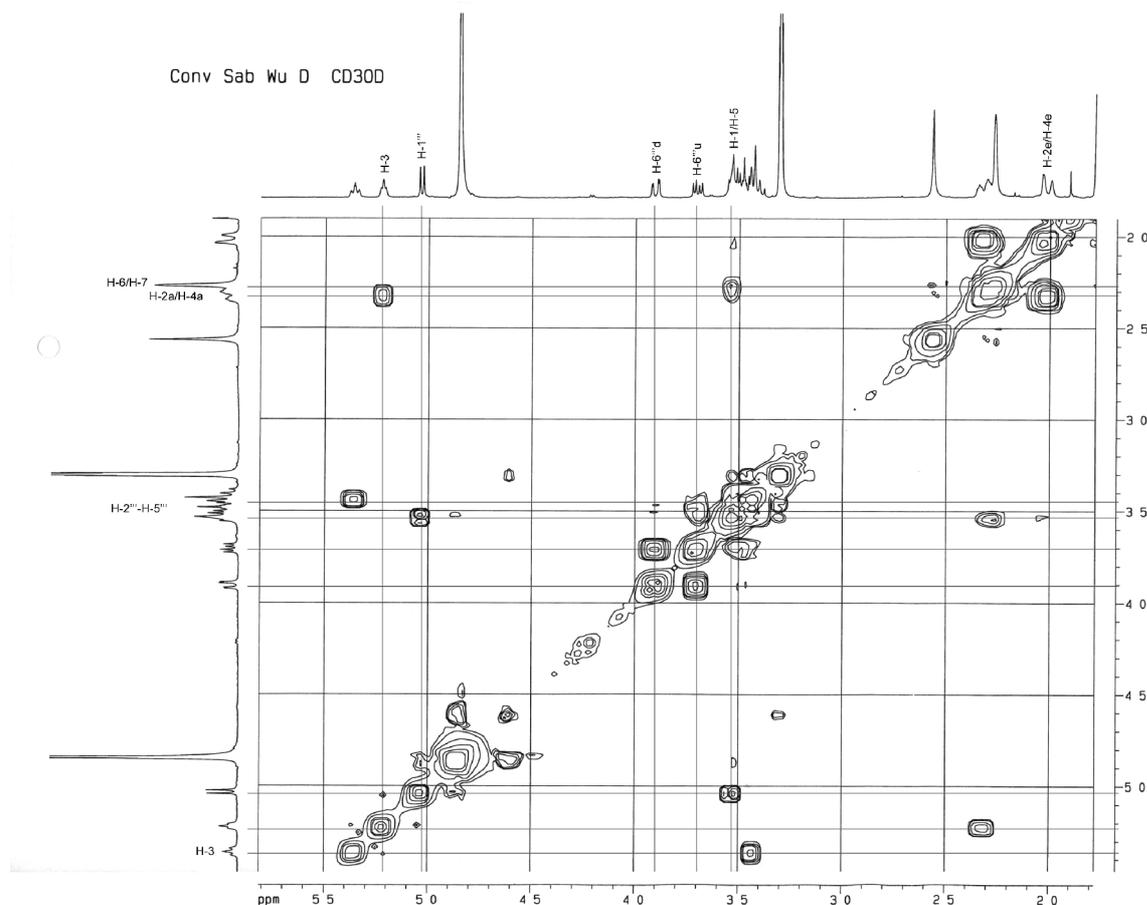


Abb. 76: Vergrößerung aus dem H-H-COSY von Verbindung **21**

Dem Tropan-Teil zugehörig ist das Triplet bei δ 5.22 mit $J = 4.5$ Hz, charakteristisch für Ester der 3α -Reihe. Es koppelt im H-H-COSY mit dem Triplet-Dublett der axialen H-2a/H-4a bei δ 2.32. Dieses wiederum zeigt eine Korrelation zu dem Dublett bei δ 2.00, das ebenfalls die Kopplungskonstante von 15.3 Hz aufweist, und somit den äquatorialen H-2e/H-4e zuzuschreiben ist. Das breite Singulett bei δ 3.53 kann anhand der Korrelationen im H-H-COSY H-1 und H-5 zugeordnet werden. Diese weisen auch auf das Singulett bei δ 2.27, zu dem die beiden Methylen-Gruppen in den Positionen 6 und 7 zusammenfallen. Markant ist außerdem das Singulett der N-Methyl-Gruppe bei δ 2.56.

Im aromatischen Bereich des $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums erscheinen drei Signale, deren Aufspaltung und Kopplungskonstanten für den 1,3,4-trisubstituierten Typ sprechen. Das Proton in Position 2' prägt ein Dublett bei δ 7.80 aus, das mit dem in *meta*-Stellung befindlichen H-6' koppelt. Dessen Dublett-Dublett bei δ 7.86 weist außer dieser mit $J = 2.0$ Hz recht kleinen *meta*-Kopplung die mit 8.7 Hz deutlich größere *ortho*-Kopplung auf. Sie findet sich in dem Dublett von H-5' bei δ 7.22 wieder.

Es verbleiben zwei Methylgruppen-Singulets bei δ 1.78 (CH_3 -4'') und δ 1.72 (CH_3 -5'') und das breite Triplet eines olefinischen Protons H-2'' bei δ 5.36 mit $J = 7.3$ Hz. Die zwei

benachbarten Protonen an C-1'' finden sich in Form eines breiten Methylen-Dubletts bei δ 3.44 mit identischer Kopplungskonstante und deutlicher Korrelation im H-H-COSY. Vermutlich liegt auch hier eine Isopren-Seitenkette vor.

Aus diesen Strukturelementen lässt sich in Analogie zu den anderen Merresectinen als Acylkomponente die 4- β -D-Glucosyloxy-3-isoprenyl-benzoessäure formulieren, bei der der Substituent in Position 5 ganz fehlt.

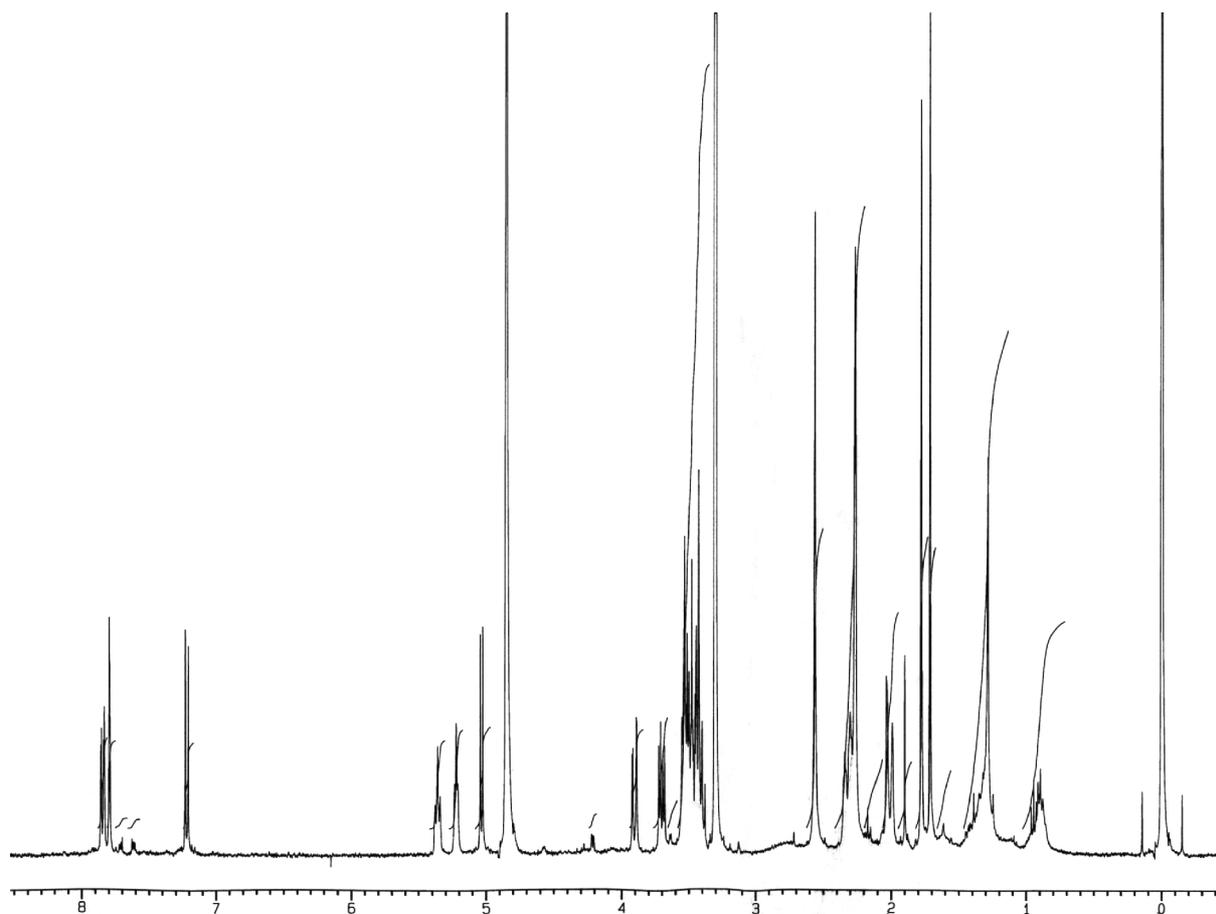
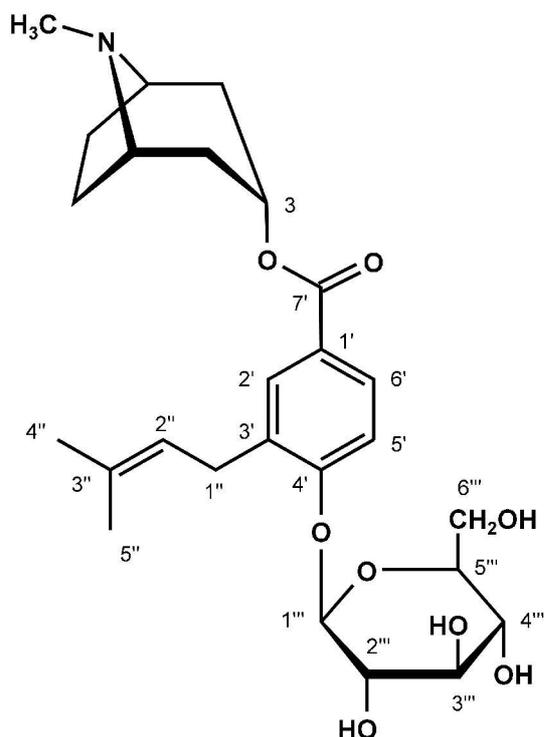


Abb. 77: ^1H -NMR-Spektrum von Merresectin E- β -glucosid (in MeOD)

Es sei an dieser Stelle nochmals auf eine Besonderheit bei der Auswertung der ^1H -NMR-Spektren hingewiesen. Bei den tetrasubstituierten Merresectinen B und D- β -D-glucosid scheint aufgrund der sperrigen Acylkomponenten die freie Drehbarkeit um die Esterbindung eingeschränkt zu sein, was die Aufspaltung der normalerweise zu einem breiten Singulett zusammenfallenden H-1 und H-5 des Tropanringes zu zwei getrennten Singulett erklären würde. Denn im Gegensatz dazu erhält man bei Merresectin E- β -D-glucosid und auch Consabatin, die beide keinen Substituenten in Position 5' aufweisen, das typische gemeinsame breite Singulett. Anders verhält es sich mit den Mosher-Estern des Consabatins, bei denen die Weiterveresterung der Acylkomponente sogar zu einer Aufspaltung zum Multipllett führt.



Verbindung **21** wurde folglich als **Merresectin E- β -D-glucosid** bezeichnet. Es wurde auch in diversen *Merremia*-Arten gefunden und ist daher an dieser Stelle publiziert (Jenett-Siems *et al.*, 2005b).

Abb. 78: Merresectin E- β -glucosid (**21**)

2.2.4.2.4 Bonabiline aus *Bonamia spectabilis* (CHOISY) HALLIER f.

Bonamia spectabilis (CHOISY) HALLIER f. ist ein kletternder Strauch mit verholzendem Wurzelstock, dem zahlreiche kleinere Triebe entspringen. Die im Alter lignifizierenden Sprossachsen sind leicht behaart und tragen gestielte, elliptische, teils zugespitzte, ebenfalls leicht behaarte Blätter. Die breitschlundigen Trichterblüten sind blaßviolett und bilden ein- bis dreiblütige zymöse Teilinfloreszenzen an den Endstücken der Sprossachsen aus. Neben Madagaskar, dem Ursprungsland des hier verwendeten Pflanzenmaterials, wird diese Art beschrieben für Zambia und Zimbabwe, auch Zaire und Tansania. Typische Fundorte sind das laubabwerfende mit Dickicht durchsetzte Waldland, der Kalaharisand und Wegränder.

Aus phytochemischer Sicht handelt es sich um eine höchst interessante Windenart. Die in der Einleitung (1.3) etwas ausführlicher charakterisierten Sesqui-, Sesquinea- und Neolignane aus dem Kraut von *Bonamia spectabilis* stellen eine Besonderheit innerhalb der Convolvulaceae dar. Einige dieser Bonaspectine zeigen zudem eine gute antiplasmodiale Aktivität. Außerdem konnte Tofern (1999) bei der GC-MS-Analyse der Basenfraktion des Krautes „eine Reihe unbekannter Verbindungen nachweisen, bei denen es sich um Tropan-3-ol-Ester sowie um Nortropan-3-ol-Ester handeln könnte“.

Da nach längerer Kultivierung der aus den madegassischen Samen angezüchteten Pflanzen im institutseigenen Gewächshaus nun auch ausreichend Wurzelmaterial zur Verfügung stand, sollten diese bislang nicht identifizierten Tropanalkaloide genauer untersucht werden.



Abb. 79: *Bonamia spectabilis* (CHOISY) HALLIER f. auf Madagaskar (mit Lepidoptera)

Herkunft: Madagaskar und tropische Teile Zentralafrikas

Beschreibung: Flora of Tropical East Africa (Verdcourt, 1963)

Flora Zambesiaca (Gonçalves, 1987);

Les Convolvulaceae dans la flore d'Afrique Centrale (Lejoly und Lisowski, 1993)

484 g getrocknete und gemahlene Wurzeln wurden erst mit Methanol, anschließend mit einer Mischung aus 2%iger wässriger Weinsäure-Lösung und Methanol (1:4; V:V) extrahiert. Nach Entzug des Lösemittels im Vakuum wurde der Trockenrückstand in 2%iger wässriger Weinsäure-Lösung aufgenommen und entsprechend der eluotropen Reihe erst mit Petrol-ether, dann mit Dichlormethan und zuletzt mit Ethylacetat ausgeschüttelt. Die verbleibende Wasserphase wurde mit 15%iger wässriger Ammoniak-Lösung alkalisiert und erneut mit Dichlormethan extrahiert. Nach Abzug des Lösungsmittels im Rotationsverdampfer wurden die 357 mg Rohbase säulenchromatographisch an Kieselgel mit Fließmittelgemischen steigender Polarität aufgetrennt (Chloroform/Methanol/25%ige wässrige Ammoniak-Lösung von 95:5:0.1 nach 30:70:0.1; s. a. 5.4.4.5). Die Fraktionen wurden in Portionen zu 7.5 mL aufgefangen und dünnschichtchromatographisch kontrolliert. Im Ergebnis konnten zwei neuartige Substanzen isoliert und strukturaufgeklärt werden.

2.2.4.2.4.1 Bonabilin A (22)

Die mit einem Fließmittelgemisch von 80:20:0.1 (Chloroform/Methanol/25%ige wäßrige Ammoniak-Lösung; V:V:V) nach 350-400 mL eluierten Fraktionen **41-48** der Kieselgelsäule enthielten eine einzige Dragendorff-positive Substanz, die als Verbindung **22** der Struktur-aufklärung zugeführt wurde.

Zur ersten Orientierung wurden ein EIMS- und ein $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum aufgenommen. Bezüglich der Massenfragmentierung kann anhand des Basispeaks von m/z 124 und weiterer Bruchstücke bei m/z 140, m/z 96, m/z 95, m/z 94, m/z 83 und m/z 82 ein 3-Tropanolester postuliert werden. Dies wird durch das Auftreten charakteristischer Signale für den bicyclischen Tropan-Grundkörper im $^1\text{H-NMR}$ bestätigt. So erscheint das drei Protonen umfassende schlanke Singulett der N-Methyl-Gruppe bei δ 2.32, das breite Singulett von H-1 und H-5 bei δ 3.17 und das Dublett der *endo*-ständigen H-6n und H-7n mit $J = 7.6$ Hz bei δ 1.93. Das Signal von H-3 bei δ 5.07 spricht aufgrund der Ausprägung als Triplett mit einer Kopplungskonstante von 5.2 Hz für einen Tropanolester der 3α -Reihe.

Im Bereich von δ 1.4 bis δ 2.8 finden sich zahlreiche Signale, aus denen sich mithilfe eines H-H-COSY die dem Tropan-Teil zuzurechnenden herausfiltern lassen. Sowohl das von H-3 ausgebildete Triplett, als auch das breite Singulett von H-1/H-5 koppeln mit einem Multiplett bei δ 2.20, das den axialen H-2a und H-4a entspricht. Dieses wiederum korreliert mit einem breiten Dublett bei δ 1.68, bei dem eine geminale Kopplungskonstante von 12.3 Hz auszumachen ist, und das demnach den äquatorialen H-2e und H-4e zuzuschreiben ist. Das Dublett der *endo*-ständigen H-6n und H-7n sowie das Singulett von H-1 und H-5 weisen auf ein Multiplett bei δ 2.06, das somit von den *exo*-ständigen H-6x und H-7x ausgebildet wird.

Tabelle 18: $^1\text{H-NMR}$ - und $^{13}\text{C-NMR}$ -Werte der Acylkomponente von Verbindung **22**
(* aus dem HMBC in MeOD)

$^1\text{H-NMR}$ (in CDCl_3)			$^{13}\text{C-NMR}$ (in MeOD)
4.82	<i>dd</i>	3.6 Hz; 7.8 Hz	64.2
4.28	<i>ddd</i>	1.4 Hz; 3.0 Hz; 7.7 Hz	68.9
2.80	<i>t</i>	3.2 Hz	55.3
2.56	<i>dt</i>	2.9 Hz; 5.8 Hz	43.5
2.25	<i>m</i>	mit 1.4 Hz; 6.4 Hz; 10.7 Hz	25.4
2.14	<i>dt</i>	3.2 Hz; 5.4 Hz	47.8
1.46	<i>d</i>	10.6 Hz	25.4
1.30	<i>s</i>		26.7
0.77	<i>s</i>		21.5
			174.1 *
			40.2 *

Der Molpeak erscheint im EIMS bei m/z 323. Durch hochauflösende Massenspektrometrie kann $C_{18}H_{29}NO_4$ als Summenformel ermittelt werden.

Die Acylkomponente setzt sich also aus zehn Kohlenstoff-, fünfzehn Wasserstoff- und drei Sauerstoff-Atomen zusammen, wovon ein Kohlenstoff und ein Sauerstoff auf die Carbonylgruppe entfallen. In **Tab 18** sind die verbleibenden 1H -NMR-Signale aufgeführt; die zugehörigen ^{13}C -NMR-Werte konnten durch Aufnahme eines HSQC erhalten werden.

Es ist naheliegend, daß das Dublett-Dublett bei δ 4.82 und das Dublett-Dublett-Dublett bei δ 4.28 von an die Sauerstoff-substituierten C-Atome gebundenen Protonen ausgebildet werden. Aufgrund der gemeinsamen Kopplungskonstante von 7.7 bzw. 7.8 Hz ist von einer vicinalen Anordnung auszugehen. Daß es sich zumindest in einem Fall um eine aliphatische Hydroxy-Gruppe handeln muß, wird aus dem Massebruchstück m/z 305 ersichtlich, das durch Abspaltung von H_2O und den hieraus resultierenden Einzug einer Doppelbindung entsteht.

Die Singulets bei δ 1.30 und δ 0.77 entsprechen jeweils drei Protonen und können so als Methylgruppen identifiziert werden. Im H-H-COSY zeigen sie eine W-Kopplung, die dafür spricht, daß sie sich an demselben Kohlenstoff befinden müssen.

Das Multiplett bei δ 2.25 und das Dublett bei δ 1.46 weisen eine geminale Kopplung von 10.6 Hz auf und zeigen im HSQC auf dasselbe C-Atom bei 25.4 ppm; es dürfte sich also um eine Methylen-Gruppe handeln.

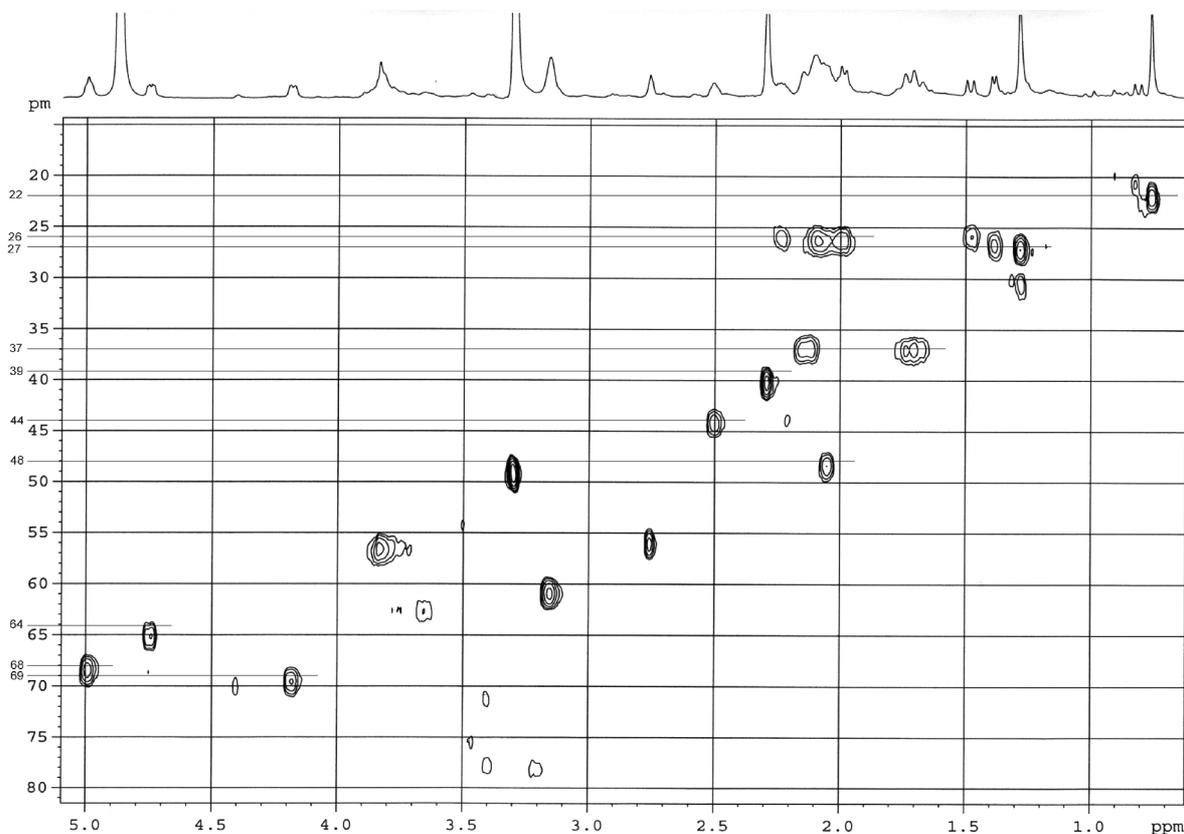


Abb. 80: HSQC von Verbindung **22**

Die Aufnahme erfolgte in MeOD; daher weichen die Signale im 1H -NMR in ihrer Lage leicht von den im Text zitierten Werten aus dem $CDCl_3$ -Spektrum ab.

Insgesamt geben die Signale zunächst Rätsel auf. Aufgrund ihres aliphatischen Charakters, ihrer Zusammensetzung aus zehn C-Atomen und nicht zuletzt der geminalen Methylgruppen wird aus biogenetischer Sicht eine monoterpene Acylkomponente postuliert. Klärung bringt insbesondere die Aufnahme eines HMBC, aus dem sich folgende Kopplungssequenz ableiten läßt: Die beiden Methylgruppen bei δ 1.30 und δ 0.77 weisen auf ein C-Atom bei 40.2 ppm, das im HSQC nicht auftritt und daher quartär sein muß. Außerdem zeigen sie Fernkopplungen zu zwei Methin-Kohlenstoffen bei 47.8 ppm und 43.5 ppm, die wiederum beide mit den Protonen der Methylengruppe bei δ 2.25 und δ 1.46 koppeln. Ausgehend von den Grundkörpern cyclischer Monoterpene findet sich diese viergliedrige Ringstruktur allein beim Pinan-Typ.

Der zweite Teil des Bicyclus läßt sich nun aus den vorliegenden Spektren konstruieren. Einer der beiden Methylen-Wasserstoffe (δ 2.25) bildet im H-H-COSY eine W-Kopplung zu dem Hydroxymethin-Proton bei δ 4.28 aus, die sich auch in der gemeinsamen Kopplungskonstante von 1.4 Hz widerspiegelt. Beide Signale korrelieren zudem mit dem Dublett-Triplett bei δ 2.14, bei dem es sich also um das dazwischenliegende Brückenkopf-Atom handeln muß. Der zugehörige Kohlenstoff bei 47.8 ppm weist im HMBC auf das zweite Hydroxymethin-Proton bei δ 4.82. Demzufolge sind die beiden OH-Gruppen tatsächlich vicinal. Es verbleibt ein Kohlenstoff bei 55.3 ppm, der mit dem Dublett-Dublett bei δ 4.82 sowie mit beiden Methylen-Protonen koppelt. Der zugehörige Wasserstoff zeigt Korrelationen zu den Signalen bei 64.2 ppm, 43.5 ppm, 40.2 ppm und 25.4 ppm. Damit läßt sich der zweite Ring des Bicyclus vervollständigen.

Der Carbonyl-Kohlenstoff befindet sich im HMBC bei 174.1 ppm; er bildet Fernkopplungen mit H-3 des Tropan-Teils bei δ 5.07 sowie zum Hydroxymethin-Proton bei δ 4.82 aus und kann damit an dem Kohlenstoff bei 55.3 ppm lokalisiert werden. Die Ergebnisse werden durch das untenstehende Formelbild veranschaulicht.

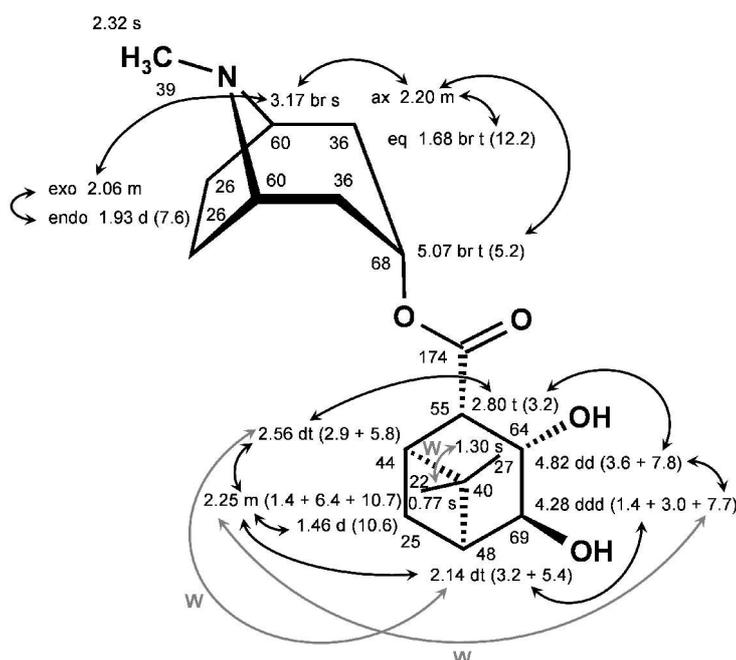


Abb. 81:
Meßwerte aus den Kernresonanzspektren von Verbindung **22** mit Kopplungssequenz aus dem H-H-COSY

Bestätigt wird die Molekülstruktur der Acylkomponente durch das Fragment m/z 236 im EIMS, für das im HRMS eine molekulare Zusammensetzung von $C_{13}H_{18}NO_3$ ermittelt werden kann. H_2O -Abspaltung führt zu m/z 305, das durch den hieraus resultierenden Einzug einer Doppelbindung einer Retro-Diels-Alder-Reaktion mit der Abgangsgruppe $(H_3C)_2C'-CH=CH_2$ bzw. $(H_3C)_2C=CH-CH_2'$ unterliegt. Auch ein um zwei Protonen reicheres Massebruchstück mit m/z 238 kann detektiert werden. Durch anschließende Eliminierung des Sauerstoffs entstehen m/z 220 bzw. m/z 222.

Nach neueren Erkenntnissen, die durch Hinzuziehen eines 1H -NMR-Spektrums in deuteriertem Chloroform gewonnen wurden, lassen sich folgende Aussagen über die Stereochemie von Verbindung **22** treffen:

Aufgrund der gemeinsamen großen Kopplungskonstante von 7.7 Hz bzw. 7.8 Hz müssen die vicinalen Hydroxymethin-Protonen H-3' und H-4' beide axial orientiert sein. Die Kopplungen mit den benachbarten H-2' und H-5' liegen um die 3 Hz, ebenso die zwischen H-1' und H-2'; diese Protonen müssen sich daher alle in äquatorialer Position befinden. Diese ist auch Voraussetzung für die W-Kopplung zwischen H-1' und H-5'.

Zudem tritt eine W-Kopplung zwischen H-4' und H-7'd auf. Diese ist nur möglich, wenn sich das Hydroxymethin-Proton und die Methylenbrücke in *trans*-Stellung befinden. Nach Miyazawa *et al.* (1997) dürfte es sich bei H-7'd (δ 2.25) um den äquatorialen Wasserstoff handeln.

Bei der Untersuchung der *cis*-/*trans*-Isomere 4-hydroxysubstituierter Pinan-Derivate erkannten Abraham *et al.* (1972) die Gesetzmäßigkeit, daß bei *trans*-Stellung der 4'-OH-Gruppe und der Dimethylmethylenbrücke an C-5' das Signal von CH_3 -9' im 1H -NMR etwa 0.2 ppm weiter im Hochfeld liegt als bei *cis*-Stellung. Die Lage der Methylgruppe bei δ 0.77 spricht also deutlich für eine *trans*-Stellung dieser Strukturelemente. Vergleichsdaten hierzu finden sich auch bei Abraham (1994), Farooq und Hanson (1995) und Hirata (1972), Vergleichsspektren bei Abraham *et al.* (1973). Anhand der starken Tieffeldverschiebung von H-3' kann desweiteren auf eine *cis*-Stellung der 3'-OH-Gruppe und der Carbonylfunktion geschlossen werden.

Studien zur Konformation des dimethylierten Cyclohexan-Ringes bei dem Pinan verwandten Verbindungen führten zu der Erkenntnis, daß diese durch die Lage des Substituenten an C-2' beeinflusst wird: Befindet er sich in β -Stellung, wird eine Quasi-Wannenkonformation ausgeprägt; ist er α -ständig, so stellt sich eine Quasi-Sesselkonformation ein (Uzarewicz und Segiet-Kujawa, 1978). Letzteres ist beim Bonabilin A der Fall. Das Molekülmodell zeigt, daß damit auch die axiale Position der Protonen an C-3' und C-4' gewährleistet ist.

Hieraus ergibt sich die unten abgebildete relative Konfiguration von Verbindung **22**, die als neuartiger Naturstoff den Namen **Bonabilin A** erhielt. Aufgrund der biogenetischen Verwandtschaft folgt die Nummerierung der Acylkomponente der Terpen-Zählweise.

Verbindung **22** konnte also als 8-Methyl-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-yl-3,4-dihydroxy-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]heptan-2-carboxylat identifiziert werden. Es liegt in der 1'S,2'R,3'S,4'S,5'S-Konfiguration vor oder als das 1'R,2'S,3'R,4'R,5'R-Enantiomer.

Für die Acylkomponente wurde der Trivialname **Bonabilsäure** gewählt. Sie kann aber anhand der strukturellen Verwandtschaft auch als 3,4-Dihydroxyapopinan-2-carbonsäure bezeichnet werden.

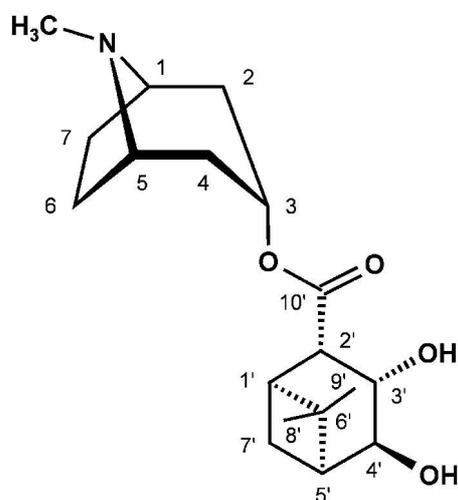


Abb. 82: Bonabilin A (22)

2.2.4.2.4.2 Bonabilin B (23)



Fractionen **34-40** der vom Basen-Extrakt der Wurzeln von *Bonamia spectabilis* unter 2.2.4.2.4 angefertigten Kieselgel-Säule wurden mit einem Fließmittelgemisch von 90:10:0.1 (Chloroform/Methanol/25%ige wäßrige Ammoniak-Lösung; V:V:V) nach 300-350 mL von der Kieselgel-Säule eluiert. Sie mußten mittels präparativer DC weiter aufgereinigt werden (s. 5.4.4.5.2); als Laufmittel diente eine Mischung aus Chloroform, Methanol und konzentrierter Ammoniak-Lösung (70:30:2; V:V:V). Die bei einem R_f von 0.29 befindliche Bande wurde ausgekratzt, eluiert und der spektroskopischen Analyse unterzogen.

Abb. 83:

Bonamia spectabilis (CHOISY) HALLIER f.
in der Flora Zambesiaca

Der Molpeak von Verbindung **23** liegt im EIMS bei m/z 305, was der per HRMS-Analyse ermittelten Summenformel $C_{18}H_{27}NO_3$ entspricht. Gleichsam als Bestätigung der Molmasse erscheint ein Fragment recht geringer Intensität bei m/z 307, das durch Hydrierung unter Einwirkung im Massenspektrometer anwesender H_2O -Moleküle entsteht. Desweiteren finden sich die Massebruchstücke eines 3-Tropanolesters bei m/z 140, m/z 96, m/z 95, m/z 94, m/z 83 und m/z 82 mit Basispeak m/z 124.

Dieser Befund kann durch die markanten Singulets der N-Methylgruppe bei δ 2.29 und der Brückenkopfatome H-1 und H-5 bei δ 3.12 im 1H -NMR untermauert werden. Das Signal von H-3 bei δ 5.06 ist als Triplet mit $J = 4.7$ Hz ausgeformt und deutet somit auf einen Ester des 3α -Tropanols hin. Im aliphatischen Bereich vermischen sich die Fragmente des Tropan-Teils mitunter mit denen der Acylkomponente. In Analogie zum zuvor isolierten Bonabilin A (Verbindung **22**) lassen sich die Peaks bei δ 2.15 (H-2a/H-4a), δ 2.04 (H-6x/H-7x), δ 1.93 (H-6n/H-7n) und δ 1.73 (H-2e/H-4e) dem Tropan-Teil zuordnen.

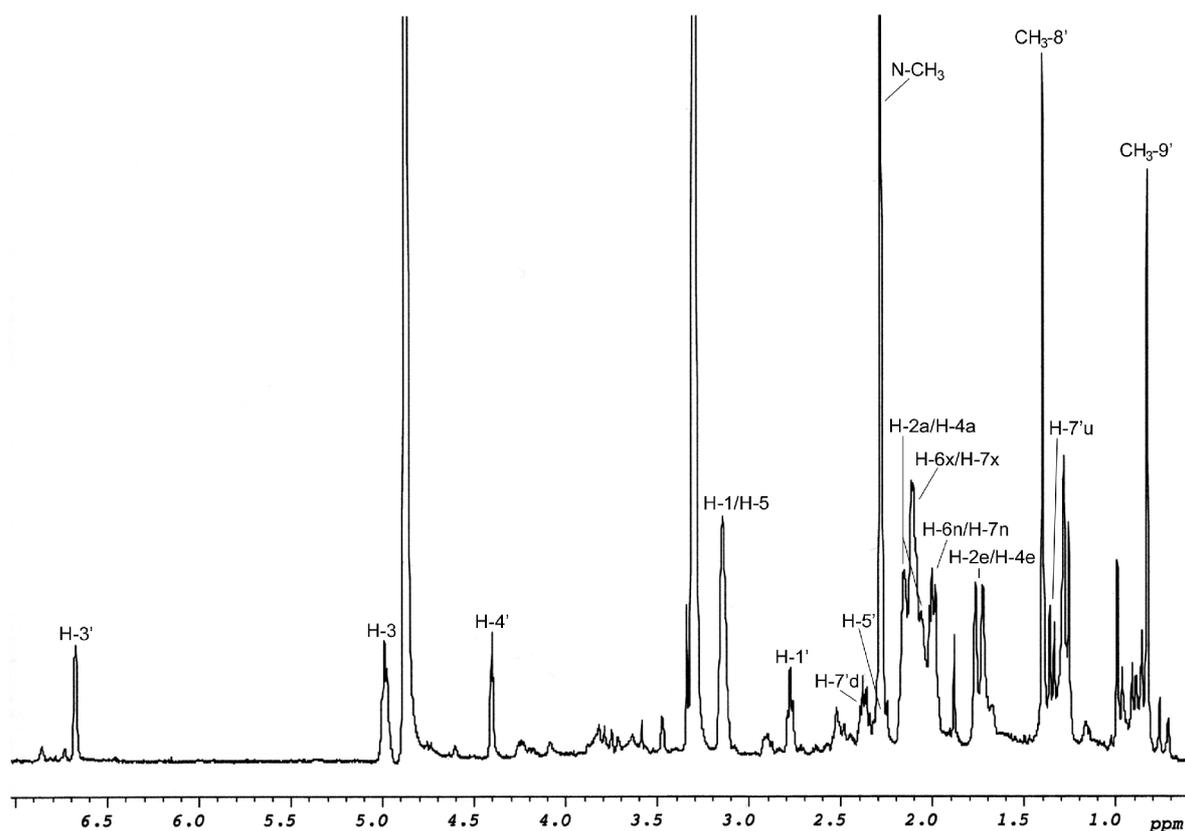


Abb. 84: 1H -NMR-Spektrum von Verbindung **23** (in $CDCl_3$)

Auf dieser Grundlage können die übrigen Signale der Acylkomponente zugeschrieben werden. Auffällig im 1H -NMR ist das breite Singulett bei δ 6.69, also im olefinischen Bereich. Zusammen mit den beiden weit im Tieffeld liegenden ^{13}C -NMR-Signalen bei 136.0 ppm und 143.4 ppm kann dies als Doppelbindung interpretiert werden. Hierbei ist der proto-

nierte Kohlenstoff als Dublett bei 136.0 ppm ausgeprägt und das Singulett bei 143.4 ppm (aus dem HMBC) einem quartären C-Atom zuzuschreiben. Im H-H-COSY koppelt δ 6.69 mit einem breiten Singulett bei δ 4.47. Zusammen mit dem Massefragment m/z 288, dessen Massendifferenz zum Molpeak auf die Abspaltung einer OH-Gruppe hindeutet, liegt eine Hydroxylierung des entsprechenden Kohlenstoffs nahe.

Die restlichen Signale lassen sich anhand der zweidimensionalen Spektren (H-H-COSY, HSQC, HMBC) zu folgendem Strukturbestandteil zusammenfügen: Im H-H-COSY korrelieren ein Triplett-Dublett bei δ 2.40 und ein Dublett bei δ 1.26, die beide eine geminale Kopplungskonstante von 9.5 Hz bzw. 10.8 Hz aufweisen. Es dürfte sich um eine Methylengruppe handeln. Das Triplett-Dublett bei δ 2.40 wiederum koppelt zum einen mit einem Multiplett bei δ 2.25, zum anderen mit einem breiten Triplett bei δ 2.86 mit einer gemeinsamen Kopplungskonstante von 5.2 Hz, wobei beide untereinander zudem eine W-Kopplung aufweisen. Die zwei Methylgruppen-Singulets bei δ 1.41 und δ 0.85 zeigen im HMBC sowohl auf einen quartären Kohlenstoff bei 47.0 ppm, als auch auf zwei C-Atome bei 48.1 ppm und 42.9 ppm, die laut HSQC dem Multiplett bei δ 2.25 und dem breiten Triplett bei δ 2.86 zugehörig sind. Anhand dessen kann auch hier die viergliedrige Partialstruktur eines bicyclischen Monoterpens ausgemacht werden.

Begründet durch deren Korrelation im H-H-COSY kann von einer Nachbarschaft der Methin-Gruppe bei δ 2.25 und dem unter Einfluß des Sauerstoffs tieffeldverschobenen Proton bei δ 4.47 ausgegangen werden. Dieses ist dem olefinischen Proton bei δ 6.69 benachbart (s. o.). Mit dem quartären Kohlenstoff der Doppelbindung bei 143.4 ppm läßt sich der zweite Ring schließen, denn sowohl das Hydroxymethin-Proton, als auch die beiden Methylengruppen-Hs und das Signal bei δ 2.86 weisen Kopplungen zu diesem auf. Das Signal der Carbonylgruppe erscheint bei 166.2 ppm.

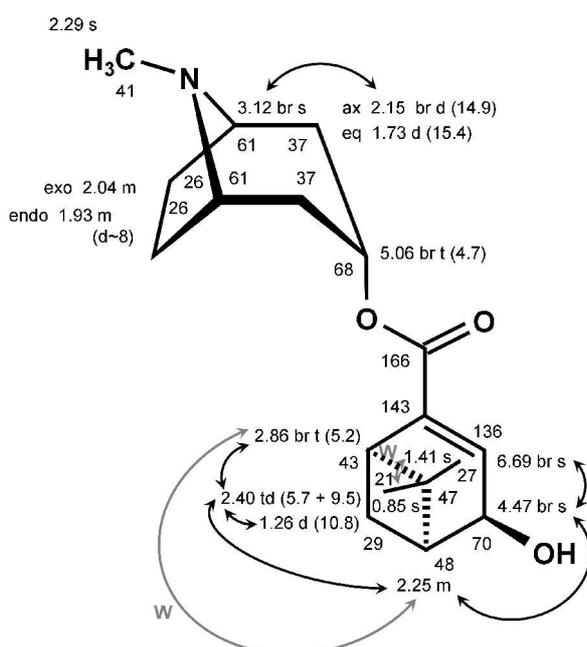


Abb. 85:
 Meßwerte aus den Kernresonanzspektren von Verbindung **23** mit Kopplungssequenz aus dem H-H-COSY

Daß es sich um eine dem Bonabilin A verwandte Verbindung handeln muß, wird auch aus den identischen Fragmenten m/z 236 und m/z 220 im EIMS ersichtlich, die aus einer Retro-Diels-Alder-Reaktion mit der Abgangsgruppe $(\text{H}_3\text{C})_2\text{C}'\text{-CH=CH}_2$ bzw. $(\text{H}_3\text{C})_2\text{C=CH-CH}_2'$ und anschließendem Verlust von Sauerstoff resultieren.

Bezüglich der Stereochemie kann wie bei Bonabilin A (s. 2.2.4.2.4.1) für die Hydroxygruppe durch das mit δ 0.85 sehr hoch liegende Signal der 9'-Methylgruppe eine *trans*-Stellung zur Dimethylmethylenbrücke postuliert werden. Bei den planaren Pinen-Derivaten kann die Kopplungskonstante der *W*-Kopplung zwischen H-4' und H-7'd nicht beobachtet werden, da sie weit unter 0.5 Hz liegt (Abraham *et al.*, 1973).

Daraus ergibt sich die untenstehende relative Konfiguration der Acylkomponente:

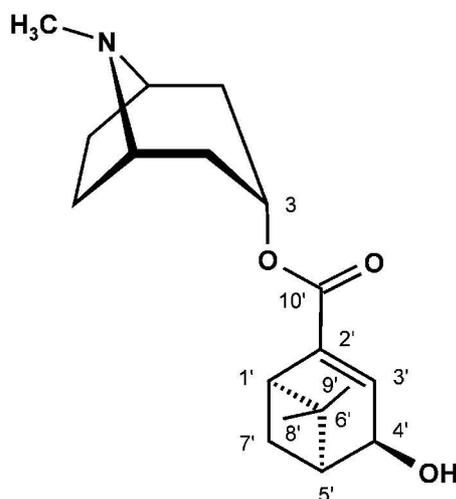


Abb. 86: Bonabilin B (**23**)

Bei der isolierten Verbindung **23** handelt es sich also um das 1'*R*,4'*R*,5'*S*- bzw. das 1'*S*, 4'*S*, 5'*R*- 8-Methyl-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-yl-4-hydroxy-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-en-2-carboxylat, das den Namen **Bonabilin B** erhielt.

Bonabilin B ist somit das 2',3'-Anhydroderivat von Bonabilin A. Die Acylkomponente kann daher als **2,3-Anhydrobonabilsäure** angesehen werden. Sie ist noch nicht als Naturstoff beschrieben, wurde allerdings als Metabolit von Myrtenal beim Hasen gefunden und in diesem Zusammenhang als 4-Hydroxymyrtensäure bezeichnet (Ishida *et al.*, 1982).

2.2.4.2.4.3 Weitere Bonabiline

Zusätzlich zu den neu beschriebenen 3 α -Tropanolestern Bonabilin A (**22**) und Bonabilin B (**23**) konnten aus *Bonamia spectabilis* weitere, mutmaßlich verwandte Verbindungen gewonnen werden, die jedoch mangels Substanz nicht abschließend strukturaufgeklärt

werden konnten. Aus den aufgenommenen $^1\text{H-NMR}$ - und EIMS-Spektren lassen sich jedoch interessante Details zu denkbaren Strukturvarianten ableiten. Diese sind im Folgenden aufgeführt.

Mit **BonSpecWu 49B** konnte aus den Wurzeln ein Isomer erhalten werden, bei dem sich die Methylgruppen im $^1\text{H-NMR}$ bei δ 1.30 und δ 0.95 befinden. Verglichen mit Bonabilin A (δ 1.30 und δ 0.77) ist das Signal von $\text{CH}_3\text{-9'}$ um etwa 0.2 ppm tieffeldverschoben. Laut Abraham *et al.* (1972) läßt sich daraus schließen, daß sich die 4'-OH-Gruppe und die Dimethylmethylenbrücke an C-5' in *cis*-Stellung befinden. Das Dublett-Dublett von H-4' bei δ 4.08 zeigt außerdem keine große axial/axial-Kopplung ($J \approx 8$ Hz). Die leichte Hochfeldverschiebung des Dublett-Dubletts von H-3' (δ 4.73) im Vergleich zu Bonabilin A (δ 4.82) könnte ein Hinweis darauf sein, daß H-3' und H-2' hier *trans*-ständig zueinander sind. Es handelt sich also um ein Derivat von Bonabilin A mit abweichender Stereochemie der Acylkomponente.

Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **BonSpecWu 34B** weist im Bereich zwischen δ 4.0 und δ 5.0 nur ein einziges Signal auf, nämlich ein Triplet bei δ 4.09 mit $J = 5.0$ Hz. Es ist also nur noch eine Hydroxygruppe vorhanden, wobei dies aufgrund der Lage des Signals die 4'-OH-Gruppe sein dürfte. In Zusammenhang mit den Ergebnissen der GC-MS-Vermessung des Fraktionsgemisches **34-40** vor der Auftrennung, bei der als eine der Hauptverbindungen ein 3-Tropanolester mit der Molmasse MG 307 auffiel, kann ein in Position 3' dehydroxylierter Bonabilin A-Verwandter postuliert werden.

Die Extraktion des Krautes von *Bonamia spectabilis* und anschließende Fraktionierung erbrachte ebenfalls Hinweise auf weitere Isomere.

Die Fraktionen **BonSpecKr 60-69** stellen ein Gemisch aus zwei Substanzen dar, wobei bei einer von beiden die Methylgruppen $\text{CH}_3\text{-8'}$ und $\text{CH}_3\text{-9'}$ zu Dubletts mit einer Kopplungskonstante von etwa 7 Hz aufgespalten sind. In diesem Fall sind die Methylgruppen also einem einfach protonierten tertiären Kohlenstoff benachbart. Denkbar ist, daß es sich hier um die ringoffene Form handelt, die durch Spaltung der Bindung zwischen C-1' und C-6' entsteht.

Auch die Fraktionen **BonSpecKr 70-80** enthielten zwei Verbindungen; in Betracht kamen anhand des EI-Massenspektrums Bonabilin A oder ein Konfigurationsisomer (MG 323 BP 124) und dessen Nor-Derivat mit MG 309 und BP 110.

Durch weitere Auftrennung konnte als Substanz **70B** der Nortropanolester von Bonabilin A wahrscheinlich gemacht werden, da im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum das Singulett der N-Methylgruppe fehlt. Bestätigend findet sich das breite Singulett von H-1 und H-5 auffällig tieffeldverschoben bei δ 3.65. Desweiteren läßt sich bei δ 2.61 das einem Proton entsprechende breite Singulett der N-H-Gruppe ausmachen. Die übrigen Signale stimmen weitestgehend mit denen von Bonabilin A überein.

Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Substanz **70A** ähnelt dem von Bonabilin A, weist aber im Bereich der Acylkomponente interessante Abweichungen auf. Diese sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

Tab. 19: von Bonabilin A abweichende $^1\text{H-NMR}$ -Werte der Substanz 70A

	Bonabilin A			Verbindung 70A		
	δ	Multiplett	Kopplung	δ	Multiplett	Kopplung
H-1'	2.56	<i>dt</i>	2.9 Hz; 5.8 Hz	2.45	<i>br d</i>	6.3 Hz
H-2'	2.80	<i>t</i>	3.2 Hz	2.73	<i>dd</i>	1.9 Hz; 6.0 Hz
H-3'	4.82	<i>dd</i>	3.6 Hz; 7.8 Hz	4.72	<i>dd</i>	3.9 Hz; 5.9 Hz
H-4'	4.28	<i>ddd</i>	1.4 Hz; 3.0 Hz; 7.7 Hz	4.09	<i>t</i>	3.3 Hz
H-5'	2.14	<i>dt</i>	3.2 Hz; 5.4 Hz	2.14	<i>dd</i>	3.7 Hz; 6.3 Hz

Betrachtet man die Kopplungskonstanten, so ist anzunehmen, daß sich die Stereochemie in den Positionen 2' und 4' verändert hat. Im Unterschied zu Bonabilin A befindet sich H-2' also in axialer Stellung und H-4' in äquatorialer. Das erklärt auch das Fehlen der W-Kopplung zwischen H-4' und H-7'd. Daß die chemischen Verschiebungen insbesondere von H-2' und H-3' kleinere Werte zeigen, läßt sich außerdem durch die *trans*-Stellung der Substituenten in diesen Positionen begründen.

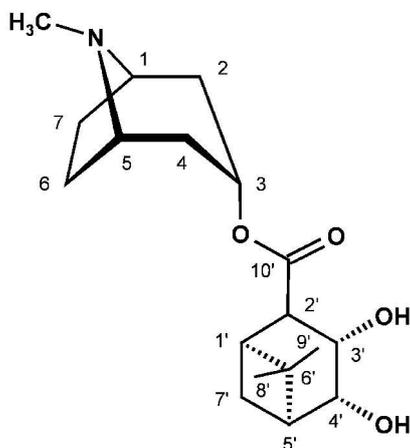


Abb. 87: Strukturvorschlag für Substanz **70A**

Die Signale der Acylkomponente erinnern an Substanz **49B** aus den Wurzeln; diese zeigt allerdings u. a. ein abweichendes Kopplungsmuster an H-4', das als Dublett-Dublett ($J = 3.0$ und 3.6 Hz) erscheint.

Die so erhaltenen Informationen über mit den Bonabilinen verwandte Verbindungen, die jedoch nicht in Reinform gewonnen werden konnten, finden Verwendung bei den Ausführungen zu möglichen Strukturvarianten in der Diskussion zu den Inhaltsstoffen von *Bonamia spectabilis* (s. 3.6).

2.2.4.3 Disubstituierte Tropane

Über die Isolierung disubstituierter Tropanalkaloide aus Convolvulaceae gibt es nur vereinzelt Berichte. In dem auf die phytochemische Untersuchung von Windengewächsen spezialisierten Arbeitskreis um Prof. Eich wurde mit Merredissin bisher lediglich ein Diester eines Tropandiols isoliert. Er wurde als $3\alpha,6\beta$ -Di-*p*-methoxybenzoyloxytropan identifiziert (Henrici, 1996). Dies mag auch darin begründet liegen, daß disubstituierte Tropane tendenziell hydrophiler und daher beim konventionellen Trennungsgang vermutlich vermehrt in der Wasserphase anzutreffen sind.

Zu beachten ist hinsichtlich der Stellung der Substituenten am Tropan-Grundgerüst, daß zwei unterschiedliche Zählweisen existieren.

- Bei der ursprünglichen Zählweise wird der Tropankörper linksherum beziffert. Der dem Betrachter zugewandte Kohlenstoff der Stickstoff-Brücke trägt also die Ziffer 1. Publikationen des Arbeitskreises um Prof. Hartmann mit Witte (Braunschweig), die insbesondere bei der Auswertung der Ergebnisse des GC-MS-Screenings als Referenz herangezogen wurden, folgen noch dieser Variante.
- In Band **33** der Reihe *The Alkaloids* greift Lounasmaa (1988) dieses Problem auf. Er schlägt als einheitliche Zählweise die Bezifferung im Uhrzeigersinn vor. Dieses auch von Hesse und Bernhard (1975) – auf die sich viele Veröffentlichungen beziehen – verwendete Nummerierungssystem hat den Vorteil, daß bei einer der wichtigsten Gruppen der Tropanalkaloide, den in Position 2 carboxylierten Coca-Esteralkaloiden, das Substitutionsmuster mit den kleinstmöglichen Ziffern beschrieben werden kann.

Diese Arbeit folgt der von Lounasmaa favorisierten Zählweise, bei der das dem Betrachter abgewandte stickstoffsubstituierte Brückenkopf-Kohlenstoffatom die Ziffer 1 erhält.



Abb. 88: Ringsystem der Tropanalkaloide mit Bezifferung (aus Lounasmaa, 1988)

2.2.4.3.1 Ipvelutin aus *Ipomoea velutina* R. Br.



Abb. 89:

Ipomoea velutina R. Br.
in Northern Territory, Australien

Herkunft: Australien

Beschreibung:

Robert Brown's vermischte botanische Schriften
(Brown, 1827);

Flora Australiensis (Bentham, 1863-1878)

Ipomoea velutina ist ein australischer Endemit und laut dem Australian Plant Census (CHAH, 2006) sowie dem Australian Plant Name Index (APNI) des Australian National Herbarium überwiegend in Queensland und dem Northern Territory beheimatet.

Brown fand sein Exemplar auf den Inseln des im Norden von Australien gelegenen Golf von Carpentaria. Das zur Anzucht verwendete Samenmaterial dieser auf Australien beschränkten Art stammt aus dem Litchfield National Park, Northern Territory.

Diese *Ipomoea* bildet sowohl windende Sproßachsen, als auch Ausläufer aus. Die gestielten, ungeteilten Blätter sind herzförmig mit abgerundeter bis stumpfer Spitze und seitlichen Aussparungen. Beide Organe sind mit mikroskopisch kleinen, verfilzenden Wollhaaren bedeckt. Die Pflanzen bilden einen vielblütigen primären Blütenstand mit ebenfalls abgerundeten, aber unbehaarten Kronblättern aus. Bei der Kultivierung im instituts-eigenen Gewächshaus konnte allerdings kein blühendes Exemplar erhalten werden.

In den „Tables of composition of Australian aboriginal foods“ von Brand Miller *et al.* (1993) wird *Ipomoea velutina* interessanterweise als indigenes Lebensmittel aus Wildsammlung beschrieben.

Die GC-MS-Untersuchung des Basen-Extrakts des Krautes von *Ipomoea velutina* zeigte, daß dieser ganz überwiegend aus einer Hauptverbindung bestand. Zu deren Gewinnung wurden 235 g z. T. durch Schädlingsbefall welkendes Kraut getrocknet, gemahlen und extrahiert. 33.5 g Trockenrückstand wurden in 2%iger wäßriger Weinsäure-Lösung aufgenommen und gemäß der eluotropen Reihe ausgeschüttelt. Zur Aufreinigung wurde der Trennungsgang mit jeweils 50 mL Lösemittel nochmals vollzogen. Die erhaltenen 10 mg Rohbase wurden als Verbindung **24** direkt der Vermessung zugeführt.

Der Molpeak im EIMS liegt bei m/z 281 und lässt aufgrund der ungeraden Masse ein stickstoffhaltiges Molekül vermuten. Bestätigend kann aus dem HRMS die Summenformel $C_{15}H_{23}NO_4$ abgeleitet werden.

Auffällig im 1H -NMR ist ein Dublett-Quartett bei δ 6.96 mit Kopplungskonstanten von 1.2 Hz und 6.9 Hz, dessen chemische Verschiebung für ein olefinisches Proton spricht. In Kombination mit dem breiten Signal bei etwas über δ 1.8, das in $CDCl_3$ als zwei Methylgruppen-Dubletts mit $J = 0.9$ Hz (allylische Kopplung; δ 1.81) und $J = 7.1$ Hz (vicinale Kopplung; δ 1.84) entschlüsselt werden kann, wird ein Tiglat wahrscheinlich. Die entsprechenden Peaks der C-Atome finden sich im HSQC bei 139.3 ppm, 14.1 ppm und 11.9 ppm (vgl. dazu Verbindung **4** und Verbindung **14**). Das markante Singulett bei δ 1.93 dürfte von einer Acetoxygruppe ausgeprägt werden, wofür auch die Lage des zugehörigen C-Atoms bei 21.9 ppm im HSQC spricht. Diese Methylgruppe liegt im apolareren $CDCl_3$ deutlich tieffeldverschoben bei δ 2.06, was auch mit den Erfahrungswerten übereinstimmt (vgl. hierzu Verbindungen **8-10**). Von ihrer chemischen Verschiebung her Teil dieser Estergruppierungen lassen sich aus dem HMBC die Signale zweier Carbonyl-Kohlenstoffe bei 167.8 ppm und 176.7 ppm entnehmen. Der zweite Doppelbindungs-Kohlenstoff findet sich bei 129.0 ppm.

Verbindung **24** ist also ein Ester mit Tiglinsäure, sowie Essigsäure. Das EI-Massenspektrum weist dementsprechend die Zerfallsionen m/z 83 (HRMS: $[C_5H_7O]^+$) und m/z 43 auf, die durch α -Spaltung in Nachbarschaft zu den Carbonylgruppen entstehen.

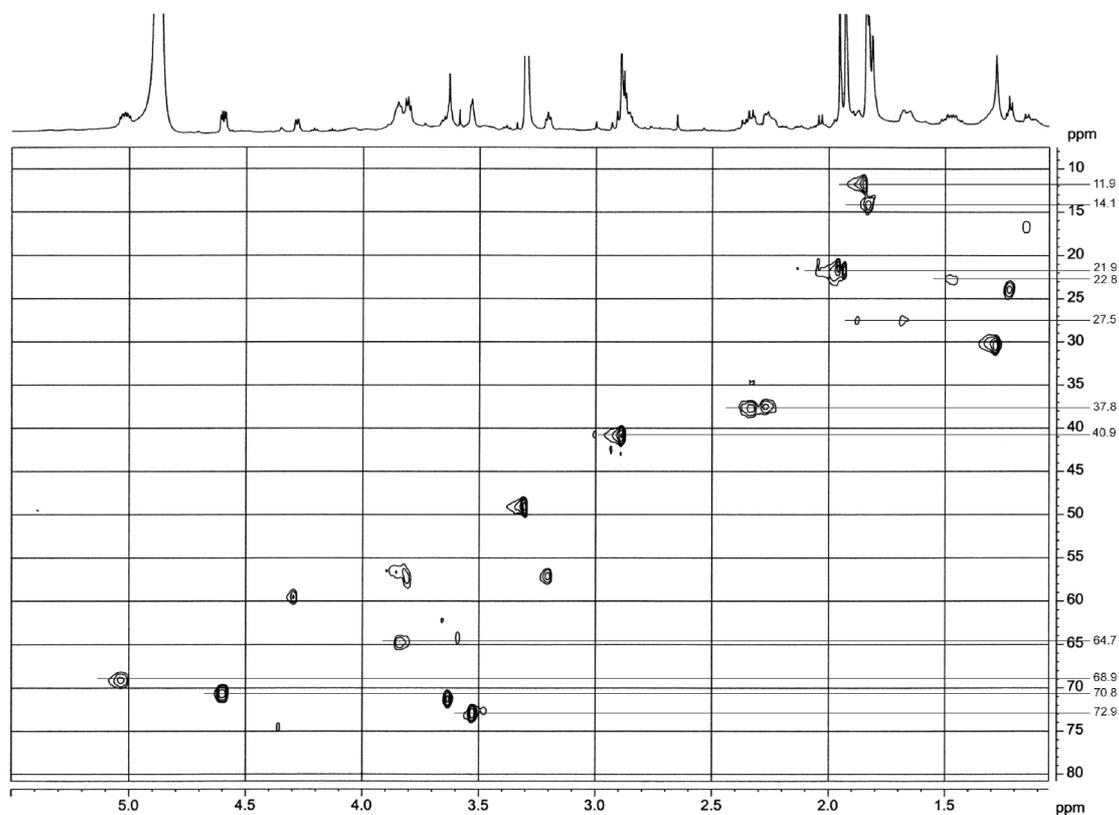


Abb. 90: HSQC von Verbindung **24** (in MeOD)

Zur Identifizierung des basischen Grundkörpers wurde zunächst eine Reihe verschiedener Kernresonanzspektren erstellt. Es wurden zwei ^1H -NMR-Spektren (in MeOD und CDCl_3) aufgenommen, sowie ein H-H-COSY, ein HSQC und ein HMBC (alle in MeOD). Unter Verwendung der so erhaltenen Daten wurde nachfolgende **Tab. 20** zusammengestellt.

Tab. 20:

aus den Kernresonanzspektren erhaltene Daten von Verbindung 24 (alle Werte in MeOD)

^{13}C -NMR-Werte (aus HSQC bzw. HMBC)	^1H -NMR-Werte	H-H-COSY- Korrelationen	HMBC-Korrelationen
176.7			mit 1.93
167.8			mit 1.84
139.3	6.96 <i>dq</i> (1.2; 6.9)		mit 1.84, 1.83
129.0			mit 1.84, 1.83
72.9	3.55 <i>br d</i> (3.2)	mit 5.02	mit 2.36, 1.98
70.8	4.61 <i>dd</i> (3.4; 7.9)	mit 2.36, 2.27	
68.9	5.02 <i>ddd</i> (2.2; 5.9; 11.3)	mit 3.55, 1.98, 1.49	mit 3.55, 1.98, 1.89, 1.49
64.7	3.82 <i>br t</i> (5.2)	mit 2.27, 1.68	mit 3.55, 2.27
40.9	2.91 <i>s</i>		
37.8	2.36 <i>dd</i> (8.0; 14.6) 2.27 <i>ddd</i> (3.5; 6.3; 14.7)	mit 4.61, 2.27 mit 4.61, 3.82, 2.36	
27.5	1.89 <i>m</i> (4.9; 11.9; 13.7) 1.68 <i>ddd</i> (2.3; 6.7; 13.7)	mit 1.68, 1.49 mit 3.82, 1.89, 1.49	mit 2.36, 2.27, 1.98, 1.49
22.8	1.98 <i>m</i> (u. a. 6.0) 1.49 <i>dtd</i> (6.4; 12.1; 12.8)	mit 5.02 mit 5.02, 1.89, 1.68	mit 3.55, 1.68
21.9	1.93 <i>s</i>		
14.1	1.84 <i>d</i> (0.9)		
11.9	1.83 <i>d</i> (7.1)		

Das drei Protonen entsprechende Singulett bei δ 2.91 mit dem zugehörigen Kohlenstoff bei 40.9 ppm dürfte von einer N-Methylgruppe stammen. In Übereinstimmung mit der im HRMS ermittelten Summenformel verbleiben sieben magnetisch nicht äquivalente C-Atome; es handelt sich also nicht um ein symmetrisches Molekül, wie es bei den 3-Tropanolestern der Fall ist. Da die Signale bei 37.8 ppm, 27.5 ppm und 22.8 ppm Korrelationen zu jeweils zwei Protonen zeigen, können sie als Methylengruppen erkannt werden.

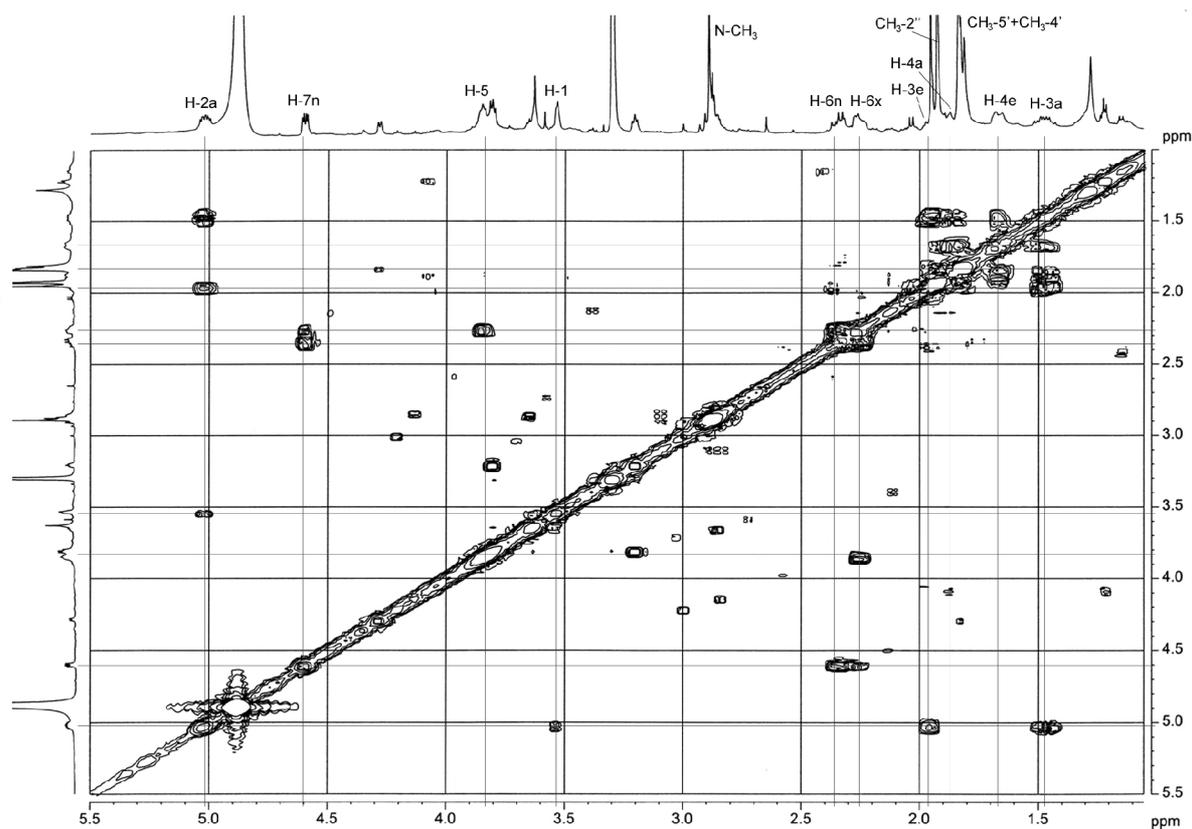


Abb. 91: H-H-COSY von Verbindung **24** (in MeOD)

Ausgehend von dem breiten Dublett, das mit δ 3.55 wohl von einem dem Stickstoff benachbarten Wasserstoff stammt, läßt sich aus dem H-H-COSY eine vollständige Kopplungssequenz ableiten. δ 3.55 nämlich zeigt eine Korrelation zu δ 5.02, mutmaßlich ein an einen Sauerstoff grenzendes H-Atom. Letzteres koppelt mit beiden Protonen der Methylengruppe bei 22.8 ppm. Das bei δ 1.49 befindliche Proton tritt in Korrelation mit den beiden H-Atomen einer weiteren Methylengruppe bei 27.5 ppm. Deren Wasserstoff bei δ 1.68 koppelt mit einem auffällig tieffeldverschobenen Proton bei δ 3.82. Dieses wiederum korreliert mit einem der beiden Protonen der dritten Methylengruppe bei 37.8 ppm. Sowohl der Wasserstoff bei δ 2.36, als auch der bei δ 2.27 weisen eine Kopplung zu dem vermutlich unter Einfluß von Sauerstoff stehenden Proton bei δ 4.61 auf.

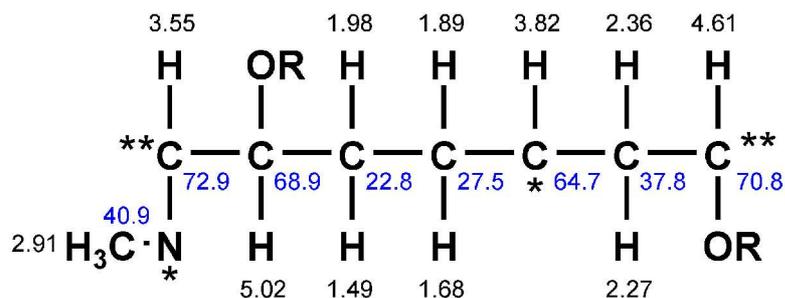


Abb. 92: Kohlenstoffkette aus dem H-H-COSY

Anhand der HMBC-Korrelation zwischen dem Kohlenstoff bei 64.7 ppm und dem Proton bei δ 3.55 kann der Ringschluß über den dazwischenliegenden Stickstoff vollzogen werden und führt zu einem Piperidin-Cyclus (*). Der zweite Ringschluß zwischen den Kohlenstoff-Atomen bei 72.9 ppm und 70.8 ppm kann aus der HMBC-Korrelation zwischen 72.9 ppm und dem Proton bei δ 2.36 abgeleitet werden. Resultat dieser Verknüpfung ist einen Pyrrolidin-Ring (***) als weiterer Bestandteil des bicyclischen Ringsystems. Es ergibt sich folgende Grundstruktur:

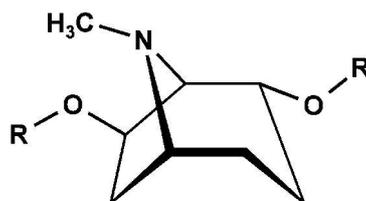


Abb. 93: basischer Grundkörper von Verbindung **24**

Somit kann Verbindung **24** als 2,7-disubstituiertes Tropan, das zum einen mit Tiglinsäure und zum anderen mit Essigsäure verestert ist, identifiziert werden. Die Verteilung der ^{13}C -NMR-Werte ist mit der beim 2 β ,7 β -Dihydroxynortropan (Erycibellin) vergleichbar (Lu *et al.*, 1986), allerdings weichen die ppm-Werte von Verbindung **24** aufgrund der Methylierung des Stickstoff und der Veresterung der beiden OH-Gruppen etwas ab.

Anhand des typischen Massenerfalls 6- bzw. 7-substituierter Tropane kann die Lage der Reste bestimmt werden. Bei der Strukturaufklärung dieser am Pyrrolidin-Ring substituierten Tropane wurde beobachtet, daß sich die molekulare Zusammensetzung angeesterter Säuren anhand des Fragments $[\text{M} - \text{X}-\text{COO}-\text{CH}=\text{CH}_2]^+$ aus dem Massenspektrum ableiten läßt (z. B. Lounasmaa, 1975; Evans und Ramsey, 1981b; Al-Said *et al.*, 1989). Zu beachten gilt es hier, daß in vielen Literaturstellen die alte Zählweise des Tropan-Grundgerüsts verwendet wird, und demzufolge das in dieser Arbeit mit 7 bezifferte Kohlenstoffatom dort die Position 6 bekleidet (s. 2.2.3.3).

Ein wichtiges Indiz bei der Ermittlung des Substitutionsmusters ist also das charakteristische Fragmentation der Molmasse $[\text{M} - \text{X}-\text{COO}-\text{CH}=\text{CH}_2]^+$, das durch Abspaltung der Ethylenbrücke mitsamt dem Ester entsteht. Beim 3 α -Hydroxy-7 β -phenylacetoxy-nortropan beispielsweise ist die Brückenabspaltung der Hauptfragmentierungsschritt, wobei $[\text{M} - \text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{COO}-\text{CH}=\text{CH}_2]^+$ als Basispeak m/z 99 in Erscheinung tritt (Khattak *et al.*, 2002). Bezogen auf Verbindung **24** käme zum einen das Fragmentation $[\text{M} - \text{H}_3\text{C}-\text{COO}-\text{CH}=\text{CH}_2]^+$ mit m/z 195 in Betracht, zum anderen das Fragmentation $[\text{M} - \text{H}_7\text{C}_4-\text{COO}-\text{CH}=\text{CH}_2]^+$ mit m/z 155. Nur bei m/z 195 ist ein deutlicher Peak zu beobachten. Analog hierzu findet sich bei dem ebenfalls in Position 7 acetylierten Knightalbinol das durch den Verlust der acetylierten Ethylenbrücke gebildete Massefragment $[\text{M}-86]^+$ (Lounasmaa *et al.*, 1980) sowie beim 6 β (= 7 β)-Acetoxy-3 α -benzoyloxy-tropan (Al-Said *et al.*, 1989). Diesen Fragmentierungsschritt nutzen auch Wang *et al.* (1989) zur Differenzierung der aus *Erycibe hainanensis* gewonnenen 2,6- bzw. 2,7-disubstituierten Nortropane und ihrer Derivate. Somit kann bei Verbindung **24** der **Acetoxygruppe** Position **7** zugewiesen werden; die **Tiglinsäure** ist folglich in Position **2** angeestert.

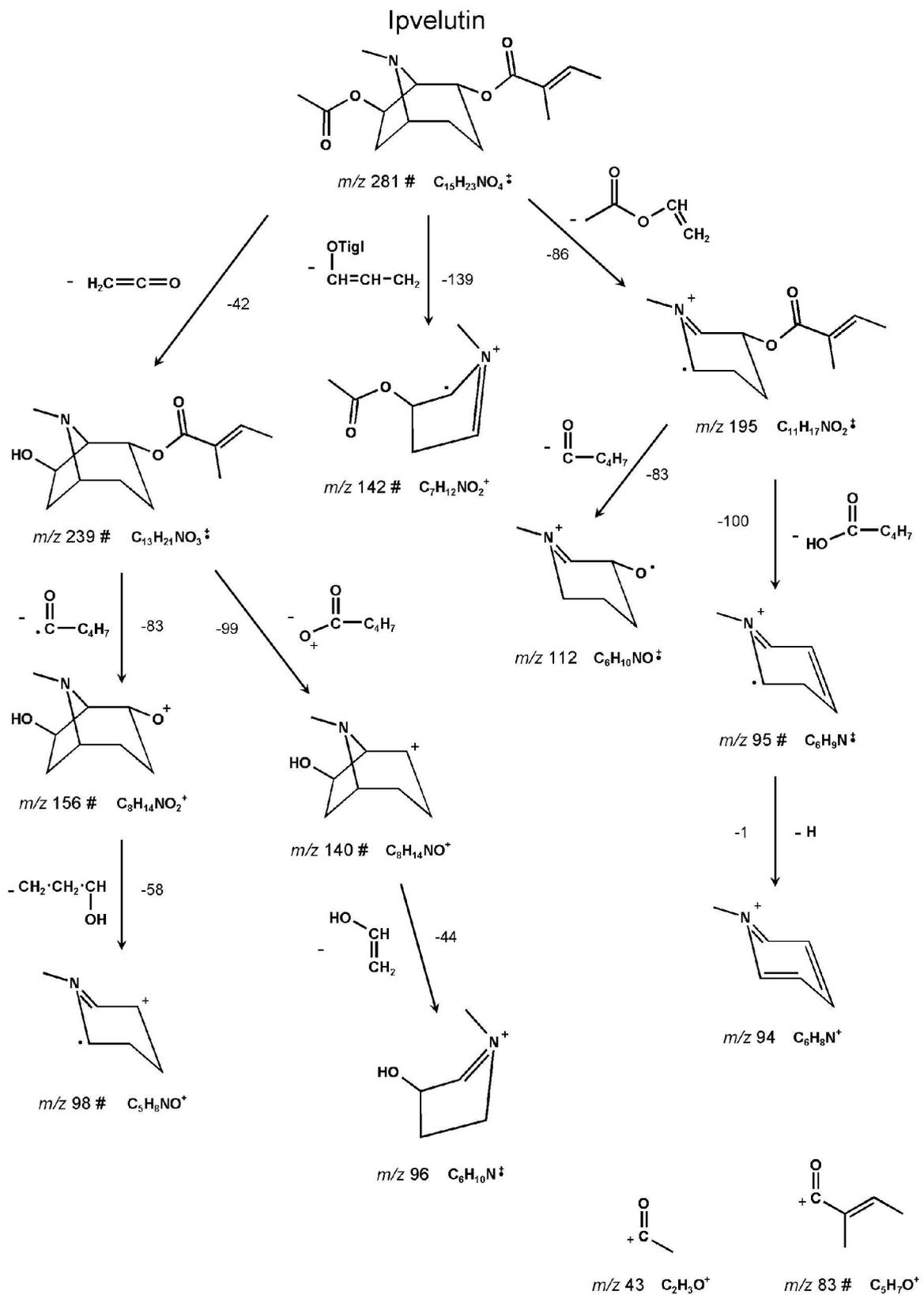


Abb. 94: EIMS-Fragmentierungsschema von Verbindung 24

Weitere typische Massebruchstücke gehen aus der mutmaßlichen Zerfallskaskade hervor (**Abb. 94**; unter Verwendung von: Parello *et al.*, 1963; Blossey *et al.*, 1964). Diese liegen bei m/z 239, m/z 142, m/z 140, m/z 112, m/z 98, m/z 96, m/z 95 und m/z 94 mit Basispeak bei m/z 156. Durch hochauflösende Massenspektrometrie in ihrer molekularen Zusammensetzung bestätigte Fragmente sind mit # gekennzeichnet.

Die Substituenten in den Positionen 6 und 7 des Tropankörpers sind aus sterischen Gründen in der Regel *exo*-ständig. Die β -Stellung der Acetoxygruppe bei Verbindung **24** kann allerdings auch aus der Signalaufspaltung und den Kopplungskonstanten von H-7 im $^1\text{H-NMR}$ abgeleitet werden. H-7 bildet ein Dublett eines Dubletts bei δ 4.61 mit $J = 3.4$ und 7.9 Hz aus. Doppeldubletts fast identischer Kopplungskonstanten treten beim 3α -Hydroxy- 7β -phenylacetoxynortropan aus *Erythroxylum moonii* (Khattak *et al.*, 2002) und bei den ebenfalls 7β -substituierten Schizanthinen C-E aus *Schizanthus grahamii* (San-Martín *et al.*, 1987) auf. Die für die *endo*-ständigen Protonen der Ethylenbrücke charakteristische Kopplungskonstante von 8.0 Hz findet sich auch beim H-6n der Verbindung **24** wieder, zusammen mit der geminalen Kopplung von 14.6 Hz zum *exo*-ständigen H-6x. Im Unterschied zu den in den Positionen 6 und 7 unsubstituierten 3-Tropanolestern kann hier eine Tieffeldverschiebung des *endo*-ständigen H-6n beobachtet werden, was zu einer Veränderung der Reihenfolge der Signale im $^1\text{H-NMR}$ führt. Außerdem kann keine Kopplung zwischen H-1 und H-7 beobachtet werden, wie es bei einem *exo*-ständigen Proton an C-7 der Fall wäre.

Auch die Stellung der Tiglinsäure in Position 2 kann anhand der Kopplungskonstanten des betreffenden Protons im $^1\text{H-NMR}$ ermittelt werden. Zum Vergleich dient das von Asano *et al.* (2001) isolierte $2\alpha,7\beta$ -Dihydroxynortropan. Wie auch schon bei Johns *et al.* (1971) wird dort die α -Stellung des Substituenten an C-2 durch das Auftreten einer *trans*-diaxialen Kopplungskonstante von etwa 10 Hz begründet. Diese Kopplung mit dem axialen H-3 kann nur auftreten, wenn sich der Acylrest in äquatorialer Position befindet und das geminale Proton demzufolge die axiale β -Stellung einnimmt. Das wie beim $2\alpha,7\beta$ -Dihydroxynortropan zum Dublett-Dublett-Dublett aufgespaltene Signal von H-2 weist außerdem eine identische Kopplung von 5.9 Hz zum äquatorialen H-3 auf, sowie eine bedeutend kleinere zu H-1. Im Gegensatz dazu finden sich beim 2β -Hydroxy- 6β -acetoxynortropan (Bao Gong Teng A) lediglich die Kopplungskonstanten $J = 3$ Hz und 6 Hz des damit äquatorialen Protons in Position 2; es tritt keine diaxiale Kopplung von 10 Hz auf (Yao *et al.*, 1981). Für Verbindung **24** kann also eine $2\alpha,7\beta$ -Konfiguration hergeleitet werden.

Die Stellung der Substituenten kann durch NOE-Messungen untermauert werden. H-2 bei δ 5.02 zeigt NOE-Korrelationen zu H-1 (δ 3.55), dem äquatorialen H-3e (δ 1.98), dem axialen H-4a (δ 1.89) und einem der Protonen der N-Methylgruppe (δ 2.91). Der NOE-Effekt zwischen H-2 und einem der beiden H-4 kann nur durch die axiale Position beider Protonen hervorgerufen werden (s. a. Asano *et al.*, 2001).

Auch die β -Konfiguration an C-7 findet im NOE ihre Bestätigung. H-7 bei δ 4.61 korreliert mit H-1 (δ 3.55) und – was nur durch eine *endo*-Stellung des Protons ermöglicht wird – mit dem *endo*-ständigen H-6n (δ 2.36) und dem axialen H-3a (δ 1.49). Der NOE-Effekt zwischen H-3' (δ 6.96) und CH₃-4' (δ 1.83) bestätigt die Zuordnung der Meßwerte bei den Methylgruppen der Tiglinsäure.

In Übereinstimmung mit Khattak *et al.* (2002) kann auch bei Verbindung **24** aufgrund der chemischen Verschiebung zu etwa 40 ppm von einer äquatorialen Stellung der N-Methylgruppe am Tropan ausgegangen werden.

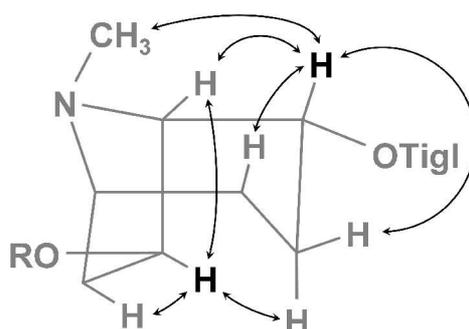


Abb. 95: NOE-Effekte bei Verbindung **24**

Verbindung **24** konnte somit als 7 β -Acetoxy-2 α -tigloyloxytropan identifiziert werden und erhielt den Trivialnamen **Ipvelutin** (relative Konfiguration; Enantiomer auch möglich). Daß Ipvelutin im Gemisch mit seinem N-Oxid vorliegt, wird durch Aufnahme eines (+)-FABMS ersichtlich, denn neben dem Peak [M+1]⁺ 282 weist dieses auch einen deutlichen Peak [M+17]⁺ 298 auf.

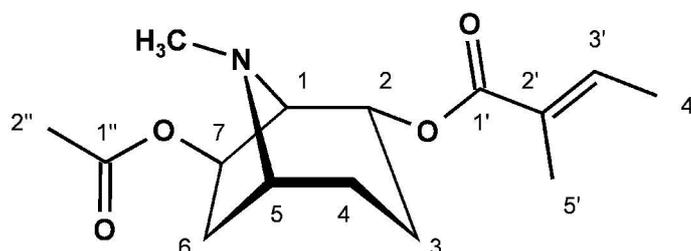


Abb. 96: Ipvelutin (**24**)

2.3 Pharmakologische Testung der Bonabiline

Hinsichtlich ihrer Wirkung auf den menschlichen Körper treten die Tropane als Parasympatholytika in Erscheinung, da sie die Erregungsübertragung durch den muscarinergen Neurotransmitter Acetylcholin antagonisieren.

Die neu entdeckten Bonabiline weisen als Acylkomponenten Monoterpensäuren auf, die bisher einzigartig als Bestandteil von Tropanalkaloiden sind. Es stellte sich nun die Frage, ob derart substituierte 3-Tropanole ebenfalls als m-Cholinozeptor-Antagonisten fungieren können.

Als Testsystem wurden die an den postsynaptischen Membranen des isolierten Meerschweinchenileums lokalisierten M_3 -Rezeptoren verwendet (s. 5.5). Dieses Modell bietet den Vorteil, daß sukzessive Konzentrations-Wirkungs-Kurven von Carbachol in Abwesenheit des Antagonisten, also die Kontrollkurven, in hohem Maße reproduzierbar sind. Für Atropin wurde ein pA_2 -Wert von 9.02 ± 0.06 ermittelt (Pertz und Elz, 1995).

Zur Untersuchung der antagonistischen Potenz der Bonabiline werden 1.5 cm lange Segmente des Meerschweinchenileums in Organbädern mit 20 mL Tyrode-Lösung fixiert. Anhand einer kontinuierlichen Längenveränderungsmessung wird die durch Zugabe von Carbachol induzierte Kontraktion gemessen und aufgezeichnet. Auf diese Weise erfolgt die Aufnahme einer Carbachol-Standard-Kurve. Dieser Vorgang wird in 15minütigen Abständen dreimal wiederholt – bis zur Konstanz des Kurvenverlaufes. Nach einer Ruhephase wird der Antagonist mit einer Einwirkzeit von 10 min zugegeben.

Die antagonistische Potenz findet ihre Entsprechung in der Inhibierung der durch Carbachol induzierten Kontraktion. Es werden erneut kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven von Carbachol, diesmal in Anwesenheit der Testsubstanzen, erstellt.

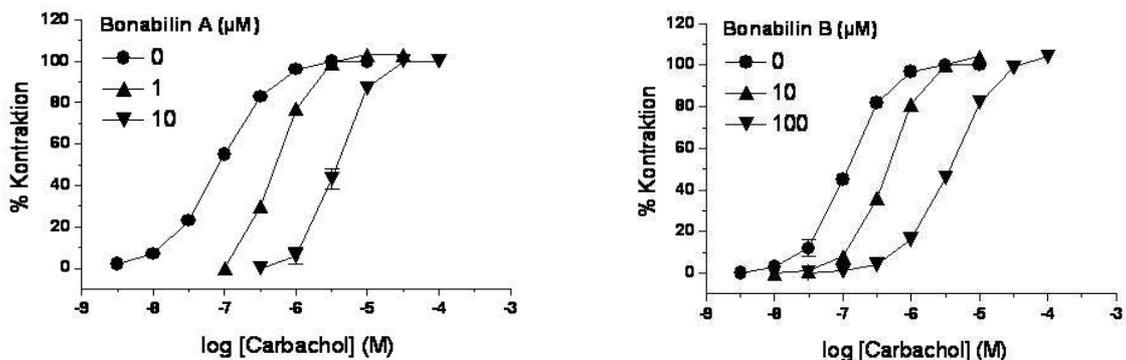


Abb. 97:

Hemmung der Carbachol-induzierten Kontraktion des Meerschweinchenileums durch Bonabilin A und Bonabilin B. Die Daten sind Mittelwerte \pm SEM (vertikale Balken; nur angegeben, wenn größer als das Symbol) von 6-11 Experimenten.

Wie Atropin verschieben auch Bonabilin A und Bonabilin B die Konzentrations-Wirkungs-Kurve konzentrationsabhängig parallel nach rechts ohne eine Absenkung des Maximums.

Bonabilin A zeigt mit $pA_2 = 6.64 \pm 0.03$ eine gute Aktivität als M_3 -Rezeptor-Blocker.

Bonabilin B inhibiert die Carbachol-induzierte Kontraktion des Meerschweinchenileums mit $pA_2 = 5.50 \pm 0.03$ etwa 15mal schwächer.

3

Diskussion

Betrachtet man das Alkaloid-Vorkommen bei Windengewächsen, so läßt sich ganz unabhängig von der chemotaxonomischen Einteilung in Sectiones, Triben und Gattungen eine sehr interessante Beobachtung machen. Grundsätzlich sind bei den Convolvulaceae zwei unterschiedliche Überlebensstrategien ausgeprägt. Zum einen ist dies die Abwehr von Fraßfeinden auf chemischem Weg durch eine Anreicherung alkaloidischer Sekundärstoffe, zum anderen erfolgt eine besondere Ausprägung vegetativer Parameter. Beispielsweise sichert die australische *Ipomoea plebeia* ihr Überleben durch exzessive Samenbildung, die ebenfalls dort endemische *Operculina riedeliana* über eine Ausbreitung der Pflanze über längere Distanzen mittels vier- bis siebensträngiger, kabelartiger Ausläufer. Kleine zierliche Pflanzen sind also oft sehr reichhaltig an Alkaloiden; große, sich schnell ausbreitende Pflanzen sind meist phytochemisch unauffällig, was sich in einem deutlich geringeren Gehalt an Alkaloiden äußert.

In der Diskussion sollen nun zum einen die Ergebnisse des GC-MS-Screenings in einen größeren Kontext gestellt werden, verbunden mit detaillierteren Aussagen über die Verbreitung von Alkaloiden bei Convolvulaceae. Hierzu wird Kapitel 3.1 nach Alkaloidtypen gruppiert; den Anfang bilden die mittels HPLC und DC detektierten Hydroxyzimtsäureamide. Zum anderen finden sich ab Kapitel 3.2 die durch Isolierung und Strukturaufklärung gewonnenen Reinstoffe. Um phylogenetische Zusammenhänge besser aufzeigen zu können, werden sie nach den für ihre Isolierung herangezogenen Arten unterteilt.

Die Screening-Ergebnisse von 32 der hier bearbeiteten 47 Spezies flossen außerdem – in Kombination mit morphologisch-anatomischen und molekularbiologischen Merkmalen – in die kladistische Analyse ein (s. Schimming, 2003), welche Aussagen über die Verwandtschaftsbeziehungen der verschiedenen Convolvulaceen-Arten untereinander erlaubt.

3.1 Alkaloid-Screening

Hydroxyzimtsäureamide

Das aus den Ausläufern von *Operculina riedeliana* gewonnene N-*trans-p*-Cumaroyltyramin wurde bereits aus einer anderen Convolvulaceae isoliert, nämlich aus den Wurzeln von *Argyrea capitata* (VAHL) CHOISY. Daneben konnte es auch in einer weiteren von siebzehn untersuchten Arten dünnschichtchromatographisch nachgewiesen werden (Tofern, 1999). So ist diese Verbindung wohl nicht außergewöhnlich bei Windengewächsen, jedoch bei weitem nicht so häufig wie etwa N-*trans*-Feruloyltyramin (in obiger Arbeit in 13 von 17 untersuchten Arten). Die Erstbeschreibung von N-*trans-p*-Cumaroyltyramin als Naturstoff erfolgte nach Isolierung aus *Evodia belahe*, Rutaceae (Rondelet *et al.*, 1968). Die Stereochemie der Doppelbindung ist nicht angegeben; aufgrund der Kopplungskonstanten der Dubletts der beiden vinyllischen Protonen von 16 Hz kann jedoch von einer Verknüpfung des Tyramins mit *trans-p*-Cumarsäure ausgegangen werden (*cis*-Doppelbindung: $J = 8\text{-}13$ Hz). Desweiteren wird es als wesentlicher Bestandteil von *Actinodaphne* spp., *Cannabis sativa*, *Allium chinense* und *Vicia faba* beschrieben (Chapman & Hall, 1982-2001).

Das aus dem Kraut von *Ipomoea plebeia* isolierte N-*trans*-Feruloyltyramin wurde ebenfalls bereits als Inhaltsstoff verschiedener Convolvulaceen-Spezies gewonnen: aus dem Kraut von *Ipomoea purpurea* (L.) ROTH (Trumm, 1991) und neben dem *cis*-Isomer aus dem Kraut von *Ipomoea regnellii* MEISN. (Mann, 1997), dem Kraut von *Ipomoea hederifolia* L. (Jenett-Siems, 1996) und den Sproßachsen von *Ipomoea aquatica* FORSK. (Tseng *et al.*, 1986). Seine Erstisolierung erfolgte aus den Wurzeln der Aubergine *Solanum melongena*, Solanaceae (Yoshihara *et al.*, 1978). Ferner wurde es wie auch N-*p-trans*-Cumaroyltyramin zusammen mit dem jeweiligen *cis*-Isomer, sowie zahlreichen anderen Stoffen aus den frischen Wurzeln und Sproßachsen der in Taiwan endemischen *Aristolochia kankauensis* isoliert (Wu *et al.*, 1994).

Durch ihre Isolierung konnten *N-trans-p*-Cumaroyltyramin und *N-trans*-Feruloyltyramin als Referenzsubstanzen genutzt werden. Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen zeigten, daß *N-trans*-Feruloyltyramin in etwas mehr als der Hälfte der Krautdrogen und etwas weniger häufig in den Wurzeldrogen gefunden werden kann. Der Nachweis in Frucht-, Samen- und Blütendrogen fiel negativ aus. *N-trans-p*-Cumaroyltyramin ist weitaus seltener im sauren Dichlormethan-Extrakt enthalten; so konnte es nur in knapp einem Viertel der Krautproben detektiert werden und in weniger als einem Fünftel der Wurzelproben. In der Regel kommt es hierbei vergesellschaftet mit *N-trans*-Feruloyltyramin vor.

Zudem konnten weitere Hydroxyzimtsäureamide wahrscheinlich gemacht werden: Das Screening der Wurzeln von *Ipomoea hederacea* ließ *N_l*-Feruloylserotonin vermuten. Die dünnschichtchromatographische Analyse verschiedener Drogen von *Ipomoea ochracea* lieferte aufgrund der Farbreaktion mit Echtblausalz B und van Urk-Reagenz Hinweise auf das Vorkommen von Ipobscurinen, die ebenfalls zu den Hydroxyzimtsäureamiden zu zählen sind. Der Versuch, die einzelnen Substanzen mittels GC-MS genauer zu charakterisieren, blieb jedoch erfolglos, da sich Ipobscurine mit dieser Methode nicht nachweisen lassen, was durch das Einspritzen der Reinsubstanzen deutlich wurde. Die für eine weitergehende Strukturaufklärung erforderliche Fraktionierung wurde zurückgestellt.

Die nun folgenden Ergebnisse wurden demgegenüber ausnahmslos in Form von GC-MS-Spektren erhalten.

Pyrrolidine

Sowohl Pyrrolidin-, als auch Tropan-Alkaloide – zudem die Pyrrolizidin-Alkaloide – leiten sich biogenetisch vom Ornithin ab, dem bei den Convolvulaceae somit eine Schlüsselrolle bei der Biosynthese von Alkaloiden zukommt. Während bei den Tropanen und auch den Pyrrolizidinen der Pyrrolidin-Ring Teil eines bicyclischen Grundkörpers ist, stellt er bei den Pyrrolidin-Alkaloiden das zentrale Ringsystem dar.

Bereits bei Woker (1953b) wird die enge strukturelle Beziehung zwischen Hygrin und Tropin (3 α -Tropanol) herausgestellt, wobei sowohl die Spaltung des Piperidin-Ringes des Tropins unter Wasserstoff-Verschiebung zur Enolform des Hygrins, als auch der umgekehrte Prozeß in Erwägung gezogen wurden.

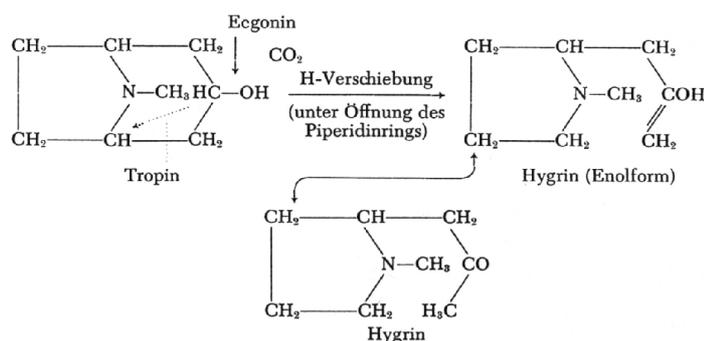


Abb. 98:
Umwandlung des Tropins in Hygrin
(aus Woker, 1953)

Daß es sich bei Hygrin nicht um ein Spaltprodukt des Tropins handelt, sondern Hygrin vielmehr die biosynthetische Vorstufe zu den ringgeschlossenen Tropanen darstellt, wurde mit den heutigen Möglichkeiten der Biochemie eindeutig bewiesen. Die Pyrrolidin-Alkaloide können somit als einfachste Vertreter der vom Ornithin abgeleiteten Alkaloide angesehen werden.

Aufgrund der intensiven Erforschung und damit genauen Charakterisierung ihrer Struktur als Coca-Alkaloide konnte Lazur'evskii (1939) zwei der von ihm aus *Convolvulus hamadae* isolierten Verbindungen als Hygrin und Cuscohygrin identifizieren. Seine Arbeiten stellen den ersten Nachweis von Pyrrolidin-Alkaloiden bei Convolvulaceae dar, besonders beachtlich, zumal es sich um das erste Auftreten außerhalb des Genus *Erythroxylum* (Erythroxylaceae, Ordnung Malpighiales) handelt. Seitdem wurde ihr Vorkommen in der Familie der Windengewächse vielfach bestätigt. Erst hauptsächlich als Inhaltsstoffe von *Convolvulus*-Arten beschrieben (Aripova *et al.*, 1972; Evans und Somanabandhu, 1974), wurden sie bald auch in anderen Gattungen entdeckt (Jenett-Siems, 1996; Henrici, 1996; Mann, 1997; Tofern, 1999). Über die GC-MS-Untersuchung von fünf Arten der Gattungen *Convolvulus*, *Ipomoea* und *Merremia* berichten Jenett-Siems und Eich (1994a), daß Hygrin, Cuscohygrin und die beiden N-Methylpyrrolidinyhygrine gattungsunabhängig in allen Wurzelextrakten enthalten waren.

Die Verbreitung der Pyrrolidin-Alkaloide wurde im Sinne eines potentiellen Familienmerkmals analysiert und kann durch die umfangreichen Screening-Arbeiten im Rahmen der vorliegenden Arbeit für die meisten der knapp 50 Convolvulaceen-Spezies bestätigt werden. So lassen sich Verbindungen vom Hygrin-Typ in fast allen untersuchten Arten der Gattungen *Astripomoea*, *Bonamia*, *Calystegia*, *Convolvulus*, *Dichondra*, *Evolvulus*, *Falkia*, *Ipomoea*, *Lepistemon*, *Maripa*, *Merremia*, *Operculina* und *Polymeria* nachweisen, vorzugsweise in den Wurzeln. Die Aussage von Hartmann *et al.* (1986) und Witte *et al.* (1987), daß die „Akkumulation wurzelspezifisch“ ist und somit auf den Ort der Tropan-Biosynthese beschränkt, wird insofern relativiert, als das Vorkommen von Pyrrolidin-Alkaloiden auch in anderen Pflanzenteilen beobachtet werden kann; allerdings ist der Gehalt dort wesentlich niedriger (s. a. Doerk-Schmitz *et al.*, 1994). Nahezu durchgängig vorhanden sind Hygrin und Cuscohygrin. Hierbei muß Erwähnung finden, daß Cuscohygrin in den Wurzelndrogen meist in recht hoher Konzentration auftritt und nicht selten den Basenextrakt dominiert.

Die Pyrrolidin-Alkaloide sind also ganz eindeutig ein phytochemisches Merkmal der Convolvulaceae und stehen in ihrer Verbreitung sogar noch vor den Tropan-Alkaloiden. Sie sind damit im Hinblick auf die interfamiliäre Abgrenzung von chemotaxonomischer Bedeutung.

Genauere Aussagen über das Vorkommen des nah verwandten Nicotins bei Convolvulaceae können gerade wegen der Fähigkeit der Pflanzen, selbiges aus der Luft aufzunehmen, und der daher rührenden Verfälschungen nicht getroffen werden. Sein häufiges Auftreten erscheint vor dem Hintergrund, daß es für seine Anreicherung in Arten der Schwesterfamilie Solanaceae bekannt ist, aber durchaus plausibel.

Tropane

Die Tropan-Alkaloide bei Convolvulaceae stehen in ihrer Vielfalt den bei Solanaceae auftretenden in nichts nach, wobei quasi als Familiencharakteristikum an die Stelle der von der Tropasäure abgeleiteten Acylkomponenten, die von Kuramersäure abgeleiteten sowie die Monoterpensäure-haltigen treten. Die Tropane können somit ohne Zweifel als chemotaxonomisches Merkmal beschrieben werden, auch wenn durchaus Arten existieren, die keine bzw. eine wenig ausgeprägte Tropan-Biosynthese aufweisen. Die Erkenntnis, daß sowohl die im Vorhergehenden diskutierten Pyrrolidine, als auch die Tropane bei Convolvulaceae nahezu ubiquitär verbreitet sind, kann durchaus als Verdienst des Arbeitskreises Eich (u. a. Jenett-Siems und Eich, 1994a; Schimming, 2003; Jenett-Siems *et al.*, 2005b) angesehen werden. Dies ist nicht zuletzt auf den Einsatz der hochsensiblen GC-MS-Analytik zurückzuführen, die es auch ermöglichte einen vorangegangenen Negativ-Befund zu revidieren: Entgegen der Aussage von Evans und Somanabandhu (1974), daß in *Calystegia silvatica* keine Tropane nachweisbar sind, konnten sehr wohl in Kraut und Wurzeln einfache Tropane und in den Wurzeln zusätzlich Phyllalbin detektiert werden.

Aus Gründen der Übersichtlichkeit macht es Sinn, die Tropan-Alkaloide, die in allen dreizehn analysierten Gattungen nachweisbar sind, in Gruppen zu gliedern, wobei man sich die Tatsache zunutze macht, daß die Unterschiede im Inhaltsstoffspektrum auf der zugrundeliegenden Biosyntheseleistung beruhen. Dies ist im nachfolgenden Schaubild (**Abb. 99**) kurz dargestellt.

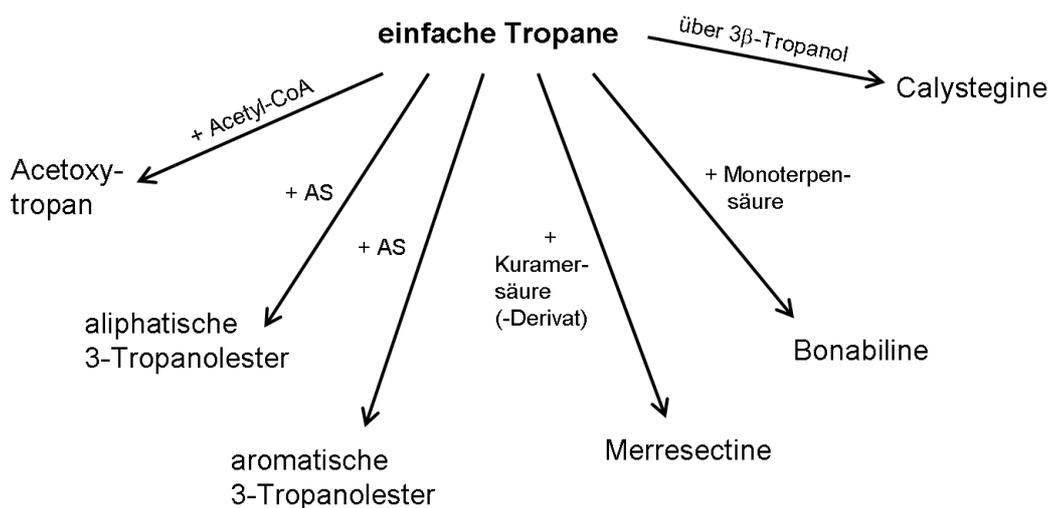


Abb.99: Gliederung der Tropan-Alkaloide dieser Arbeit in Gruppen

Aufgrund des umfangreichen Datenmaterials zu Tropanen in den Convolvulaceen-Spezies dieser Arbeit (s. hierzu 2.1.2 und 2.1.3 sowie 2.2.4) würde es den Rahmen sprengen, alle GC-MS-Ergebnisse an dieser Stelle diskutieren zu wollen. Daher konzentriert sich der nun folgende Text darauf, größere Zusammenhänge und Besonderheiten aufzuzeigen.

Einfache Tropane können nicht nur als gemeinsames Merkmal der Gattung *Merremia* angesehen werden (Jenett-Siems *et al.*, 2005b), sondern anhand der hier erzielten Ergebnisse als nahezu durchgängiges Charakteristikum der Convolvulaceae beschrieben werden. Sie traten in 35 von 47 untersuchten Arten auf, wobei in weiteren acht veresterte Tropanole gefunden wurden, was das Vorkommen der einfachen Tropanole als biosynthetische Vorstufen impliziert. Bei den Spezies *Evolvulus glomeratus*, *Ipomoea pes-tigridis*, *Ipomoea pubescens* und vielleicht auch *Ipomoea hederacea*, *Ipomoea shirambensis*, *Merremia pterygocaulos* und *Operculina riedeliana* repräsentieren einfache Tropane die einzigen auffindbaren Tropan-Alkaloide. Lediglich in drei Arten konnten keinerlei Mitglieder dieser Stoffklasse detektiert werden; im Fall von *Ipomoea coptica* konnte nicht abschließend geklärt werden, ob es sich bei den Verbindungen mit Basispeak m/z 124 tatsächlich um Tropane handelt. Da einfache Tropane in der Schwesterfamilie Solanaceae ebenso häufige Metabolite sind, können sie als plesiomorphes, also erhalten gebliebenes, ursprüngliches Merkmal der Convolvulaceae gewertet werden.

Die größte Gruppe der bei Windengewächsen auftretenden Tropan-Alkaloide sind die 3-Tropanolester. Auch sie können als regelmäßige Bestandteile des Inhaltsstoffspektrums von Windengewächsen angesehen werden: Nur bei vierzehn der untersuchten Convolvulaceen-Spezies waren derartige Verbindungen nicht nachweisbar.

Anhand ihrer Biogenese lassen sich grob drei Zweige unterscheiden: die durch Verknüpfung mit Acetyl-CoA gebildeten Acetoxytropane, die Ester mit aus Aminosäuren gebildeten Acylkomponenten und die mit Acylkomponenten unbekannter Genese unter Beteiligung von aktivem Isopren.

Die einfachste Form der Tropanolester-Bildung stellen die Acetoxytropane dar. Einige Arten scheinen sogar ausschließlich zur Acetylierung der 3-Tropanole befähigt zu sein. Nur 3 α -Acetoxytropan konnte in den Wurzeln von *Ipomoea cholulensis* detektiert werden sowie in den Proben von *Ipomoea tenuirostris* und *Lepistemon urceolatum* – dort zusammen mit dem bei Parr *et al.* (1990) und Dupraz *et al.* (1994) für Solanaceae beschriebenen 3-Acetoxynortropan. In den Wurzeln von *Bonamia trichantha* finden sich ganz überwiegend die 3 β -Isomere, was auch den Ergebnissen im Bereich der einfachen Tropane entspricht. Prinzipiell handelt es sich um die bei Convolvulaceae am weitesten verbreiteten Ester; diese Beobachtung findet sich auch bei Tofern (1999). Erstmals wird in dieser Arbeit nun zudem über die Isolierung der beiden isomeren 3-Acetoxytropane aus einer Convolvulaceae berichtet (s. 2.2.4.2.1).

Acetoxytropan stellt nicht nur im chemischen Sinne den einfachsten 3-Tropanolester dar. Auch aus biosynthetischer Sicht dürfte die Verknüpfung mit Acetyl-CoA (Robins *et al.*, 1991) ein für die Pflanze besonders leicht gangbarer Weg sein, denn aktivierte Essigsäure ist aufgrund ihrer vielfältigen biologischen Funktionen in jeder Pflanze enthalten. Die Bildung von Essigsäureestern bedarf also keiner zusätzlichen Syntheseleistung bezüglich der Acylkomponente.

Bereits Evans und Major (1966) wiesen bei ihrer Erstbeschreibung von biogenem Acetoxytropan auf die Sonderrolle hin, die es unter den 3-Tropanolestern einnimmt, denn alle bis dato bekannten Acylkomponenten ließen sich von Aminosäuren ableiten (s. u.). Dem Überblick über das genuine Auftreten von Tropanen von Lounasmaa und Tamminen (1993) zufolge wurde Acetoxytropan – vornehmlich in seiner 3α -Form – besonders häufig als Inhaltsstoff von Wurzelkulturen verschiedener *Datura*- und auch *Hyoscyamus*-Arten nachgewiesen. Es wurde sogar beobachtet, daß es bei einigen der für derartige Kulturen verwendeten Klone zu einer Akkumulation kommt und zwar zu Ungunsten der in der Stammpflanze natürlich vorkommenden Tropan-Alkaloide (Parr *et al.*, 1990; Giulietti *et al.*, 1993). Bemerkenswert ist auch die Tatsache, daß bei Fütterungsexperimenten aus den exogen zugeführten, radioaktiv markierten Ausgangsstoffen 3α -Tropanol und Tropasäure nicht etwa Hyoscyamin gebildet wurde, sondern das 3α -Tropanol nahezu ausschließlich mit endogener Essigsäure zu 3α -Acetoxytropan verestert wurde (Romeike und Koblitz, 1972). Vermutlich handelt es sich bei der Essigester-Bildung um eine Art Entgiftungsreaktion: Das in großen Mengen unter Umständen auch für die Pflanze toxische Tropanol wird zu Acetoxytropan metabolisiert, da möglicherweise die natürliche Esterbildung gestört ist oder die zur Speicherung notwendige Kompartimentierung nicht stattfindet (Romeike und Aurich, 1968). Sehr interessant sind diesbezüglich auch die weiterführenden Versuche von Romeike (1975): Sie stellte fest, daß der Zusatz von 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure, die ein zur Entdifferenzierung von Gewebe führendes Wachstumshormon darstellt, die Bildung von Acetoxytropan zu Ungunsten der Tropasäure befördert. Demgegenüber beeinträchtigen die die Differenzierung von Gewebekulturen fördernden β -Indolyl- bzw. α -Naphthyl-essigsäure im Nährmedium die natürliche Bildung von Hyoscyamin nicht. Dies kann zugleich als Hinweis auf die komplexere Enzymausstattung, die für die Veresterung mit Aminosäuren vonnöten ist, gewertet werden.

Der ganz überwiegende Teil der 3-Tropanolester wird unter Beteiligung von Aminosäuren gebildet. Sinnvoll erschien eine Einteilung in Ester mit aliphatischen Säuren, deren Acylkomponenten v. a. auf Valin, Leucin, Isoleucin oder Threonin zurückzuführen sind, und Ester mit aromatischen Säuren, die sich fast alle biogenetisch vom Phenylalanin ableiten und damit dem Phenylpropan-Stoffwechsel entstammen. Hierbei entstehen Benzoesäure und Derivate durch Kettenverkürzung aus den entsprechenden Hydroxyzimtsäuren. So wird beispielsweise aus *p*-Hydroxyzimtsäure durch β -Oxidation die *p*-Hydroxybenzoesäure erhalten. Am häufigsten wurden die somit auch in biosynthetischem Zusammenhang stehenden Vanilloyloxytropane und Feruloyloxytropane nachgewiesen. Die einzige Ausnahme bilden die Nicotinoyloxytropane, deren Acylkomponente Nicotinsäure sich von Asparaginsäure ableitet. Im Zuge der umfangreichen Screening-Arbeiten konnten sowohl im aliphatischen, als auch im aromatischen Bereich eine Reihe von 3-Tropanolestern erstmalig für Convolvulaceae beschrieben werden. Durch das Auftreten von Basenpaaren konnten zudem die Retentionsindices der einzelnen Epimere bestimmt werden wie bei 3α - und 3β -(Hydroxyisovaleroyloxy)tropan oder 3α - und 3β -(Hydroxyisobutyryloxy)tropan.

Eine Ausnahme stellen die Merresectine dar, allein schon wegen ihrer Beschränkung auf die Familie der Windengewächse. Die Besonderheit der Merresectine besteht außerdem darin, daß es sich bei deren Acylkomponenten zwar um Derivate der Benzoesäure handelt, diese jedoch ganz spezifisch mit Isopren-Einheiten substituiert sind. Sie können damit eindeutig als apomorphes, also abgeleitetes Merkmal eingeordnet werden. Auffällig ist die starke Dominanz der 3α -Isomere; die 3β -Merresectine sind deutlich seltener.

Unklar ist die Rolle des Merresectin A: Deutete anfangs seine Co-Isolierung mit Merresectin B auf eine Zugehörigkeit dieser Substanz zu den Merresectinen s.l. hin, so scheint heute – auch aufgrund der vorliegenden Ergebnisse – eher ein biogenetischer Zusammenhang mit anderen 4'-hydroxylierten und 4'-methoxylierten 3-Benzoyloxytropanen wie *p*-Cochlearin oder Datumetin wahrscheinlich. Sein Nachweis ist in dieser Arbeit auf die Arten *Ipomoea arborescens* und *Ipomoea tricolor* begrenzt, bei denen im Bereich der Tropan-Alkaloide in der Tat die Akkumulation substituierter Benzoyloxytropane im Vordergrund steht. Hierbei konzentriert sich das Vorkommen von Merresectin A ganz überwiegend auf die drei Vertreter der Spezies *Ipomoea tricolor*. Dort ist Merresectin A stets begleitet von *p*-Cochlearin, Datumetin und Phyllalbin. Bemerkenswert ist auch die regelmäßige Co-Akkumulation eines Tropans und des analogen Nortropans, also nicht nur Datumetin und Merresectin A, sondern außerdem 3α -Benzoyloxytropan und 3α -Benzoyloxynortropan sowie die beiden 3α -Ester mit Nicotinsäure als Acylkomponente. Grundsätzlich scheint es folglich für die Esterase keine Rolle zu spielen, ob das Tropan oder das Nortropan acyliert wird. Lediglich in der von den Kanarischen Inseln stammenden *Ipomoea tricolor* cv. „Heavenly Blue“ konnten zusätzlich isoprenylierte Merresectine nachgewiesen werden, die sich zu folgender Biosynthese-Sequenz verknüpfen lassen: ausgehend vom 3α -*p*-Cochlearin entsteht durch Anknüpfung einer Isoprenyl-Seitenkette Merresectin E und durch weitere Isoprenylierung Merresectin C, das unter Verlust zweier Wasserstoff-Atome zum Merresectin F wird. Merresectin A tritt außerdem in den Wurzeln von *Ipomoea arborescens* auf – vergesellschaftet mit 3α -*p*-Cochlearin, Phyllalbin und zudem Merresectin C. Im Gegenzug dazu konnte es in den Spezies, die im phytochemischen Screening durch die Akkumulation von Merresectinen s.l. hervortraten wie z. B. *Convolvulus sabatius* oder *Merremia quinata*, überhaupt nicht detektiert werden.

Andererseits muß in diesem Zusammenhang betont werden, daß es sich bei Merresectin A um einen Naturstoff handelt, der bis dato nur bei Convolvulaceae gefunden wurde. Es wurde bisher allein durch Synthese zugänglich: Um den Einfluß der N-Methylgruppe des Tropankörpers auf die Substratspezifität der Atropin-Esterase im Serum von Hasen besser untersuchen zu können, stellten Wallace *et al.* (1980) verschiedene Nortropanyl-ester her, darunter Merresectin A.

Merresectin A und Datumetin dürften demzufolge eher einen Seitenarm der Biosynthese-Sequenz darstellen, liegen also nicht auf dem Hauptweg; sie können aufgrund ihrer 4'-Methoxy-Substitution gleichsam als dead end angesehen werden. An dieser Stelle sollte zudem Erwähnung finden, daß Datumetin – neben 6β -(4'-Methoxybenzoyloxy)tropan- 3α -ol – als Vorstufe des Merredissin aus den Wurzeln von *Merremia dissecta* in Frage kommt (Henrici, 1996; Jenett-Siems *et al.*, 2005b).

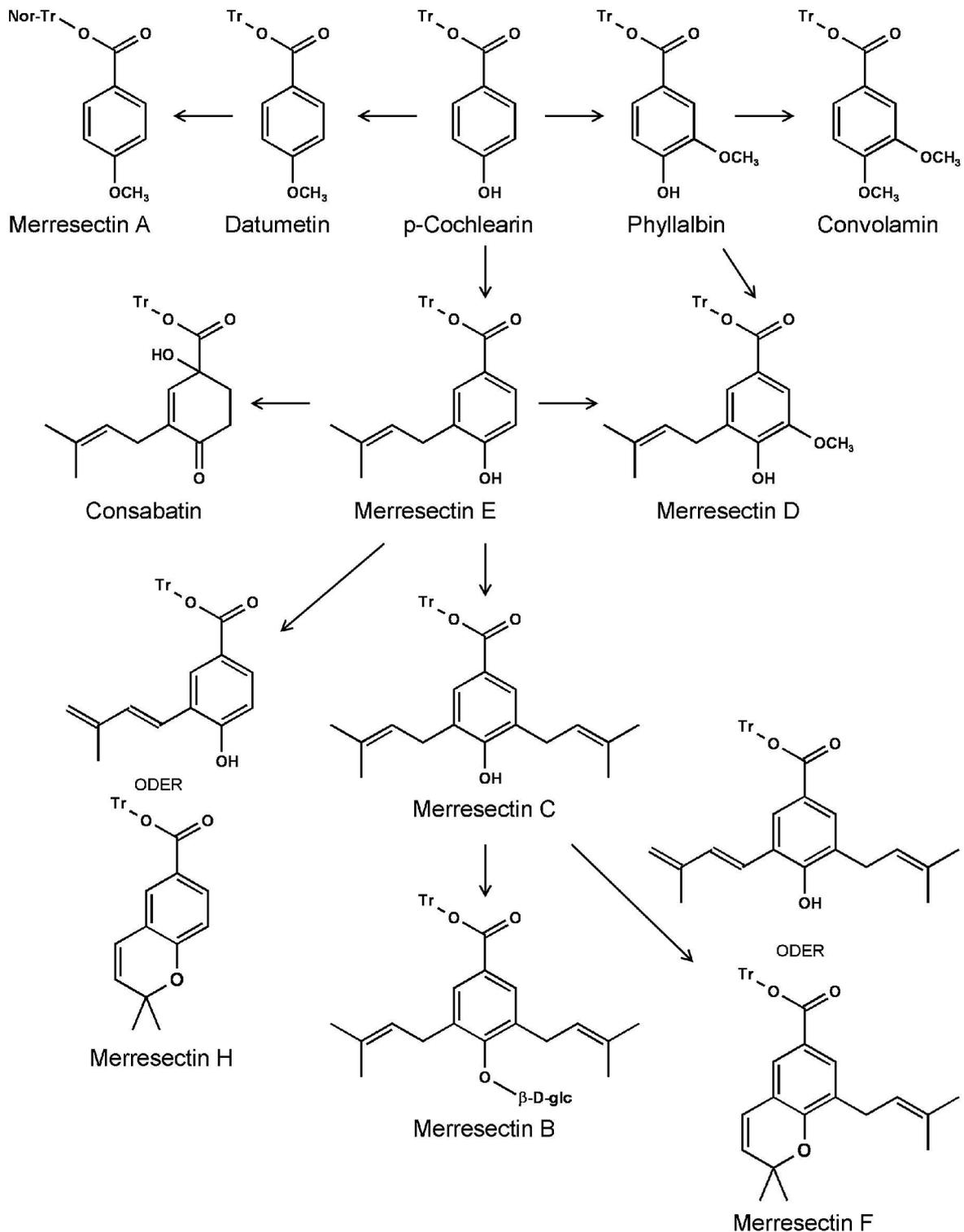


Abb. 100: Schematische Darstellung der hypothetischen biogenetischen Zusammenhänge einiger aromatischer 3-Tropanolester mit den Merresectinen s.l.

Da die Acylierung des Tropankörpers vermutlich den letzten Schritt der Biogenese darstellt, wurde im obigen Schema auf die Angabe der Stereochemie an C-3 verzichtet. Für die nicht namentlich aufgeführten β -Tropanolester gelten die gleichen Zusammenhänge.

p-Cochlearin kann als gemeinsame Vorstufe dreier Biosynthesewege angesehen werden: Zum einen leiten sich von ihm die oben aufgeführten Merresectin A, das sich durch das Fehlen der typischen Isoprenyl-Seitenkette in *meta*-Position zur Carbonyl-Gruppe von den anderen Merresectinen unterscheidet, und Datometin ab, zum anderen entstehen durch Methoxylierung die Vanilloxytropane, aus denen Merresectin D sowie wahrscheinlich auch Convolamin gebildet werden. Eine weitere Sequenz ergibt sich ausgehend von Merresectin E als Schnittstelle. Auf dieses lassen sich sein Dehydro-Derivat Merresectin H sowie die Verbindungen mit cyclohexenyl-haltiger Acylkomponente wie Consabatin zurückführen. Außerdem wird durch Anknüpfung eines weiteren Isoprenyl-Restes Merresectin C erhalten, aus dem durch Glucosylierung Merresectin B entsteht und durch Dehydrierung das Merresectin F.

Besonders anschaulich ist diesbezüglich der Befund von *Operculina aequisejala*, bei der in den Wurzeln zwei Biosynthesewege beschriftet werden: ausgehend vom *p*-Cochlearin werden zum einen Conceorin und dann 3 β -Merresectin D gebildet sowie über Merresectin E das Merresectin C, allerdings als 3 β -Isomer. Dieser Ausreißer bestätigt die Vermutung, die auch von Jenett-Siems *et al.* (2005b) geäußert wurde, daß die Acylkomponenten vor der Übertragung auf die 3-Hydroxytropane synthetisiert werden, was durch das gemeinsame Auftreten von 3 α - und 3 β -Epimeren bei einigen Spezies untermauert wird.

Sehr viel seltener konnten die mit einfach ungesättigten Monocyclen substituierten Derivate wie Consabatin detektiert werden. Ihr Vorkommen beschränkt sich auf die fünf Spezies *Convolvulus sabatius*, *Evolvulus alsinoides*, *Ipomoea plebeia*, *Merremia hederacea* (?) und *Polymeria calycina* – wobei es nur im Fall von *Convolvulus sabatius* zu einer ausgesprochenen Akkumulation kommt. Zur Biogenese des Cyclohexenyl-Restes beim Consabatin und verwandten Verbindungen liegen bisher noch keine Erkenntnisse vor. Es kann allerdings vermutet werden, daß sie durch Hydratisierung am Aromaten und anschließenden Übergang des Enols in das entsprechende Keton aus Merresectin E als Präkursor gebildet werden und ihre Bildung eine zusätzliche Enzymausstattung notwendig macht.

Eine völlig andere Genese legen die Acylkomponenten der Bonabiline nahe; als Monoterpensäuren sind sie aus zwei Isopren-Einheiten aufgebaut und entstammen damit dem auf Isopentenylidiphosphat basierenden Terpenstoffwechsel. Die Bonabiline aus der madagassischen *Bonamia spectabilis* stellen einen Einzelbefund dar, denn sie konnten im GC-MS-Screening bei keiner anderen Spezies nachgewiesen werden.

Einen Überblick über die Verbreitung der verschiedenen Tropan-Alkaloide bei den im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Convolvulaceae bietet **Tab. 21**:

Tab. 21: Tropanvorkommen bei den bearbeiteten Convolvulaceen-Spezies

- Es liegen keine Untersuchungsergebnisse vor.
- (+) nur Merresectin A

	einfache 3-Tropane	3-Acetoxytropane	aliphatische 3-Tropanolester	aromatische 3-Tropanolester	Merresectine	Bonabiline	Calystegine	unbekannte 3-Nortropanolester	unbekannte 3-Tropanolester	di-/tri-substituierte Tropane
<i>Astripomoea malvacea</i>	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+
<i>Bonamia dietrichiana</i>	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
<i>Bonamia spectabilis</i>	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>Bonamia trichantha</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Calystegia silvatica</i>	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-
<i>Convolvulus graminetinus</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+
<i>Convolvulus sabatius</i>	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-
<i>Convolvulus sagittatus</i>	+	-	+	+	-	-	?	-	+	+
<i>Dichondra sericea</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-
<i>Evolvulus alsinoides</i>	+	-	+	-	+	-	•	-	+	+
<i>Evolvulus glomeratus</i> „Blue Daze“	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Evolvulus nummularius</i>	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>Falkia repens</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-
<i>Ipomoea abrupta</i>	-	+	+	-	?	-	•	-	+	+
<i>Ipomoea arborescens</i>	-	-	-	+	+	-	•	-	-	-
<i>Ipomoea argillicola</i>	+	+	-	+	+	-	•	-	+	-
<i>Ipomoea asarifolia</i>	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+
<i>Ipomoea bonariensis</i>	+	-	?	+	-	-	•	-	-	-
<i>Ipomoea cholulensis</i>	+	+	-	-	-	-	•	-	-	-
<i>Ipomoea coccinea</i>	-	-	-	-	-	-	•	-	-	-
<i>Ipomoea coptica</i>	-	-	-	-	-	-	•	-	?	-
<i>Ipomoea cristulata</i>	+	+	+	-	-	-	•	-	-	-
<i>Ipomoea hederacea</i>	+	-	-	-	?	-	•	-	-	-
<i>Ipomoea hildebrandtii</i>	-	-	-	+	-	-	•	-	-	-
<i>Ipomoea lonchophylla</i>	+	+	+	+	-	-	•	-	-	-
<i>Ipomoea mauritiana</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Ipomoea muelleri</i>	+	+	+	+	+	-	•	-	+	-
<i>Ipomoea ochracea</i>	-	-	-	-	-	-	•	-	-	-
<i>Ipomoea pes-tigridis</i>	+	-	-	-	-	-	•	-	-	-
<i>Ipomoea plebeia</i>	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
<i>Ipomoea pubescens</i>	+	-	-	-	-	-	•	-	-	-
<i>Ipomoea shirambensis</i>	+	-	-	-	?	-	•	-	-	-
<i>Ipomoea tenuirostris</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ipomoea ternifolia</i> var. <i>leptotoma</i>	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
<i>Ipomoea tiliacea</i>	+	-	-	-	-	-	•	-	-	+
<i>Ipomoea tricolor</i> „Flying Saucers“	+	-	-	+	(+)	-	•	+	+	-
<i>Ipomoea tricolor</i> „Heavenly Blue“	+	+	-	+	(+)	-	+	+	+	-
<i>Ipomoea velutina</i>	+	-	-	-	+	-	•	-	-	+
<i>Lepistemon urceolatum</i>	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Maripa nicaraguensis</i>	-	-	?	+	-	-	•	-	+	-
<i>Maripa panamensis</i>	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-
<i>Merremia hederacea</i>	+	+	-	+	?	-	•	-	+	+
<i>Merremia pterygocaulos</i>	+	-	-	-	-	-	?	-	?	-
<i>Merremia quinata</i>	-	-	-	-	+	-	•	-	?	-
<i>Operculina aequisejala</i>	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+
<i>Operculina riedeliana</i>	+	-	-	-	?	-	-	-	?	-
<i>Polymeria ambigua</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Polymeria calycina</i>	-	-	-	-	?	-	-	-	+	+

Die di- und trisubstituierten Tropane sind eine bei Convolvulaceae bisher eher wenig beachtete Untergruppe der Tropan-Alkaloide. Dies liegt vor allem darin begründet, daß sie aufgrund ihrer deutlich höheren Polarität nicht mit den klassischen Alkaloiden in den Basen-Extrakt eluiert werden, sondern sich vornehmlich in der Wasserphase anreichern.

In der Literatur beschränkt sich ihre Beschreibung für Windengewächse auf vier Gattungen: Für die Genera *Convolvulus* und *Calystegia* ist lediglich jeweils ein Bericht zu verzeichnen, nämlich die Isolierung des Convolacin aus den Wurzeln von *Convolvulus subhirsutus* (Aripova und Abdilalimov, 1993) und die Gewinnung des 2 α ,3 β -Dihydroxynortropans aus *Calystegia soldanella* (Asano *et al.*, 2001). Etwas umfangreicher gestalten sich die Nachweise innerhalb der Gattungen *Erycibe* und *Merremia*: Aus der chinesischen Arzneipflanze *Erycibe obtusifolia* wurden eine Reihe von 2,6-disubstituierten Nortropanen gewonnen (Yao *et al.*, 1981; Chen *et al.*, 1986) und aus *Erycibe elliptilimba* das 2 β ,7 β -Dihydroxynortropan (Lu *et al.*, 1986). Neben der Isolierung des Merredissin aus den Wurzeln von *Merremia dissecta* (Henrici, 1996) wurden in der Publikation von Jenett-Siems *et al.* (2005b) dreizehn weitere 3,6-disubstituierte Tropane per GC-MS-Nachweis für den Genus *Merremia* beschrieben.

Umso erstaunlicher ist die Tatsache, daß für insgesamt dreizehn der 47 hier bearbeiteten Spezies das Vorkommen oligosubstituierter Tropane beschrieben werden kann: *Astripomoea malvacea*, *Bonamia spectabilis*, *Convolvulus graminetinus*, *Convolvulus sagittatus*, *Evolvulus alsinoides*, *Ipomoea abrupta*, *Ipomoea asarifolia*, *Ipomoea plebeia*, *Ipomoea tiliacea*, *Ipomoea velutina*, *Merremia hederacea*, *Operculina aequisepala* und *Polymeria calycina*. Den größten Teil stellen hierbei unbekannte Verbindungen dar, doch auch bereits publizierte Substanzen konnten nachgewiesen werden: Zwei der für die Gattung *Merremia* beschriebenen 3,6-disubstituierten Tropane, das 3-Hydroxy-6-butyryloxy-tropan und das 3-Hydroxy-6-(2'-methylbutyryloxy)-tropan, konnten in Kraut und Wurzeln von *Operculina aequisepala* detektiert werden. Zusätzlich konnten zwei bekannte Tropandiolide identifiziert werden, nämlich das 3,6-Dihydroxytropan (Freitas *et al.*, 1996) in Wurzeln und Ausläufern von *Ipomoea tiliacea* und der 2-Hydroxytropan-3 α -ol (Henrici, 1996) im Kraut von *Bonamia spectabilis*. Bei den übrigen di- und trisubstituierten Tropanen dieser Arbeit können lediglich Aussagen über die Strukturbestandteile und Vermutungen über das Substitutionsmuster getroffen werden (s. 2.1.2.3).

Sehr hilfreich war in diesem Zusammenhang die Isolierung des Ipvelutin, also des 2 α -Tigloyloxy-7 β -acetoxy-tropans, als neuem Naturstoff aus dem Kraut von *Ipomoea velutina*. Bedingt durch seine beiden Acyl-Reste wies es eine ausreichend hohe Lipophilie auf, um mit dem konventionellen Trennungsgang erfaßt werden zu können. Eine identische Verbindung wurde außerdem im Kraut von *Convolvulus graminetinus* und im Kraut von *Convolvulus sagittatus* gefunden. Interessant ist hierbei, daß in den Wurzeln der beiden *Convolvulus*-Arten jeweils ein analoges hydrophileres Nortropan detektiert werden konnte. Aufgrund weitestgehend übereinstimmender Zerfallsmuster kann auch bei den übrigen aus diesen Spezies stammenden Verbindungen sowie insbesondere bei den Begleitstoffen des Ipvelutin von einer 2,7-Substitution ausgegangen werden. Somit ermöglichte Ipvelutin als Referenzsubstanz die Erstellung von relativ konkreten Strukturvorschlägen für weitere mutmaßlich oligosubstituierte Tropane, wobei als Acylreste in erster Linie Methylbutter-

säure und Tiglinsäure postuliert wurden, die erfahrungsgemäß recht häufige Substituenten bei den Alkaloiden der Convolvulaceae darstellen.

Neben der Erkenntnis, daß es sich bei fast allen di- und trisubstituierte Tropane enthaltenden Drogen um oberirdische Pflanzenteile handelt, sollen an dieser Stelle noch zwei weitere Besonderheiten aufgezeigt werden. Zum einen konnte in Kraut und Wurzelrinde von *Astripomoea malvacea* eine Verbindung mit Basispeak m/z 138 aufgefunden werden, bei der es sich vermutlich um das 6,7-Epoxy-Astrimalvin A handelt. Die Etherbildung zwischen C-6 und C-7 des Tropangrundkörpers konnte bisher lediglich bei Solanaceae beobachtet werden, was auch darin begründet liegen mag, daß der Anteil an 6,7-Epoxytropanen während der Entwicklung der Pflanzen im Gegensatz zum Anteil an monosubstituierten Tropanen sinkt (Berkov *et al.*, 2005). Desweiteren brachte die Analyse von *Ipomoea asarifolia* einen interessanten Befund zutage. Während der Basen-Extrakt der Wurzeln und Rhizome von dem mutmaßlichen „ 2α -Tigloyloxy- 7β -hydroxy-nortropan“ (s. 2.1.2.3) dominiert wird, ist in den oberirdischen Teilen eindeutig Chanoclavin die Hauptverbindung. Innerhalb der Pflanze alternieren also die beiden vorherrschenden Alkaloidgruppen der Convolvulaceae.

Neben den einfachen unsubstituierten Verbindungen und der Vielzahl an 3-Tropanolmonoestern, daneben den verschiedenen Diestern tritt noch eine weitere Gruppe von Tropanen auf, die polyhydroxylierten Calystegine. Eine gewisse Sonderstellung dieser nach der Winde *Calystegia sepium* benannten Stoffgruppe ist dadurch begründet, daß sie mit dem herkömmlichen Trennungsgang nicht zugänglich gemacht werden kann. Da die Calystegine nicht wie die übrigen, lipophileren Alkaloide aus alkalischer wässriger Lösung mit organischen Lösemitteln ausgeschüttelt werden können, sondern in der schwer aufzuschließenden Wasserphase verbleiben, wurde ein spezielles Extraktionsverfahren angewandt, weshalb sie im Hauptteil (2.1.3) und im Experimentellen Teil (5.3.4) ein eigenes Kapitel erhalten haben. In ihrer Eigenschaft als Tropan-Alkaloide sollte ihre Verbreitung allerdings in Zusammenhang mit anderen Vertretern dieser Stoffklasse diskutiert werden.

Proben von rund der Hälfte der untersuchten Arten wurden nach Silylierung mittels GC-MS analysiert. Positive Nachweise wurden für neun Arten erhalten, die den Genera *Bonamia*, *Calystegia*, *Dichondra*, *Falkia*, *Ipomoea*, *Lepistemon* und *Maripa* angehören. Beim einzigen diesbezüglich untersuchten Mitglied der Gattung *Merremia* – *M. pterygocaulos* – konnte das Vorhandensein von Calystegin C₁ nicht abschließend bestätigt werden und muß fraglich bleiben. Negative Resultate lieferten insgesamt dreizehn Arten, wobei die den Genera *Astripomoea*, *Evolvulus*, *Operculina* und *Polymeria* angehörenden Spezies durchweg Calystegin-frei waren. Während es sich bei *Astripomoea malvacea* um einen nur begrenzt aussagekräftigen Einzelbefund handelt, wurden bei den anderen drei Gattungen jeweils beide untersuchten Arten negativ getestet. Zieht man die Publikation von Schimming *et al.* (2005) hinzu, so sind für die Genera *Evolvulus* und *Merremia* durchaus positive Ergebnisse zu verzeichnen. Als besonders reichhaltig an Calysteginen dürfen die Gattungen *Convolvulus* und *Calystegia* gelten, wohingegen sie bei den *Merremien* und den

Ipomoeen, bei denen nur eine von fünf der hier der Analyse zugeführten Arten einen positiven Befund ergab, eher sporadisch vorhanden sind.

Als biogenetische Vorstufen der Calystegine gelten Tropan-3-on, Nortropan-3-on, 3β -Tropanol und 3β -Nortropanol. Dementsprechend kann bei den hier untersuchten Arten festgestellt werden, daß diese polyhydroxylierten Tropane stets mit einfachen Tropanen vergesellschaftet sind. Sehr inhomogene Resultate bezüglich dieser beiden Stoffgruppen lieferten die drei *Bonamia*-Arten: Die intensive Akkumulation der 3β -Tropanole als Hauptbestandteile der Basen-Extrakte von *Bonamia trichantha* und das deutliche Überwiegen des 3β -Tropanol bei *Bonamia dietrichiana* könnte auf die fehlende Fähigkeit zur Calystegin-Bildung zurückgeführt werden. Abweichend davon ist *Bonamia spectabilis*, bei der im Kraut ebenfalls erhebliche Mengen 3β -Tropanol nachgewiesen wurden, durchaus in der Lage, die Calystegine B₂ und B₄ zu produzieren. Zudem überwiegt in den Wurzeln das für die Bildung der Bonabiline essentielle 3α -Tropanol. Bei der kladistischen Analyse kann das Vorkommen von Calysteginen also nicht unbedingt als Gattungsmerkmal herangezogen werden. Demgegenüber ergaben die Reihenuntersuchungen von Schimming *et al.* (2005), daß die Genera *Operculina* und *Polymeria* durch das völlige Fehlen dieser Stoffgruppe hervortreten. Es existieren also Genera, die insgesamt die Fähigkeit zur Calystegin-Biosynthese verloren oder gar nicht erst entwickelt haben. Dies kann durchaus als phytochemisches Gattungsmerkmal gewertet werden. Somit scheinen die Calystegine zur Abgrenzung der Gattungen innerhalb eines Tribus in der Tat von Nutzen zu sein. Betrachtet man den Tribus Convolvuleae (CHOISY) CHOISY, so zeigt sich die Gattung *Convolvulus* auffallend Calystegin-reich, wohingegen die Spezies der Gattung *Polymeria* durchgängig Calystegin-frei sind. Das gleiche Bild ergibt sich für den Tribus „Merremieae“ D. F. AUSTIN: Während die Gattung *Merremia* aufgrund der bei Schimming *et al.* (2005) publizierten Ergebnisse ganz klar als Calystegin-haltig klassifiziert werden muß, war diese Stoffgruppe in keiner der fünf untersuchten *Operculina*-Arten nachweisbar. Resümierend kann also festgestellt werden, daß zwar nicht das Vorkommen von Calysteginen, im Gegenzug allerdings ihre Abwesenheit eine gewisse chemotaxonomische Relevanz hat.

Im Hinblick auf die kladistische Analyse läßt sich insgesamt feststellen, daß die Tropan-Alkaloide der Convolvulaceae hinsichtlich einer intrafamiliären Gliederung der Gattungen und Arten eher kein aussagekräftiges Merkmal darstellen, sondern daß vielmehr andere Faktoren wie Wuchsform oder Entwicklungsstadium auf ihre Verbreitung Einfluß nehmen dürften. Dies läßt sich außerdem am nahezu ubiquitären Vorkommen der unveresterten Tropane und dem überwiegend erratischen Auftreten spezieller 3-Tropanolester, wie den Merresectinen, festmachen. Zusammen mit den Pyrrolidinen, allen voran Hygrin und Cuscohygrin, können sie allerdings eindeutig als Familienmerkmal bestätigt werden, was die Verwandtschaft zur Schwesterfamilie Solanaceae aus phytochemischer Sicht untermauert.

Pyrrolizidine

Pyrrolizidinalkaloide wurden erratisch in allen Klassen der Magnoliophytina entdeckt. Ihr Vorkommen konzentriert sich im Pflanzenreich vornehmlich auf vier Familien, auf die 95 % der gefundenen Verbindungen entfallen: die Asteraceae, die Boraginaceae, die Fabaceae und die Orchidaceae. Daneben findet man sie vereinzelt in den verschiedensten Pflanzenfamilien wie den Apocynaceae, den Ranunculaceae oder den Sapotaceae. Sie sind hier also nur bedingt von phylogenetischer Bedeutung. Anders auf intrafamiliärer Ebene: in der Regel ist ihr Auftreten auf bestimmte Triben, Genera oder Subgenera beschränkt. So sind es bei den Orchidaceae lediglich zehn Gattungen, bei den Fabaceae sogar nur fünf, wobei *Crotalaria*-Arten im Vordergrund stehen. In der großen Familie der Asteraceae sind es zwei Triben, in denen die Pyrrolizidinalkaloide lokalisiert sind, die Eupatorieae und vor allem die Senecioneae; *Senecio*-Arten stellen eine besonders reichhaltige Quelle dar (Hartmann und Witte, 1995).

Im Sinne dieses intrafamiliären Fokus konnte bei den Convolvulaceae festgestellt werden, daß bestimmte Pyrrolizidinalkaloide, namentlich Ipanguline und/oder Minalobine, durchgängiges Merkmal aller untersuchten Arten der zum *Ipomoea*-Subgenus *Quamoclit* gehörenden Sectio *Mina* sind.

Jedoch wurden auch in anderen Windengewächsen Substanzen dieser Stoffklasse detektiert: Tofern (1999) fand in den Wurzeln von *Ipomoea meyeri* in erster Linie Ester des Turneфорcidins, von denen das 9-O-Tigloylturneфорcidin durch Isolierung bestätigt werden konnte, begleitet von (-)-Trachelanthamidin und zwei Estern desselben, wobei sich die GC-MS-Daten des einen mit denen von Minalobin B decken.

Herausstechend sind die von Mann (1997) hauptsächlich in den Wurzeln von *Merremia cissoides* und insbesondere *Merremia quinquefolia* detektierten Ester des Retronecins, unter denen auch Lycopsamin, Intermedin und dessen Derivate sind; denn das Retronecin unterscheidet sich grundlegend, da 1,2-ungesättigt, von den anderen bisher beschriebenen Pyrrolizidinen, die allesamt einen gesättigten Grundkörper aufweisen. Die Extrakte schienen auch Trachelanthamidin- und Isoretronecanol-Ester zu enthalten.

Henrici (1996) fand im Kraut von *Jacquemontia corymbulosa* Isoipangulin/Ipangulin A₁, in den Wurzeln von *Jacquemontia tamnifolia* Lycopsamin und 3'-Acetylycopsamin, und Anhydroplatynecin als Hauptverbindung der Samen von *Operculina codonantha*.

Beim GC-MS-Screening von Kraut und Wurzeln von *Ipomoea indica* var. *acuminata* detektierte Schimming (2003) zwei Isoretronecanol-Ester und vier mutmaßliche Platynecin-Ester.

Aufgrund ihrer Aminofunktion in Position 1 und ihrer Etherbrücke zwischen C-2 und C-7 kommt den von Tofern (1999) gefundenen und auch durch Isolierung einer der vier Verbindungen bestätigten Lolin-Alkaloiden aus *Argyreia mollis* eine Sonderrolle zu; laut Hartmann und Witte (1995) besteht zwischen ihnen und den klassischen Pyrrolizidinalkaloiden trotz der großen strukturellen Ähnlichkeit zudem kein biogenetischer Zusammenhang.

Entwicklungsgeschichtlich stehen die zu den Solanales zählenden Convolvulaceae den Boraginales nahe, bei deren einziger Familie, den Boraginaceae, Pyrrolizidine ein recht weit verbreitetes Familienmerkmal sind. Und auch bei der dritten zur Obergruppe der Kronröhrenblütigen gehörenden Ordnung, den Gentianales, genauer bei den Apocynaceae, können Pyrrolizidinalkaloide nachgewiesen werden. Es wäre also nicht verwunderlich, wenn sie in Winden verstärkt auftreten. Weitere Analysen diesbezüglich, insbesondere Reihenuntersuchungen, könnten zur Aufklärung beitragen.

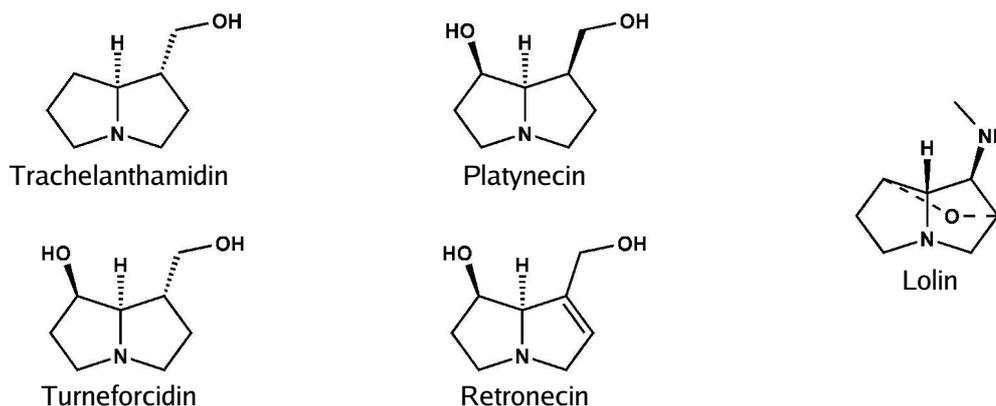


Abb. 101: Necinbasen bei Convolvulaceae auftretender Pyrrolizidinalkaloide

Jenett-Siems *et al.* (2005a) vermuten, daß die einzelnen Necinbasen nicht auf unterschiedlichen Biosynthesewegen entstehen, sondern durch Konfigurationsänderung über ungesättigte Zwischenprodukte ineinander übergehen. Dies wäre bei einer derartigen Vielfalt der Strukturen eine logische Konsequenz. Daß das Nebeneinander verschiedener Pyrrolizidinalkaloid-Grundkörper nicht ungewöhnlich ist, läßt sich beispielsweise auch bei der Asteraceen-Gattung *Senecio* beobachten: So treten dort oft vergesellschaftet Ester des Retronecins, Platynecins, Hastanecins und Macronecins auf (Stelljes *et al.*, 1991).

Außer den drei zur Sectio Mina gehörenden *Ipomoeen* wurden in dieser Arbeit 44 weitere Arten gescreent; es konnten jedoch in keiner Pyrrolizidinalkaloide detektiert werden. Auch in den etwa 80 von Jenett-Siems (1996), Henrici (1996), Mann (1997), Tofern (1999) und Schimming (2003) mittels GC-MS untersuchten Arten außerhalb dieser Sektion traten sie nur vereinzelt auf. Daraus wird ersichtlich, daß sich ihr Vorkommen ganz klar auf die Sectio Mina konzentriert, während sie in anderen Sectiones der Ipomoeae oder gar anderen Triben nur in Einzelfällen gefunden werden können. So kann die Rolle der Ipanguline und Minalobine als chemotaxonomische Marker durchaus bestätigt werden, zumal es sich bei den oben zitierten übrigen Verbindungen meist um Ester anderer Necinbasen handelt. Inwieweit auch anderen Vertretern dieser Stoffklasse eine derartige Rolle zukommt, wird die Untersuchung weiterer Arten auf ihren Gehalt an Pyrrolizidinen hin zeigen.

Gegebenenfalls durch Revision der bereits vorhandenen GC-MS-Spektren wären eingehendere Nachforschungen zu diesem Thema wünschenswert. Zur Klärung der Stereochemie der Necinbasen empfehlen sich auch die von Tofern (1999) beschriebenen Deriva-

tisierungen mit N-Methyl-N-(trimethylsilyl)trifluoracetamid (MSTFA) und Trimethylsulfoniumhydroxid (TMSH). Gerade im Hinblick auf ihre chemotaxonomische Bedeutung bieten die Pyrrolizidinalkaloide einen spannenden Ansatzpunkt für weitergehende Untersuchungen, nicht nur in Bezug auf ihr Vorkommen in bestimmten Taxa, sondern gerade auch auf die strukturelle Vielfalt der Necinbasen.

Ergoline

Wie bei den Pyrrolizidinen liegt auch bei den vom L-Tryptophan abgeleiteten Ergolinen, die sehr spezifische Sekundärstoffe darstellen, ein besonderes Augenmerk auf ihrer chemotaxonomischen Relevanz. Die zahlreichen Untersuchungen in diesem Bereich erlauben die Schlußfolgerung, daß sich der Nachweis von Ergotalkaloiden auf die beiden höchstentwickelten Triben der Convolvulaceae, die Argyreieae und die Ipomoeaeae, konzentriert (s. a. Schimming, 2003). Stefanović *et al.* (2003) fassen die monophyletischen Argyreieae und Ipomoeaeae sogar zu einem Tribus Ipomoeaeae s.l. zusammen. In dieser Arbeit erfolgte die Detektion von Ergolinen ausschließlich in der Gattung *Ipomoea*, wobei acht von 24 Spezies positive Resultate erbrachten. Auffällig ist, daß vier dieser Arten der Ipomoeaeae-Sectio Erpipomoea zuzurechnen sind: *I. argillicola*, *I. asarifolia*, *I. muelleri*, und *I. ochracea*. Interessanterweise gehören die beiden Ergolin-reichsten Spezies *I. tricolor* und *I. hildebrandtii* jedoch anderen Sectiones an, nämlich der Sectio Tricolor und der Sectio Poliothamnus. Insgesamt kann eine Anhäufung in dem besagten entwicklungsgeschichtlichen Zweig verzeichnet werden.

Einen durchaus unerwarteten Befund stellen die uneinheitlichen Ergebnisse bezüglich der beiden Kultivare von *Ipomoea tricolor* dar – also das Auftreten von Mutterkornalkaloiden bei *Ipomoea tricolor* cv. „Heavenly Blue“ und insbesondere deren Abwesenheit in allen Drogen des aus den USA stammenden Kultivars „Flying Saucers“, und das trotz positiver Ergolin-Nachweise bei anderen Autoren (Der Marderosian und Youngken, 1966; Genest und Sahasrabudhe, 1966).



Abb. 102:
Ipomoea tricolor Cav. cv. „Flying Saucers“

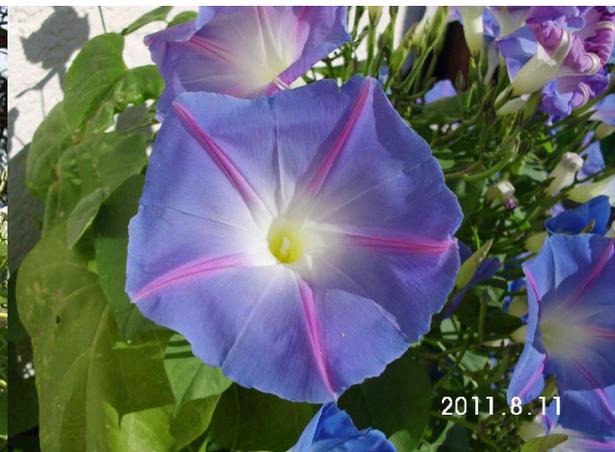
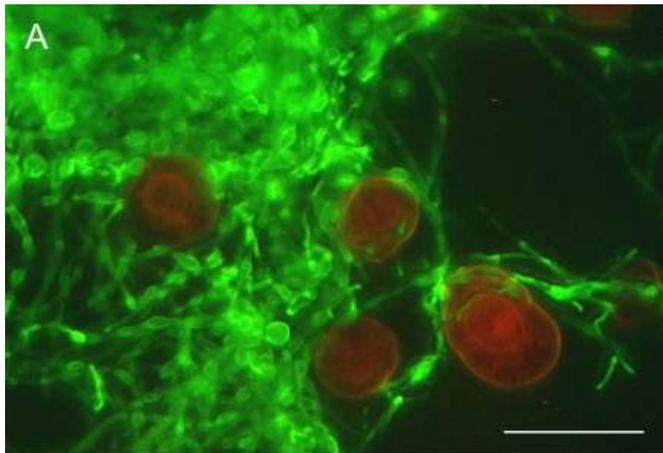


Abb. 103:
Ipomoea tricolor Cav. cv. „Heavenly Blue“

Zur Beleuchtung dieses Sachverhalts sollen die Experimente des Arbeitskreises um Prof. Dr. E. Leistner am Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität Bonn kurz umrissen werden.

Durch die Untersuchung von Vergiftungsfällen bei Viehherden hatte man entdeckt, daß die dafür mitverantwortlichen Ergolinalkaloide von bestimmten in den Weidegräsern systemischen Pilzen der Gattungen *Balansia* und *Epichloë* (beides Clavicipitaceae) produziert werden (Porter *et al.*, 1981; Porter, 1995). Anlehnend an diese Erkenntnisse bei Poaceae wurde im AK Leistner der Hypothese nachgegangen, daß die Ergoline der Convolvulaceae ebenfalls nicht von der Pflanze selbst, sondern von anassozierten Mikroorganismen biosynthetisiert werden. Wichtige erste Untersuchungen bestanden darin, die Samen von *Ipomoea asarifolia* ROEM. & SCHULT. mit verschiedenen Fungiziden zu behandeln, was zu einer Elimination der Mutterkornalkaloide in der Pflanze führte. Unter dem Photomikroskop konnte außerdem der Verlust von in der Umgebung der Sekretdrüsen auf der Blattoberseite lokalisierten Pilzhyphen festgestellt werden. (Kucht *et al.*, 2004) Im nächsten Schritt wurde der offensichtlich endophytisch lebende Organismus isoliert. U. a. durch Sequenzierung ribosomaler DNS konnte gezeigt werden, daß es sich um einen epibiotischen Pilz handelt, der – wie der auf Roggen parasitierende Mutterkornalkaloid-Produzent *Claviceps purpurea* – zu den Clavicipitaceae (Ascomyceten der Ordnung Hypocreales) gehört und über die Samen an die Tochtergenerationen weitergegeben wird. (Steiner *et al.*, 2006; Ahimsa-Müller *et al.*, 2007) Mittlerweile konnten die mutterkornalkaloidproduzierenden Organismen als vorzugsweise in der Nähe der Spaltöffnungen lokalisierte Epibionten identifiziert werden, die in der neuen Gattung *Periglandula* zusammengefaßt wurden. Steiner *et al.* (2011) bezeichneten den auf *Ipomoea asarifolia* lebenden Pilz mit *Periglandula ipomoeae* und den auf *Turbina corymbosa* mit *Periglandula turbinae*.

Daß höhere Pflanzen mit Mikroorganismen mutualistische Beziehungen eingehen, wird zunehmend beobachtet. Besonders bekannt sind die in Symbiose mit den Wurzeln bestimmter Pflanzen lebenden Knöllchenbakterien. Nicht zuletzt wurden die auch bei Convolvulaceae auftretenden Calystegine bei der Suche nach molekularen Mediatoren eines derartigen Systems gefunden (Goldmann *et al.*, 1990). Die Beziehung zwischen Winden und Pilzen kann eindeutig als symbiotisch eingestuft werden, da die Ergoline erwiesenermaßen als Fraßschutz dienen (Yates *et al.*, 1989; Amor-Prats und Harborne, 1993b). Endophyten können außerdem die Widerstandsfähigkeit gegenüber Krankheitserregern erhöhen (Campbell und Reece, 2009). Die im AK Leistner formulierte Theorie, daß das Vorkommen von Mutterkornalkaloiden bei Convolvulaceae nicht auf konvergenter Evolution mit Schlauchpilzen der Clavicipitaceae oder einem horizontalen Gentransfer, sondern auf Mutualismus beruht, darf also mittlerweile als bewiesen gelten, zumal nur die epibiotischen Pilze, nicht jedoch die Wirtspflanzen über eine entsprechende genetische Ausstattung verfügen. Da jedoch die Ergoline fast ausschließlich in der Pflanze nachgewiesen werden können, wird nach neusten Erkenntnissen sogar ein Carrier-System für den Transport der Alkaloide in die Pflanze postuliert. (Markert *et al.*, 2008)

**Abb.104:**

Pilzkolonie (lasaF13) auf der adaxialen Blattoberfläche von *Ipomoea asarifolia*; Sekretdrüsen angefärbt mit Nilrot, Hyphen mit Oregongrün-markiertem Weizenkeim-Agglutinin (l_{Balken} = 50 µm); aus: Markert *et al.*, 2008

Das Ausbleiben von Ergolinen in den Pflanzen aus den aus dem ASDM erhaltenen Samen von *Ipomoea tricolor* cv. „Flying Saucers“ könnte also mit dem Fehlen epibiotischer Pilze erklärt werden. Es wäre denkbar, daß die Samen aufgrund der in den USA herrschenden strengen Hygienevorschriften oder auch aus konservatorischen Gründen mit einem Fungizid behandelt wurden. Unter dem Einfluß dieser oder einer anderen Noxe ist eine Weitergabe der Pilze nicht möglich, was sich in einem Ausbleiben der Sekundärstoff-Produktion – in diesem Fall der Ergoline – widerspiegelt. Hierin ergibt sich eine plausible Erklärung, warum *Ipomoea tricolor* cv. „Flying Saucers“ von anderen Autoren bereits positiv auf Ergoline getestet wurde, beim durchgeführten GC-MS-Screening jedoch nicht, zumal Teuscher und Lindequist (1992) uneinheitliche Ergebnisse bezüglich bestimmter spezifischer Sekundärstoffe als typisches Anzeichen für die Beteiligung von Endophyten herausstellen.

Neu zu bewerten sind vor diesem Hintergrund auch die widersprüchlichen Berichte über das Ergolin-Screening von *Ipomoea cairica* (L.) SWEET im Arbeitskreis: In den von den Kanarischen Inseln stammenden Pflanzen konnten keine van Urk-positiven Substanzen nachgewiesen werden (Trumm, 1991), in den aus den Samen aus Tansania/Afrika angezogenen schon (Kayser, 1994). Unter Einbeziehung der vorangegangenen Ausführungen könnte nun gefolgert werden, daß es sich bei *Ipomoea cairica* eben nicht – wie bei Kayser postuliert – um zwei chemisch unterschiedliche Varietäten handelt, sondern um Endophyten-freie (Kanarische Inseln) und um mit Endophyten symbiotische (Tansania) Individuen.

Ferner erscheinen die inhomogenen Resultate in Bezug auf *Ipomoea coccinea* und auch *Ipomoea hederacea* in einem neuen Licht (s. dazu 1.3 und 2.1.2.4).

An dieser Stelle sei außerdem darauf verwiesen, daß es sich bei den von Tofern (1999) im Kraut von *Argyreia mollis* nachgewiesenen Lolin-Alkaloiden durchaus ebenfalls um Stoffe endophytischer Genese handeln könnte. Denn dieser Alkaloid-Typ tritt auch bei Poaceae auf und kann lediglich aus mit Endophyten infizierten *Lolium*-Arten gewonnen werden, nicht aber aus pilzfreien (Teuscher und Lindequist, 1992).

3.2 Inhaltsstoffe von *Ipomoea cristulata* HALLIER f.

Gerade wegen der systematischen Zugehörigkeit zur Sectio Mina des Subgenus Quamoclit innerhalb der Ipomoeae war die Analyse von *Ipomoea cristulata* von besonderem Interesse. Es konnten zwei verschiedene Provenienzen untersucht werden. Anhand des GC-MS-Profiles sollte festgestellt werden, ob auch hier Pyrrolizidinalkaloide gefunden werden können, da diese als chemotaxonomische Marker der Sectio Mina gelten. Dies war der Fall, mit dem erstaunlichen Befund, daß es sich sowohl um Derivate des Trachelanthamidins, als auch des Platynecins handelt. Namentlich konnten die Minalobine E, G, L, M, O und Q identifiziert werden, sowie die Ipanguline D₅, D₉ mit Iso-Form, D₁₀ mit Iso-Form, D₁₄, D₁₅, D₁₇, D₁₈, C₆ und C₇. Daneben fanden sich Cuscohygrin und diverse verwandte Verbindungen, und hauptsächlich in den Wurzeln einfache 3-Tropanolderivate in mäßiger Konzentration. Hervorzuheben ist das gleichberechtigte Nebeneinander von Minalobin O und Ipangulin D₁₅ als Hauptkomponenten. Auch bei *Ipomoea sloteri* können Trachelanthamidin- und Platynecin-Derivate vergesellschaftet gefunden werden, jedoch in weitaus geringerer Konzentration und Vielfalt.

Dank seiner hohen Konzentration im Basenextrakt des Krautes junger Individuen von *Ipomoea cristulata* konnte **9-O-(erythro-2-Hydroxy-2-methyl-3-tigloyloxy-butyryl)-(-)-trachelanthamidin** als Reinstoff gewonnen und strukturaufgeklärt werden. Als **Minalobin O** wurde es zwar bereits per GC-MS detektiert, jedoch noch nie zuvor isoliert. Es kann daher als neuer Naturstoff angesehen werden. Das ebenfalls in größerer Menge enthaltene Minalobin M stellt die *threo*-Form dar. Bisher wurde lediglich über das Vorkommen des Tiglinsäure-Esters eines sterisch unspezifizierten 1-Hydroxymethylpyrrolizidins bei *Mimusops elengi* (Sapotaceae) berichtet (Robins, 1982).

(-)-Trachelanthamidin und dessen Ester finden sich im Pflanzenreich in den verschiedensten Familien, die sich über die Klasse der Rosopsida, wie auch der Liliopsida erstrecken. So tritt es als Bestandteil des Alafins in der Apocynaceae *Alafia multiflora* auf, sowie in der Gattung *Eupatorium* der Asteraceae, erstaunlicherweise aber nicht in deren besonders pyrrolizidinreicher Gattung *Senecio*. Durch ein gehäuftes Vorkommen an (-)-Trachelanthamidin-Derivaten zeichnen sich die Orchidaceae und die Boraginaceae aus: Phalaenopsin T konnte in zahlreichen Arten der Gattung *Phalaenopsis* (Orchidaceae) als Hauptkomponente nachgewiesen werden, daneben auch Cornucervin. Bei den Rauhblattgewächsen finden sich derartige Verbindungen in den verschiedensten Genera, beispielsweise *Amsinckia*, *Cynoglossum*, *Lindelofia*, *Rindera* oder *Trachelanthus*; besonders gut ist ihr Auftreten für die Gattung *Heliotropium* dokumentiert (Hartmann und Witte, 1995). Bei den Convolvulaceae ist (-)-Trachelanthamidin als Grundkörper der Minalobine eine der wesentlichen Necinbasen.

2,3-Dihydroxy-2-methylbuttersäure trat in Zusammenhang mit Pyrrolizidin-Alkaloiden bisher nur in Einzelfällen auf. Bohlmann *et al.* (1986) isolierten aus dem Kraut von *Senecio caudatus* (Asteraceae) eine Verbindung und deren N-Oxid, die Hartmann und Witte (1995)

dem Triangularin-Typ zuordnen und unter der Bezeichnung 7-Senecieryl-9-(2,3-dihydroxy-2-methylbutanoyl)-retronecin aufführen. Auf die Stereochemie des Substituenten wird nicht näher eingegangen. Betrachtet man die bei Roeder (1990) veröffentlichten ¹H-NMR-Daten der Necinsäure an C-9, kann man aus der Lage der Signale für die beiden Methylgruppen schließen, daß es sich um eine *threo*-Konfiguration handeln muß. Ebenfalls die *threo*-Form fanden Stermitz *et al.* (1993) bei *Cryptantha leiocarpa* und *Cryptantha clevelandii* (Boraginaceae). Die von ihnen *threo*-2'',3''-Dihydroxyechiumin benannte Substanz stellt einen 7,9-Diester des Retronecins dar, wobei der dort als *threo*-2,3-Dihydroxyangelat bezeichnete Substituent mit der Hydroxygruppe an C-7 verestert ist. Die *erythro*-Form wurde also außerhalb der Familie der Windengewächse bislang nicht beschrieben.

Bei den Convolvulaceae stellen sowohl *threo*-, als auch *erythro*-2,3-Dihydroxy-2-methylbuttersäure häufige Substituenten der nachgewiesenen Trachelanthamidin- und Platynecin-Ester dar. So findet man sie bei 10 von 21 Minalobinen und bei 35 von 48 Ipangulinen. Als einzige Acylkomponenten erlauben sie die Anlagerung weiterer Säuren im Bereich ein und desselben Necinsäure-Teils: Nicht selten ist die Hydroxygruppe an C-3 weiter verestert, in einigen Fällen auch die in Position 2. Die Substituenten sind hierbei Acetylreste an einer oder beiden OH-Gruppen oder bevorzugt mit der 3-OH-Gruppe veresterte 2-Methylbuttersäure- oder Tiglinsäure-Reste.

Biogenetisch leitet sich die 2,3-Dihydroxy-2-methylbuttersäure laut Roeder (1995) von der Aminosäure L-Threonin ab. Die von ihm als Ipangulinsäure betitelte Necinsäure formuliert er als Zwischenprodukt der Biosynthese von u. a. Tiglinsäure. Ebenfalls Bestandteil von Minalobin O stellt letztere einen durchaus gängigen Substituenten dar. So wird Tiglinsäure von Röder (1984) in der Liste der wichtigsten Carbonsäuren in natürlichen Pyrrolizidin-Alkaloiden aufgeführt. Sie tritt außerdem als Acylkomponente bei Tropanolestern in Erscheinung (siehe auch 3.3).

Minalobine waren bisher nur aus *Ipomoea lobata*, aus deren Kraut auch Minalobin R isoliert werden konnte, und in Spuren aus *Ipomoea sloteri* bekannt. Mit der Isolierung von Minalobin O konnte nun für einen weiteren Vertreter der Sectio Mina eine Verbindung dieses Typs abgesichert werden.

Erfolgsversprechend wäre insbesondere die Gewinnung einer größeren Menge Früchte mit Samen mit dem Ziel, die beim GC-MS-Screening detektierte unbekannte Hauptverbindung (RI 2540 MG 397 BP 82) zu identifizieren (s. 2.1.2.3).

Die Massenfragmentierung – Basispeak bei *m/z* 82 und fast ebenso groß bei *m/z* 95, hingegen die Zerfallsionen *m/z* 138, 139 und 140 von geringerer Intensität – deutet darauf hin, daß es sich hierbei um einen Platynecin-9-ester handelt; ein Platynecin-7,9-diester könnte eventuell auch ein derartiges Spektrum erzeugen. Die Molmasse liegt bei *m/z* 397, was der Summenformel C₂₀H₃₁NO₇ entsprechen würde. RI 2540 ist ausschließlich in den Früchten mit Samen zu finden, wohingegen die anderen dort enthaltenen unbekanntes Ipanguline teils mit denen in Kraut und Wurzel übereinstimmen. Gerade das macht die Isolierung dieses noch nicht identifizierten Stoffes so erstrebenswert.

3.3 Inhaltsstoffe von *Falkia repens* L. f.



Abb. 105: *Falkia repens* L. f.
(Radierung mit wissenschaftlicher Darstellung)

Die nur einige Arten umfassende in Afrika endemische Convolvulaceen-Gattung *Falkia* wurde bisher noch nicht phytochemisch beleuchtet. Mit der Untersuchung der in der Kapregion beheimateten *Falkia repens* konnten erstmalig Erkenntnisse über das Sekundärstoffvorkommen gewonnen werden.

Neben den bei Convolvulaceae nahezu ubiquitären Chlorogensäuren mit verwandten Verbindungen und den häufig auftretenden Cumarinen Scopoletin, Umbelliferon und Scopolin konnten in den Dichlormethan-Extrakten und selbst im Basen-Extrakt des Krautes mehrere Lignane vorgefunden werden. Bezüglich der basischen Inhaltsstoffe zeichnet sich *Falkia repens* durch ihren Reichtum an einfachen aliphatischen und aromatischen 3-Tropanolestern aus. Besonders bemerkenswert ist das ausgewogene Nebeneinander von Estern sowohl des 3 α -, als auch des 3 β -Tropanols. Durch die GC-MS-Analyse konnte gezeigt werden, daß die enthaltenen Tropan-Alkaloide in der Regel als Basenpaare vorliegen, wobei beide Isomere quantitativ nahezu äquivalent sind. Dies konnte durch die Isolierung einer Reihe von Substanzen bestätigt werden.

Ingesamt konnten zehn Tropan-Alkaloide aus den Wurzeln und Rhizomen dieser Spezies gewonnen werden, bei denen es sich ausschließlich um in Position 3 monosubstituierte Verbindungen handelt: drei Acetoxytropane, drei Methylbutyryloxytropane, ein Tigloyloxytropan, ein Feruloyloxytropan, Tropanon und 3 β -Tropanol.

Das GC-MS-Spektrum der Wurzeln und Rhizome wird dominiert von den Acetoxytropanen; auch im Kraut zählen sie zu den Hauptverbindungen. Die Verknüpfung mit Essigsäure stellt also die häufigste Form der Esterbildung bei *Falkia repens* dar. Im Einzelnen wurden aus den unterirdischen Teilen **3 α -Acetoxytropan**, **3 α -Acetoxytropan-N-oxid** und **3 β -Acetoxytropan-N-oxid** isoliert.

Natürlich vorkommende acetylierte Tropanole wurden erstmals 1966 von Evans und Major aus den Blättern und jungen Sproßachsen der Solanaceae *Datura sanguinea* gewonnen, darunter auch das 3 α -Acetoxytropan. Es konnte in weiteren *Datura*-Arten (Evans und Lampard, 1972; Evans *et al.*, 1972a; Anwar und Ghani, 1973) sowie bei Vertretern anderer Gattungen der Nachtschattengewächse wie *Anthotroche* (Evans und Ramsey, 1981a), *Cyphanthera* (Evans und Ramsey, 1983), *Hyoscyamus* (El-Shazly *et al.*, 1997) und *Solandra* (Evans *et al.*, 1972b) nachgewiesen werden. Hinzu kommen

Einzelnachweise für *Duboisia myoporoides* (Coulson und Griffin, 1967) und *Grammosolen dixonii* (Evans und Ramsey, 1983), ebenfalls Solanaceae. Außerdem wurde es als Bestandteil der Alkaloidfraktionen zweier *Bruguiera*-Arten (Rhizophoraceae) identifiziert (Loder und Russell, 1969). Sehr viel seltener sind die Berichte über das natürliche Vorkommen seines 3β -Isomers. Dieses tauchte lediglich bei der GC-MS-Vermessung von *Cyphanthera albicans* (Robins *et al.*, 1990), *Datura innoxia* (Witte *et al.*, 1987), *Hyoscyamus albus* (Doerk-Schmitz *et al.*, 1994) und *Physalis peruviana* (ausschließlich 3β -Acetoxytropan; Kuwabo *et al.*, 1993) auf.

Für die Convolvulaceae konnte 3α -Acetoxytropan hier erstmalig durch Isolierung bestätigt werden. Bisher waren die 3-Acetoxytropane lediglich per GC-MS als Bestandteile einiger Basen-Extrakte identifiziert worden (Henrici, 1996; Mann, 1997; Tofern, 1999; Schimming, 2003). Über 3α -Acetoxytropan-N-oxid und 3β -Acetoxytropan-N-oxid existiert keine Literatur. Sie können somit als neue Naturstoffe angesehen werden.

Im Vergleich zu den übrigen aus *Falkia repens* gewonnenen Verbindungen nehmen die Acetoxytropane eine Sonderrolle ein: Alle anderen Acylkomponenten lassen sich von Aminosäuren ableiten. Über die biogenetische Herkunft der Essigsäure allerdings kann nur spekuliert werden; vermutlich entstehen die Acetoxytropane durch Verknüpfung der Tropanole mit pflanzlichem Acetyl-CoA. Aktivierte Essigsäure ist aufgrund ihrer vielfältigen biologischen Funktionen in jeder Pflanze enthalten. Die Bildung von Essigsäureestern bedarf also keiner zusätzlichen Syntheseleistung. Diese Besonderheit betreffend wurde in der Diskussion der GC-MS-Untersuchungen (s. 3.1) ausführlicher auf die 3-Acetoxytropane eingegangen.

Ebenfalls in beachtlicher Konzentration waren in den Wurzeln und Rhizomen von *Falkia repens* 3-Methylbutyryloxytropane vertreten. Durch ihre Isolierung konnten sie als **3α -(2'-Methylbutyryloxy)tropan**, **3β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan** und **3β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan-N-oxid** identifiziert werden.

Barger, Martin und Mitchell stellten 1938 *dl*- α -Methylbutyryltropein durch Synthese dar; somit war es als Vergleichssubstanz zugänglich. Daß diese Verbindung auch als Naturstoff auftritt, konnte von Deckers und Maier (1953) gezeigt werden, die es im Gemisch mit 3α -Isobutyryloxytropan aus *Duboisia leichhardtii* (Solanaceae) isolierten. Zeitgleich gelang es auf der anderen Seite des Erdballs auch Rosenblum und Taylor (1954), aus den Blättern ebendieser Stammpflanze besagtes Gemisch zu extrahieren und 3α -(2'-Methylbutyryloxy)tropan durch Vakuumauftrennung nahezu in Reinform zu gewinnen. In der Literatur wird es teilweise unter seinem Trivialnamen Valtropin geführt. Es ist eines der Hauptalkaloide von *Duboisia myoporoides* und wurde in diesem Zusammenhang auch mehrfach beschrieben (Coulson und Griffin, 1968; Sippl und Friedrich, 1975; Shukla und Thakur, 1992). Zudem konnte es in den Solanaceae *Cyphanthera albicans*, *Grammosolen dixonii* (beide Evans und Ramsey, 1983) und diversen *Solandra*-Arten (Evans *et al.*, 1972b) gefunden werden. Auch in zwei Rhizophoraceae, namentlich *Bruguiera exaristata* und *Bruguiera sexangula*, wurde es von Loder und Russell (1969) wahrscheinlich gemacht, wobei jedoch die Position der nicht-terminalen Methyl-Gruppe im Acyl-Teil nicht abschließend geklärt werden konnte.

Das 3 β -Methylbutyryloxytropan wurde bis dato lediglich anhand seines Fragmentierungsmusters und seines um etwa 10 Einheiten höheren Retentionsindex im GC-MS wahrscheinlich gemacht. In diesem Sinne sind beide Isomere bei Witte *et al.* (1987) als Inhaltsstoffe von *Datura innoxia* (Solanaceae) aufgeführt.

Bei den Erythroxylaceae scheint die 2-Methylbuttersäure ebenfalls eine häufige Acylkomponente zu sein. Sowohl in der Wurzelrinde von *Erythroxylum monogynum* wurde 3-(2'-Methylbutyryloxy)tropan detektiert (Christen *et al.*, 1995), als auch in der Rinde von *Erythroxylum zambesiacum*, dort zusammen mit 3-(2'-Methylbutyryloxy)tropan-6,7-diol (Christen *et al.*, 1993). Für *Erythroxylum coca* wurde ein (2'-Methylbutyryloxy)ecgoninmethylester beschrieben (Casale und Moore, 1996). In keinem Fall wurden Angaben zur Stereochemie gemacht. In der Wurzelrinde von *Erythroxylum dekindtii* wurde das 3 α -(2'-Methylbutyryloxy)nortropan, auch bekannt als Isoporoidin, nachgewiesen (Al-Yahya *et al.*, 1979).

Die Convolvulaceae betreffend konnten erste Hinweise auf das Auftreten von 3-Methylbutyryloxytropanen beim GC-MS-Screening erhalten werden. Allerdings bestanden bezüglich der Stellung der Methyl-Gruppe am Butyryl-Rest noch Unklarheiten; die Positionen 2' und 3' wurden in Erwägung gezogen (Tofern, 1999). Durch ihre Isolierung konnte nun die Konstitution der Acylkomponente als 2-Methylbuttersäure aufgeklärt werden. Bei der GC-MS-Vermessung der Ganzpflanze wurde zusätzlich das N-demethylierte Analogon 3 α -(2'-Methylbutyryloxy)nortropan detektiert.

So etabliert, konnten 3-(2'-Methylbutyryloxy)tropane auch in den Sproßachsen von *Ipomoea abrupta* (3 β), in den Früchten mit Samen von *Ipomoea cristulata* (3 α und 3 β) und im Kraut der nahe verwandten *Dichondra sericea* (3 α) nachgewiesen werden.

Über das Auftreten N-oxidierter Derivate liegt bisher keine Publikation vor. Somit handelt es sich bei dem 3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan-N-oxid um einen neuen Naturstoff.

Sehr viel häufiger sind Ester der 3-Tropanole mit Tiglinsäure beschrieben, wobei sich die Berichte jedoch auf die Familie der Nachtschattengewächse beschränken (Lounasmaa und Tamminen, 1993). In gleichem Maße konnten sowohl das 3 α -Tigloyloxytropan, als auch das 3 β -Tigloyloxytropan nachgewiesen werden; oft kommen beide auch vergesellschaftet vor. Isolierungen erfolgten beispielsweise aus *Duboisia myoporoides* (Barger *et al.*, 1937; 3 β), aus den Wurzeln von *Datura ferox* (3 α) und denen von *Datura innoxia* (3 β ; Evans und Wellendorf, 1959), aus den Wurzeln von *Withania somnifera* (Leary *et al.*, 1963; 3 α), aus den Wurzeln und Rhizomen von *Physalis alkekengi* (Basey und Woolley, 1973a; 3 β) oder aus Kraut und Wurzeln von *Anthocercis littorea* und *A. viscosa* (Evans und Treagust, 1973; 3 α und 3 β). Mittlerweile konnten die 3-Tigloyloxytropane in diversen weiteren Solanaceen-Gattungen detektiert werden, darunter *Cyphomandra* (Evans *et al.*, 1972c), *Cyphanthera* (El-Imam und Evans, 1984), *Hyoscyamus* (Doerk-Schmitz *et al.*, 1994; El-Shazly *et al.*, 1997), *Mandragora* (Jackson und Berry, 1973) und *Solandra* (Evans *et al.*, 1972b). Vor allem innerhalb der Gattung *Datura* werden zudem verschiedene Tiglinsäure-Ester mit 3,6- bzw. 3,7-Tropandiol und 3,6,7-Tropantriol gebildet (Evans *et al.*, 1972a; Witte *et al.*, 1987; Christen *et al.*, 1990; Berkov, 2003).

Daß auch Convolvulaceae die biosynthetische Fähigkeit besitzen, 3-Tropanole mit Tiglinsäure zu verknüpfen, legte bereits Tofern (1999) durch die GC-MS-Untersuchung eines Ganzpflanzen-Extraktes von *Falkia repens* dar, was durch die vorliegende Arbeit bestätigt wird. Desweiteren erfolgte hier der Nachweis für die Krautdrogen von *Astripomoea malvacea*, *Ipomoea lonchophylla* und *I. plebeia* (s. 2.1.2.2).

Das 3 β -Tigloyloxytropan wurde als Nebenalkaloid von *Duboisia myoporoides* erstmals 1937 von Barger, Martin und Mitchell erhalten. Die von ihnen mit Tigloidin bezeichnete Substanz beschrieben sie als dünnen farblosen Sirup, von dem im warmen Zustand ein narkotischer Geruch ausgeht. Später wurde es als Antiparkinson-Mittel genutzt (Trautner und Noack, 1951; Sanghvi *et al.*, 1968). Ob das aus den Wurzeln und Rhizomen von *Falkia repens* isolierte 3 β -Tigloyloxytropan-N-oxid ähnliche pharmakologische Eigenschaften zeigt, ist nicht bekannt. Allerdings soll in diesem Zusammenhang erwähnt werden, daß andere Tropan-N-oxide durchaus Eingang in die Therapie gefunden haben, so z. B. das Scopolamin-N-oxid als Medikament gegen Seekrankheit oder als Bestandteil des Schlafmittels Sominex[®] (Phillipson und Handa, 1978).

Bisher wurde lediglich über die Isolierung des 3 α -Tigloyloxytropan-N-oxids aus *Physalis alkekengi* berichtet (Yamaguchi *et al.*, 1974); bei dem hier erhaltenen **3 β -Tigloyloxytropan-N-oxid** handelt es sich also um eine Erstbeschreibung.

Erwähnenswert ist an dieser Stelle der biogenetische Zusammenhang zwischen 2-Methylbuttersäure und Tiglinsäure. Beide werden aus der Aminosäure Isoleucin gebildet, wobei 2-Methylbuttersäure als Intermediat auftritt und Tiglinsäure eine Endstufe darstellt (Leete und Murrill, 1967; Leete, 1973).

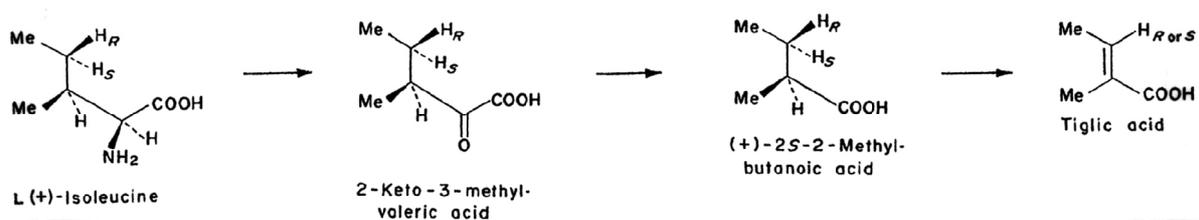


Abb. 106: Biosynthese der 2-Methylbuttersäure und der Tiglinsäure aus L-Isoleucin (nach Basey und Woolley, 1973b)

Betrachtet man die 2-Methylbuttersäure im räumlichen Modell, so wird ersichtlich, daß die Umwandlung vermutlich stereospezifisch stattfindet. Aus L-Isoleucin, das an C-3 S-konfiguriert ist, wird durch oxidative Desaminierung und Decarboxylierung 2S-2-Methylbuttersäure, wobei die sterische Ausrichtung dieses C-Atoms, nun C-2, unverändert bleibt, also S-konfiguriert (Basey und Woolley, 1973b). Diese Beobachtung legt die Vermutung nahe, daß es sich bei der Acylkomponente der hier isolierten 3 α -(2'-Methylbutyryloxy)tropan, 3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan und 3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan-N-oxid um die 2S-2-Methylbuttersäure handeln dürfte.

Recht selten tritt 3-Feruloyloxytropan als Naturstoff auf. In dem Review von Lounasmaa und Tamminen (1993) findet sich lediglich ein einziger Nachweis: Gnecco Medina *et al.* (1983) gewannen 3 α -Feruloyloxytropan aus der Rhizophoraceae *Crossostylis multiflora*. Den ¹H-NMR-Werten nach zu urteilen, handelt es sich hierbei um das *trans*-Isomer.

Aufgrund von GC-MS-Ergebnissen wurden 3-Feruloyloxytropene bereits als Inhaltsstoffe zweier Convolvulaceae vermutet: in Kraut und Wurzeln von *Bonamia semidigyna* (Henrici, 1996) und in den Wurzeln von *Convolvulus farinosus* (Jenett-Siems, 1996).

Durch Isolierung und Strukturaufklärung konnte die Substanz mit dem RI 2756 aus den Wurzeln und Rhizomen von *Falkia repens* eindeutig als **3 β -*trans*-Isoferuloyloxytropan** identifiziert werden. Da die 3-Tropanolester bei *Falkia repens* regelmäßig als Isomerenpaare auftreten, ist davon auszugehen, daß es sich bei der Verbindung mit RI 2725 demzufolge um das 3 α -*trans*-Isoferuloyloxytropan handelt. Beide konnten auch im Kraut der nah verwandten *Dichondra sericea* detektiert werden. Durchaus häufiger treten die stellungsisomeren 3 α -*trans*-Feruloyloxytropan (RI 2691) und 3 β -*trans*-Feruloyloxytropan (RI 2735) auf. Beide wurden in den Sproßachsen von *Maripa panamensis* und in den Wurzeln von *Convolvulus sagittatus*, *Ipomoea bonariensis* und *Ipomoea plebeia* nachgewiesen. Nur das 3 α -*trans*-Feruloyloxytropan war in beiden Kultivaren von *Ipomoea tricolor* enthalten, nur 3 β -*trans*-Feruloyloxytropan in den Wurzeln von *Convolvulus graminetinus* und *Merremia hederacea*, in Kraut und Wurzeln von *Ipomoea lonchophylla* und in den Sproßachsen von *Maripa nicaraguensis*.

In ihrer Publikation über die Inhaltsstoffe von Haarwurzelkulturen von *Hyoscyamus albus* postulierten Doerk *et al.* (1991) das gleichzeitige Auftreten eines *cis*- und eines *trans*-konfigurierten 3-Feruloyloxytropans. In ihrer Arbeit von 1994 sind beiden Substanzen dann Retentionsindices zugeordnet. Anhand der hier gewonnenen Erkenntnisse kann dieser Vermutung klar widersprochen werden, zumal die *cis*-konfigurierten 3-Feruloyloxytropene laut P. Bachmann sehr viel niedrigere Retentionsindices zeigen (s. 2.1.2.2). Es dürfte sich stattdessen um das 3 α -*trans*-Feruloyloxytropan (RI 2685) und 3 β -*trans*-Feruloyloxytropan (RI 2733) handeln. Auffällig ist, daß im Rahmen des GC-MS-Screenings der knapp 50 Arten ausschließlich *trans*-konfigurierte 3-Feruloyloxytropene detektiert werden konnten; *cis*- und *trans*-konfigurierte 3-Feruloyloxytropene scheinen also nicht vergesellschaftet vorzukommen.

Daß 3-Feruloyloxytropene bisher nur selten beschriebene Naturstoffe sind, verwundert insofern, als Ferulasäure ein häufiger Baustein pflanzlicher Sekundärstoffe ist. Ihr Auftreten geht weit über den Bereich basischer Inhaltsstoffe hinaus. So kann sie allein innerhalb der Convolvulaceae als wichtiger Bestandteil von Stoffen verschiedenster Verbindungsklassen beobachtet werden, nämlich bei Hydroxyzimtsäureamiden wie N-*trans*-Feruloyltyramin (s. 2.2.1.2) oder bei Hydroxyzimtsäurealkylestern in Verknüpfung mit langkettigen Alkanolen (Trumm, 1991). Auch in Verknüpfung mit den an Anthocyanidine angeetherten Zuckern wird sie beschrieben: Beispielsweise wurden aus *Ipomoea batatas* Derivate des Cyanidins und Peonidins isoliert, deren Glykosidteil u. a. mit Ferulasäure acyliert ist (Otake *et al.*, 1992).

Anhand der GC-MS-Vermessung der Basen-Extrakte zahlreicher Convolvulaceae (diese Arbeit und Henrici, 1996; Jenett-Siems, 1996; Mann, 1997; Tofern, 1999) ist ersichtlich, daß **Tropan-3-on** und **3 β -Tropanol** bei dieser Familie häufig anzutreffende Verbindungen darstellen. Während das Tropan-3-on bereits aus *Convolvulus arvensis* (Todd *et al.*, 1995) und *Convolvulus cneorum* (Mann, 1997) gewonnen wurde, konnte das 3 β -Tropanol hier erstmals durch Isolierung und Strukturaufklärung als Convolvulaceen-Inhaltsstoff bestätigt werden. Mittels GC-MS konnten zudem Tropan-3 α -ol, Nortropan-3 α -ol und Nortropan-3 β -ol nachgewiesen werden. Um das Bild abzurunden, sei hier auch auf die hydrophilen, da polyhydroxylierten Tropane verwiesen. Tofern (1999) konnte in der Ganzpflanze die Calystegine B₁ und B₂ nachweisen.

Daneben wurde auch das Pyrrolidin-Alkaloid **Cuscohygrin** gewonnen. Es konnte erstmalig aus einer Convolvulaceae der Gattung *Falkia* und sogar des übergeordneten Tribus Dichondreae s.l. isoliert werden und bestätigt somit die Pyrrolidine in ihrer Eigenschaft als Familienmerkmal. Als weitere Verbindungen dieser Stoffklasse wurden per GC-MS detektiert: Hygrin, 2',4- und 2',3-N-Methylpyrrolidinyhygrin, Phygrin und die N-Methylpyrrolidinylcuscohygrine A und B.

Falkia repens besticht durch die Vielzahl an aliphatischen und aromatischen 3-Tropanolestern. Auch wenn die 3 β -Form oft etwas überwiegt, zeigen die 3-Tropanolester doch in der Regel ein ausgewogenes Verhältnis der beiden Epimere. Anders bei den unveresterten Tropanolen: Während 3 α -Tropanol lediglich im Extrakt der Ganzpflanze als kleiner Peak zu finden ist, ist 3 β -Tropanol sowohl im Kraut als auch bei der Ganzpflanze absolut dominante Hauptverbindung und übertrifft bezüglich seiner Konzentration alle anderen Verbindungen um das fünf- bzw. dreifache. Daß bei *Falkia repens* Calystegine nachgewiesen werden können, deren Vorstufe das 3 β -Tropanol ist, verwundert also nicht. In den Wurzeln und Rhizomen findet sich hauptsächlich Tropan-3-on. Auffällig ist, daß viele der aus den Wurzeln und Rhizomen isolierten Substanzen als N-Oxide vorliegen, was im GC-MS anscheinend nicht unterschieden werden kann. Die Thematik der N-Oxide wird in dem an Kapitel 3.4 anschließenden *Exkurs* vertieft.

Neben den isolierten Verbindungen konnten vierzehn weitere aliphatische 3-Tropanol- bzw. 3-Nortropanolester und zwölf weitere aromatische 3-Tropanolester per GC-MS detektiert werden. Am reichhaltigsten sind hierbei die Wurzeln und Rhizome, doch auch im Kraut finden sich sechzehn verschiedene Ester. Einen Überblick bietet die **Tab. 22**.

Desweiteren konnten im Kraut drei, in den Wurzeln und Rhizomen noch etwa 25 unbekannte 3-Tropanolester anhand ihrer Fragmentierungsmuster im Massenspektrum als solche identifiziert werden.

Tab. 22: GC-MS-Ergebnisse der Basen-Extrakte von *Falkia repens*

+ bis +++++ Peakintensität der Substanz im GC-MS im Sinne einer relativen Konzentration
* in Spuren detektiert

	RI	MG/BP	Wurzeln & Rhizome	Ganzpflanze	Kraut
3 α -Acetoxynortropan	1290	169/110	*	*	*
3 α -Acetoxytropan	1307	183/124	+++++	++	+
3 β -Acetoxytropan	1317	183/124	+++++		*
3 α -Propionyloxytropan	1411	197/124	*		
3 β -Propionyloxytropan	1421	197/124	*		
3 α -Isobutyryloxytropan	1454	211/124	++++	*	
3 β -Isobutyryloxytropan	1498	211/124	*		
3 α -(2'-Methylbutyryloxy)nortropan	1532	211/110	?	*	
3 α -(2'-Methylbutyryloxy)tropan	1546	225/124	++++	+	*
3 α -Isovaleroyloxytropan	1550	225/124			*
3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan	1552	225/124	++++	+	*
3 β -Isovaleroyloxytropan	1564	225/124			*
3 α -Tigloyloxytropan	1645	223/124	+++	+	*
3 β -Tigloyloxytropan	1655	223/124	++++	*	
3 α -(Hydroxy-isovaleroyloxy)tropan	1669	241/124	*		
3 α -(Hydroxy-butyryloxy)tropan	1675	227/124	*		
3 β -(Hydroxy-butyryloxy)tropan	1681	227/124	+		
3 α -(3'-Hydroxy-2'-methyl-butyryloxy)tropan	1700	241/124	+	*	
3 β -(3'-Hydroxy-2'-methyl-butyryloxy)tropan	1707	241/124	+++	*	
3 α -Nicotinoyloxytropan	1956	246/124	*		
3 β -Nicotinoyloxytropan	1970	246/124	+		
3 α -Vanilloxyloxytropan	2345	291/124	+		?
3 β -Vanilloxyloxytropan	2368	291/124	+++		?
3-(Hydroxymethoxy-benzoyloxy)tropan	2408	291/124			*
3 α -(Dimethoxyhydroxy-benzoyloxy)tropan	2618	321/124	+++		?
3 β -(Dimethoxyhydroxy-benzoyloxy)tropan	2630	321/124	++++		*
3 α - <i>trans</i> -Isoferuloyloxytropan	2725	317/124	+++		*
3 β - <i>trans</i> -Isoferuloyloxytropan	2756	317/124	++++		+
3 α -(3',4',5'-Trimethoxycinnamoyloxy)tropan	2840	361/124	+		
3 β -(3',4',5'-Trimethoxycinnamoyloxy)tropan	2891	361/124	+++		
3 α -Sinapoyloxytropan	2923	347/124	+++		
3 β -Sinapoyloxytropan	2974	347/124	++++		*
unbekannte 3-Tropanolester			ca. 25		3

Mit *Falkia repens* konnte erstmalig eine Vertreterin dieser Gattung sowie des gesamten Tribus Dichondreae s.l. phytochemisch untersucht werden. Als weitere Spezies dieses Familienzweiges konnte der Basen-Extrakt des Krautes von *Dichondra sericea* ebenfalls der Analyse zugeführt werden. Daß die Bandbreite an Inhaltsstoffen weitaus geringer war, ist auch durch die Tatsache begründet, daß als Untersuchungsmaterial nur Kraut zur Verfügung stand, zudem lediglich 21.8 g und somit deutlich weniger als die für das Screening übliche Standardmenge von 50 g. Doch es handelt sich durchweg um Verbindungen, die auch bei *Falkia repens* gefunden werden können. Allerdings überwiegen hier mengen- und konzentrationsmäßig deutlich die Tropanolester der 3 α -Reihe.

Volksmedizinisch wird *Falkia repens* als Heilmittel gegen Bilharziosis (Saugwurmkrankheit) eingesetzt und um entzündete Wundstellen im Gesicht zu versorgen. Ob ihre Wirkung auf den zahlreichen 3-Tropanolestern oder auf den sogar im Basen-Extrakt detektierten Lignanen beruht, muß offen bleiben.

3.4 Inhaltsstoffe von *Astripomoea malvacea* (KLOTZSCH) MEEUSE

Die ausschließlich in Afrika endemische Convolvulaceen-Gattung *Astripomoea* wurde bisher kaum phytochemisch untersucht. Allein *Astripomoea malvacea* taucht bei einem Screening-Programm auf Wirkstoffe gegen Krebs bei Pflanzen der sudanesischen Volksheilkunde auf, aufgrund des negativen Ergebnisses jedoch ohne Angaben zu ihren Inhaltsstoffen (Ayoub und Kingston, 1983). Auch in der Aufstellung afrikanischer Heilpflanzen von Haerdi (1964) wird sie gelistet. Erstaunlicherweise waren seine Nachweise auf Alkaloide negativ – ein Grund mehr, die Isolierung der basischen Hauptkomponenten dieser bereits beim Screening bezüglich ihres Alkaloidvorkommens auffälligen Art anzustreben.

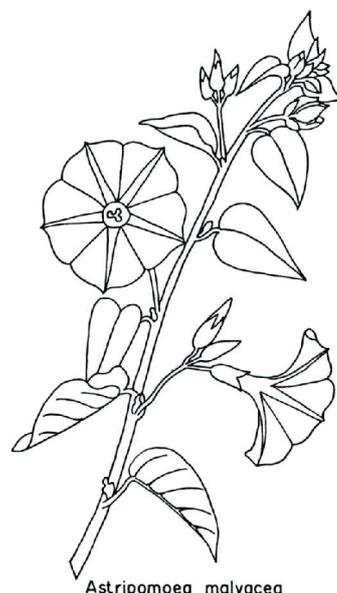


Abb. 107:
Astripomoea malvacea (KLOTZSCH) MEEUSE
(aus Verdcourt, 1974)

Das Pflanzenmaterial der als *Astripomoea malvacea* (KLOTZSCH) MEEUSE identifizierten Windenart stammte aus Uganda; untersucht wurden Wurzelrinde und Kraut.

Aus der Wurzelrinde konnten zwei 3 β -Tropanolester gewonnen werden: das **Astrimalvin A-N-oxid** und das **Astrimalvin B**, das genuin ebenfalls als N-Oxid vorliegen dürfte.

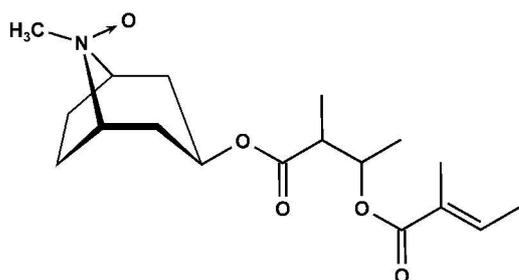


Abb. 108: Astrimalvin A-N-oxid

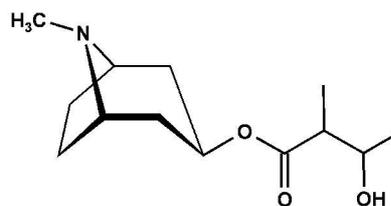


Abb. 109: Astrimalvin B

Ein 3-(2-Methyl-3-hydroxybutanoyloxy)tropan als Convolvulaceen-Inhaltsstoff wurde von Henrici (1996) im Zuge der GC-MS-Analyse des Krautes von *Bonamia semidigyna* im Sinne eines Strukturvorschlages formuliert. Dieselbe Substanz wurde von Tofern (1999) bei *Falkia repens* nachgewiesen, zusammen mit ihrem etwas früher von der GC-Säule eluierten 3-Isomer. Nun konnte die Struktur des **3 β -(*threo*-3'-Hydroxy-2'-methylbutyryloxy)tropan**s (Astrimalvin B) durch Isolierung eindeutig festgelegt werden, wohingegen es sich bei Astrimalvin A-N-oxid (**3 β -(*threo*-3'-Tigloyloxy-2'-methylbutyryloxy)tropan-N-oxid**) um einen völlig neuen Naturstoff handelt.

Die Acylkomponente des Astrimalvin B wurde bei Convolvulaceae in Verbindung mit einer anderen Sekundärstoff-Gruppe beschrieben. Bei den Azteken stand im Mittelpunkt des Heilungsprozesses die Befreiung des Körpers von der Krankheit mithilfe der kathartischen Wirkung von Pflanzen, insbesondere verschiedener Windengewächse (Pereda-Miranda und Hernández-Carlos, 2002). Durch Überlieferungen haben einige Convolvulaceae als Purgantien Eingang in die Arzneibücher gefunden und wurden demzufolge phytochemisch analysiert. Das wirksame Prinzip stellen die im Milchsaft enthaltenen Glykoretine dar. Bei der Untersuchung dieser Harzglykoside erhielten Asahina und Terada (1919) 3-Hydroxy-2-methylbuttersäure durch die Verseifung von Pharbitin aus den Samen von *Pharbitis nil*. Sie bezeichneten sie mit dem Trivialnamen Nilsäure. Nach Ono *et al.* (1990) handelt es sich um das 2*R*,3*R*-Isomer.

Desweiteren wird Nilsäure als Bestandteil der Orizabine beschrieben. Sie ist an den Tetrasaccharid-Kern dieser Harzglykoside, die aus der als Mexican scammony root bezeichneten Wurzeldroge von *Ipomoea orizabensis* gewonnen werden, angeestert. Die Nilsäure tritt hier stets in der *threo*-Konfiguration auf, wobei sie bei den Orizabinen I-IV als 2*S*,3*S*-Enantiomer (Noda *et al.*, 1987) und bei den Orizabinen V-VIII als 2*R*,3*R*-Enantiomer (Hernández-Carlos *et al.*, 1999) vorliegt. Bei den Orizabinen IX-XXI finden sich sowohl das *threo*-2*R*,3*R*-, als auch das *threo*-2*S*,3*S*-Enantiomer (Pereda-Miranda und Hernández-Carlos, 2002). Auch die basische Hydrolyse der Glykosid-Fraktion aus den Samen von *Ipomoea muricata* ergab 2*R*,3*R*-Nilsäure (Noda *et al.*, 1988). Ebendiese ist außerdem wesentlicher Bestandteil der Harzglykoside der Samen von *Cuscuta chinensis* (Du *et al.*, 1998) und *Cuscuta australis* (Du *et al.*, 1999).

Sogar die Acylkomponente des Astrimalvin A-N-oxids, die in Position 3 mit Tiglinsäure veresterte 3-Hydroxy-2-methylbuttersäure, ist als Bestandteil eines Naturstoffs beschrieben worden, allerdings nur einmal. Das *threo*-2S,3S-Isomer wurde als Element eines Triterpensaponins aus der Rinde der ebenfalls in Afrika endemischen Spezies *Petersianthus macrocarpus* (Lecythidaceae) gewonnen. Bei dem isolierten Petersaponin I ist diese in der Arbeit von Massiot *et al.* (1992) mit 3-Tigloyloxy-nilsäure bezeichnete Acylkomponente über eine Arabinopyranose mit dem Sapogenin Barringtogenol C verknüpft. In Zusammenhang mit Alkaloiden wurde die 3-Tigloyloxy-2-methylbuttersäure also bisher noch nicht aufgeführt.

Interessanterweise ähneln die Acylkomponenten der Astrimalvine den Necinsäuren bestimmter Convolvulaceen-spezifischer Pyrrolizidine, nämlich denen der innerhalb der *Ipomoea*-Sektion *Mina* vorkommenden Ipanguline und Minalobine. Die 3-Hydroxy-2-methylbuttersäure ist dort zusätzlich in Position 2 hydroxyliert. In unsubstituierter Form ist sie Bestandteil der (Iso-)Ipanguline D₃, C₁, A₁ und B₁, die jeweils als *threo*- / *erythro*-Isomerenpaare vorliegen, und von Ipangulin C₆ und C₇, von denen nur eine Konfiguration existiert. Bei dem Isomerenpaar Minalobin M und Minalobin O ist sie an der 3-Hydroxy-Gruppe mit Tiglinsäure verestert, sowie bei den Ipangulinen D₁₃, D₁₄, D₁₅, D₆, D₁₈ und C₅. (Jenett-Siems *et al.*, 2005a)

Besonders bemerkenswert ist, daß es sich bei den aus *Astripomoea malvacea* isolierten Verbindungen ausnahmslos um Stoffe handelt, bei denen sich der Substituent an C-3 des Tropan-Grundkörpers in β -Position befindet. Aus Convolvulaceae sind bisher fast ausschließlich 3α -Tropanolester erhalten worden, so die aromatischen Ester aus *Convolvulus*-Arten, bei denen am Stickstoff unterschiedlich substituierter 3α -Tropanol mit Veratrum- bzw. Vanillinsäure verestert ist (Orechhoff und Konowalowa, 1934 und 1935; Aripova und Yusunov, 1979; u. a.). Einzige Ausnahme hierbei ist das von Mann (1997) aus den Wurzeln von *Convolvulus cneorum* gewonnene Concneorin, also das 3β -Vanilloxytropan. Auch bei den von Weigl (1992), Jenett-Siems (1996) und Mann (1997) isolierten Merresectinen mit Consabatin und Consiculin handelt es sich stets um 3α -Tropanolester. Die in dieser Arbeit erstmals beschriebenen Tropanolester mit Monoterpensäuren, die Bonabiline, stellen ebenfalls Ester des 3α -Tropanols dar. Umfangreiche Screening-Ergebnisse haben mittlerweile gezeigt, daß von den meisten dieser Substanzen auch die 3β -Isomere existieren. Als dominierendes Isomer wurde jedoch stets die 3α -Form isoliert. Anders bei *Astripomoea malvacea*: Die in überragender Konzentration enthaltenen Substanzen sind 3β -Tropanolester.

Zudem konnte aus der Wurzelrinde 3β -Tropanol in größerer Menge gewonnen werden. Seine Isolierung aus der Wasserphase wirft allerdings die Frage auf, ob hier nicht ebenfalls ein N-Oxid vorliegt. Eigentlich müßte 3β -Tropanol sich im Basen-Extrakt befinden, wie auch seine Isolierung aus dem Basen-Extrakt der Wurzeln und Rhizome von *Falkia repens* zeigt, dessen Herstellung unter gleichen Bedingungen stattfand. Im Fall der Wurzelrinde von *Astripomoea malvacea* hingegen wurde 3β -Tropanol erst durch reduktiven Aufschluß

der Wasserphase zugänglich, war aber andererseits bei der GC-MS-Analyse des Basen-Extraktes nicht detektierbar. Es könnte sich allerdings auch um ein Artefakt handeln.

Erstaunlicherweise sind keine Calystegine, also polyhydroxylierte 3β -Tropanole, in Kraut und Wurzelrinde nachweisbar (Schimming *et al.*, 2005). Zwar scheint überwiegend Tropinon-Reduktase II vorhanden zu sein, was das Fehlen von 3α -Tropanol und der für eine Isolierung ausreichend hohe Gehalt an 3β -Tropanol belegt, dies führt jedoch nicht zur Bildung der ebenfalls diesem biogenetischen Zweig entstammenden Calystegine, sondern zu einer Anhäufung von Tropanen der 3β -Reihe. Hierbei handelt es sich um eine phytochemische Besonderheit innerhalb der Convolvulaceae, zumal bei der Spezies *Astripomoea malvacea* zur Hydrophilisierung der Tropane anstelle einer Polyhydroxylierung offensichtlich bevorzugt N-Oxide gebildet werden.

Das phytochemische Screening brachte außer den bei Convolvulaceae häufig auftretenden Cumarinen Scopolin und Scopoletin eine Reihe von Pyrrolidin-Alkaloiden zutage. Per GC-MS wurden in der Wurzelrinde Cuscohygrin, im Kraut Hygrin, 2',3- und 2',4-N-Methylpyrrolidinyhygrin und in beiden Pflanzenteilen Hygrin-5-on, 5-(2'-Oxopropyl)hygrin, 5-(2'-Hydroxypropyl)hygrin sowie einige weitere Vertreter dieser Stoffklasse detektiert. Außerdem konnten im Kraut Spuren von Nicotin nachgewiesen werden. Die einzigen unsubstituierten Tropane waren die im Kraut lokalisierten Tropan-3-on und Cyclopropin.

Die GC-MS-Untersuchung von Wurzelrinde und Kraut zeigte außerdem, daß die Basen-Extrakte hauptsächlich Tropanolester enthalten; diese sind in **Tab. 23** aufgeführt.

Identifiziert werden konnten anhand von Referenzdaten das 3β -Tigloyloxytropan und durch ihre Isolierung Astrimalvin A und Astrimalvin B. Daneben trat eine ganze Reihe unbekannter Verbindungen auf: vier 3-Nortropanolester mit einem Basispeak bei m/z 110, neun 3-Tropanolester (BP 124) und zwei Verbindungen mit Basispeak m/z 94 und einem auffällig großen Fragment m/z 140, bei denen es sich wohl um 3,6-Diester handeln dürfte (s. u.). Im Folgenden sollen für diese Substanzen Strukturvorschläge aufgestellt werden.

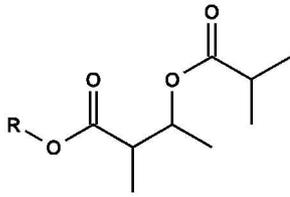
Tab. 23: Tropanolester bei *Astripomoea malvacea*

+ bis +++++	relative Konzentration	¹ aus dem GC-MS-Spektrum der Wurzelrinde
*	in Spuren	² aus dem GC-MS-Spektrum des Krauts
–	nicht nachweisbar	

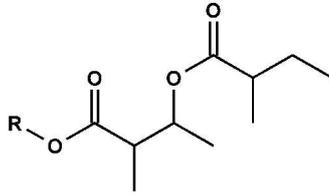
RI	MG/ BP	Wurzel- rinde	Kraut	<i>m/z</i> (rel. Int.; %)
1655	223	-	*	3 β -Tigloyloxytropan
1708	241	*	+	Astrimalvin B
1750	241/ 124	+	-	241 (8), 227 (2), 224 (1), 197 (1), 183 (1), 140 (5), 124 (100), 110 (41), 95 (10), 94 (28), 83 (26), 82 (52) ¹
1981	297/ 110	-	*	297 (2), 240 (1), 224 (3), 212 (1), 210 (1), 140 (3), 126 (1), 124 (52), 110 (100), 95 (6), 94 (14), 83 (15), 82 (21), 43 (30) ²
1986	311/ 124	*	+	311 (6), 240 (4), 226 (1), 224 (9), 140 (8), 124 (100), 110 (9), 95 (18), 94 (39), 83 (38), 82 (79), 43 (38) ²
2076	311/ 110	*	++	311 (2), 240 (1), 226 (1), 224 (2), 212 (1), 210 (1), 185 (1), 183 (1), 140 (2), 124 (34), 110 (100), 95 (5), 94 (8), 83 (17), 82 (16) ¹
2082	325/ 124	+	++++	325 (3), 240 (3), 224 (6), 140 (5), 124 (100), 110 (14), 95 (9), 94 (19), 83 (21), 82 (38) ¹
2116	323/ 124	*	*	323 (4), 309 (2), 308 (1), 294 (1), 240 (2), 224 (5), 178 (7), 161 (4), 140 (6), 124 (100), 110 (33), 95 (12), 94 (26), 83 (39), 82 (50) ²
2140	309/ 110	*	++	309 (10), 294 (2), 240 (3), 226 (2), 224 (7), 210 (2), 183 (2), 140 (4), 124 (77), 110 (100), 95 (11), 94 (31), 83 (67), 82 (46) ²
2152	323	++++	++++	Astrimalvin A
2197	339/ 124	*	*	339 (3), 240(1), 224 (3), 210 (1), 140 (6), 124 (100), 110 (17), 95 (10), 94 (20), 83 (21), 82 (33) ²
2233	341/ 124	*	*	341 (2) , 242 (1), 240 (2), 224 (4), 140 (5), 124 (100), 110 (12), 95 (10), 94 (19), 83 (17), 82 (29) ²
2261	341/ 94	-	*	341 (1), 297 (4), 256 (1), 242 (1), 240 (1), 213 (1), 156 (2), 140 (40), 124 (3), 122 (5), 110 (8), 96 (11), 95 (94), 94 (100), 85 (10), 83 (6), 82 (6), 57 (34) ²
2332	339/ 94	*	*	339 (1), 295 (4), 240 (1), 238 (1), 224 (1), 221 (1), 156 (1), 140 (25), 124 (7), 122 (4), 110 (8), 95 (84), 94 (100), 83 (28), 81 (6), 55 (29) ²
2347	375/ 124	+	*	375 (2), 312 (2), 240 (1), 224 (3), 210 (1), 140 (4), 124 (100), 110 (13), 95 (7), 94 (15), 83 (15), 82 (27) ¹
2361	375/ 124	+	*	375 (2), 312 (2), 240 (1), 224 (3), 210 (1), 140 (4), 124 (100), 110 (7), 95 (7), 94 (15), 83 (15), 82 (26) ¹
2382	311/ 110	-	*	311 (15), 256 (2), 254 (3), 240 (2), 226 (3), 211 (6), 154 (12), 138 (53), 137 (45), 124 (19), 110 (100), 108 (28), 95 (27), 85 (34), 83 (28) ²
2398	339/ 124	*	*	339 (4), 310 (1), 308 (2), 242 (8), 240 (1), 224 (3), 197 (1), 183 (1), 140 (6), 124 (100), 110 (8), 95 (12), 94 (24), 85 (21), 83 (22), 82 (36) ²

- RI 1750 dürfte ein Isomer von Astrimalvin B sein. Vorstellbar wäre, daß es sich hier statt der *threo*- um die *erythro*-konfigurierte Verbindung handelt, was auch in Einklang mit der Differenz der Retentionsindices von 42 Einheiten stünde.
- Aufgrund der ausgeprägten Fragmente bei m/z 240 und m/z 224 liegt nahe, daß RI 1986 ebenfalls mit Hydroxymethylbuttersäure verestert ist. Die Differenz von 71 zu MG 311 entspricht der molekularen Zusammensetzung C_4H_7O . Analog zum 3-Isobutyryloxytropan (Butropin), das mehrfach in Convolvulaceae gefunden wurde, könnte es sich bei der Acylkomponente um 3-Isobutyryloxy-2-methylbuttersäure handeln. Dafür sprechen zum einen das größere Fragment bei m/z 43, das für die Abspaltung eines Isopropyl-Rests charakteristisch ist und durch α -Spaltung zur Carbonyl-Gruppe gebildet wird, und zum anderen das Fehlen eines Fragmentes mit $[M-28]^+$, das bei einem *n*-Butyryl-Rest durch McLafferty-Umlagerung und Verlust von Ethylen entstehen würde (Christen *et al.*, 1995). Mit einem Basispeak bei m/z 110 und dem um 14 geringeren Molekulargewicht MG 297 müßte RI 1981 der zugehörige Nortropanolester sein.
- RI 2082, der im Kraut die zweite Hauptverbindung ist, verfügt mit MG 325 über zwei Wasserstoff-Atome mehr als Astrimalvin A. Wahrscheinlich tritt an die Stelle der Tiglinsäure die 2-Methylbuttersäure. Mit RI 2076 ist auch hier ein zugehöriger Nortropanolester vorhanden. Trotz identischer Mol- und Basispeaks weist RI 2382 abweichende Zerfallsionen und damit vermutlich eine andere Konstitution auf.
- Nur einen Bruchteil des Gehalts an Astrimalvin A weist eine Verbindung gleicher Molmasse bei RI 2116 auf. Der ähnliche Massenerfall spricht für eine abweichende Konfiguration, höchstwahrscheinlich in Form des 3α -Epimers, das erfahrungsgemäß vor dem 3β -Epimer eluiert wird. RI 2140 ist mit MG 309 und einem Basispeak bei m/z 110 die mit Astrimalvin A korrespondierende Nor-Verbindung.
- Die 3-Tropanolester mit MG 339 und MG 341 bei RI 2197 und RI 2233 unterscheiden sich durch eine zusätzliche Hydroxy-Gruppe von MG 323 und MG 325. Denkbar ist, daß bei beiden die 3-Hydroxy-2-methylbuttersäure durch die bei Ipangulinen und Minalobinen häufig auftretende 2,3-Dihydroxy-2-methylbuttersäure ersetzt ist. Für MG 341 wäre auch eine zweifache Substitution mit 3-Hydroxy-2-methylbuttersäure denkbar. Aufgrund des unterschiedlichen Massenspektrums muß bei RI 2398 mit einer abweichenden Struktur gerechnet werden.
- Außergewöhnlich sind die beiden Peaks bei RI 2261 und RI 2332, die zwar ähnliche Zerfallsmuster, aber von den übrigen Verbindungen abweichende Basispeaks aufweisen. m/z 94 ist charakteristisch für 3,6-Tropanoldiester; der ausgeprägte Peak bei m/z 140 deutet auf eine Hydroxylierung in Position 6 hin (Berkov und Zayed, 2004; Christen *et al.*, 1995). Das jeweils vorhandene auffällige Fragment $[M-44]^+$, das durch Abspaltung der hydroxylierten Ethylenbrücke entsteht, untermauert dies. Acylkomponenten dürften die mit Tiglinsäure (MG 339; m/z 55) und die mit 2-Methylbuttersäure (MG 341; m/z 57) veresterte 3-Hydroxy-2-methylbuttersäure sein.
- Die 3-Tropanolester bei RI 2347 und RI 2361 haben das Molekulargewicht MG 375. Sie könnten eventuell den bei Minalobin R auftretenden Substituenten gleicher Masse tragen, die 3-Phenylacetoxy-2-hydroxy-2-methylbuttersäure.

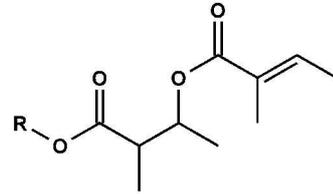
Ein besonderes Augenmerk kommt hierbei der Frage zu, ob diese Verbindungen allesamt als β -Tropanole vorliegen.



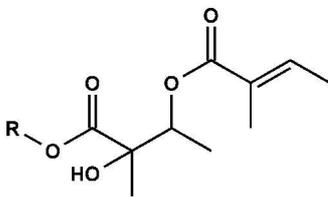
RI 1986 MG 311 BP 124
RI 1981 MG 297 BP 110



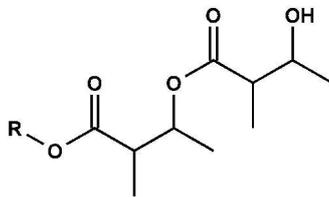
RI 2082 MG 325 BP 124
RI 2076 MG 311 BP 110
RI 2261 MG 341 BP 94



RI 2152 MG 323 BP 124
RI 2140 MG 309 BP 110
RI 2332 MG 339 BP 94

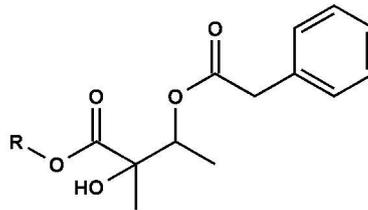
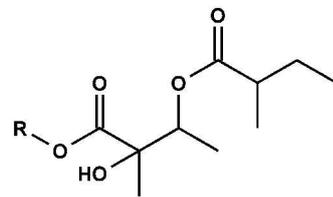


RI 2197 MG 339 BP 124



bzw.

RI 2233 MG 341 BP 124



RI 2347 MG 375 BP 124
RI 2361 MG 375 BP 124

Abb. 110:

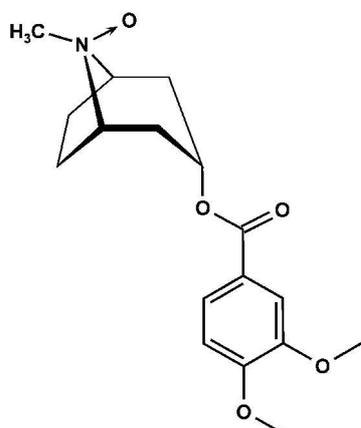
Strukturformeln möglicher Acylkomponenten der 3-Tropanolester bei *Astripomoea malvacea*

Durch die vorliegenden Ergebnisse können – sozusagen rückbezüglich – den Minalobinen D und E (Jenett-Siems *et al.*, 2005a) die *threo*- und die *erythro*-3-Hydroxy-2-methylbuttersäure als Necinsäuren zugeschrieben werden, da übereinstimmend das charakteristische Zerfallsion m/z 197 erscheint und auch die für *threo*- und *erythro*-Form einer Verbindung typische Differenz der Retentionsindices von etwa 35 Einheiten (Kováts, 1958) zu beobachten ist. Abweichend davon fehlt m/z 197 bei Minalobin G, wohingegen ein Fragment mit m/z 157 auftritt, das wiederum bei den 3-Hydroxy-2-methylbutyryloxy-Verbindungen nicht zu finden ist, was trotz gleicher Molmasse für eine abweichende Necinsäure spricht.

Bei allen drei Substanzen aus der Wurzelrinde von *Astripomoea malvacea* handelt es sich um N-Oxide: Das Astrimalvin A-N-oxid wurde als solches isoliert, und bei Astrimalvin B und β -Tropanol ist davon auszugehen, daß sie genuin als solche vorliegen, da sie erst nach Reduktion der Wasserphase zugänglich wurden. Desweiteren sind von den aus den Wurzeln und Rhizomen der im vorangegangenen Kapitel 3.3 beschriebenen *Falkia repens* gewonnenen Verbindungen vier ebenfalls N-oxidierte 3-Tropanole.

Der nun folgende *Exkurs* ist daher den Tropan-N-oxiden bei Convolvulaceae gewidmet.

Exkurs zu 3.3 und 3.4: Tropan-N-oxide bei Convolvulaceae



In der Literatur findet sich lediglich ein einziger Bericht über die Isolierung eines Tropan-N-oxids aus einer Convolvulaceae: Aripova isolierte 1985 das N-Oxid des Convolamins aus den oberirdischen Teilen von *Convolvulus krauseanus*.

Abb. 111: Convolamin-N-oxid

In dieser Arbeit werden nun fünf Tropan-N-oxide im Sinne von neuen Naturstoffen beschrieben; hinzu kommen zwei Verbindungen aus der Wasserphase der Wurzelrinde von *Astripomoea malvacea*, die erst durch deren reduktiven Aufschluß zugänglich wurden, und somit genuin mutmaßlich ebenfalls als N-Oxide vorliegen. Grund genug, dieses Phänomen genauer unter die Lupe zu nehmen.

In der Natur ist das Auftreten von N-Oxiden nichts Ungewöhnliches: Ein Review von Phillipson und Handa umfaßte bereits 1978 natürlich vorkommende N-Oxide der Alkaloid-Typen Pyrrolidin-Piperidine, Tropane, Pyrrolizidine, Chinolizidine, Isochinoline, Morphinane und Indole. Erst kürzlich konnte von Frölich *et al.* (2007) experimentell dargelegt werden, daß die Pyrrolizidin-Alkaloide der Boraginaceae genuin als N-Oxide vorliegen. Nicht zuletzt aufgrund ihrer toxischen Vertreter dienten insbesondere Pyrrolizidine-führende Pflanzen als Untersuchungsobjekte bezüglich der Bildung von N-Oxiden. Hartmann und Toppel (1987) fanden bei Wurzelkulturen von *Senecio vulgaris* Senecionin-N-oxid als primäres Produkt der Biosynthese. Hierbei stellten sie fest, daß die tertiären Pyrrolizidinalkaloide aus den entsprechenden N-Oxiden gebildet werden und leicht spontan während der Alkaloidextraktion entstehen können. Die tertiären Amine können also als Abbauprodukte angesehen werden, die durch den Einfluß natürlich auftretender Reduktionsmittel entstehen. Spontane N-Oxidation tertiärer Amine hingegen wurde niemals beobachtet.

Diese Feststellung unterstützt die Annahme, daß die isolierten Tropan-N-oxide tatsächlich natürlich vorkommende pflanzliche Sekundärstoffe sind und nicht durch den Extraktionsprozeß und die anschließende Aufarbeitung gebildet werden; bei den angewandten Methoden dürften zudem keine ausreichend starken Oxidationsmittel vorhanden gewesen sein. Dies wird durch die Kontrollversuche von Phillipson und Handa (1976), die unter ähnlichen Bedingungen arbeiteten, untermauert. Sie konnten anhand ihrer Fütterungsexperimente mit radioaktiv markiertem [$G-^3H$]-Atropin zudem zeigen, daß Früchte von *Atropa belladonna* zur Bildung von Hyoscyamin-N-oxid befähigt sind. Interessanterweise

findet die N-Oxidation beim Säuger im Sinne einer Entgiftungsreaktion statt: Die Lebermikrosomen von Meerschweinchen verstoffwechselten Atropin und Scopolamin nicht nur zu deren Nor-Derivaten, sondern auch zu den jeweiligen N-Oxiden (Phillipson *et al.*, 1976). Für die mikrosomale NADPH-abhängige N-Oxidation von Senecionin konnte eine flavinhaltige Monooxygenase verantwortlich gemacht werden, dank der Meerschweinchen nach Ingestion von Pyrrolizidinalkaloiden keine Vergiftungserscheinungen aufweisen (Miranda *et al.*, 1991).

Durch die Oxidation des Stickstoffs entsteht aus dem eher lipophilen tertiären Amin eine polare geladene Substanz, was zu einer starken Erhöhung der Wasserlöslichkeit führt. Zum einen wird dadurch der Transport des Alkaloids erheblich erleichtert, zum anderen liegt nun eine ideale Speicherform zur Ablagerung in der Zellvakuole vor (Ehmke *et al.*, 1988). Die N-Oxidation eines Alkaloids hat also eine ähnliche Funktion wie die Glykosylierung anderer in den Vakuolen gespeicherter Sekundärstoffe.

Allerdings führt eine derartige Veränderung der chemischen Eigenschaften auch dazu, daß Alkaloid-N-oxide in der Regel nicht mit organischen Lösemitteln aus einem wäßrigen Medium ausschüttelbar sind und damit bei den herkömmlichen Verfahren der Alkaloidgewinnung nur in Ausnahmefällen erfaßt werden. Geraten doch N-Oxide in den Basen-Extrakt, so sind sie mit den Standardmethoden nicht von den übrigen Alkaloiden zu unterscheiden: Sie färben sich ebenso wie die tertiären Amine mit Dragendorffs Reagenz in Orangetönen, und im GC-MS wird der Sauerstoff vermutlich bereits beim Verdampfen der Probe abgespalten. Beispielsweise liegt der Molpeak der Hauptverbindung des Basen-Extraktes der Wurzelrinde von *Astripomoea malvacea*, die als Astrimalvin A-N-oxid mit $[M]^+$ 339 isoliert wurde, im GC-MS bei m/z 323. Erst durch die Erstellung eines (+)-FABMS konnte zweifelsfrei der N-Oxid-Charakter bestätigt werden. Dieses Verfahren wurde daher auch als Methode der Wahl zur Detektion von N-Oxiden herangezogen.

Selbst die Trocknung des Ausgangsmaterials bei 40-50°C verändert das Verhältnis zwischen freier Base und entsprechendem N-Oxid, ohne jedoch den Gesamtalkaloidgehalt zu beeinflussen, wie die synchrone Analyse der Frischpflanze zeigte (Pedersen, 1975). Das verstärkte Auftreten von N-Oxiden in den Extrakten der Wurzeln und Rhizome von *Falkia repens* und der Wurzelrinde von *Astripomoea malvacea* mag also auch in dem Umstand begründet liegen, daß beide Drogen luftgetrocknet wurden, statt im Trockenschrank Temperaturen von etwa 40°C ausgesetzt zu sein.

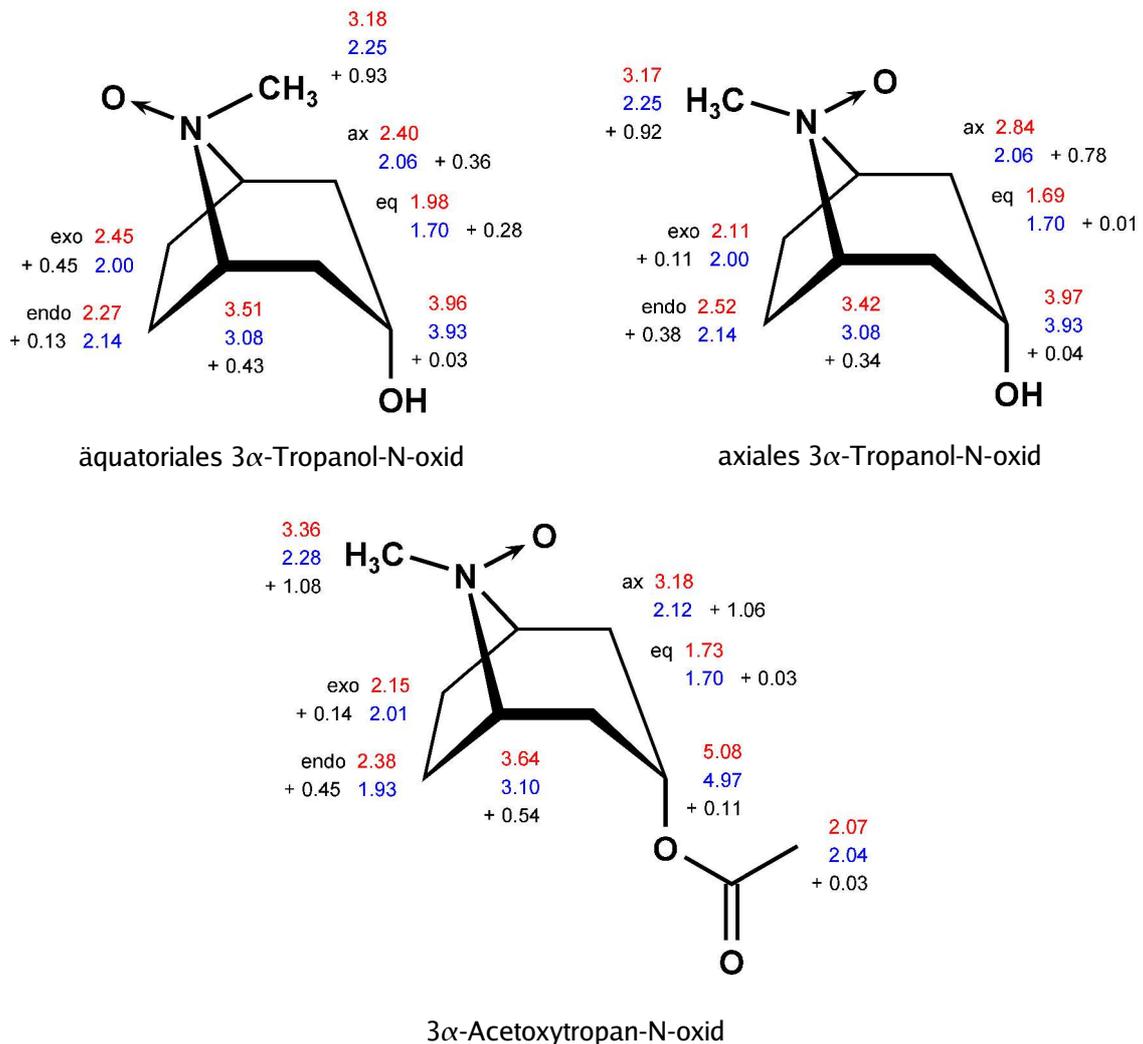
Die ersten Tropan-N-oxide wurden daher auch nicht früher als 1973 von Phillipson und Handa entdeckt. Sie berichteten in ihrem Vortrag bei der *British Pharmaceutical Conference* über die Isolierung von zwei N-Oxiden des Hyoscyamins aus den Samen von *Atropa belladonna* (Solanaceae). Hierbei handelt es sich um die beiden Konfigurationsisomere am Stickstoff, wobei die N→O-Bindung einmal axial und einmal äquatorial orientiert ist. Beide konnten in allen Pflanzenteilen der Tollkirsche nachgewiesen werden (s. a. Hartmann *et al.*, 1986), außerdem in verschiedenen Drogen von *Hyoscyamus niger*, *Datura stramonium*, *Scopolia carniolica*, *S. lurida* und *Mandragora officinarum*. Es überwog stets das äquatoriale Hyoscyamin-N-oxid. Bei allen Spezies außer der Alraune

konnte zudem das äquatoriale N-Oxid des Hyoscins gefunden werden (Phillipson und Handa, 1975). Desweiteren wurde das 6-Hydroxyhyoscyamin-N-oxid aus den Wurzeln von *Physoclaina alaica* isoliert (Mirzamatov *et al.*, 1974) und aus den Wurzeln von *Physalis alkekengi* nach dem 3 α -Tigloyloxytropan (Yamaguchi und Nishimoto, 1965) auch dessen N-oxid (Yamaguchi *et al.*, 1974). Auffälligerweise handelt es sich bei allen soeben angeführten Stammpflanzen um Nachtschattengewächse, die ja bekannt sind für ihren hohen Gehalt an Tropan-Alkaloiden.

Mittlerweile konnten auch bei einer weiteren wichtigen Quelle dieses Alkaloid-Typs, den *Erythroxylum*-Arten (Erythroxylaceae), Tropan-N-oxide nachgewiesen werden. Isoliert wurden das N-Oxid des Anhydroecgonin-methylesters aus der Rinde von *Erythroxylum emarginatum* (Nishiyama *et al.*, 2007), das mit N-Methylpyrrol-2-carbonsäure 3 α ,6 β -disubstituierte Catuabin E-N-oxid aus der Rinde von *Erythroxylum vacciniifolium* (Zanolari *et al.*, 2005) und Pervillein A-N-oxid, ein 7-hydroxylierter 3,6-Tropanoldiester aus den Wurzeln von *Erythroxylum pervillei* (Silva *et al.*, 2001). Hinzu kommt das N-Oxid des γ -Pyranotropans Darlingin aus Rinde und Blättern der Proteaceae *Darlingia darlingiana* (Katavic *et al.*, 1999).

Hervorzuheben ist an dieser Stelle, daß im Rahmen der vorliegenden Arbeit mit 3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan-N-oxid, 3 β -Tigloyloxytropan-N-oxid und Astrimalvin A-N-oxid erstmalig N-Oxide von 3 β -Tropanolen als Naturstoffe erhalten wurden.

Die relativ späte Entdeckung natürlich vorkommender Tropan-N-oxide stand deren wissenschaftlicher Erforschung jedoch nicht im Wege. Bereits 1925, 1927 und 1928 beschäftigten sich Max und Michel Polonovski mit ihrer synthetischen Herstellung. Mittels Wasserstoffperoxid gelang ihnen die Darstellung der N-Oxide von Hyoscyamin, Atropin, Tropin, Apoatropin, Homatropin und Scopolamin, Tropinon, Scopolin und Scopin auf chemischem Wege. Somit standen diese synthetischen Tropan-N-oxide der Forschung zur Verfügung. Auch in diesem Zusammenhang wurde schnell ersichtlich, daß von einem Tropan-N-oxid – je nach räumlicher Anordnung der Substituenten am Stickstoff – jeweils zwei Formen existieren; sie werden als äquatoriales und axiales N-Oxid differenziert. Werner und Schickfluß (1971) gewannen durch Umsetzung von 3 α -Tropanol mit H₂O₂ ein Gemisch beider Isomere, das sie dünnschichtchromatographisch auftrennten. Die Zuordnung der Konfiguration am Stickstoff wurde durch Einkristallröntgenstrukturanalyse des einen Isomers abgesichert (Werner *et al.*, 1976). Es wurde festgestellt, daß die Konfigurationsisomere anhand ihrer ¹H-NMR-Spektren voneinander unterschieden werden können. Vergleicht man die Peaks des N-Oxids mit denen des tertiären Amins, werden die dem Stickstoff β -ständigen Methylengruppen je nach Orientierung des Sauerstoffs unterschiedlich beeinflusst. Grundsätzlich kann eine Tieffeldshift der Signale beobachtet werden. Die Differenzen der δ -Werte (3 α -Tropanole nach Bachmann und Phillipsborn, 1972; 3 α -Acetoxytropane s. 2.2.4.2.1 und 5.4.4.2) sind in der nachfolgenden **Abb. 112** dargestellt:

**Abb. 112:**

Differenzen $\Delta\delta_{\text{H}}$ der ^1H -NMR-Werte zwischen N-Oxid (rot) und tertiärem Amin (blau)

Bezüglich der Ethylenbrücke liegt sowohl beim 3 α -Tropanol (= Tropin), als auch beim 3 α -Acetoxytropan das Signal der *endo*-ständigen H-6n und H-7n im tieferen Feld als das der *exo*-ständigen H-6x und H-7x. Während diese Reihenfolge beim axialen Tropin-N-oxid beibehalten wird, kehrt sie sich beim äquatorialen Tropin-N-oxid um. Hierbei weisen H-6n/H-7n des axialen Tropin-N-oxid eine große Differenz von $\Delta\delta$ 0.38 und H-6x/H-7x eine kleine von $\Delta\delta$ 0.11 auf; umgekehrt verhält es sich beim äquatorialen Tropin-N-oxid, bei dem H-6n/H-7n eine kleine Differenz von $\Delta\delta$ 0.13 und H-6x/H-7x eine große von $\Delta\delta$ 0.45 zeigen. Die $\Delta\delta$ -Werte des 3 α -Acetoxytropan-N-oxids decken sich gut mit denen des axialen Tropin-N-oxid.

Noch deutlicher werden die Unterschiede zwischen den beiden N-Oxiden, wenn man den Einfluß der Konfiguration am Stickstoff auf die axialen und die äquatorialen Protonen an C-2 und C-4 betrachtet. Beim äquatorialen Tropin-N-oxid werden H-2a/H-4a und H-2e/H-4e gleichmäßig etwa 0.3 ppm ins Tieffeld verschoben. Anders beim axialen Tropin-N-oxid, bei dem H-2a/H-4a durch die räumliche Nähe zum Sauerstoff sogar eine Shift von 0.78 ppm erfahren, wohingegen H-2e/H-4e kaum einen Effekt aufweisen. Stellt man diesen

Ergebnissen nun das hier isolierte Verbindungspaar 3α -Acetoxytropan und 3α -Acetoxytropan-N-oxid gegenüber, so kann eindeutig von einem axialen Tropan-N-oxid ausgegangen werden. Eine fast ebenso starke Tieffeldverschiebung der axialen Protonen H-2a und H-4a wie beim 3α -Acetoxytropan-N-oxid ($\Delta\delta$ 1.06) tritt beim 3β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan-N-oxid ($\Delta\delta$ 0.97) auf, was hier ebenfalls ein axiales N-Oxid vermuten läßt. Diese Konfiguration kann aufgrund des nahezu übereinstimmenden δ -Wertes von H-2a/H-4a auch auf das 3β -Acetoxytropan-N-oxid übertragen werden.

Die N-Methylgruppe verbleibt also in äquatorialer Position, was für die nicht-N-oxidierten Tropane unter 2.2.4.1.1 bereits festgehalten wurde. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Huber *et al.* (1971), die bei der Synthese der N-Oxide des Atropins und des 3α -Tropanols als Hauptverbindung jeweils das N-Oxid des äquatorialen N-Epimers erhielten.

Das Signal der N-Methylgruppe des N-Oxids zeigt im $^1\text{H-NMR}$ durchweg eine Differenz von etwas über 1 ppm im Vergleich zur Base. Diese Tieffeldshift scheint unabhängig von der Stellung der Acylkomponente in Position 3 zu sein, denn bei 3α -Acetoxytropan und 3α -Acetoxytropan-N-oxid ($\Delta\delta_{\text{N-CH}_3}$ 1.08) sowie bei den 3β -Tropanolen 3β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan und 3β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan-N-oxid ($\Delta\delta_{\text{N-CH}_3}$ 1.19) sowie Astrimalvin B und Astrimalvin A-N-oxid ($\Delta\delta_{\text{N-CH}_3}$ 1.07) kann eine solche Verschiebung des N-Methyl-Singulets übereinstimmend festgestellt werden.

Beim Pervillein A-N-oxid lehnen sich Silva *et al.* (2001) an die bei Huber *et al.* (1971) publizierten $^1\text{H-NMR}$ -Werte für die beiden Epimere des Scopolamin-N-oxid an. Die dem N-Oxid geminale N-Methylgruppe liegt beim axialen N-Oxid bei δ 3.60 und beim äquatorialen N-Oxid bei δ 3.39; Lösemittel ist D_2O . Daraus leiten sie für das von ihnen isolierte Pervillein A-N-oxid aus $\delta(\text{N-CH}_3)$ 3.31 (in CDCl_3) eine axiale Position der N-Methylgruppe ab. Problematisch wird diese Zuordnung in Bezug auf das Astrimalvin A-N-oxid, denn in CDCl_3 liegt N-CH_3 bei δ 3.64, wäre demnach also äquatorial, und in MeOD liegt N-CH_3 bei δ 3.47, was für eine axiale Orientierung spricht. Es ist nicht anzunehmen, daß es durch den Wechsel des Lösungsmittels bzw. die zwischen den beiden Messungen liegende Zeit tatsächlich zu einer Konformationsänderung kommt. Statt einer vollständigen Umwandlung wäre zudem wohl eher ein Isomerengemisch mit zwei N-CH_3 -Singulets wahrscheinlich. Je nach Lösemittel weist die N-Methylgruppe also unterschiedliche δ -Werte auf; es müssen demzufolge mehrere Indizien für die Bestimmung der Stereochemie am Stickstoff (s. o.) herangezogen werden.

Hinsichtlich der $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren einer Base und ihres N-Oxid scheint die Verschiebung der ppm-Werte ebenfalls einem Muster zu folgen. Es kann beobachtet werden, daß die in unmittelbarer Nachbarschaft zum oxidierten Stickstoff stehenden Kohlenstoffe große Tieffeldshiften um die 10 ppm oder mehr aufweisen. Die β -ständigen Kohlenstoffe – bei den Tropanen also die Methylengruppen in den Positionen 2, 4, 6 und 7 – weisen hingegen negative Differenzen $\Delta\delta_{\text{C}(\text{N}\rightarrow\text{O} - \text{N})}$ auf bzw. zeigen kaum eine Verschiebung. Wie in den nachstehenden Formelbildern zu sehen ist, läßt sich diese Gesetzmäßigkeit nicht nur auf Scopolamin und sein N-Oxid (Wenkert *et al.*, 1974), das trisubstituierte Pervillein A und sein N-Oxid (Silva *et al.*, 2001) und sogar das γ -Pyranotropan Darlingin und sein N-Oxid

(Katavic *et al.*, 1999) übertragen, sondern auch auf die im Rahmen dieser Arbeit isolierten 3 α -Acetoxytropan/3 α -Acetoxytropan-N-oxid sowie 3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan/3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan-N-oxid und Astrimalvin B/Astrimalvin A-N-oxid.

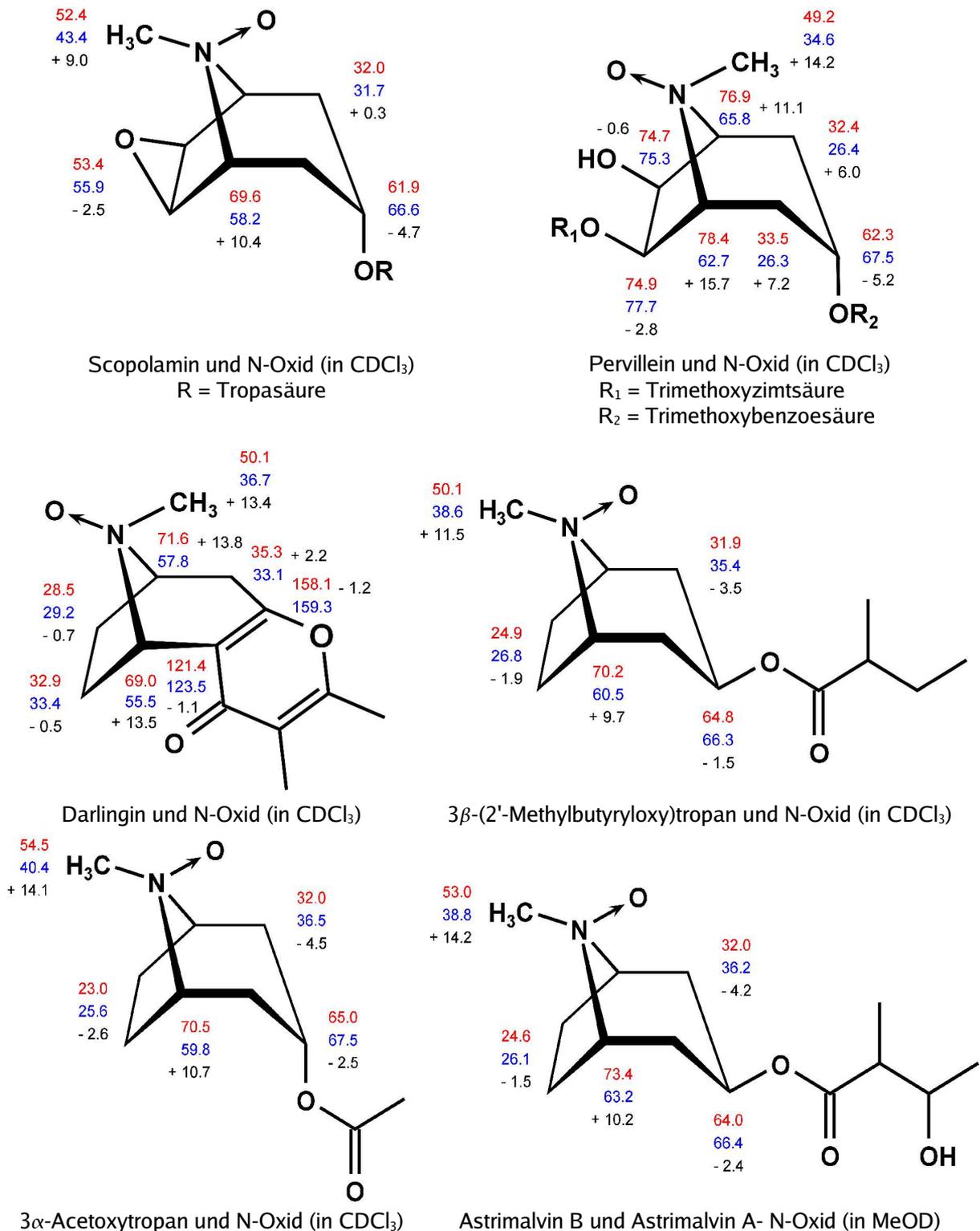


Abb. 113:

Differenzen $\Delta\delta_C$ der ¹³C-NMR-Werte zwischen N-Oxid (rot) und tertiärem Amin (blau)

Auch anhand der chemischen Verschiebung der N-Methylgruppe im ^{13}C -NMR kann laut Potmischil *et al.* (2003) die Konfiguration am Stickstoff bestimmt werden. Für das axiale N-Oxid des 3α -Tropanol wurden 55.20 ppm ermittelt, für das äquatoriale 48.40 ppm. Anhand dessen kann sowohl für das 3α -Acetoxytropan-N-oxid (54.5 ppm), als auch für das Astrimalvin A-N-oxid (53.0 ppm) von einer axialen Orientierung des Sauerstoffs ausgegangen werden.

Abschließend läßt sich feststellen, daß bei Convolvulaceae in der Tat Tropan-N-oxide auftreten, und zwar unabhängig von der sterischen Orientierung an C-3. Es ist anzunehmen, daß bei den Windengewächsen durchaus noch mehr N-Oxide gefunden werden können, da sich ein nicht unerheblicher Teil während der Analyse zersetzt und auch die Detektionsmethoden des Screenings nicht spezifisch genug sind, um sie von den klassischen Alkaloiden zu unterscheiden.

Für die im Rahmen dieser Arbeit erhaltenen Tropan-N-oxide konnte gezeigt werden, daß die äquatoriale Ausrichtung der N-Methylgruppe erhalten bleibt und der Sauerstoff die axiale Position einnimmt.

3.5 Inhaltsstoffe von *Convolvulus sabatius* Viv.

Die im Mittelmeerraum endemische *Convolvulus sabatius* Viv. wurde bereits bei Mann (1997) als Quelle mehrerer Ester des 3α -Tropanols mit isoprenylierten Cyclohexenyl- bzw. Benzoyl-Resten beschrieben. Aus den Wurzeln der Subspezies *mauritanicus* isolierte sie Consabatin und Merresectin B; daneben konnten bei der GC-MS-Analyse weitere Verbindungen dieses Typs detektiert werden.

Da es sich bei **Consabatin** um eine chirale Verbindung handelt, sollte eine ausreichend große Menge für weiterführende spektroskopische Untersuchungen wie der Röntgenstrukturanalyse gewonnen werden. Trotz mehrfacher Versuche konnte Consabatin nicht in kristalliner Form erhalten werden. Daher wurde ein Verfahren angewandt, bei dem sich die absolute Konfiguration durch Bildung stereochemisch definierter Derivate und der bei diesen im ^1H -NMR zu beobachtenden unterschiedlichen Verschiebungen der Signale der Protonen in der Umgebung des Chiralitätszentrums herleiten läßt. Durch Synthese der sog. Mosher-Ester, das sind Ester des (+)- und des (-)-2-Methoxy-2-trifluormethylphenyllessigsäure(MTPA)chlorids mit dem zu untersuchenden Alkohol, und Auswertung der Protonenresonanzspektren konnte für das Consabatin eine **1'R-Konfiguration** ermittelt werden.

Aus der anzunehmenden Kongruenz von Consabatin und dem aus *Convolvulus siculus* isolierten (Jenett-Siems *et al.*, 1998c) Consiculin, der R-Konfiguration der Hydroxy-Gruppe an C-1' beim Consabatin und der *trans*-Stellung der beiden OH-Gruppen an C-1' und C-2'

beim Consiculin läßt sich für das C-2' des Consiculin eine S-Konfiguration ableiten. Damit kann die Consiculsäure, deren 2-Desoxy-Derivat die Acylkomponente des Consabatin ist, als 1*R*,2*S*-Dihydroxy-5-prenyl-cyclohex-5-en-4-on-carbonsäure postuliert werden.

Diese außergewöhnlichen Acylkomponenten sind bisher einzigartig und können allenfalls mit den ebenso isolierten Merresectinen in einen biogenetischen Zusammenhang gebracht werden. Hierbei werden die Merresectine als Präkursoren für die hydrierten Verbindungen Consabatin und Consiculin diskutiert (Jenett-Siems *et al.*, 2005b). Consabatin tritt auch im Kraut von *Evolvulus alsinoides*, *Ipomoea plebeia*, *Merremia hederacea*, *Merremia quinata* und *Polymeria calycina* auf, während das verwandte Consiculin in keiner anderen Spezies detektiert werden konnte. Auffällig ist, daß es jeweils im Kraut nachgewiesen wurde. (s. 2.1.2.2)

Das von dieser Substanzgruppe am häufigsten aus Convolvulaceae gewonnene **Merresectin B** weist ebenfalls eine ungewöhnliche Acylkomponente auf: Die 3,5-Di-(2'-isopentenyl)-4-hydroxybenzoesäure tritt erstaunlicherweise in der als Monokotyledonen systematisch weit entfernten Familie der Orchidaceae als Bestandteil des auf Lindelofidin basierenden Pyrrolizidinalkaloides Nervosin aus *Liparis nervosa* auf. Sie wird daher auch als Nervogensäure bezeichnet (Nishikawa und Hirata, 1967). Die 4- β -D-glucosidierte Form namens Kuramersäure findet sich mit Cholin verestert im Kuramerin aus *Liparis kurameri* wieder und als Necinsäure des Pyrrolizidinalkaloids Kumokirin aus *Liparis kumokiri* in Verknüpfung mit dem N-Methylpyrrolizidin Laburnin (Nishikawa *et al.*, 1967).

Merresectin B wurde jeweils aus den Wurzeln von *Merremia dissecta* (Weigl *et al.*, 1992; Henrici, 1996), *Convolvulus siculus* (Jenett-Siems, 1996), *Convolvulus sabatius* ssp. *mauritanicus*, *Merremia cissoides* und *Merremia quinquefolia* (alle Mann, 1997) isoliert. Besonders hervorzuheben ist die Tatsache, daß es sich bei Merresectin B um das erste glykosidierte Tropan-Alkaloid überhaupt handelt.

Dessen Detektion im Screening wird dadurch erschwert, daß es per GC-MS lediglich in Form des Aglykons Merresectin C nachgewiesen werden kann, das im Gaschromatogrammen durch hydrolytische Zersetzung von Merresectin B entsteht. Allerdings tritt Merresectin C auch genuin auf, was durch die Isolierung aus den Wurzeln von *Merremia dissecta* (Henrici, 1996) gezeigt werden konnte. Im Rahmen des GC-MS-Screenings konnte Merresectin C im Kraut von *Evolvulus alsinoides* und *Merremia quinata* gefunden werden, außerdem in den Wurzeln von *Ipomoea arborescens* und *I. mauritiana* und in Kraut und Wurzeln von *Ipomoea tricolor* cv. „Heavenly Blue“. Ein Isomer, höchstwahrscheinlich die 3 β -Form, wurde in den Wurzeln von *Convolvulus sabatius* und zudem im Kraut von *Ipomoea plebeia* detektiert. (s. 2.1.2.2)

Bei dem gleichfalls isolierten **Merresectin D- β -D-glucosid** tritt an die Stelle eines der beiden Dimethylallyl-Reste eine Methoxygruppe. Auch die 4-(β -D-Glucopyranosyloxy)-5-methoxy-3-(3'-methyl-2'-butenyl)benzoesäure wurde als Necinsäure von Pyrrolizidinalkaloiden der Orchidaceae beschrieben: verknüpft mit Lindelofidin wurde sie als Bestandteil des Hammarbins aus *Hammarbya paludosa* gewonnen und mit Laburnin

verestert als Keitaoin aus *Liparis keitaoensis* zusammen mit dessen Aglykon Keitin (Lindström und Lüning, 1972). Unter dem Arbeitstitel Merreguerrichin wurde dieser Ester des 3 α -Tropanols erstmals aus den Wurzeln von *Merremia guerrichii* isoliert (Jenett-Siems *et al.*, 1999 und 2005b). Im GC-MS ist nur sein Aglykon Merresectin D nachweisbar; dieses konnte außerdem im Kraut von *Merremia quinata* detektiert werden (s. 2.1.2.2).

Das einfach isoprenylierte **Merresectin E- β -D-glucosid** weist keinen Substituenten in Position 5 des Benzolringes auf. Von einer vergleichbaren Acylkomponente wurde bis zu seiner Isolierung nicht berichtet. Durch die Gewinnung aus den Wurzeln von *Convolvulus sabatius* (s. a. Ghomian *et al.*, 1999) stand es als Referenzsubstanz zur Verfügung und konnte auch in Kraut und Früchten mit Samen dieser Art, sowie im Kraut von *Merremia quinata* und in Kraut und Wurzeln von *Bonamia spectabilis* und *Ipomoea tricolor* cv. „Heavenly Blue“ detektiert werden. Der Nachweis erfolgte zudem für Kraut und Blätter von *Ipomoea argillicola*, Kraut und Ganzpflanze von *Ipomoea muelleri* und die Wurzeln von *Ipomoea velutina* und *Operculina aequisejala*. (s. 2.1.2.2)

Das Aglykon der Acylkomponente von Merresectin E, die 4-Hydroxy-3-(3'-methyl-2'-butenyl)-benzoesäure, ist nicht nur Bestandteil des Antibiotikums Novobiocin (ein Gyrasehemmer), sondern wurde auch als Stoffwechselprodukt aus dem Kulturmedium des Pilzes *Curvularia fallax* gewonnen (Abraham und Arfmann, 1990). Dort kommt es unter Verlust zweier Wasserstoffatome zur Cyclisierung zwischen dem Isoprenyl-Rest und der Hydroxygruppe, wobei diese entweder mit dem dimethylierten C-3' oder alternativ mit dem allylischen C-2' verknüpft wird. Diese Beobachtung könnte unter Umständen auch auf den Strukturvorschlag für das bisher nicht durch Isolierung abgesicherte 3 α -Dehydromerresectin E (Merresectin H) übertragen werden (s. u.). Therapeutisches Potential zeigen derartige Metabolite als Zellcyclus-Inhibitoren bei der Tumorthherapie (Kim und Kwon, 2007). Die 4-Hydroxy-3-(3'-methyl-2'-butenyl)-benzoesäure tritt außerdem auf als Inhaltsstoff des Endophyten *Cochliobolus* sp. IFB-E039, der in den (gesunden) Wurzeln des Hundszahngrases *Cynodon dactylon* (Poaceae) lebt (Wang *et al.*, 2010). In Verbindung mit der Erkenntnis, daß andere hochpotente Alkaloide der Windengewächse, die Ergoline, mittlerweile als Biosyntheseprodukte von in der Pflanze lebenden Endophyten identifiziert wurden, könnte man hinter den Merresectinen ebenfalls eine gemeinsame Syntheseleistung eines Endophyten und einer höheren Pflanze vermuten, wobei der Endophyt die Acylkomponente und die Winde den Tropan-Grundkörper beisteuert. Das erratische Vorkommen der deglucosylierten Säure – sie wurde außerdem bei den nicht in direkter verwandtschaftlicher Beziehung zu den Convolvulaceae stehenden höheren Pflanzen *Anodendron affine* (Apocynaceae; Shima *et al.*, 1972) und *Piper hispidum* (Piperaceae; Friedrich *et al.*, 2005) gefunden – mag diese These noch stützen.

Bemerkenswert ist, daß es sich bei den drei isolierten Merresectinen gänzlich um Tropanalkaloide mit Glykosidcharakter handelt; derartige Verbindungen konnten bisher nur bei Convolvulaceae nachgewiesen werden.

Beim Screening der Basen-Extrakte anhand ihrer GC-MS-Spektren können allerdings jeweils nur die Aglyka detektiert werden. Dies gilt es auch bei den nachfolgenden Ausführungen zu weiteren im GC-MS detektierten Tropanalkaloiden zu bedenken.

Neben den isolierten Hauptverbindungen Consabatin, Merresectin B, Merresectin D- β -D-glucosid und Merresectin E- β -D-glucosid wurden bei der GC-MS-Analyse von *Convolvulus sabatius* auch andere verwandte Substanzen mit nur leicht abweichender Acylkomponente gefunden. Diese sind in **Tab.24** aufgeführt.

Tab. 24: Vorkommen von 3-Tropanolester bei *Convolvulus sabatius* mit Subspezies

RI	MG/BP	Substanz	<i>ConvSab</i>				<i>SabSab</i>		<i>SabMau</i>	
			FrüSa	Blü	Kr	Wu	Kr	Wu	Kr	Wu
2277	261/124	3 α -p-Cochlearin						+		+
2288	261/124	3 β -p-Cochlearin		+		+				+
2340	291/124	3 α -Vanilloyloxytropan						+		+
2483	347/124	Consabatin	+	+		+	+	+	+	+
2513	349/124	Dihydroconsabatin-Isomer	+	+			+	+	+	+
2522	327/124	Merresectin H (E-2)			+			+		+
2536	349/124	4'-Dihydroconsabatin	+	+		+	+	+	+	+
2580	329/124	Isomer von Merresectin E						+		
2598	363/124	Consiculin	+			+	+	+	+	+
2615	327/124	Isomer von Merresectin H				+				
2688	329/124	Merresectin E	+		+	+		+	+	+
2702	329/124	3 β -Merresectin E				+		+		
2749	345/124	5',6'-Dehydroconsabatin				+				
2753	363/124	Isomer von Consiculin				+				
2779	345/124	3 β -5',6'-Dehydroconsabatin				+				
2789	359/124	Merresectin D				+		+		+
2814	345/124	5',6'-Dehydroconsabatin-Isomer								+
2840	361/124	3 α -(3',4',5'-Trimethoxy-cinnamoyloxy)tropan								+
2864	361/124	3 β -(3',4',5'-Trimethoxy-cinnamoyloxy)tropan				+				
2890	395/124	Merresectin F (C-2)						+		+
2988	397/124	Isomer von Merresectin C						+		+
3042	397/124	Merresectin C				+		+		+
3073	397/124	3 β -Merresectin C				+				
	/124	unbekannte 3-Tropanolester	1	1		6	4	3	2	3
	/110	unbekannte 3-Nortropanolester				1				

ConvSab *Convolvulus sabatius* (eigen)
SabSab *Convolvulus sabatius* ssp. *sabatius* (Ghomian)
SabMau *Convolvulus sabatius* ssp. *mauritanicus* (Mann)

FrüSa Früchte mit Samen
 Blü Blüten
 Kr Kraut
 Wu Wurzeln

Aus der Reihe der Merresectine konnten noch sieben weitere Verbindungen detektiert werden. Hierzu gehören die Merresectine F (C-2) und H (E-2), die im Vergleich zu den Merresectinen C und E eine um 2 verringerte Molekülmasse aufweisen – vermutlich aufgrund einer zusätzlichen Doppelbindung in der Isoprenyl-Seitenkette (Jenett-Siems *et al.*, 2005b). Denkbar wäre auch eine spontane Cyclisierung eines Isoprenyl-Restes des Aromaten mit der Hydroxylgruppe in Position 4' des Nervogensäure-Anteils nach Abspaltung des Zuckers im Massenspektrometer. Von den Merresectinen C und E konnten auch die 3 β -Isomere nachgewiesen werden. Das Auftreten von Isomerenpaaren könnte darauf hinweisen, daß die Acylkomponenten bereits im Vorfeld gebildet werden und erst im letzten Schritt der Biosynthese auf die beiden 3-Epimere übertragen werden. Desweiteren konnten Isomere der Merresectine C, E und H – in diesen Fällen Verbindungen gleicher Fragmentierungsmuster, aber stark abweichender Retentionsindices im GC-MS – detektiert werden.

Mit dem Consabatin verwandte Substanzen, also solche mit teilweise gesättigtem Sechsering der Acylkomponente, konnten ebenfalls gefunden werden. Derivate entstehen zum einen durch Reduktion der Ketogruppe in Position 4' in Form von 4'-Dihydroconsabatin mit Isomer. Zum anderen resultiert aus dem Einzug einer Doppelbindung das 5',6'-Dehydroconsabatin, das in Form beider 3-Epimere und eines davon abweichenden Isomers vertreten ist. Mit Consiculin wurde ein weiterer Stoff mit cyclohexenylhaltiger Acylkomponente detektiert; auch hier existiert ein Isomer.

Außer diesen Convolvulaceen-spezifischen Tropanalkaloiden erbrachte das Screening mit 3 α -*p*-Cochlearin, 3 β -*p*-Cochlearin und 3 α -Vanilloyloxytropan einige hydroxylierte Benzoyloxytropone sowie die von der Zimtsäure abgeleiteten 3 α - und 3 β -(3',4',5'-Trimethoxycinnamoyloxy)tropane. In geringen Mengen fanden sich ein unbekannter 3-Nortropanolester und eine Reihe unbekannter 3-Tropanolester, deren Identifizierung noch aussteht.

Für *Convolvulus sabatius* ssp. *mauritanicus* wurde außerdem über das Vorkommen von hydrophilen Tropanalkaloiden berichtet. Im Kraut fanden sich die Calystegine A₃, B₁, B₂ und C₁, die ersten drei auch in den Blüten; das Auftreten von Calystegin B₃ in den Blüten konnte nicht abschließend bestätigt werden. (Schimming *et al.*, 2005)

Aus dem Bereich der stickstofffreien Sekundärstoffe konnten die Cumarine Scopoletin (ober- und unterirdische Teile) und Umbelliferon (nur Wurzeln), sowie Flavonoide nachgewiesen werden. Bezüglich des Auftretens von Lignan bedarf es weiterer Untersuchungen.

Abschließend kann festgestellt werden, daß es innerhalb der Gattungen *Convolvulus* und *Merremia* zu einer Akkumulation der Merresectine und ihrer cyclohexenylhaltigen Derivate (Merresectine s.l.) kommt. Auch das Auftreten einer Vielzahl verschiedenster dehydrogenierter, hydrierter und hydroxylierter Formen der in Position 3' isoprenylierten *p*-Hydroxybenzoesäure kann in ausgewählten Arten dieser Gattungen beobachtet werden. Diese Häufung im Subtribus Convolvulinae, dem die Gattungen *Convolvulus* und *Merremia* untergeordnet sind, ist auffällig.

Zieht man die GC-MS-Untersuchungen anderer *Convolvulus*- und *Merremia*-Arten hinzu, so kann allerdings beobachtet werden, daß nur einzelne Spezies innerhalb dieser Genera überhaupt diese komplexeren Tropanalkaloide biosynthetisieren können (s. a. Henrici, 1996; Mann, 1997; Jenett-Siems *et al.*, 2005b). Im Gegenzug scheinen Tropanolester mit von der Nervogensäure abgeleiteter Acylkomponente aber nicht auf diesen Subtribus beschränkt zu sein. In den Gattungen *Bonamia*, *Evolvulus* und *Ipomoea* treten sie jedoch in weitaus geringerer Konzentration und begrenzter struktureller Vielfalt auf.

3.6 Inhaltsstoffe von *Bonamia spectabilis* (CHOISY) HALLIER f.

Bereits bei den vorangegangenen phytochemischen Untersuchungen von *Bonamia spectabilis* im Arbeitskreis erwies sich diese auf Madagaskar endemische Art als Quelle einer Vielzahl neuer Naturstoffe. Dies sind in erster Linie die aus dem Kraut von *Bonamia spectabilis* isolierten Bonaspectine (Tofern, 1999). Hierbei handelt es sich um neuartige Verbindungen aus dem Bereich der Sesquilignane (Bonaspectine A-D) und Sesquinelignane (Neobonaspectine A und B). Die Reihe konnte von Kraft (2003) mit vier weiteren Substanzen (Bonaspectine E-H) fortgesetzt werden. Aufgrund ihrer Arbeit auf dem Gebiet antiplasmodial wirksamer Naturstoffe wurden die Bonaspectine der Testung gegen den Malaria-Erreger *Plasmodium falciparum* zugeführt, wobei Bonaspectin C, Bonaspectin D 4''- β -glucosid und insbesondere Bonaspectin C 4''- β -glucosid gute Resultate zeigten.

Dünnschichtchromatographisch wurden desweiteren Flavonolglykoside nachgewiesen. Im Kraut konnten außerdem die polyhydroxylierten Nortropanole Calystegin B₂ und Calystegin B₄ detektiert werden. Daß gerade die Substanzklasse der Tropanalkaloide interessante Ergebnisse erwarten ließ, wurde anhand der Vielzahl der beim GC-MS-Screening des Krautes detektierten unbekanntem mutmaßlichen 3-Tropanolester wahrscheinlich (Tofern, 1999).

Aus dem nun zur Verfügung stehenden Wurzelmaterial konnten mit **Bonabilin A** und **Bonabilin B** die beiden basischen Hauptverbindungen isoliert werden. Diese Ester des 3 α -Tropanols weisen unter Tropanalkaloiden einzigartige monoterpenoide Acylreste auf. Besondere Aufmerksamkeit verdient hierbei die Tatsache, daß mit den Bonabilinen – neben den Merresectinen s.l. (s. 3.5) – eine weitere Gruppe an Convolvulaceen-spezifischen Tropanalkaloiden beschrieben werden konnte. Die umfangreichen Screening-Arbeiten lieferten demgegenüber bisher keine Hinweise auf Atropin und verwandte Verbindungen, die für bestimmte Gattungen der Schwesterfamilie Solanaceae charakteristisch sind. Es treten also innerhalb der bei beiden Familien sehr weit verbreiteten Substanzklasse der Tropane individuelle Ausformungen auf, die eine phytochemische Abgrenzung ermöglichen.

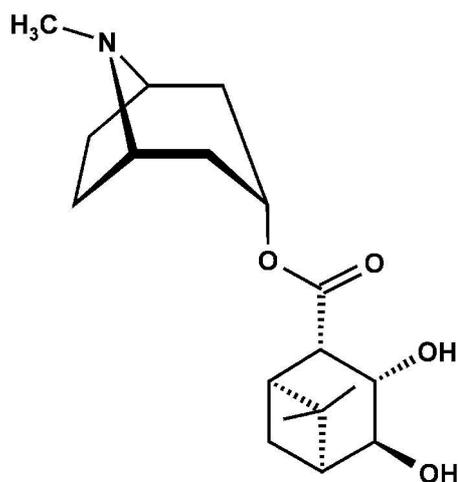


Abb. 114: Bonabilin A

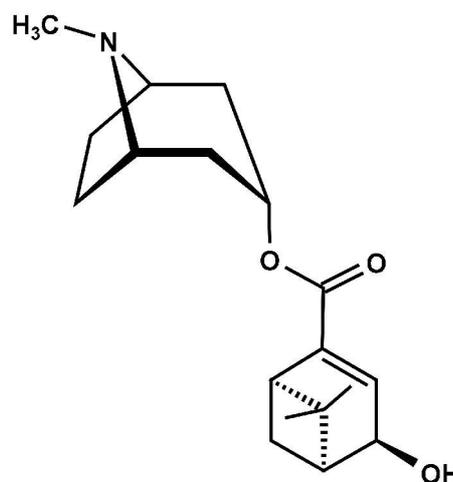


Abb. 115: Bonabilin B

Monoterpensäuren selbst scheinen im Pflanzenreich eher selten zu sein. Es existieren einige Berichte über acyclische Monoterpensäuren als Acylkomponenten von Triterpensaponinen (z. B. Ma *et al.*, 2008) und von Iridoidglykosiden (z. B. Miyase *et al.*, 1991). Mit Acacigenin B konnte ein Ester einer monocyclischen Monoterpensäure mit einem Triterpensapogenin aus der Fabaceae *Acacia concinna* isoliert werden (Anjaneyulu *et al.*, 1979). Die – wie die Acylkomponenten der Bonabiline – ebenfalls dem Pinan-Typ zuzurechnende bicyclische Myrtenensäure ist als Bestandteil des ätherischen Öls des Kanarischen Zitronenstrauchs *Cedronella canariensis* (Lamiaceae) aufgeführt, wobei außerdem andere Oxidationsstufen auftreten (Engel *et al.*, 1995). Auch das Öl, sowie das Pyrolysat des Harzes von *Boswellia carteri* (Burseraceae), der Stammpflanze des als Aden Incense bekannten Afrikanischen Weihrauchs, enthalten Myrtenensäure, daneben Myrtenal (Obermann, 1978; Pailer *et al.*, 1981). Weder die Bonabilsäure, noch die 2,3-Anhydrobonabilsäure sind als Naturstoff beschrieben. Letztere wurde allerdings im Urin als Metabolit von (–)-Myrtenal nach oraler Verabreichung einer wässrigen Lösung beim Hasen gefunden und in diesem Zusammenhang als 4-Hydroxymyrtensäure bezeichnet (Ishida *et al.*, 1982).

Die mikrobielle Biotransformation von Monoterpenoiden hat u. a. Bedeutung als Methode zur Gewinnung chiraler Reagenzien und zum Auffinden neuer Duftstoffe für die Parfümherstellung. Im Zuge dessen wurde durch Einsatz von *Cephalosporium aphidicola* Myrtenol in den Alkohol der 2,3-Anhydrobonabilsäure, (–)-4 β ,10-Dihydroxypin-2-en, umgewandelt und Isopinocampheol in das 3 α ,4 β -Dihydroxypinan, dessen Strukturformel der zum Alkan reduzierten Bonabilsäure entspricht, allerdings mit abweichender Stereochemie (Farooq und Hanson, 1995). Nur aus dem (–)-Isomer des Isopinocampheol kann der Pilz *Glomerella cingulata* einen 3,4-Pinandiol – auch hier mit abweichender Stereochemie – bilden; die Biotransformation von (+)-Isopinocampheol folgt einem anderen Hydroxylierungsmuster (Miyazawa *et al.*, 1997).

Über die niedrigeren Oxidationsstufen der 2,3-Anhydrobonabilsäure existieren einige Berichte. 4-Hydroxymyrtanol wird beispielsweise in Form seines Pivalats zur Herstellung von Dexanabinol, einem synthetischen Cannabinoid, verwendet, wobei dessen Cyclisie-

zung mit 5-(1,1-Dimethylheptyl)resorcinol den Schlüsselschritt der Reaktion darstellt (Aviv *et al.*, 2007).

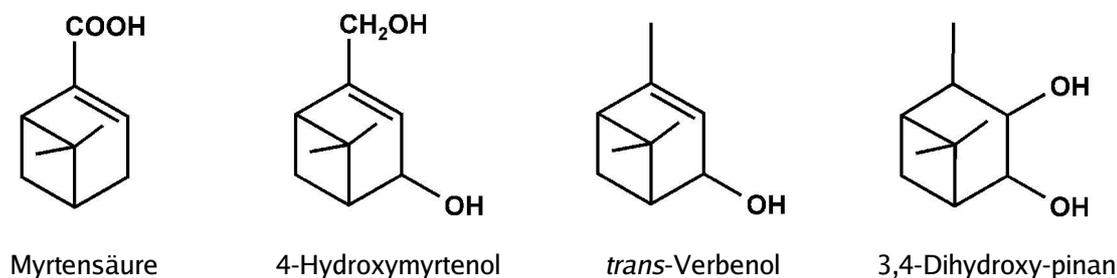


Abb. 116: den Acylkomponenten der Bonabiline verwandte Monoterpenoide

Der weiter zum Alkan reduzierte *trans*-Verbenol ist einer der beiden Ausgangsstoffe bei der Synthese eines anderen Cannabinoids (Chandrasekharan *et al.*, 1980). Außerdem tritt er natürlich als einer der Hauptbestandteile des ätherischen Öls aus dem Kraut von *Salvia heldreichiana* (Lamiaceae) auf (Akin *et al.*, 2010). *trans*-Verbenol ist auch im ätherischen Öl der Früchte von *Eucalyptus globulus* (Baslas, 1979) sowie im ätherischen Öl des Krautes von *Ferulago angulata* (Apiaceae), Provenienz Nevakoh, enthalten (Ghasempour *et al.*, 2007). Als Isomerengemisch mit *cis*-Verbenol konnte er ferner im ätherischen Öl des Krautes in der Balkan-Region heimischer *Micromeria*-Arten gefunden werden (Palic *et al.*, 2010). In diesem Zusammenhang sollte erwähnt werden, daß bei der Aufarbeitung der Drogen von *Bonamia spectabilis*, insbesondere beim Entziehen bestimmter Lösemittel am Rotationsverdampfer, eine Art ätherisches Öl anfiel. Interessanterweise wurde *trans*-Verbenol überdies als Pheromon aus Käfern (Coleoptera) isoliert (Silverstein, 1970).

Mit **3 α -Tropanol** und **Cuscohygrin**, das zum ersten Mal aus einer zur Gattung *Bonamia* gehörenden Convolvulacea isoliert werden konnte, wurden zwei weitere Hauptverbindungen in Reinform gewonnen.

Bei der GC-MS-Vermessung verschiedener Kraut- und Wurzelproben konnten neben einer Reihe von Hygrinen sowohl im Kraut, als auch in den Wurzeln Nortropan-3-on, Cyclopropin, Tropan-3-on, 3 α - und 3 β -Tropanol nachgewiesen werden. 3 α - und 3 β -Nortropanol fanden sich nur im Kraut; insofern verwundert es nicht, daß Nortropanolester ganz überwiegend im Kraut vorliegen, während sie in den Wurzeln nur vereinzelt und in geringer Menge detektiert werden können. Als bereits bekannte 3-Tropanolester wurden 3 α -Acetoxytropan, 3 α -Nicotinoyloxytropan, 3 β -Vanilloxyloxytropan und Merresectin E nachgewiesen.

Tab. 25: Bonabiline und verwandte Verbindungen im GC-MS

KrWild	Kraut, Wilddroge; 03/06/98
KrGH	Kraut, Gewächshausanbau; 03/06/98
oberT	oberirdische Teile, Gewächshausanbau; 07/10/97
Wu W	Wurzeln, Gewächshaus, Messung Witte; 11/09/01
Wu M	Wurzeln, Gewächshaus, Messung Müller (abweichendes Gerät); 11/12/01

MG	BP	RI	weitere charakteristische Massenfragmente	Pflanzenteil				
				Wu M	Wu W	ober T	Kr GH	Kr Wild
291	110	2158	273, 208, 164, 137, 121				+	+
		2268	248, 236, 222, 206, 164	+			+	+
		2299	208, 192, 191, 173	+			+	+
		2368	281, 206, 135	+			+	+
293	110	2309	208, 193, 166, 151				+	+
307	110	2338	281, 267, 222, 178, 147				+	+
309	110	2407	224, 208, 182, 164				+	+
365	110	2377	281, 260, 208, 172, 148				+	
303	124	2230	260, 248, 234, 220, 194	+	+	+		+
305	124	2168	288, 236, 222, 197, 137	+	+	+	+	+
		2240	288, 262, 248, 220, 165	+	+			
		2273	236, 222, 196, 178, 147					+
		2280	Bonabilin B	+	+	+	+	+
		2305	277, 236, 222, 196	+	+	+	+	+
		2374	288, 264, 246, 220, 194	+				
307	124	2252	250, 246, 236, 222, 194	+	+			
		2319	290, 250, 222, 209, 194	+	+	+	+	+
321	124	2330	238, 237, 236, 222, 191	+		+	+	+
		2339	293, 278, 238, 236, 222	+				
		2345	292, 262, 252, 236, 208	+	+	+	+	+
		2355	237, 220, 212, 194, 153	+	+			
		2379	262, 236, 223, 193			+		+
		2466	304, 236, 221, 220	+	+		+	+
		2598	222	+	+			
323	124	2392	306, 305, 266, 238, 220			+	+	+
		2420	306, 238, 222, 209, 194	+	+	+	+	+
		2454	Bonabilin A	+	+		+	+
325	124	2605	222, 217, 208, 191, 177				+	
379	124	2385	364, 262, 236, 220, 171	+	+		+	
183	124	1305	3 α -Acetoxytropan				+	
246	124	1956	3 α -Nicotinoyloxytropan	+	+			
291	124	2365	3 β -Vanilloxytropan			+		
329	124	2692	Merresectin E	+	+	+		

Die GC-MS-Analyse brachte außerdem eine Reihe nicht identifizierbarer, offensichtlich mit den Bonabilinen strukturell verwandter Verbindungen zutage, die in **Tab. 25** aufgeführt sind. Bei Monoterpenen treten im Allgemeinen oft verschiedene Oxidationsstufen vergesellschaftet auf. Anhand mehrerer Peaks gleicher Molmasse wird ersichtlich, daß auch Stereoisomere vorkommen. Dies erscheint im Hinblick auf die Tatsache, daß es sich bei den Acylkomponenten der isolierten Bonabiline um optisch aktive Strukturen mit mehreren Chiralitätszentren handelt, naheliegend.

In die nachfolgenden Strukturvorschläge fließen die in 2.2.4.2.4.3 aus diversen ¹H-NMR- und EIMS-Spektren erhaltenen Informationen über weitere Substanzen dieser Inhaltsstoffgruppe ein.

- Ausgehend von Bonabilin A (MG 323) können zwei Stereoisomere gleicher Molmasse beschrieben werden. Während aus den Wurzeln Bonabilin A als eine der Hauptverbindungen isoliert wurde, überwiegt in den Krautproben ganz eindeutig das Isomer bei RI 2420, das nicht abschließend strukturaufgeklärt werden konnte. Anhand des ¹H-NMR-Spektrums konnte jedoch ein Strukturvorschlag formuliert werden. Für die Substanzen mit MG 321 kann die Abspaltung zweier Wasserstoffe angenommen werden. Dies ist entweder durch Einführung einer Doppelbindung im Kohlenstoffskelett oder durch Umwandlung einer Hydroxygruppe in eine Ketofunktion möglich. Im Kraut konnten entsprechende Nortropanolester mit einem Basispeak bei *m/z* 110 und durch Verlust der N-Methylgruppe um 14 Einheiten niedriger liegendem Molpeak (MG 309 bzw. MG 307) detektiert werden.
- Desweiteren tritt eine um zwei Protonen reichere Verbindung mit MG 325 auf. Hier könnte es sich um die ringoffene Form handeln, also um ein monocyclisches Monoterpen mit Isopropyl-Rest, das durch Spaltung der Dimethylallylbrücke zwischen C-1' und C-6' entsteht (vgl. Abraham, 1994).
- Eine um 56 Einheiten höhere Molmasse als Bonabilin A weist MG 379 auf. Dies entspricht einem zusätzlichen Butylrest, der beispielsweise mit einer der OH-Gruppen verethert sein könnte. Auch von dieser Verbindung existiert ein Nor-Derivat mit MG 365.
- Ähnlich verhält es sich mit Bonabilin B (MG 305), von dem sogar vier Nor-Verbindungen mit MG 291 existieren. Es können ebenfalls zwei Derivate mit um zwei erhöhter Molmasse MG 307 beobachtet werden. Neben der Hydrierung der Doppelbindung ist auch hier eine ringoffene, also monocyclische Form denkbar. MG 293 ist wiederum das zugehörige Nor-Derivat.
- Im Kraut sowie in den Wurzeln tritt eine um zwei Wasserstoff-Atome ärmere Verbindung mit MG 303 auf. Naheliegenderweise dürfte es sich um ein Derivat mit zur Ketofunktion aufoxidiertem Hydroxygruppe handeln.
- Auffällig ist, daß von Bonabilin B gleich fünf Isomere zu finden sind. Dies könnte darauf zurückgeführt werden, daß neben Stereoisomeren auch Strukturisomere gebildet werden. Vorstellbar wäre eine Substanz ohne Doppelbindung, aber mit Ketogruppe in Position 4'.

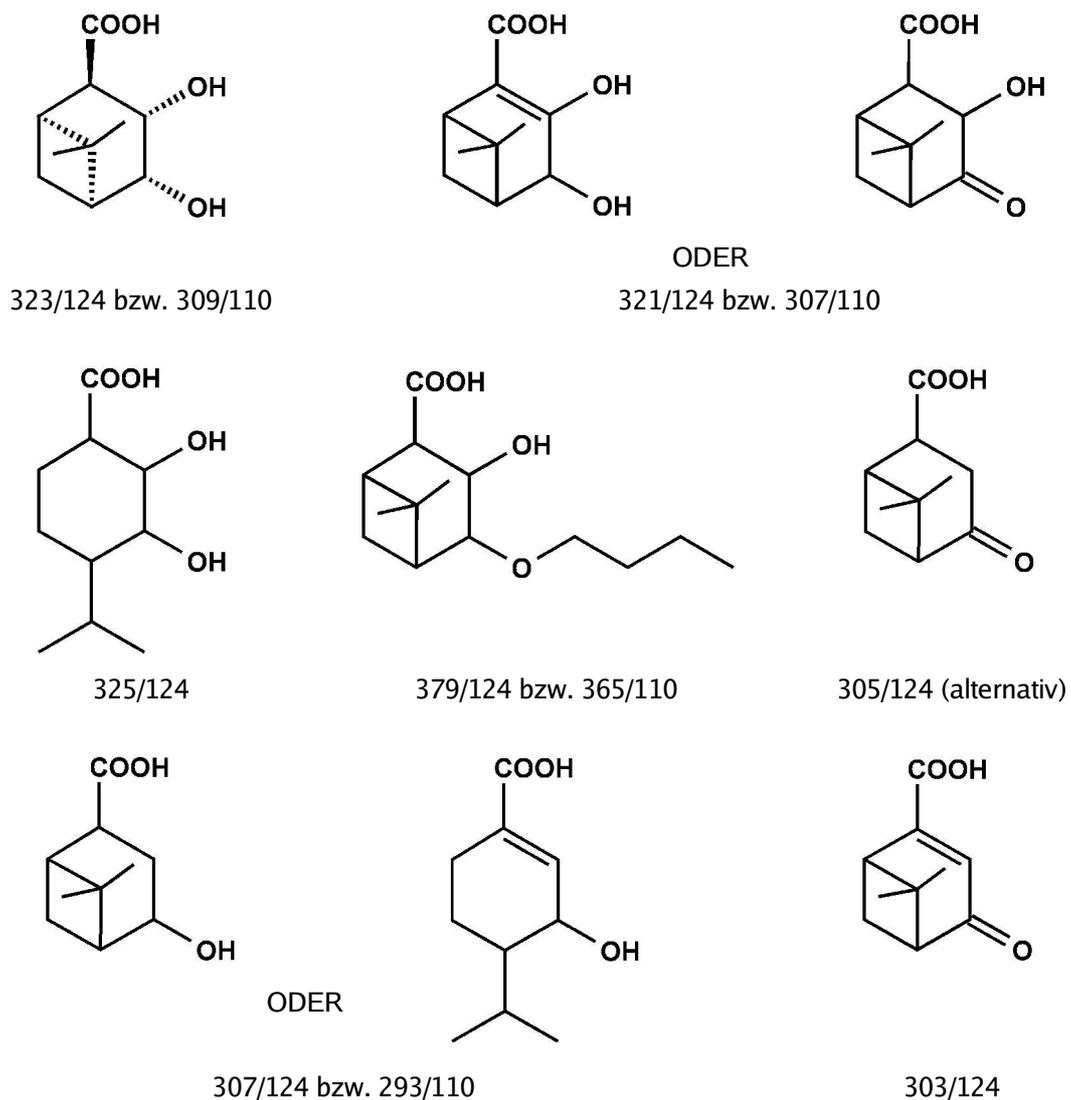


Abb.117: mögliche Strukturvarianten der Acylkomponenten der Bonabiline

Da die durch Verknüpfung mit monoterpenoiden Acylkomponenten gebildeten Bonabiline eine neuartige Kategorie an Estern des 3 α -Tropanols darstellen, trotzdem aber eine gewisse strukturelle Ähnlichkeit zu Atropin/Hyoscyamin aufweisen, wurde ihre Wirksamkeit im pharmakologischen Testsystem untersucht.

Als Modellversuch für die Wirksamkeit wurde die Hemmung der Carbachol-induzierten Kontraktion des isolierten Meerschweinchen-Ileums, ausgelöst durch antagonistischen Angriff an den M₃-Muscarin-Rezeptoren, herangezogen.

Humane M₃-Rezeptoren sind hauptsächlich in der glatten Muskulatur des Gastrointestinaltraktes, der Gallenwege und der Ureter sowie in den Bronchien lokalisiert, außerdem in den Augenmuskeln. Aufgrund ihres vermehrten Auftretens in den Belegzellen können M₃-Rezeptor-Antagonisten auch zur Hemmung der Magensäuresekretion eingesetzt werden. Leitstruktur dieser Parasympatholytika ist aus der Klasse der Tropanalkaloide das Atropin, das mit $pA_2 = 9.02 \pm 0.06$ eine hohe Affinität zum M₃-Rezeptor

aufweist. Mit $pA_2 = 6.65 \pm 0.03$ kann Bonabilin A als mittelstarker Antagonist von Carbachol angesehen werden; Bonabilin B ist mit $pA_2 = 5.50 \pm 0.03$ etwas schwächer wirksam.

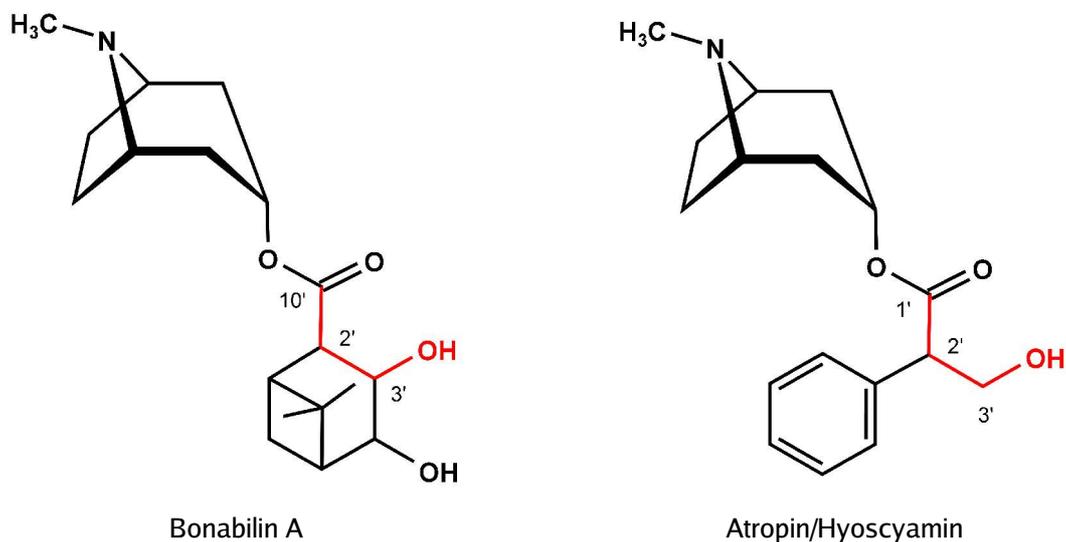


Abb. 118: Vergleich der Molekülstruktur von Bonabilin A und Atropin/Hyoscyamin

Laut Brown und Taylor (1996) ist für die antimuscarinerge Wirkung der intakte Tropanolester bestehend aus Tropin und Tropasäure unabdingbar. Außerdem ist das Vorhandensein einer freien Hydroxyl-Gruppe im Säureteil wichtig für die Aktivität.

Analog zur primären Hydroxygruppe der Tropasäure weist auch die Bonabilsäure eine Hydroxylfunktion in β -Stellung zur Carbonylgruppe auf. Vermutlich schwächt die durch Integration des hydroxylierten Kohlenstoffs in ein Ringsystem herbeigeführte sterische Hinderung die Wirksamkeit von Bonabilin A am M_3 -Rezeptor in Relation zu Atropin. Anhand der inhibitorischen Potenz von Bonabilin B kann dargelegt werden, daß die Hydroxygruppe alternativ am γ -ständigen Kohlenstoff positioniert sein kann, allerdings unter Wirkverlust. Daß diese freie OH-Gruppe an der Wirkung als M_3 -Antagonist zwar maßgeblich beteiligt ist, nicht jedoch essentiell, zeigt die Testung von Datumetin, dem 3α -Tropanolester der *p*-Methoxybenzoesäure, am selben pharmakologischen Modell. Mit einem $pA_2 = 5.24 \pm 0.13$ zeigt Datumetin eine fast 400mal schwächere Hemmung als Atropin und ist damit knapp 150mal schwächer als Bonabilin A, nicht aber unwirksam (Weigl, 1992). Auch das Fehlen eines aromatischen Ringsystems dürfte mitverantwortlich für die etwa 250fach geringere Affinität von Bonabilin A im Vergleich zu Atropin sein. Dies führt allerdings zu dem Umkehrschluß, daß ein aromatischer Rest nicht essentiell für eine Wirkung am M_3 -Rezeptor ist.

Zusammenfassend ist die herausragende Wirksamkeit von Atropin also auf eine Synergie der Strukturbestandteile *freie OH-Gruppe* – bevorzugt in β -Stellung zur Carbonyl-Funktion – und *Aromat im Säureanteil* zurückzuführen.

Betrachtet man die räumliche Orientierung der wesentlichen Strukturelemente am Molekülmodell, so kann das 1'S,2'R,3'S,4'S,5'S-Isomer von Bonabilin A mit dem S(-)-Hyoscyamin und sein 1'R,2'S,3'R,4'R,5'R-Enantiomer mit dem R(+)-Hyoscyamin zur Deckung gebracht werden. Aus Analogiegründen könnte es sich also bei der 1'S,2'R,3'S,4'S,5'S-Form von Bonabilin A um das Eutomer handeln und bei der 1'R,2'S,3'R,4'R,5'R-Form um das Distomer. Ob Bonabilin A wie Atropin ein Razemat darstellt, oder ob eines der beiden Enantiomere überwiegt, ist nicht bekannt. Auch inwieweit die Konfiguration an C-4' einen Einfluß auf die Wirkstärke von Bonabilin B hat, muß offen bleiben. Eine weiterführende Analyse dieser monoterpenoiden Tropanolester erscheint vielversprechend.

Somit ist *Bonamia spectabilis* wohl die pharmazeutisch interessanteste Art, die im Rahmen dieser Arbeit untersucht wurde. Einschränkend ist lediglich die sehr langsame vegetative Entwicklung der kultivierten Exemplare. Zur Isolierung der Bonabiline etwa wurden von Juni 1998 bis April 2001 auf zwei Beeten Pflanzen angebaut, um knapp 500 g Wurzelmasse zu erhalten. Vorstellbar wäre daher die Gewinnung von Biomasse mittels anderer ertragreicherer Verfahren, wie z. B. in Form von Haarwurzelkulturen (vgl. Doerk *et al.*, 1991).

3.7 Inhaltsstoffe von *Ipomoea velutina* R. Br.

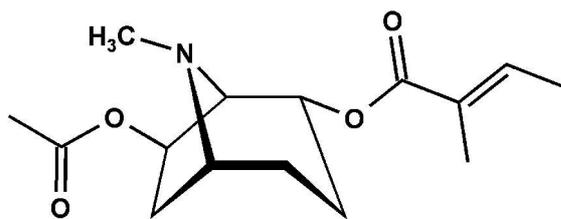


Abb. 119: Ipvelutin

Mit dem Ipvelutin konnte ein neuartiges Tropanalkaloid aus dem Kraut der in Australien beheimateten Spezies *Ipomoea velutina* isoliert und als 7 β -Acetoxy-2 α -tigloyloxytropan strukturaufgeklärt werden.

Anhand der aus den Wurzeln von *Falkia repens* gewonnenen drei 3-Acetoxytropane und 3 β -Tigloyloxytropan-N-oxid (s. 3.3) wird ersichtlich, daß Essigsäure und Tiglinsäure durchaus gängige Substituenten bei Convolvulaceae darstellen. Auch bei den Convolvulaceen-spezifischen Pyrrolizidin-Alkaloiden, den Minalobinen und Ipangulinen, treten sie als Acylkomponenten in Erscheinung. Ungewöhnlich ist jedoch das Substitutionsmuster am Tropankörper. Während die Ethylenbrücke vor allem bei den Tropanalkaloiden der Solanaceae regelmäßig substituiert ist, ist eine dem Brückenkopf-Kohlenstoff C-1 benachbarte funktionelle Gruppe, wie beispielsweise die Carbomethoxygruppe an C-2 der Coca-Esteralkaloide, eher die Ausnahme.

Fokussiert man Tropandiole, so konnten bisher lediglich sechs an C-2 hydroxylierte Substanzen natürlichen Ursprungs gefunden werden.

Ein identisches Substitutionsmuster wie Ipvelutin weist das Erycibellin aus den Sproßachsen von *Erycibe elliptilimba* (Convolvulaceae) auf; als 2 β ,7 β -Dihydroxynortropan besitzt es jedoch eine vom Ipvelutin abweichende Stereochemie (Lu *et al.*, 1986; Wang *et al.*, 1989).

Ebenfalls aus einer *Erycibe*-Art wurden die strukturell verwandeten 2,6-disubstituierten Nortropane Bao Gong Teng A und Bao Gong Teng C isoliert. Das Bao Gong Teng A (2 β -Hydroxy-6 β -acetoxynortropan) aus den Sproßachsen der chinesischen Arzneipflanze Bao Gong Teng (*Erycibe obtusifolia*) ist wie Ipvelutin an der Ethylenbrücke acetyliert; es hat starke miotische Eigenschaften (Yao *et al.*, 1981). Aus der selben Stammpflanze wurde auch das Bao Gong Teng C (2 β ,6 β -Dihydroxynortropan) isoliert (Chen *et al.*, 1986). Obwohl es selbst keine nennenswerte biologische Aktivität zeigt, ist das O-Diacetyl-Derivat von Bao Gong Teng C ebenfalls stark miotisch (Lu *et al.*, 1986). Die Wirkung dieser 2,6-disubstituierten Nortropane als Miotika stellt hinsichtlich des starken mydriatischen Effekts von Atropin einen erstaunlichen Befund dar.

Das 2 α ,7 β -Dihydroxynortropan aus der Convolvulaceae *Calystegia soldanella* verkörpert die einzige Verbindung, bei der sowohl das Substitutionsmuster, als auch die Konfiguration der Substituenten mit Ipvelutin übereinstimmen. Es konnte in fünf weiteren Windenarten nachgewiesen werden. Außerdem aus *Calystegia soldanella* isoliert wurde das 2 α ,3 β -Dihydroxynortropan (Asano *et al.*, 2001), das in Position 2 mit Benzoesäure verestert aus den Blättern der aus Queensland (Australien) stammenden *Peripentadenia mearsii* (Euphorbiaceae) gewonnen werden konnte (Johns *et al.*, 1971). 2,7-Dihydroxynortropan wird auch von den Wurzelkulturen von *Calystegia sepium* produziert – neben tri- und tetrahydroxylierten Nortropanolen, den Calysteginen. Da es keine Hydroxygruppe in Position 3 aufweist, war insbesondere in diesem Fall von Interesse, ob es sich ebenfalls vom Tropan-3-on bzw. 3 β -Tropanol ableitet. Durch Inkorporierungsexperimente mit ¹⁵N-markiertem Tropan-3-on konnte zwar bewiesen werden, daß es dem Tropan-Biosyntheseweg entspringt, doch bleibt der genaue Zusammenhang unklar. 2,7-Dihydroxynortropan ist aufgrund der geringen Einbaurate weniger als Zwischenprodukt der Syntheseroute hin zu den tri- und tetrahydroxylierten Calysteginen, sondern vielmehr als Nebenprodukt selbiger anzusehen (Scholl *et al.*, 2001). Erstaunlicherweise konnten in den oberirdischen Teilen von *Calystegia sepium* keine Dihydroxynortropane gefunden werden, wohingegen sowohl das Ipvelutin aus *Ipomoea velutina*, als auch die Nortropandiole aus *Erycibe*-Arten aus oberirdischem Ausgangsmaterial isoliert wurden.

Besonders hervorzuheben ist die Tatsache, daß es sich bei all den hier aufgeführten Verbindungen um Nortropan-Derivate handelt, die damit in einem deutlicheren biogenetischen Zusammenhang zu den Calysteginen stehen, während bei dem neu beschriebenen Ipvelutin der Stickstoff methyliert ist. Außer dem monoacetylierten Bao Gong Teng A liegen fast alle zudem unverestert vor, was die strukturelle Neuartigkeit von Ipvelutin als N-methyliertem Diester unterstreicht. Gerade auch wegen des ungewöhnlichen Befundes bezüglich der Wirkung der oben aufgeführten acetylierten Nortropandiole wäre die Untersuchung von Ipvelutin am pharmakologischen Modell interessant.

Aufgrund übereinstimmender Substituenten sollte auch das 3 α -Tigloyloxy-7 β -acetytropan hier Erwähnung finden, das zusammen mit dem 3 α -Acetytropan aus Blättern und jungen Trieben von *Datura sanguinea* (Solanaceae) isoliert wurde. Es handelt sich hier um die beiden ersten natürlich gewonnenen acetylierten Tropanalkaloide überhaupt (Evans und Major, 1966; dort aufgrund der alten Zählweise: (-)-3 α -Tigloyloxy-6 β -acetytropan).

Per GC-MS (s. a. 2.1.2.3, **Tab. 10**) konnten anhand ihrer Massenspektren noch weitere offensichtlich mit dem Ipvelutin verwandte Verbindungen detektiert werden. Sie weisen einen Basispeak bei m/z 95 zusammen mit einem auffälligen Fragment bei m/z 156 auf. Erstaunlicherweise erscheint beim Ipvelutin im GC-MS m/z 239 im Sinne eines Pseudo-Molpeaks, was der deacetylierten Form entspricht; der eigentliche Molpeak MG 281 ist kaum vom Grundrauschen zu unterscheiden. Inwieweit dieser Sachverhalt bei den nun zu beschreibenden Substanzen von Bedeutung ist, kann nur durch Isolierung geklärt werden. Außer der Hauptverbindung Ipvelutin (RI 1818) waren im Kraut noch RI 1708 und der Doppelpeak RI 2088/RI 2097 in erheblicher Konzentration vorhanden. RI 1708 MG 241 BP 95 ist um zwei Protonen reicher als Ipvelutin und könnte durch Reduktion der Doppelbindung der Tiglinsäure erklärt werden, führt also Methylbuttersäure als Substituenten. Der Doppelpeak weist mit MG 255 eine um 16 Einheiten erhöhte Molmasse im Vergleich zum deacetylierten Ipvelutin auf, was für die Einführung eines zusätzlichen Sauerstoffatoms spräche. In Spuren treten zwei Verbindungen mit RI 1870 und RI 1877 MG 257 BP 95 auf, also verglichen mit RI 1708 bei $[M+16]^+$, die durch Veresterung mit Hydroxymethylbuttersäure entstanden sein könnten. Alle fünf Substanzen weisen ein Zerfallsion bei $[M-44]^+$ auf, das auf die Abspaltung einer hydroxylierten Ethylenbrücke mit Abgangsgruppe HO-CH=CH₂ hinweist.

Auch in den Wurzeln konnten – zum Teil in größeren Mengen – Derivate des Ipvelutin detektiert werden sowie die bekannten Tropanalkaloide Merresectin E und 3 β -Tropanol.

In beiden Organen konnten außerdem Hygrine nachgewiesen werden, wobei Cuscohygrin und 5-(2'-Hydroxypropyl)hygrolin dominieren. In den Wurzeln stellt Cuscohygrin die Hauptverbindung dar.

Auf dem Ipvelutin verwandte Verbindungen wurde bereits in Kapitel 2.1.2.3 dieser Arbeit eingegangen. Trotzdem sollte an dieser Stelle erwähnt werden, daß Ipvelutin selbst bzw. seine deacetylierte Form außerdem als Hauptverbindung im Kraut von *Convolvulus graminetinus* aus Australien und im Kraut von *Convolvulus sagittatus* aus Zimbabwe sowie in geringerer Konzentration in den Sproßachsen von *Ipomoea abrupta* detektiert werden konnte.

3.8 Ausblick

Aufgrund des gleichzeitigen Auftretens von Ipangulinen und Minalobinen bei *Ipomoea cristulata* wäre ein intensiver Anbau dieser Art von Interesse. Dieser verspricht nicht nur die Gewinnung weiterer neuer Pyrrolizidinalkaloide, er würde auch die Isolierung und Identifizierung der unbekanntesten Hauptkomponente des Basenextraktes der Früchte mit Samen ermöglichen, die in keiner anderen Probe gefunden werden konnte.

Vor dem Hintergrund, daß bisher lediglich ein einziges Tropan-N-oxid als Inhaltsstoff einer Convolvulaceae beschrieben worden ist, sind die aus den Wurzeln von *Falkia repens* und der Wurzelrinde von *Astripomoea malvacea* isolierten 3-Tropanolester-N-oxide besonders hervorzuheben. Untersuchenswert wären insbesondere deren Verbreitung innerhalb der Windengewächse, die zugrunde liegenden biogenetischen Zusammenhänge und der Nutzen für die Pflanze. Hierfür erscheinen vor allem eine Aufarbeitung der im Trennungsgang anfallenden Wasserphasen und die Entwicklung eines Schnellnachweises für N-Oxide empfehlenswert.

Mit den Bonabilinen A und B konnten aus den Wurzeln von *Bonamia spectabilis* bisher einzigartige Tropanalkaloide gewonnen werden. Neben ihrer fortgesetzten pharmakologischen Testung wäre außerdem die Suche nach weiteren, mit monoterpenoiden Acylkomponenten veresterten Tropanolen erstrebenswert, da die Bonabiline als Convolvulaceen-spezifische Inhaltsstoffe auch von besonderem chemotaxonomischen Interesse sind.

Das im Rahmen dieser Arbeit aus dem Kraut von *Ipomoea velutina* isolierte Ipvelutin gehört einer bis dato ebenso auf die Windengewächse beschränkten Gruppe der Tropane an, den 2,6- bzw. 2,7-disubstituierten Tropandiolen mit Estern. Da das nah verwandte Bao Gong Teng A aus der chinesischen Winde *Erycibe obtusifolia* vor allem bei der Glaukombehandlung erfolgreich als Miotikum eingesetzt wird, erscheint eine pharmakologische Untersuchung des Ipvelutin überaus erfolgversprechend. Beide unterscheiden sich durch ihr Substitutionsmuster deutlich von den disubstituierten Tropanen der Solanaceae.

Die vermutlich deacetylierte Form des Ipvelutin konnte in den Basen-Extrakten des Krautes von *Convolvulus graminetinus* und *Convolvulus sagittatus* identifiziert werden. Da das GC-MS-Screening von Kraut und Wurzeln eine Reihe ähnlicher Substanzen zutage brachte, wäre auch hier eine weitergehende Untersuchung wünschenswert.

4

Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war das Auffinden neuer niedermolekularer Pflanzeninhaltsstoffe innerhalb der Familie der Convolvulaceae, die eine pharmakologische Wirkung zeigen und sich somit potenziell als Leitstrukturen für Arzneistoffe eignen. Da insbesondere die Alkaloide einen ausgeprägten Einfluß auf den menschlichen Körper zeigen, erfolgte eine Konzentration auf diese Substanzklasse. Die GC-MS-Analyse war das wichtigste Instrument bei der Untersuchung der aus den Proben von knapp 50 bearbeiteten Convolvulaceen-Spezies hergestellten Basen-Extrakte. Dieses hochsensible Verfahren ermöglicht eine sehr exakte Aufschlüsselung der Einzelkomponenten dieser komplexen Stoffgemische. Die getrennte Analyse verschiedener Pflanzenteile erlaubte auch Rückschlüsse auf die Verteilung der Alkaloide innerhalb der Pflanze.

Die Ergebnisse des Screenings stellten erneut die außergewöhnliche Vielfalt an Alkaloidgruppen bei den Windengewächsen unter Beweis.

Durch die GC-MS-Untersuchungen wurden Tropanalkaloide als Familienmerkmal konsolidiert. Von den 46 untersuchten Arten enthielten 42 zumindest einfache, d. h. unsubstituierte Tropanole. Die eine zusätzliche Biosyntheseleistung erfordernden Ester, zumeist 3-Tropanolester, konnten in 31 der 46 Spezies nachgewiesen werden. Daraus wird ersichtlich, daß die Convolvulaceae zusammen mit ihrer Schwesterfamilie, den Solanaceae, eine der Tropanalkaloid-reichsten Pflanzenfamilien überhaupt sind.

Bezüglich der Pyrrolidin-Alkaloide mit Hygrin und Cuscohygrin als häufigsten Vertretern kann ein nahezu ubiquitäres Vorkommen bei den Winden bestätigt werden, wobei Cuscohygrin in den Wurzelproben oft die Hauptverbindung darstellte. Lediglich in zwei der untersuchten Spezies konnte diese Substanzklasse nicht detektiert werden.

Anders verhält es sich mit den Ergolinen, die durch ihr exklusives Auftreten bei den Windengewächsen als einzigen höheren Pflanzen ebenso als Familienmerkmal angesehen werden können. Sie zeigen allerdings eine erratische intrafamiliäre Verteilung und konnten nur in acht der bearbeiteten Arten detektiert werden. Als neuer Befund ist der Nachweis von Mutterkornalkaloiden in den Basenextrakten einiger Wurzeldrogen anzusehen.

Pyrrolizidinalkaloide vom Typ der Minalobine und Ipanguline konnten als phytochemische Gemeinsamkeit der *Ipomoea*-Spezies des Subgenus *Quamoclit* Sectio *Mina* durch die Untersuchung dreier weiterer Mitglieder dieses infragenerischen Taxons bekräftigt werden. Durch die Isolierung von Minalobin O aus dem Kraut von *Ipomoea cristulata* HALLIER f. konnte ein weiterer Vertreter dieses Alkaloidtyps in seiner Struktur aufgeklärt werden.

Bei der GC-MS-Untersuchung der afrikanischen *Falkia repens* L. f. fiel eine große Vielfalt an aliphatischen und aromatischen Estern beider Epimere des 3-Tropanols auf. Das Nebeneinander nahezu gleicher Mengen der Ester des 3 α - sowie des 3 β -Tropanols stellt eine Besonderheit bei den Windengewächsen dar. Als erste aliphatische Tropanolester aus Convolvulaceae konnten 3 α -Acetoxytropan und sein N-Oxid, 3 β -Acetoxytropan-N-oxid, 3 α -(2'-Methylbutyryloxy)tropan, 3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan und sein N-Oxid und 3 β -Tigloyloxytropan-N-oxid isoliert werden, außerdem das 3 β -*trans*-Feruloyloxytropan. Da *Falkia repens* volksmedizinisch genutzt wird, würde sich eine Ermittlung der wirksamen Komponenten anhand von biologischen Testsystemen im Sinne einer bioassay-guided fractionation anbieten.

Mit *Astripomoea malvacea* (KLOTZSCH) MEEUSE konnte erstmals ein Vertreter dieser auf Afrika beschränkten Gattung ausführlich hinsichtlich des Alkaloidvorkommens untersucht werden. Es erfolgte die Isolierung von Astrimalvin A-N-oxid und Astrimalvin B, das genuin ebenfalls als N-Oxid vorliegen dürfte. In beiden Fällen handelt es sich um Ester des 3 β -Tropanols, was vor dem Hintergrund, daß erst 1996 von Mann mit dem Concneorin der erste 3 β -Tropanolester überhaupt aus einer Convolvulaceae isoliert wurde, bemerkenswert ist. Astrimalvin A-N-oxid ist zudem ein neuer Naturstoff.

Besonders hervorzuheben sind an dieser Stelle die fünf aus *Falkia repens* und *Astripomoea malvacea* isolierten Tropan-N-oxide. Da N-Oxide beim Trocknen und Aufarbeiten pflanzlicher Drogen schnell in die entsprechenden tertiären Amine umgewandelt werden, wurden

sie gerade im Bereich der Tropane wohl meist übergangen. Mit der vorliegenden Arbeit konnte aufgedeckt werden, daß die Tropanalkaloide der Convolvulaceae weitaus öfter als bisher angenommen in Form ihrer N-Oxide akkumuliert werden. Diese Erkenntnis ist vor allem auch der um den Nachweis mittels (+)-FABMS erweiterten Analytik zu verdanken. Anhand der Ergebnisse der Kernresonanzmessungen konnte zudem gezeigt werden, daß die N-Oxide der Convolvulaceae axial orientiert sind.

Die Wurzeln und Rhizome der im Mittelmeerraum heimischen *Convolvulus sabatius* VIV. wurden mit dem Ziel bearbeitet, eine möglichst große Menge Consabatin für die Aufklärung seiner absoluten Konfiguration zu gewinnen. Dem Consabatin konnte durch die Synthese sog. Mosher-Ester eine 1'*R*-Konfiguration zugewiesen werden. Daneben wurden Merresectin B, Merresectin D- β -glucosid und Merresectin E- β -glucosid isoliert.

Wie das Konglomerat der isoprenylierten Merresectine, dem auch das Consabatin angehört, stellen die aus den Wurzeln der madegassischen *Bonamia spectabilis* (CHOISY) HALLIER f. isolierten Bonabiline Convolvulaceen-spezifische Tropanalkaloide dar, wobei die isolierten Verbindungen durchweg Ester des 3 α -Tropanols sind. Ebenso wie die Merresectine s.l. weisen auch die Bonabiline bei dieser Substanzklasse völlig neuartige Substituenten auf. Es handelt sich hier um Acylkomponenten der allgemein eher seltenen Gruppe der Monoterpensäuren; sie sind dem Pinan-Typ zuzurechnen. Die Bonabilsäure selbst wurde bisher noch nie beschrieben. Somit stellen die Bonabiline einzigartige neue Naturstoffe dar, was insbesondere in Hinblick auf die chemotaxonomische Abgrenzung von den Solanaceae von Bedeutung ist.

Aufgrund der Analogie der Hydroxygruppe in Position 3' des Bonabilin A zur primären OH-Gruppe der Tropasäure des Atropins/Hyoscyamins lag eine pharmakologische Untersuchung nahe. Es wurde die antagonistische Wirkung an Muscarin-M₃-Rezeptoren anhand einer Hemmung der Carbachol-induzierten Kontraktion des Meerschweinchenileums durch Bonabilin A und sein 2',3'-Anhydro-Derivat Bonabilin B getestet. Hierbei zeigte Bonabilin A eine mittlere Wirkstärke; Bonabilin B war etwa fünfzehnmal schwächer. Eine Erforschung der verschiedenen Stereoisomere und Strukturvarianten der Acylkomponente wäre wünschenswert, insbesondere in Hinblick auf deren pharmakologische Potenz.

Die aus Australien stammende *Ipomoea velutina* R. BR. wurde bisher noch nicht phytochemisch untersucht. Das aus dem Kraut isolierte Ipvelutin konnte als 7 β -Acetoxy-2 α -tigloyloxytropan identifiziert werden. Hinsichtlich des Substitutionsmusters ist es einer bisher nur bei Convolvulaceae nachgewiesenen Gruppe der Tropanalkaloide zuzurechnen. Wegen seiner strukturellen Ähnlichkeit zu dem stark miotischen, bei der Behandlung von Glaukomen als Arzneistoff eingesetzten Bao Gong Teng A (6 β -Acetoxy-2 β -hydroxynortropan) aus *Erycibe obtusifolia* dürfte auch Ipvelutin eine Substanz von pharmazeutischem Interesse sein.

In Kraut und Wurzeln der aus Zimbabwe stammenden *Convolvulus sagittatus* THUNB. konnten ebenfalls derartige Verbindungen nachgewiesen werden, wobei es sich bei der Hauptkomponente des Krautes höchstwahrscheinlich um das 7-Hydroxy-2-tigloyloxytropan, also die deacetylierte Form von Ipvelutin, handelt.

english version:

The aim of the present study was finding new low molecular substances in members of the Convolvulaceae family which have pharmacological effects and are therefore potentially suitable as model structures for pharmaceutical drugs. Since alkaloids in particular have a remarkable influence on the human body, the research concentrated on this class of substances. The GC-MS analysis was the most important instrument in examining the alkaline extracts of the samples taken from almost 50 species of Convolvulaceae. This highly sensitive method allowed for a highly precise classification of the single components of this complex mix of substances. The separate analysis of the different parts of the plants also allowed conclusions as to the distribution of alkaloids within the plants themselves.

The screening proved the extraordinary variety of alkaloid groups in Convolvulaceae once more.

The results of the GC-MS screening confirmed the tropane alkaloids as characteristic of the whole Convolvulaceous family. Of the 46 species analysed 42 had simple, i.e. unsubstituted tropanols at least. The esterification requires an additional biosynthesis. Mainly 3-tropanolesters could be traced in 31 of the 46 plant species. This shows that Convolvulaceae together with the closely related family of Solanaceae are one of the richest sources of tropane alkaloids among higher plants.

Regarding the pyrrolidine alkaloids with hygrine and cuscohygrine as their most frequent representatives, an almost ubiquitous presence could be proved in Convolvulaceae, cuscohygrine often being the main component in the root samples. It was in only two of the species analysed that pyrrolidines could not be detected.

Ergolines can also be considered a family characteristic because of their exclusive presence in Convolvulaceae as the only family of higher plants. However, their distribution within the plant family is irregular; they could only be detected in eight of the species analysed. The clear proof of the existence of ergolines in the alkaline extracts of some root drugs can be considered a new discovery.

By examining three further members of the Quamoclit Sectio Mina, a subtype of the *Ipomoea* species, pyrrolizidines such as minalobines and ipangulines could be confirmed as a common phytochemical feature of this infrageneric taxon. By isolating Minalobin O from the vegetative parts of *Ipomoea cristulata* HALLIER f. another representative of this alkaloid type could be structurally elucidated.

The GC-MS analysis of the African species *Falkia repens* L. f. demonstrated a rich variety of aliphatic and aromatic esters of both epimers of 3-tropanol. The simultaneous presence of almost the same quantities of 3 α - as well as 3 β -tropanol esters is unique among Convolvulaceae. For the first time aliphatic tropanol esters could be isolated from Convolvulaceae, in particular 3 α -acetoxytropan and its N-oxide, 3 β -acetoxytropan-N-oxide, 3 α -(2'-methylbutyryloxy)tropane, 3 β -(2'-methylbutyryloxy)tropane and its

N-oxide as well as 3β -tigloyloxytropane-N-oxide and also 3β -*trans*-feruloyloxytropane. As *Falkia repens* is used in folk medicine, analysing its effective components should be endeavoured by using test systems such as bioassay guided fractionation.

For the first time, the presence of alkaloids could be examined in detail in *Astripomoea malvacea* (KLOTZSCH) MEEUSE, a Convolvulaceous species strictly endemic to Africa. Astrimalvine A-N-oxide and astrimalvine B could be isolated, the latter probably existing in its genuine form as a N-oxide as well. Both proved to be esters of 3β -tropanol, which is remarkable as it was only in 1996 that Mann isolated concneorine as the first 3β -tropanol ester from Convolvulaceae. Moreover, astrimalvine A-N-oxide is a new substance of natural origin.

In this context the five tropane-N-oxides isolated from *Falkia repens* and *Astripomoea malvacea* must be mentioned. Since N-oxides quickly transform into their related tertiary amines when drying and handling the plant material, they have often been overlooked especially when dealing with tropanes. The present study could prove, however, that tropane alkaloids in Convolvulaceae are accumulated in the form of their N-oxides much more frequently than had been assumed so far. This is especially due to the additional use of (+)-FABMS in structural elucidation. In addition, the results of magnetic resonance measurements have shown that the N-oxides of Convolvulaceae are oriented axially.

The roots and rhizomes of *Convolvulus sabatius* Viv. native to the Mediterranean were analysed with the aim of extracting as large an amount of consabatine as possible in order to be able to elucidate its absolute configuration. As a consequence a 1'*R*-configuration could be attributed to consabatine by synthesising so-called Mosher esters. Moreover merresectine B, merresectine D β -glucoside and merresectine E β -glucoside could be isolated.

Like the conglomerate of the isoprenylated merresectines including consabatine, the bonabilines isolated from roots of *Bonamia spectabilis* (CHOISY) HALLIER f. found in Madagascar are tropane alkaloids specific to Convolvulaceae. The substances obtained are all esters of 3α -tropanol and, similar to Merresectine s.l., revealed unique moieties of alkaloids of the tropane class which are acyclic components of the generally rather rare type of monoterpenic acids and can be attributed to the Pinan type. Bonabilic acid itself has never been described so far. Bonabilines therefore are unique new natural substances, a fact which is of particular importance with respect to the chemotaxonomic differentiation from Solanaceae.

Because of the analogy between the hydroxylation in position 3' of bonabiline A and the primary hydroxyl moiety of the tropic acid of atropine/hyoscyamine, a pharmacological examination presented itself. Consequently the inhibition of the Carbachol-induced contraction by bonabiline A and its 2',3'-anhydro derivate bonabiline B was tested on the muscarinic M_3 -receptors of the guinea pig ileum. Bonabiline A proved to be of medium

effectiveness; Bonabiline B appeared fifteen times weaker. Research on the appearance of different stereoisomeres and the structural variations of the acyclic component would be desirable, in particular with respect to their pharmacological potential.

The Australian *Ipomoea velutina* R. BR. has not been submitted to phytochemical analysis yet. It was possible to identify ipvelutine which was isolated from the vegetative parts as 7 β -acetoxy-2 α -tigloyloxytropane. Because of its substitution pattern ipvelutine must be assigned to a group of tropane alkaloids only detected in Convolvulaceae so far. Due to its structural similarity to Bao Gong Teng A (6 β -acetoxy-2 β -hydroxynortropane) derived from *Erycibe obtusifolia* – which is used as medicine in treating glaucoma because of its highly miotic effect – ipvelutine might also be a substance of pharmaceutical interest. Similar compounds could also be detected in the epigeal parts and roots of *Convolvulus sagittatus* THUNB.. The main component of the alkaline extract of the epigeal parts was likely to be 7-hydroxy-2-tigloyloxytropane, the deacetylated form of ipvelutine.

5

Experimenteller Teil

5.1 Pflanzenmaterial

Für diese Arbeit wurden 47 Arten aus 13 Gattungen der Familie der Convolvulaceae dem phytochemischen Screening zugeführt. Standardmäßig wurden 50 g Droge verwendet, fast immer Kraut und Wurzeln, wenn vorhanden auch Früchte, Samen, verholzte Sproßteile, Ausläufer und sogar Blüten und Keimlinge. Soweit möglich wurden sowohl Proben der hier aus mitgebrachten Samen kultivierten Pflanzen, als auch Wildmaterial untersucht, das aus allen Kontinenten zusammengetragen wurde. Der Schwerpunkt lag auf in Australien gesammelten Exemplaren (19 Arten), da die dort endemischen Convolvulaceae phytochemisch bisher wenig beleuchtet worden sind.

5.1.1 Untersuchte Convolvulaceen-Spezies

Auf seinen Expeditionsreisen trug Prof. Dr. Eckart Eich mit seiner Gattin das für diese Arbeit verwendete umfangreiche Material, also getrocknete Pflanzenteile und Samen, zusammen. Es konnten Convolvulaceae aus allen Erdteilen untersucht werden, so aus dem tropischen Asien, dem gemäßigten Europa, Afrika mit Madagaskar, Australien und Amerika. Dr. Kristina Jenett-Siems sammelte auf ihren Expeditionsreisen nach Afrika ebenfalls zahlreiche Pflanzenproben und Samen zur Anzucht im Gewächshaus. Ferner konnte Material bearbeitet werden, das dem Arbeitskreis von Dr. Robert W. Johnson, Queensland Herbarium, Brisbane Gardens Mt. Coot-tha, Toowong/Queensland, und Mrs. Jenny Milson, the State of Queensland, Department of Primary Industries, Longreach/Queensland, beide Australien, und von Prof. Daniel F. Austin, Conservation & Science Department, Arizona Sonora Desert Museum (ASDM), Tucson/Arizona, USA, zugesandt wurde. Weiteres Drogenmaterial stammte aus dem Botanischen Garten in Châtenay-Malabry bei Paris oder wurde von Dr. Bernardina Onegi, Department of Pharmacy (Pharmacognosy Unit), Makerere University, Kampala, Uganda, zur Verfügung gestellt.

In der Regel war nicht ausreichend Wildmaterial für eingehende phytochemische Untersuchungen vorhanden. Daher wurden aus den mitgebrachten Samen im institutseigenen Gewächshaus Pflanzen angezogen und dort, sowie im Botanischen Garten, solange angebaut, bis nach Möglichkeit alle Pflanzenteile für das phytochemische Screening vorlagen bzw. genügend Biomasse für die Isolierung von Einzelstoffen geerntet werden konnte. Die angebauten Windenarten wurden – auch zur eventuellen Nachbestimmung – herbarisiert; Belegexemplare sind im Institut für Pharmazie, Pharmazeutische Biologie (Gartenhaus), der Freien Universität Berlin hinterlegt. Die für diese Arbeit verwendeten Convolvulaceen-Spezies werden im Folgenden kurz vorgestellt:

Astripomoea malvacea (KLOTZSCH) A. MEEUSE

Blätter und Wurzelrinde stammten von Dr. Bernardina Onegi aus Uganda, Afrika. Zur Verifizierung der Art und zum Anlegen eines Herbarbelegs wurden die beiliegenden vier Samen im Gewächshaus angezogen, und die Pflanze bis zur Blüte angebaut.

Bonamia dietrichiana HALLIER f.

Samen dieser Art konnten 1998 im Bowling Green Bay National Park 30 km südlich von Townsville/Queensland, Australien, gesammelt werden (Nr. 2). Aus ihnen wurden im Gewächshaus Pflanzen angezogen, die neben ausreichend Kraut- und Wurzelmaterial auch ein blühendes Exemplar für den Herbarbeleg lieferten. Leider bildeten die zahlreichen Blüten keine Samen aus.

Bonamia spectabilis (CHOISY) HALLIER f.

Das Wildmaterial wurde im August 1990 70 km östlich von Morondava, Madagaskar, gesammelt (Nr. 27). Aus den Samen wurden im Gewächshaus Pflanzen angezogen, die mehrmals über Stecklinge vermehrt wurden. So gelang es, genügend Kraut- und v.a. Wurzelmaterial zur Isolierung verschiedener Tropanalkaloide zu gewinnen.

Bonamia trichantha HALLIER f.

Die Samen dieser Art stammten aus Punta Barro/Provincia Coclé (Panama, 1997). Ein Teil wurde zur Anzucht der Pflanze im Gewächshaus herangezogen, um Kraut- und Wurzelmaterial für das Screening und ein blühendes Exemplar für den Herbarbeleg zu erhalten. Der andere Teil wurde direkt dem Screening zugeführt.

Calystegia silvatica (KIT.) GRISEB.

Von Dr. Ludger Witte wurden dem Arbeitskreis aus Braunschweig per Post lebende Rhizome aus dem polnisch-deutschen Grenzgebiet zugesandt, aus denen mehrere Pflanzen angezogen werden konnten. Zur Vergrößerung der Ausbeute wurden sie im Botanischen Garten im Freiland ausgesetzt. So konnten reichlich Kraut und Wurzeln geerntet werden.

Convolvulus graminetinus R. W. JOHNSON

Die Samen dieser Art stammten aus der Nähe von Dalby/Queensland (Australien 2000; Nr. 3). Durch deren Anzucht im Gewächshaus konnten Kraut- und Wurzelmaterial für das Screening gewonnen werden.

Convolvulus sabatius VIV.

Mehrere Exemplare dieser Spezies wurden beim Gartencenter Pluta, Berlin, käuflich erworben. Der Freilandanbau im Botanischen Garten war so erfolgreich, daß Kraut und Wurzeln im Kilobereich geerntet werden konnten, die zur Isolierung von Tropanolestern herangezogen wurden. Als Zierpflanze bildet diese Art zahlreiche Blüten aus, die fertile Samen liefern. Auch diese Pflanzenteile konnten dem Screening zugeführt werden.

Convolvulus sagittatus THUNB.

Die Samen zum Anbau dieser Art stammten vom Südufer des Lake Kyle in Zimbabwe (September 1996; JS 14). Untersucht wurden Wurzeln, Kraut und Samen.

Dichondra sericea SWEET

Das untersuchte Wildkraut wurde 1991 bei Concepción, Chile, gesammelt (Nr. 3b).

Evolvulus alsinoides L. und *Evolvulus alsinoides* var. *decumbens* (R. BR.) OOSTSTR.

Im Rahmen der Expedition Panama I (1995; Nr. 45) wurden die für das Screening verwendeten Ganzpflanzen bei Volcan/Provincia Chiriqui gesammelt. Kraut mit Früchten der Varietät *decumbens* stammt aus Australien (2000; Nr. 7), 58 km nördlich von Clermont/Queensland.

Evolvulus nummularius L.

Die für das Screening verwendeten Ganzpflanzen wurden 1995 in St. Maria/Provincia Herrera (Panama) gefunden.

Evolvulus glomeratus CHOISY cv. „Blue Daze“ sub nom. *E. pilosus* ROXB. cv. „Saphire“

Ein Lebendexemplar dieser Art wurde in einem Gartencenter in Mareeba, Australien, unter dem Namen *Evolvulus pilosus* cv. „Saphire“ erworben und, um weitere Biomasse zu gewinnen, im Gewächshaus kultiviert. Die Pflanze wurde später von Prof. D. F. Austin als *Evolvulus glomeratus* cv. „Blue Daze“ identifiziert.

Falkia repens L. f.

Die ursprünglich aus dem Kapland Südafrikas stammende Pflanze wurde im gemäßigt-temperierten Gewächshaus des Wirtschaftshofs des Botanischen Gartens Berlin angebaut und durch Auseinzeln vermehrt. Das Kraut- und Wurzelmaterial diente der Isolierung und Identifizierung zahlreicher Tropanalkaloide. Ein blühendes Exemplar konnte herbarisiert werden.

Ipomoea abrupta R. BR.

Im institutseigenen Gewächshaus wurden aus Samen, die in Wildsammlung in Queensland, Australien, gewonnen wurden, Pflanzen angezogen. Kraut, verholzte Sprossachsen und Wurzeln konnten gescreent werden.

Ipomoea arborescens SWEET

Die Samen zum Anbau im Gewächshaus stammten aus dem ASDM (Arizona Sonora Desert Museum in der Nähe von Tucson/Arizona, USA), Herbar-Nr. 1991-043-01. Blätter, verholzte Sprossachse und Wurzeln konnten zum Screening herangezogen werden.

Ipomoea argillicola R. W. JOHNSON

Für phytochemische Untersuchungen diente folgendes Wildmaterial aus Australien, gesammelt jeweils 50 km nördlich von Longreach/Queensland, Australien: Blätter (1998; Nr. 16) und Kraut mit Früchten (2000; Nr. 13). Die Früchte letzterer Probe wurden abgetrennt und für den Anbau im Gewächshaus verwendet.

Ipomoea asarifolia ROEM. & SCHULT.

Wurzel-, Kraut- und Samenmaterial der pinkblütigen Varietät stammten aus Churube/Provincia Coclé, Panama, und vom Eigenanbau im Gewächshaus.

Ipomoea bonariensis HOOK.

Aus dem Jardin des Convolvulacées, l'arboretum, Parc de la Vallée-aux-loups, Châtenay-Malabry (in der Nähe von Paris, Département Hauts-de-Seine, Frankreich) wurden Wurzeln, Sprossachsen, Blätter und Samen dieser ursprünglich in Südamerika beheimateten Spezies bezogen.

Ipomoea cholulensis KUNTH

Die Samen dieser Art wurden von J. L. T. Muñoz, Centro de Investigación Científica de Yucatan A.C. (CICY), Mérida, Yucatan, Mexiko, bereitgestellt. Die Pflanzenanzucht im Gewächshaus erbrachte ausreichend Kraut- und Wurzelmaterial für das Screening.

Ipomoea coccinea L.

Aus dem Botanischen Garten vor dem Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, Frankreich, wurden die Samen zum Anbau dieser Art bezogen. Wurzeln, Kraut und Früchte mit Samen wurden phytochemisch untersucht.

Ipomoea coptica (L.) ROTH

Samen und Wildkraut wurden in Australien (2000; Nr. 18b) an der Straße von Darwin zum Kakadu National Park 8 km vor dem Adelaide River, Northern Territory, Australien, gesammelt. Zur Anzucht im Gewächshaus wurde Samenmaterial aus Queensland, Australien, verwendet (JM 1477). Dem Screening wurde die Ganzpflanze zugeführt.

Ipomoea cristulata HALLIER f.

Von dieser Art wurden zwei verschiedene Provenienzen untersucht, wobei die Samen jeweils aus dem ASDM stammten. Die Provenienz B wurde vom Museum fälschlicherweise als *Ipomoea barbatisepala* bezeichnet, doch Prof. D. F. Austin bestätigte sie anhand des angefertigten Herbarbelegs in einer persönlichen Mitteilung als *Ipomoea cristulata*. Der Anbau im Gewächshaus lieferte Kraut-, Wurzel- und Samenmaterial für das Screening und die Isolierung eines Pyrrolizidinalkaloids.

Ipomoea hederacea JACQ.

Die Samen für den Anbau dieser Pflanze stammten aus dem ASDM, Herbar-Nr. 1986-094-01. Kraut, verholzter Sproß und Wurzeln wurden phytochemisch untersucht.

Ipomoea hildebrandtii VERDC.

Das Wildkraut wurde dem Arbeitskreis im Jahr 2000 von Frau Dr. B. Onegi aus Uganda mitgebracht.

Ipomoea lonchophylla J. M. BLACK

Wildkraut und Samen stammten von der Australien-Expedition 2000 (Nr. 12), 47 km nördlich von Longreach/Queensland. Weiteres Material, nämlich Kraut, Wurzeln und Früchte mit Samen, konnte durch den Anbau im Gewächshaus erhalten werden.

Ipomoea mauritiana JACQ.

Die Samen dieser Art wurden im Frühjahr 1998 in Limbe, Kamerun, gefunden. Kraut und Wurzeln wurden durch Eigenanbau im Gewächshaus gewonnen.

Ipomoea muelleri BENTH

Kraut mit Blüten und Früchten entstammte der Wildsammlung von Jenny Milson (JM1451 und JM1480, Fundort: nördlich von Three Ways, Australien). Die teilweise entnommenen Samen wurden für den Gewächshausanbau verwendet; so konnte weiteres Material dem Screening zugeführt werden.

Ipomoea ochracea (LINDL.) G. DON

Das Untersuchungsmaterial dieser in Uganda endemischen Pflanze wurde dem Arbeitskreis aus dem Jardin des Convolvulacées, l'arboretum, Parc de la Vallée-aux-loups, Châtenay-Malabry (Département Hauts-de-Seine, Frankreich) zugesandt. Die bezogenen Blätter, Sproßachsen, Wurzeln und Samen wurden ursprünglich von Patrick Blanc gesammelt und dem Jardin des Convolvulacées zur Verfügung gestellt (Sammel-Nummern PB 96-52 und PB 96-93b).

Ipomoea pes-tigridis L.

Wildkraut und Samen stammten aus der Nähe von Darwin, Northern Territory, Australien (2000; Nr. 36). Das Samenmaterial wurde teilweise für den Anbau im Gewächshaus verwendet.

Ipomoea plebeia R. BR.

Das Wildmaterial (Kraut und Samen) wurde in Australien gesammelt: in Longreach/Queensland (1998; Nr. 11) und 24 km nördlich von Charters Towers/Queensland (2000; Nr. 14b). Die 1998 geernteten Samen wurden teilweise zur Pflanzenanzucht im Gewächshaus genutzt. So konnten zusätzlich Keimlinge, Kraut mit Blüten, Wurzeln, unreife und reife Früchte mit Samen zur Untersuchung im Labor gewonnen werden.

Ipomoea pubescens LAM.

Die Samen stammten aus dem ASDM, Herbar-Nr. 1984-237-01. Der Anbau im Gewächshaus lieferte Kraut und Wurzeln für das Screening und ein blühendes Exemplar für den Herbarbeleg.

Ipomoea shirambensis BAKER

Die Samen wurden im September 1996 an der Straße von Geweru nach Harare, Zimbabwe, zusammengetragen (JS 16). Untersucht wurden Kraut, Wurzeln und Wurzelknollen mit Rhizom aus dem institutseigenen Gewächshaus.

Ipomoea tenuirostris STEUD.

Das Pflanzenmaterial stammte vom Zomba Plateau, Malawi (September 1997; JS 20). Außerdem brachte Frau Dr. B. Onegi im Jahr 2000 Kraut und Wurzeln für das Screening mit.

Ipomoea ternifolia CAV. var. *leptotoma* (TORR.) J. A. McDONALD

Die Samen zum Anbau dieser Art stammten aus dem ASDM, Herbar-Nr. 1987-132-01. Das durch den Gewächshausanbau gewonnene Material war für einen Screening-Ansatz nicht ausreichend; allerdings konnte ein blühendes Exemplar herbarisiert werden.

Ipomoea tiliacea CHOISY

Die Samen wurden in der Umgebung von Gamboa, Panama, gesammelt (1997; Nr. 10). Durch Anzucht im Gewächshaus konnten Wurzeln, Kraut und Ausläufer dem Screening

zugeführt werden.

Ipomoea tricolor CAV.

Drei Quellen lieferten das Ausgangsmaterial für den Gewächshausanbau: Auf den Kanarischen Inseln (2001) und bei der BAYWA Gunzenhausen (2002) konnten Samen des Kultivars „Heavenly Blue“ im Handel erworben werden, wobei die von den Kanarischen Inseln stammenden fälschlicherweise unter der Bezeichnung *Ipomoea arborescens* verkauft wurden. Samen des Kultivars „Flying Saucers“ wurden aus dem ASDM, Herbar-Nr. 1991-908-01, bezogen. Kraut, Wurzeln und z. T. auch Blüten und Samen wurden im Labor untersucht.

Ipomoea velutina R. BR.

Das Samenmaterial zur Anzucht im Gewächshaus stammte aus Australien (2000; Nr.34), Florence Falls, Litchfield National Park/Northern Territory. Kraut und Wurzeln konnten dem Screening zugeführt werden.

Lepistemon urceolatum (R. BR.) F. MUELL.

25 km nördlich von Cairns/Queensland, Australien, wurden 1998 die Samen dieser Art gefunden (Nr. 4). Durch den Gewächshausanbau wurde zusätzlich die Untersuchung von Kraut- und Wurzelmaterial möglich.

Maripa nicaraguensis HEMSL.

Blätter und Sproßachsen wurden im April 1996 von Alex Espinosa in der Provincia Coclé, Panama, für das CIFlorPan gesammelt (FLORPAN Nr. 2569) und dem Arbeitskreis Eich zur Verfügung gestellt.

Maripa panamensis HEMSL.

Das untersuchte Samenmaterial stammte aus dem CiFlorPan, ebenfalls gesammelt von Alex Espinosa im Juni 1996 in der Provincia Coclé (FLORPAN Nr. 2614). Der Anbau im Gewächshaus war, ebenso wie bei *M. nicaraguensis*, nicht erfolgreich, da Samen der Gattung *Maripa* nur wenige Tage nach der Ernte keimfähig sind.

Zusätzlich konnte folgendes Wildmaterial dem Screening zugeführt werden: vegetative oberirdische Teile aus der Umgebung von Gamboa (März 1995) und Blätter und Sproßachsen aus der Umgebung von Guancho (März 1996). Beide Fundorte befinden sich in der weiteren Umgebung von Colón, Panama.

Merremia hederacea HALLIER f.

Material unterschiedlicher Herkunft wurde untersucht: Zum einen wurde aus 1993 aus Thailand mitgebrachten Samen im Gewächshaus Kraut- und Wurzelmaterial gewonnen. Zum anderen konnten Wildkraut und -wurzeln aus Australien (2000; Nr. 31), gefunden an der Straße von Darwin zum Kakadu National Park, 8 km vor dem Adelaide River, Northern Territory, dem Screening zugeführt werden.

Merremia pterygocaulos (STEUD. ex. CHOISY) HALLIER f.

Wildkraut, gesammelt im Jahr 1990 bei Antsikafoka auf Madagaskar (Nr. 17), 100 km nördlich von Toamasina, wurde im Labor untersucht.

Merremia quinata (R. BR.) OOSTSTR.

In Australien konnten 2000 Wildkraut und Samen am Stuart Highway, 52 km südlich von Darwin/Northern Territory, geerntet werden (Nr. 32), die dem Screening zugeführt wurden.

Operculina aequisejala (DOMIN) R. W. JOHNSON

Das Samenmaterial wurde 1998 im Outback von Queensland im Gebiet von Longreach, Australien, gesammelt (Nr. 10). Der Anbau im Gewächshaus erbrachte Kraut, Wurzeln und Früchte mit Samen.

Operculina riedeliana (OLIVER) OOSTSTR.

Gefunden wurden die Samen 1998 in Australien (Nr. 5), 33 km nördlich von Cairns/Queensland. Im Gewächshaus zur Anzucht gebracht, konnten große Mengen Kraut, Ausläufer und Wurzeln gewonnen werden.

Polymeria ambigua R. BR.

Die untersuchte Wildpflanze ohne Früchte stammte aus Australien (2000; Nr. 35), Cox Peninsula/Northern Territory.

Polymeria calycina R. BR.

Das Wildkraut wurde 2000 im Outback von Queensland zwischen Clermont und Charters Towers, Australien, gesammelt (Nr. 16).

5.1.2 Pflanzenanzucht

Die Kultivierung der Convolvulaceae erfolgte zum einen im Botanischen Garten Berlin, wobei der Freilandanbau auf großen Flächen im Vordergrund stand. In den Monaten Mai bis Oktober wurden im Frühjahr vorgezuchtete, etwa einen Monat alte Individuen in Außenbeete gesetzt und dort bis in den Herbst angebaut, sodaß größere Mengen an Biomasse geerntet werden konnten. Im Falle von *Falkia repens* wurden die Pflanzen das ganze Jahr über im Wärmegewächshaus des Wirtschaftshofes kultiviert (65-75% Luftfeuchtigkeit; im Winter 12-14°C, im Sommer 20-22°C) und einmal im Jahr durch Auseinzeln vermehrt.

Der Großteil der Pflanzen wurde jedoch im Tropengewächshaus des Instituts für Pharmazie angebaut. Um tropisches Klima auch im Winter zu gewährleisten, wurde das Gewächshaus mittels Wand- und Fußbodenheizung tagsüber auf 25°C erwärmt mit einer Nachtabsenkung von etwa 5°C. Für die Frischluftzufuhr und zur Vermeidung von Stauhitzte

wurden automatisch angesteuerte Dach- und Seitenlüftungsclappen genutzt. Mit deionisiertem Wasser betriebene, über den Pflanzen befindliche Vernebelungsclausen sorgen für eine konstante Luftfeuchte von etwa 60-70%. Da auch in den Wintermonaten ein 12-Stunden-Tag beibehalten und an trüben Tagen die Lichtverhältnisse optimiert werden sollten, wurden die kürzeren Tage durch Zuschaltung von speziellen Feuchtraumlampen ausgeglichen. Die Natrium-Halogen- und die Quecksilberdampf-Hochdruck-Lampen waren i. d. R. von 6-9 Uhr und von 15-18 Uhr zugeschaltet. Zur Optimierung des Ertrages wurde die Methodik des biologisch-dynamischen Anbaus, insbesondere Literatur zum Anbau nach Mondrhythmen (Paungger und Poppe, 1999), zu Rate gezogen.

Zur Anzucht wurden die Samen je nach Größe an 1-4 Stellen mit Schmirgelpapier (Korn 160 bzw. 280) angeraut, um dem Keimling das Durchbrechen der Samenschale zu erleichtern. Sie wurden dann in warmes Wasser gelegt, bis sie gequollen waren oder sich ein weißes Keimspitzchen zeigte. Nun wurden sie etwa 1 cm tief in Töpfe mit einer Mischung aus Torfkultursubstrat (TKS 1) und feinem Kies gesteckt, und in einem mäßig belüfteten Vermehrungsbeet bei ca. 25°C zum Keimen gebracht. Die Keimlinge wurden, soweit nötig, pikriert, und die Pflänzchen solange umgetopft, bis sie eine ausreichende Größe für den Hauptraum des Gewächshauses erreicht hatten. Dort wurden die Pflanzen kultiviert, bis genügend Biomasse für das Screening bzw. einen Isolierungsansatz vorhanden war. Einige Pflanzen wurden auch über Stecklinge vermehrt. Dazu wurden etwa 10 cm lange Sproßachsenstücke mittlerer Dicke abgeschnitten, und zwar möglichst über einem Nodium, das bereits den Ansatz für einen Seitentrieb zeigte. Sie wurden sofort nach dem Abtrennen in gut durchfeuchtete Erde gesteckt, wobei Torf als Substrat diente.

Um das Wachstum der Pflanzen zu fördern, wurden sie von Zeit zu Zeit gedüngt. Dafür wurde Universaldünger (Wuxal®) mit hohem Stickstoffanteil verwendet. Trat Nährstoffmangel auf, wurden auch Spezialdünger, insbesondere Eisendünger, benutzt. Um den Düngestatus zu überprüfen, wurden von Zeit zu Zeit Bodenproben aus den Beeten entnommen und der pH-Wert bestimmt. Zur Kontrolle der Bodenqualität wurden auch Proben beim Pflanzenschutzamt Berlin eingereicht, die dort nach den Methoden des Verbandes Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten analysiert wurden.

Bei der Anzucht von Pflanzen bleibt der Befall mit Schädlingen nicht aus. Da es sich bei einem Gewächshaus um ein geschlossenes System handelt und somit die Zuwanderung von Fraßfeinden kaum möglich ist, ist dieser hier ein großes Problem. Gerade auch zur Schonung der gärtnerisch Tätigen lag absolute Priorität auf den Methoden des biologischen Pflanzenschutzes. So kamen zur Bekämpfung wie auch zur Früherkennung eines stärkeren Befalls von Weißen Fliegen, Trauermücken oder geflügelten Blattläusen Gelbtafeln (Fa. Neudorff) zum Einsatz; bei Thripsen eigneten sich Blautafeln (Fa. Aeroxon) besonders gut. Zum Schutz vor saugenden Insekten, wie Blattläusen, Spinnmilben und Weißen Fliegen, wurden die vegetativen Teile der Pflanzen mit Kaliumsalzen natürlicher Fettsäuren (Neudosan®) in Wasser besprüht. Dieses Insektizid hat den Vorteil, daß es sehr schonend für Nützlinge ist, da es lediglich das Ansaugen der Blätter unterbindet. Ferner wurde Raupenleim zum Schutz vor Ameisen verwendet, um sowohl das Eindringen ins

Gewächshaus, als auch das Ausbringen und Melken von Blattläusen auf den Pflanzen zu verhindern. Denn durch Verteidigung selbiger beeinträchtigen die Ameisen zudem den Nützlingseinsatz.

Biologische Bekämpfung der Schädlinge mit Nützlingen

Besonders wirkungsvoll erwies sich der Einsatz von sog. Nützlingen, d. h. den natürlichen Feinden der Schadorganismen. Diese Methode ist pflanzen-, boden- und anwenderschonend und erfüllt auch das Kriterium der Nachhaltigkeit, da sich die Nützlinge mehrere Wochen auf den Pflanzen befinden, und sich einige der Nützlingsarten sogar ansiedeln ließen. Wurden mittels der o. g. Farbtafeln Schädlinge diagnostiziert, lieferte die Fa. Neudorff eine der Fläche des Gewächshauses entsprechende Menge der benötigten Nutzorganismen als Lebewesen. Gallmückenlarven (s. u.) wurden außerdem vom Pflanzenschutzamt Berlin bezogen.



Abb. 120: Nematoden

Die zierlichen, schwarzen Trauermücken legen ihre Eier in den Boden. Dort fressen die weißlich-transparenten Larven die Wurzeln an, sodaß befallene Pflanzen trotz ausreichender Bodenfeuchte verwelken. Bei starkem Befall wurden zur Bekämpfung parasitäre Nematoden (*Steinernema feltiae*) eingesetzt, die in die Larven eindringen und dort ein Bakterium abgeben, das die Larven abtötet. Nach dem gleichen Prinzip funktioniert auch das Gießen mit einer Suspension von *Bacillus thuringiensis israelensis* (Neudomück®), das in regelmäßigen Abständen vorgenommen wurde.

Schlupfwespen (*Encarsia formosa*) kamen gegen Weiße Fliegen zum Einsatz, deren Larven und Adulte außerdem Honigtau ausscheiden, was die Gefahr der Rußtaubildung mit sich bringt. Die Weibchen legen ihre Eier einzeln in den durchsichtig-weißen, ovalen Larven ab, die auf den Blattunterseiten sitzen. Die *Encarsia*-Larven ernähren sich von ihren Wirten, bis diese absterben. Zusätzlich stechen die nur 0,5 mm großen Schlupfwespen jüngere Larven an und saugen die austretende Körperflüssigkeit auf; sie fressen auch den Honigtau.



Abb. 121: *Encarsia formosa*



Abb. 122:
Phytoseiulus persimilis

Bei einem Befall mit Spinnmilben, die sich bisweilen explosionsartig ausbreiteten, war das Aussetzen von Raubmilben (*Phytoseiulus persimilis*) sehr erfolgreich, da deren Entwicklungszyklus nur halb so lange dauert wie der ihrer Beute. Erkennbar ist die Erkrankung durch kleine, helle Sprenkel auf der Blattoberseite, auf der Unterseite befinden sich die Spinnmilben. Im fortgeschrittenen Stadium werden die Blätter von ihnen eingesponnen und welken. Spinnmilben und deren Eier werden von den etwa 0,5 mm großen, sehr beweglichen Raubmilben ausgesaugt, deren Bestand sich anhand ihrer orangenen Färbung gut verfolgen läßt.

Blattläuse können sich schnell zu einer Plage entwickeln. Das ließ sich sehr gut durch räuberische Gallmücken (*Aphidoletes aphidimyza*) verhindern. Deren rotorangene Larven saugen die Blattläuse aus. Ihr Erfolg ist anhand der weißen Blattlaushüllen, die auf den Pflanzen zurückbleiben, gut erkennbar. Die nachtaktiven adulten Gallmücken ernähren sich vom Honigtau der Blattläuse; die Weibchen legen ihre Eier in der Nähe der Kolonien ab. Im Lauf der Jahre konnten Gallmücken im Gewächshaus angesiedelt werden.



Abb. 123: *Aphidoletes aphidimyza*



Abb. 124: *Chrysoperla carnea*

Florfliegen (*Chrysoperla carnea*) wurden sowohl gegen Blattläuse, als auch gegen Thripse eingesetzt. Mit ihren zangenartigen Kiefern ergreifen die bis zu 10 mm großen Florfliegenlarven ihre Beute und spritzen ein giftiges Sekret in ihr Opfer ein, das sein Inneres auflöst; dann saugen sie es aus. Ein Thrips-Befall, der sich mitunter epidemieartig entwickelte, war gut an den silbrig-weißen Stellen der Blätter mit schwarzen Kottröpfchen auf der Unterseite zu erkennen.

Daneben wurden Raubwanzen (*Orius* sp.) gegen Thripse verwendet. Adulte Tiere sind 2-3 mm groß und braun-schwarz gemustert; sie saugen ihre Opfer aus. Die *Orius*-Weibchen legen ihre Eier dicht neben den Befallsherden im Pflanzengewebe ab. Die gelblichen Larven gehen sofort nach dem Schlüpfen auf Beutesuche; sie saugen die Tiere ebenfalls aus.

Bei schlagartiger Vermehrung der Schädlinge – oft witterungsbedingt – war der Einsatz chemischer Pflanzenschutzmittel leider unvermeidbar, um den Bestand zu schützen. Nachteilig daran war neben dem humantoxikologischen Gesichtspunkt vor allem, daß dem Spritzmittel unter Umständen auch die vorhandenen Nützlinge zum Opfer fielen.

Bei epidemieartiger Ausbreitung von Thripsen und Spinnmilben wurde Abamectin (Vertimec[®]) eingesetzt. Mit einer wässrigen Lösung wurden die Blattober- und Blattunterseiten aller Pflanzen besprüht.

Pilzerkrankungen wurden ebenfalls chemisch behandelt. Bei Echem Mehltau (*Sphaerotheca* sp.) wurde Triforin (Saprol[®]) eingesetzt; befallene Blätter wurden mit einer wässrigen Lösung besprüht. Wurzelparasiten wurden mit Propamocarb (Previcur[®]) bekämpft; dazu wurden die befallenen Pflanzen mit einer wässrigen Lösung gegossen.

5.2 Allgemeine Bedingungen

5.2.1 Geräte

Massenspektren:	EIMS: Varian MAT CH ₇ A, 70 eV HRMS: Finnigan MAT 711, 80 eV FABMS: Varian MAT CH ₅ DF (MeOH/Glycerin, Xenon)
¹ H-NMR-Spektren:	Bruker DPX 400 (400 MHz); TMS als innerer Standard
¹³ C-NMR-Spektren:	Bruker DPX 400 (100.6 MHz); TMS als innerer Standard
2D-Spektren:	Bruker DRX 500 (500 MHz)
GC-MS:	
TU Braunschweig:	GC: Carlo MFC 500 MS: Kratos 25 RF
FU Berlin:	GC: GC 8060 (Fisons Instruments); Säule: DB-1, 30 m x 0.32 mm (J&W Scientific, CA, USA) MS: MD 800 (Fisons Instruments); Fisons MassLab 1.3 für Microsoft Windows (PC)
Analytische HPLC:	Knauer HPLC Pump 64, Knauer HPLC Programmer 50, barspec Chrom-A-Scope Detektor; Software: barspec Chrom-A-Scope
Präparative HPLC:	Knauer HPLC-Gradienten-Anlage, 2-Pumpen-System, Variable Wavelength Monitor; Software: Eurospher
UV-Spektren:	Rapid Scanning UV-Detektor, 190-370 nm (Fa. Knauer)
MPLC:	Pumpe: Modell Duramat (Fa. Cfk)
Optische Drehung:	Perkin Elmer 241 MC Polarimeter, Spaltbreite 0.5 μm, Na-Dampflampe 589.3 nm, 20°C; Zelle: Länge 10 cm, 1 ml Fassungsvermögen
CD:	Spektropolarimeter Jasco J-810 (0.1 cm, 25°C)

5.2.2 Stationäre Phasen und Trennsäulen

Analytische DC:	DC-Alufolien Kieselgel 60 F ₂₅₄ , Schichtdicke 0.2 mm, 20 x 20 cm (Fa. Merck)
Präparative DC:	DC-Alufolien Kieselgel 60 F ₂₅₄ , Schichtdicke 0.2 mm, 20 x 20 cm (Fa. Merck)
Analytische HPLC:	Eurospher 100 C-18, 7 μ m, 4 x 250 mm (Fa. Knauer)
Präparative HPLC:	Eurospher 100 C-18, 10 μ m, 16 x 250 mm (Fa. Knauer) Nucleosil P 300 C-18, 10 μ m, 16 x 250 mm (Fa. Knauer) LiChrosorb RP 18, 7 μ m
Säulenmaterial GC-MS:	(jeweils von J & W Scientific, Californien)
Calystegine:	Kapillarsäule DB-1, 30 m x 0.25 mm
lipophile Alkaloide:	Kapillarsäule DB-1, 30 m x 0.32 mm, 0.25 μ m
Säulenchromatographie:	Kieselgel 60: Korngröße 63-200 μ m, 70-230 mesh (Fa. Merck) Celite [®] 545 Kieselgur (Fa. Fluka) LiChroprep [®] RP-18: Korngröße 0.040-0.063 mm (Fa. Merck) Sephadex [®] LH-20 (Fa. Pharmacia) Silica Gel 100 C ₁₈ – Reversed Phase (Fa. Fluka)
Säulenmaterial für die Calystegin-Analytik:	Dowex [®] 50 WX8 (Fa. Serva) 15-20 g Kationenaustauscher wurden in 4%iger Salzsäure suspendiert und über Nacht bei Raumtemperatur stehen gelassen. Die Suspension wurde in eine mit Watte abgedichtete 20 mL-Einwegspritze (Fa. Braun) gegossen. Nach Absetzen des Ionenaustauschers (Füllhöhe etwa 5 cm) wurde mit Aqua dest. bis pH 7 gewaschen und anschließend die Probe aufgegeben.
Probenaufreinigung für die GC-MS-Analytik:	LiChrolut [®] -Festphasenextraktionssäulen, SCX, Füllmenge 500 mg (Fa. Merck)

5.2.3 Lösemittel und Detektionsmittel

Lösemittel

Für Extraktionen und Großansätze wurden die reinen Lösemittel verwendet. Zum Ausschütteln kleinerer Mengen, zum Lösen der Proben, für die HPLC, als Fließmittel für die DC und zur Säulenchromatographie wurden die Lösemittel, sofern sie nicht zumindest der Qualität „zur Analyse“ entsprachen, destilliert. Es wurde stets destilliertes Wasser verwendet.

Detektionsmittel für die Dünnschichtchromatographie

Anisaldehyd-Schwefelsäure-Reagenz nach STAHL

zur Detektion diverser Naturstoffe, insbesondere Terpenderivate

0.5 mL Anisaldehyd wird in 10 mL Eisessig und 85 mL MeOH gelöst. Anschließend werden 2 mL konz. Schwefelsäure hinzugefügt. Das Sprühreagenz muß frisch sein und darf keine Rosafärbung zeigen. Zur Farbentwicklung wird die Platte nach dem Besprühen im Trockenschrank 5-10 min bei 100-120°C erhitzt.

Die diversen Naturstoffe reagieren verschiedenfarbig, hauptsächlich grün bis violett.

Cer(IV)-sulfat-Schwefelsäure-Reagenz

zur Detektion von *Solanum*-Steroidalkaloiden und Steroidsapogeninen

Es wird eine gesättigte Lösung von Cer(IV)-sulfat in 65%iger Schwefelsäure hergestellt. Nach dem Besprühen wird die Platte 15 min im Trockenschrank auf 120°C erhitzt.

Die fraglichen Steroide reagieren rosa bis violett.

Dragendorffs Reagenz nach MUNIER

zur Detektion von Alkaloiden u. a. stickstoffhaltigen Verbindungen

Lösung 1: 1.7 g basisches Bismut(III)-nitrat und 20 g Weinsäure werden in 80 mL Aqua dest. gelöst

Lösung 2: 16 g Kaliumjodid werden in 40 mL Aqua dest. gelöst

Gleiche Volumina der Lösungen 1 und 2 werden gemischt und lichtgeschützt aufbewahrt (Vorratslösung). Vor Gebrauch werden 10 g Weinsäure in 50 mL Aqua dest. gelöst und

dann 5 mL Vorratslösung zugegeben.

Nach dem Besprühen bilden sich orange bis rote Niederschläge auf der Platte.

Dragendorffs Reagenz nach MUNIER und MACHEBOEUF

zur Detektion von Alkaloiden, aber auch einzelne andere Naturstoffe wie Lignane

Lösung 1: 0.85 g basisches Bismut(III)-nitrat werden in 10 mL Eisessig und 40 mL Aqua dest. gelöst

Lösung 2: 8 g Kaliumjodid werden in 20 mL Aqua dest. gelöst

Beide Lösungen werden im Verhältnis 1:1 gemischt und lichtgeschützt aufbewahrt (Vorratslösung). Vor Gebrauch wird 1 mL Vorratslösung mit 2 mL Eisessig und 10 mL Aqua dest. versetzt.

Die zu detektierenden Substanzen färben sich orange bis rot an.

Echtblausalz B-Reagenz

zur Detektion hydroxylierter Naturstoffe, z. B. Ipobscurine, auch Mutterkornalkaloide; in dieser Arbeit außerdem Indolylessigsäure-Derivate

Echtblausalz B wird in Methanol gelöst, sodaß eine 0.5%ige Lösung erhalten wird. Nach Besprühen und Trocknen wird die Platte mit Ammoniak-Dämpfen behandelt.

Entsprechende Naturstoffe reagieren meist blau, manchmal jedoch auch andersfarbig.

Naturstoffreagenz nach NEU

zur Detektion von α - und γ -Pyronen, insbesondere Hydroxyflavonole

1 g Naturstoffreagenz A (Diphenylborsäure- β -aminoethylester) wird in 100 mL MeOH gelöst. Nach dem Besprühen wird die Platte getrocknet und im UV-Licht bei 366 nm betrachtet.

Reagierende Naturstoffe färben sich gelb bis orange und fluoreszieren im UV-Licht in entsprechenden Farben.

Paraformaldehyd-Phosphorsäure-Reagenz

zur Detektion von *Solanum*-Steroidalkaloiden und Steroidsapogeninen

0.03 g Paraformaldehyd werden durch Schütteln in 100 mL Phosphorsäure (85%) gelöst. Solanin beispielsweise reagiert blau.

Trichloressigsäure-Reagenz

zur Detektion von Steroiden, Digitalisglykosiden und *Veratrum*-Alkaloiden

2 g Trichloressigsäure werden in 8 mL Chloroform gelöst. Zur Sichtbarmachung der Substanzen wird die Platte im Trockenschrank 5-10 min auf 120°C erhitzt.

Positiv reagierende Stoffe fluoreszieren außerdem im langwelligen UV-Licht (366 nm).

van Urk-Reagenz

zur Detektion in 2-Stellung unsubstituierter Indol-Derivate, insbesondere Ergoline

500 mg 4-Dimethylaminobenzaldehyd werden in 250 mL 25%iger Salzsäure gelöst. Sodann werden 8 Tropfen einer 10%igen Lösung von Eisen(III)-chlorid in 3%iger Salzsäure zugesetzt. Zur Farbentwicklung wird die DC-Platte nach dem Besprühen mit dem Bunsenbrenner abgeflammt.

Mutterkornalkaloide reagieren hell- bis dunkelblau.

5.3 Screening

5.3.1 Extraktherstellung

Herstellung der Extrakte für das Screening lipophiler Sekundärstoffe, insbes. Alkaloide

Frisch geerntetes Pflanzenmaterial wurde grob zerkleinert und im Trockenschrank bei ca. 40°C getrocknet. Für das Screening wurden jeweils 50 g getrocknete Droge eingesetzt; war weniger vorhanden, wurde mit entsprechend kleineren Mengen Extraktionsmitteln gearbeitet.

Soweit es sich um Wurzeln oder oberirdische Pflanzenteile, wie Kraut, Ausläufer, Blüten, etc., handelte, wurden 50 g kleingemahlene Droge mit 500 mL Methanol versetzt und 3 Stunden bei Raumtemperatur unter ständigem Rühren (Flügelrührer) extrahiert. Dann wurde das Lösemittel abgenutscht und der Drogenrückstand mit Methanol nachgewaschen. Die Droge wurde in derselben Weise noch zweimal mit Methanol extrahiert.

Samen- und Fruchtdrogen wurden kleingemahlen und 50 g mit 1 L Petrolether 6-8 Stunden im Soxhlet extrahiert. Nach Abdunsten des Petrolethers wurde das so entfettete Drogenmaterial ebenso dreimal mit Methanol extrahiert.

Die Methanol-Extrakte wurden am Rotationsverdampfer unter Vakuum bei 50°C (Wasserbad) eingeengt und die vereinigten Rückstände der Methanol-Extrakte in 300 mL 2%iger wässriger Weinsäure-Lösung (6 g in 300 mL Aqua dest.) aufgenommen.

Im Schütteltrichter wurde nun dreimal mit je 200 mL Petrolether ausgeschüttelt. Die Petrolether-Fractionen wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und der Petrolether bei 40°C (WB) im Vakuum einrotiert (→ Petrolether-Extrakt). Anschließend wurde dreimal mit je 200 mL Dichlormethan ausgeschüttelt, die Dichlormethan-Fractionen über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösemittel bei 40°C i.V. entfernt (→ Dichlormethan-Extrakt). Nun wurde dreimal mit je 200 mL Ethylacetat ausgeschüttelt, die Ethylacetat-Fractionen über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und bei 50°C i.V. einrotiert (→ Ethylacetat-Extrakt).

Die wässrige Phase wurde dann mit 25%iger wässriger NH₃-Lösung auf pH 9-10 eingestellt und zur Alkaloid-Gewinnung dreimal mit je 200 mL Dichlormethan ausgeschüttelt. In einigen Fällen wurde stattdessen das Lösemittelgemisch Dichlormethan/Isopropanol (3:1, V/V) verwendet. Die organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert, und der Rückstand mit reinem Lösemittel nachgewaschen. Die Fractionen wurden am Rotationsverdampfer bei 40°C i.V. zur Trockne eingengt (→ Basen-Extrakt).

Die verbleibende alkalische wässrige Phase wurde meist zur Trockne einrotiert (70°C i.V.) und gegebenenfalls weiter bearbeitet (→ H₂O-Phase).

Standardscreening der erhaltenen Extrakte

Alle extrahierten Drogen wurden nach ihrer Fractionierung standardmäßig wie folgt gescreent. Die Proben wurden dazu in Dichlormethan bzw. Methanol aufgenommen und unter den unten genannten Bedingungen der DC- und HPLC-Analyse unterzogen:

DC

(* nur Petrolether-, Dichlormethan- und Ethylacetat-Extrakt)

Stationäre Phase: DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄, 10 x 10 cm, Schichtdicke 0.2 mm

Laufstrecke: 8 cm (Kammersättigung)

Auftragemenge: 10 µL

Mobile Phasen: CHCl₃/MeOH (40:10)
CHCl₃/MeOH/NH₃ konz. (40:10:1)
EtOAc/H₂O/HCOOH/CH₃COOH (40:4:4:8) *

Detektion: a) Fluoreszenzminderung bei 254 nm
b) Eigenfluoreszenz bei 366 nm
c) Dragendorffs Reagenz
d) van Urk-Reagenz
e) Naturstoffreagenz *

HPLC

Aufnahmegerät:	Knauer HPLC Pump 64
Säule:	Eurospher 100 C-18, 7 μm , 4 x 250 mm
Fließmittel:	H ₂ O ^{Sre} /MeOH
Gradient (Petrolether-Extrakt):	1:99 isokratisch
Gradient (andere Extrakte):	Start: 70:30, 30:70 nach 20 min, Ende: 1:99 nach 30 min
Injektionsvolumen:	10 μL
Flußrate:	1.5 mL/min
Detektion:	254 nm

5.3.2 Probenvorbereitung für die GC-MS-Analytik

Da die GC-MS-Messungen der Untersuchung des Vorkommens basischer stickstoffhaltiger sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe dienen, wurden jeweils die wie unter 5.3.1 beschrieben hergestellten Basen-Extrakte analysiert. Zur Aufreinigung der Proben wurden wahlweise folgende Methoden angewandt:

Reinigung an einem Kationenaustauscher

Der zur Trockne einrotierte Rückstand der Basenfraktion wurde in 4 mL 0.6%iger Weinsäure-Lösung (Stammlösung: 0.06 g in 5 mL Aqua dest. + 5 mL Methanol) aufgenommen und auf eine mit 4 mL Methanol und 4 mL Aqua dest. konditionierte Adsorbex® SCX-Kationenaustauscher-Fertigsäule gegeben. Unter Vakuum wurde eine Tropfgeschwindigkeit von etwa 1 Tropfen binnen 2 Sekunden eingestellt, und die Säule mit 12 mL Aqua dest. nachgespült. Diese Waschfraktion wurde verworfen. Nun wurde dreimal mit 2 mL 3.5%iger wässriger NH₃-Lösung eluiert und mit der dreifachen Menge Aqua dest. nachgespült. Die vereinigten Eluate wurden in einem Rollrandglas gesammelt und im Trockenschrank bei etwa 40°C vollständig eingetrocknet. Für die GC-MS-Vermessung wurde die Probe in 100 μL CH₂Cl₂ oder Methanol gelöst.

Reinigung durch wiederholtes Ausschütteln

Hierfür wurde die Basenfraktion in 10 mL CH₂Cl₂ gelöst, gegebenenfalls im Ultraschallbad, und in einen Schütteltrichter überführt. Nun wurden 10 mL 2%ige Weinsäure-Lösung (0.2 g in 10 mL) hinzugefügt, ausgeschüttelt, und die CH₂Cl₂-Phase abgetrennt. Dann wurde noch zweimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Anschließend wurde dreimal mit Ethylacetat ausgeschüttelt. Die wässrige Phase wurde mit 300 µL NH₃-Lösung basisch gestellt und dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die basischen organischen Fraktionen wurden über Natriumsulfat wasserfrei getrocknet, abfiltriert und am Rotationsverdampfer zur Trockne eingengt. Für die GC-MS-Analyse wurde die Probe in 100 µL CH₂Cl₂ oder Methanol aufgenommen.

Das GC-MS-Screening wurde an den beiden folgenden Instituten durchgeführt:

Meßbedingungen am Institut für Organische Chemie, TU Braunschweig:

Geräte:	GC: Carlo Erba 5160 MS: Finnigan MAT 4515
GC-Säule:	DB-1; 0.25 mm x 30 m
Trägergas:	Helium; 1 mL/min; 0.5 bar; Split 1:20
Temperaturprogramm:	70-300 °C, 6 °C/min
Injektorblocktemperatur:	250 °C
Injektionsvolumen:	0,5 – 1 µL
Referenzsubstanzen:	<i>n</i> -Alkane (C ₉ , C ₁₀ , C ₁₁ , C ₁₂ , C ₁₄ , C ₁₆ , C ₁₈ , C ₂₀ , C ₂₄ , C ₂₈)

Meßbedingungen am Institut für Biologie (Angewandte Zoologie/Ökologie der Tiere), FU Berlin:

Geräte:	GC: Fisons GC 8060 MS: Fisons MD 800
GC-Säule:	DB-1; 0.32 mm x 30 m, 0.25 µm
Trägergas:	Helium; 1 mL/min; Split 1:20
Temperaturprogramm:	70-300 °C; 6 °C/min
Injektorblocktemperatur:	240 °C
Injektionsvolumen:	1 µL
Referenzsubstanzen:	<i>n</i> -Alkane (C ₁₀ , C ₁₁ , C ₁₂ , C ₁₃ , C ₁₄ , C ₁₅ , C ₁₆ , C ₁₇ , C ₁₈ , C ₁₉ , C ₂₀ , C ₂₁ , C ₂₂ , C ₂₃ , C ₂₄ , C ₂₅ , C ₂₆ , C ₂₈)

5.3.3 GC-MS-Daten der detektierten Verbindungen

Durch die Angabe ihres Retentionsindex und ihres Fragmentierungsmusters im Massenspektrometer kann eine Substanz unter Verwendung der GC-MS-Analytik reproduzierbar charakterisiert werden.

Ermittlung des Retentionsindex (RI):

Zur Identifizierung der Substanzen wurde neben ihrem charakteristischen Fragmentierungsmuster des Massenspektrums auch der Retentionsindex herangezogen. Dieser wurde graphisch durch Interpolation ermittelt oder nach folgender Formel berechnet:

$$n_x = \left[\frac{(n_2 - n_1)}{(t_2 - t_1)} \times (t_x - t_1) \right] + n_1$$

n_1	Retentionsindex (RI) n-Alkan 1	t_1	Retentionszeit n-Alkan 1
n_2	RI n-Alkan 2	t_2	Retentionszeit n-Alkan 2
n_x	RI der unbekanntes Substanz	t_x	Retentionszeit der unbekanntes Substanz

Bei dem so erhaltenen substanzspezifischen Retentionsindex handelt es sich um den sog. Kováts-Index (Kováts, 1958).

Auf den folgenden Seiten sind die Referenzdaten, die zur Identifizierung der Substanzen herangezogen wurden, aufgeführt.

5.3.3.1 Pyrrolidin-Alkaloide

Durch Vergleich mit den unten angeführten Literaturstellen konnten die folgenden Pyrrolidin-Alkaloide und ihre Vorstufen in den GC-MS-Spektren der untersuchten Arten nachgewiesen werden. Im Falle von Hygrin-5-on galt das unten genannte Spektrum als Referenz.

Tab. 26: GC-MS-Daten von Pyrrolidin-Alkaloiden

Verbindung	RI	Charakteristische Ionen, m/z (%)
N-Methyl-2-pyrrolidon ¹	1005	99 (100), 98 (70), 85 (13), 71 (12), 57 (35), 44 (38), 43 (53), 42 (69)
2-Pyrrolidon ¹	1013	85 (100), 84 (21), 83 (5), 82 (13), 81 (11), 56 (18), 42 (45), 41 (44)

Norhygrin ¹	1050	127 (4), 112 (4), 98 (5), 84 (10), 70 (100), 68 (13)
Hygrin ²	1058	141 (6), 98 (5), 85 (7), 84 (100), 82 (9), 70 (8), 55 (5), 43 (13), 42 (28)
Hygrolin A ³	1073	143 (1), 98 (2), 84 (100), 82 (7), 70 (5)
Hygrolin B ³	1086	143 (1), 98 (2), 84 (100), 82 (7), 70 (5)
Nicotin ⁴	1312	162 (20), 161 (17), 133 (30), 119 (7), 84 (100), 42 (9)
2,6-Dehydrohygrin ⁵	1350	139 (33), 124 (100), 110 (2), 96 (8), 82 (4), 68 (9)
Hygrin-5-on ⁶	1384	155 (11), 140 (7), 122 (4), 112 (11), 99 (6), 98 (100), 84 (11), 82 (6), 70 (15), 68 (16), 55 (20), 43 (51)
5-(2'-Oxopropyl)hygrin ⁷	1442	197 (9), 154 (2), 141 (12), 140 (100), 139 (4), 138 (3), 126 (2), 98 (12), 97 (3), 96 (100), 95 (2), 94 (5), 84 (4), 83 (9), 82 (89), 81 (6), 80 (3), 71 (3), 70 (3), 69 (3), 68 (3), 67 (4), 58 (5), 57 (6), 56 (6), 55 (9), 54 (3), 53 (3), 44 (3), 43 (39), 42 (16), 41 (8)
5-(2'-Hydroxypropyl)hygrin ⁵	1452	199 (5), 142 (52), 140 (100), 98 (15), 96 (15), 82 (85)
5-(2'-Hydroxypropyl)hygrolin ⁵	1479	201 (2), 142 (100), 98 (10), 96 (8), 84 (22), 82 (18)
2,4'-N-Methylpyrrolidinyhygrin ² (≅ A)	1570	224 (4), 167 (3), 166 (2), 152 (7), 139 (4), 124 (3), 110 (3), 84 (100), 82 (17)
2,3'-N-Methylpyrrolidinyhygrin ² (≅ B)	1580	224 (4), 167 (3), 166 (2), 152 (7), 139 (4), 124 (3), 110 (3), 84 (100), 82 (17)
Cuscohygrin ²	1650	224 (1), 223 (2), 209 (15), 152 (4), 141 (12), 140 (47), 127 (8), 98 (9), 84 (100)
Phygrin ⁷	2043	280 (1), 265 (3), 222 (4), 196 (6), 155 (4), 154 (7), 141 (9), 140 (48), 139 (14), 124 (4), 98 (8), 97 (5), 96 (14), 94 (7), 85 (8), 84 (72), 83 (22), 82 (72), 80 (8), 70 (5), 68 (9), 58 (14), 57 (4), 55 (8), 53 (4), 44 (13), 43 (100), 42 (24), 41 (9)
N-Methylpyrrolidinylcuscohygrin A ⁸	2165	307 (1), 224 (1), 167 (2), 152 (1), 98 (2), 84 (100), 42 (8)
N-Methylpyrrolidinylcuscohygrin B ⁸	2176	307 (1), 224 (1), 167 (2), 152 (1), 98 (2), 84 (100), 42 (8)

¹ Henrici, 1996² Witte *et al.*, 1987³ Schneider *et al.*, 1995⁴ Hesse, 1975⁵ Jenett-Siems, 1996⁶ GC-MS von *Evolvulus alsinoides*, Kraut⁷ Basey *et al.*, 1992⁸ Doerk-Schmitz *et al.*, 1994

5.3.3.2 Tropan-Alkaloide

In den folgenden Verzeichnissen finden sich die im Rahmen dieser Arbeit nachgewiesenen Tropan-Alkaloide. Zu einigen Verbindungen existieren Literaturdaten, die unten aufgeführt sind. Bei den meisten dienten Angaben aus der Datenbank von L. Witte (AG Hartmann, Braunschweig) als Referenz; die massenspektrometrischen Kennzahlen stammen aus den unten angegebenen GC-MS-Spektren. Einige neue Verbindungen konnten durch Isolierung bestätigt und so der Liste hinzugefügt werden.

Einfache Tropane

Tab. 27: GC-MS-Daten von einfachen Tropanen

Verbindung	RI	Charakteristische Ionen, <i>m/z</i> (%)
Nortropan-3-on ¹	1132	125 (6), 97 (6), 96 (7), 82 (30), 69 (24), 68 (100), 67 (43), 54 (11)
Cyclotropin ²	1137	139 (100), 124 (9), 111 (18), 110 (75), 108 (51), 97 (41), 96 (94), 83 (24), 82 (36), 68 (88), 67 (72), 54 (36), 42 (55)
Nortropan-3 α -ol ³	1147	127 (19), 110 (30), 99 (26), 82 (89), 68 (100), 56 (25)
Tropan-3-on ³	1152	139 (11), 110 (13), 96 (23), 82 (100), 68 (10), 55 (20), 42 (60)
Nortropan-3 β -ol ¹	1160	127 (14), 110 (37), 99 (26), 82 (41), 69 (41), 68 (100), 56 (17), 54 (13)
Tropan-3 α -ol ⁴	1167	141 (24), 124 (23), 113 (10), 96 (39), 83 (51), 82 (100), 67 (11), 55 (15), 42 (40)
Tropan-3 β -ol ⁴	1185	141 (24), 124 (23), 113 (10), 96 (39), 83 (51), 82 (100), 67 (11), 55 (15), 42 (40)

¹ Tofern, 1999

³ Ionkova *et al.*, 1994

² GC-MS von *Falkia repens*, Wurzeln

⁴ Witte *et al.*, 1987

3-Tropanolester

Tab. 28: GC-MS-Daten von 3-Tropanolestern

Verbindung	RI	Charakteristische Ionen, <i>m/z</i> (%)
3 α -Acetoxynortropan ¹	1290	169 (12), 126 (5), 111 (18), 110 (100), 108 (18), 93 (14), 82 (36), 80 (72), 68 (59), 67 (61), 43 (68)
3 β -Acetoxynortropan ²	1300	169 (4), 126 (3), 111 (8), 110 (100), 108 (15), 96 (8), 94 (10), 83 (27), 82 (53), 80 (43), 68 (56), 67 (37), 43 (46)

3 α -Acetoxytropan ³	1303	183 (29), 140 (15), 124 (100), 96 (23), 94 (20), 83 (62), 82 (79), 67 (20), 42 (27)
3 β -Acetoxytropan ³	1315	183 (29), 140 (15), 124 (100), 96 (23), 94 (20), 83 (62), 82 (79), 67 (20), 42 (27)
3 α -Propionyloxytropan ³	1405	197 (7), 140 (7), 124 (100), 96 (18), 94 (33), 83 (40), 82 (54), 67 (24), 42 (55)
3 β -Propionyloxytropan ^{4,5}	1414	197 (17), 140 (8), 124 (45), 94 (8), 83 (13), 82 (21), 68 (27), 67 (15), 43 (100)
3 α -Isobutyryloxytropan (Butropin) ³	1455	211 (7), 140 (7), 124 (100), 96 (15), 94 (29), 83 (30), 82 (39), 67 (19), 42 (55)
3 β -Isobutyryloxytropan ¹	1498	211 (7), 140 (5), 125 (6), 124 (100), 122 (6), 108 (3), 96 (21), 95 (16), 94 (60), 83 (18), 82 (60), 67 (20), 42 (34)
3-(Hydroxybutyryloxy)tropan ⁶	1524	227 (11), 140 (5), 124 (100), 96 (15), 94 (20), 82 (23), 59 (30)
3 α -(2'-Methylbutyryloxy)nortropan (Isoporoidin) ⁷	1532	211 (-), 110 (100), 94 (4), 81 (21), 80 (13), 68 (20), 67 (15), 57 (7)
3 α -(2'-Methylbutyryloxy)tropan (Valtropin) ³	1545	225 (7), 140 (7), 124 (100), 96 (14), 94 (27), 83 (25), 82 (32), 67 (13), 57 (12)
3 α -Isovaleroyloxytropan ⁸	1546	225 (10), 210 (1), 140 (13), 124 (100), 96 (16), 95 (11), 94 (33), 83 (25), 82 (58), 67 (16), 41 (19)
3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan ³	1555	225 (7), 140 (7), 124 (100), 96 (14), 94 (27), 83 (25), 82 (32), 67 (13), 57 (12)
3 β -Isovaleroyloxytropan ⁹	1564	225 (28), 210 (2), 140 (5), 124 (100), 95 (11), 94 (44), 83 (11), 82 (44), 67 (12), 41 (33)
3-(Hydroxypentanoyloxy)nortropan ⁶	1603	227 (2), 110 (100), 80 (18), 73 (28), 68 (19)
3-(Hydroxypentanoyloxy)tropan ⁶	1616	241 (10), 140 (8), 124 (100), 96 (18), 94 (23), 82 (25), 73 (31)
3 β -Tigloyloxynortropan ¹⁰	1632	209 (9), 194 (6), 126 (10), 110 (100), 100 (7), 82 (14), 80 (11), 68 (20), 67 (20), 55 (9), 43 (12)
3 α -Tigloyloxytropan ³	1643	223 (15), 208 (4), 140 (9), 124 (100), 96 (18), 94 (34), 83 (51), 82 (71), 42 (40)
3 β -Tigloyloxytropan (Tiglolidin) ³	1655	223 (17), 208 (7), 140 (13), 124 (100), 96 (23), 94 (33), 83 (54), 82 (65), 42 (42)
3 α -(Hydroxyisovaleroyloxy)tropan ⁶	1669	241 (12), 140 (5), 124 (100), 94 (25), 82 (28), 59 (8)
3 α -(Hydroxybutyryloxy)tropan ¹	1675	227 (5), 140 (2), 125 (6), 124 (100), 122 (5), 96 (13), 95 (12), 94 (51), 83 (16), 82 (58), 67 (19)
3 β -(Hydroxyisovaleroyloxy)tropan ⁵	1678	241 (7), 226 (1), 140 (6), 124 (100), 96 (14), 95 (14), 94 (23), 83 (38), 82 (45), 67 (23), 55 (52)
3 β -(Hydroxybutyryloxy)tropan ¹	1681	227 (9), 140 (3), 125 (5), 124 (100), 122 (5), 96 (15), 95 (12), 94 (48), 84 (42), 83 (23), 82 (71), 67 (18)

3 α -(3'-Hydroxy-2'-methylbutyryl-oxy)tropan ¹	1700	241 (22), 224 (2), 196 (1), 140 (7), 124 (100), 96 (12), 94 (42), 83 (12), 82 (40), 67 (12), 55 (10), 42 (15)
3 β -(3'-Hydroxy-2'-methylbutyryl-oxy)tropan (Astrimalvin B) ¹	1707	241 (58), 224 (5), 196 (2), 140 (25), 124 (100), 96 (28), 94 (75), 83 (35), 82 (77), 67 (30), 55 (22), 42 (34)
3 α -Benzoyloxynortropan ¹¹	1893	231 (2), 182 (13), 168 (19), 126 (3), 110 (100), 108 (18), 105 (34), 97 (5), 94 (5), 81 (22), 68 (19), 54 (6)
3 α -Benzoyloxytropan ¹²	1905	245 (6), 196 (1), 140 (15), 124 (100), 105 (5), 96 (10), 94 (21), 83 (33), 82 (31), 67 (8), 42 (7)
3 β -Benzoyloxytropan ¹²	1922	245 (9), 168 (1), 140 (7), 124 (100), 105 (10), 96 (10), 94 (24), 83 (25), 82 (44), 67 (8), 42 (8)
3 α (?)-Nicotinoyloxynortropan ¹³	1948	232 (16), 164 (16), 126 (8), 124 (11), 110 (100), 106 (31), 93 (19), 91 (9), 82 (27), 80 (55), 68 (78)
3 α -Nicotinoyloxytropan ¹⁴	1953	246 (9), 194 (2), 165 (2), 140 (17), 124 (100), 106 (10), 96 (9), 94 (20), 83 (37), 82 (24), 67 (7), 42 (58)
3 β -Nicotinoyloxytropan ¹	1970	246 (26), 192 (1), 165 (3), 140 (8), 124 (100), 121 (6), 106 (17), 96 (12), 95 (14), 94 (48), 84 (9), 83 (22), 82 (57), 78 (33), 67 (20), 51 (25), 42 (22)
Astrimalvin A ¹⁵	2151	323 (17), 309 (7), 294 (2), 240 (4), 224 (9), 183 (2), 140 (19), 124 (100), 110 (66), 96 (14), 95 (18), 94 (16), 84 (93), 83 (61), 82 (48), 55 (34)
3 α -(4'-Methoxybenzoyloxy)nortropan (Merresectin A) ^{16, 17}	2195	261 (11), 220 (9), 152 (40), 135 (21), 126 (5), 110 (100)
3 α -(4'-Methoxybenzoyloxy)tropan (Datumetin) ^{16, 17}	2207	275 (19), 152 (1), 140 (17), 135 (13), 125 (9), 124 (100), 94 (16), 83 (30), 82 (27), 77 (6), 67 (9), 42 (13)
3 β -(4'-Methoxybenzoyloxy)nortropan (3 β -Merresectin A) ¹³	2228	261 (7), 220 (20), 210 (3), 176 (3), 152 (59), 135 (50), 126 (9), 110 (100), 107 (13), 94 (6), 92 (18), 82 (15), 80 (48), 77 (22), 68 (33), 67 (31)
Bonabilin B ¹⁴	2280	305 (17), 288 (4), 236 (14), 220 (11), 140 (12), 124 (100), 110 (2), 96 (9), 95 (5), 94 (8), 83 (12) 82 (11)
3 α -(4'-Hydroxybenzoyloxy)tropan (3 α - <i>p</i> -Cochlearin) ¹⁸	2280	261 (15), 140 (19), 124 (100), 121 (14), 94 (24), 83 (33), 82 (34)
3 β -(4'-Hydroxybenzoyloxy)tropan (3 β - <i>p</i> -Cochlearin) ¹⁸	2290	261 (27), 140 (8), 124 (100), 121 (22), 94 (25), 83 (25), 82 (40)
3 α -Vanilloxytropan (Phyllalbin) ¹⁹	2343	291 (4), 168 (3), 151 (8), 140 (17), 124 (100), 94 (19), 83 (24), 82 (24)
3 β -Vanilloxytropan (Concneorin) ¹⁸	2363	291 (23), 168 (3), 151 (14), 140 (9), 124 (100), 94 (33), 82 (51)
3 α -Veratroxyloxynortropan (Convolvulin) ¹⁸	2385	291 (2), 182 (100), 165 (11), 126 (3), 110 (15), 68 (12)
3 α -Veratroxyloxytropan (Convolamin) ¹⁸	2390	305 (19), 165 (10), 140 (6), 124 (100), 97 (4), 96 (9), 83 (26), 82 (39)

3-(Hydroxy-methoxy-benzoyloxy)tropan ⁹	2408	291 (16), 168 (1), 151 (13), 140 (6), 124 (100), 123 (16), 96 (7), 95 (8), 94 (17), 83 (14), 82 (39), 68 (5), 42 (4)
Bonabilin A ¹⁴	2460	323 (11), 305 (6), 238 (6), 236 (4), 140 (11), 124 (100), 96 (11), 95 (7), 94 (11), 83 (3), 82 (19)
Consabatin ¹⁸	2477	347 (5), 330 (1), 140 (2), 124 (100), 96 (9), 83 (6), 82 (7)
4'-Dihydroconsabatin-Isomer ²⁰	2509	349 (2), 332 (1), 181 (2), 163 (3) 140 (3), 124 (100), 96 (7), 94 (9), 83 (11), 82 (9), 69 (8)
3 α -Dehydromerresectin E (Merresectin H) ⁶	2522	327 (6), 144 (5), 140 (18), 124 (100), 94 (28), 83 (25), 82 (32)
4'-Dihydroconsabatin ²⁰	2535	349 (3), 332 (2), 181 (3), 163 (4), 140 (4), 124 (100), 96 (9), 94 (9), 83 (10), 82 (10), 69 (9)
Consiculin ²¹	2596	363 (4), 346 (1), 294 (1), 140 (2), 124 (100), 96 (9), 94 (10), 82 (8)
3 β -(x',y'-Dimethoxy-4'-hydroxybenzoyloxy)tropan ¹⁷	2605	321 (13), 181 (8), 140 (6), 124 (100), 94 (28), 83 (24)
3 α -(Dimethoxy-hydroxy-benzoyloxy)tropan ¹	2618	321 (47), 198 (13), 181 (19), 161 (3), 153 (5), 140 (17), 125 (14), 124 (100), 108 (11), 96 (17), 95 (25), 94 (57), 83 (39), 82 (84), 67 (32), 65 (8), 55 (7), 42 (16)
3 β -Cumaroyloxytropan ¹²	2624	287 (5), 147 (20), 140 (12), 124 (100), 96 (29), 94 (37), 83 (26), 82 (47), 67 (12)
3 β -(Dimethoxy-hydroxy-benzoyloxy)tropan ¹	2630	321 (14), 198 (7), 181 (8), 161 (1), 153 (3), 140 (9), 125 (6), 124 (100), 108 (6), 96 (11), 95 (15), 94 (40), 83 (29), 82 (82), 67 (23), 65 (6), 55 (6), 42 (12)
3 α - <i>trans</i> -Feruloyloxytropan ²²	2691	317 (20), 287 (1), 268 (2), 252 (5), 194 (5), 177 (10), 149 (16), 140 (20), 124 (100), 112 (9), 110 (8), 108 (4), 96 (50), 95 (26), 94 (41), 83 (41), 82 (41), 67 (20), 42 (10)
3 α -(4'-Hydroxy-3'-prenylbenzo-yloxy)tropan (Merresectin E) ²³	2692	329 (18), 189 (4), 165 (5), 140 (20), 124 (100), 105 (5), 94 (24), 83 (32), 82 (29), 67 (13)
3 β -(4'-Hydroxy-3'-prenylbenzo-yloxy)tropan (3 β -Merresectin E; Isomerresectin E) ²⁰	2702	329 (6), 189 (3), 177 (1), 165 (1), 151 (1), 140 (17), 133 (6), 124 (100), 105 (2), 94 (23), 83 (26), 82 (37), 55 (11)
3 α - <i>trans</i> -Isoferuloyloxytropan ¹	2725	317 (10), 194 (9), 177 (15), 149 (38), 140 (17), 124 (82), 96 (60), 95 (15), 94 (23), 83 (21), 82 (21), 67 (15), 42 (6)
3 β - <i>trans</i> -Feruloyloxytropan ¹⁰	2735	317 (14), 253 (1), 194 (4), 177 (8), 149 (3), 140 (11), 124 (100), 108 (3), 96 (30), 95 (8), 94 (25), 83 (33), 82 (47), 67 (7), 42 (7)
3 β - <i>trans</i> -Isoferuloyloxytropan ¹	2756	317 (16), 302 (1), 194 (3), 177 (4), 149 (5), 140 (9), 124 (100), 96 (35), 95 (17), 94 (29), 84 (11), 83 (51), 82 (94), 43 (74), 42 (41)

3 α -(4'-Hydroxy-3'-methoxy-5'-prenyl-benzoyloxy)tropan (Merresectin D) ²⁰	2788	359 (5), 342 (1), 315 (1), 274 (2), 219 (4), 180 (2), 175 (1), 163 (4), 151 (2), 140 (20), 124 (100), 108 (2), 94 (18), 83 (26), 82 (24), 67 (8), 55 (3)
3 β -(4'-Hydroxy-3'-methoxy-5'-prenyl-benzoyloxy)tropan (3 β -Merresectin D) ²⁴	2800	359 (6), 342 (1), 274 (1), 219 (2), 180 (1), 163 (4), 151 (1), 140 (20), 124 (100), 95 (12), 94 (22), 83 (28), 82 (36), 67 (10), 55 (7)
3 α -(3',4',5'-Trimethoxy-cinnamoyloxy)tropan ¹⁷	2842	361 (2), 177 (1), 175 (1), 167 (3), 149 (5), 140 (22), 124 (100), 94 (13), 83 (19)
3 β -(3',4',5'-Trimethoxy-cinnamoyloxy)tropan ⁸	2866	361 (3), 221 (5), 191 (6), 177 (5), 175 (3), 167 (11), 140 (22), 124 (100), 94 (36), 83 (41), 82 (36)
3 α -Dehydromerresectin C (Merresectin F) ²⁰	2890	395 (3), 310 (2), 257 (6), 197 (2), 157 (1), 140 (26), 124 (100), 108 (2), 94 (20), 83 (29), 82 (26), 67 (10), 55 (2)
3 α -Sinapoyloxytropan ²⁵	2937	347 (15), 224 (5), 180 (4), 168 (2), 140 (18), 124 (100), 96 (72), 94 (37), 83 (41), 82 (60), 67 (21), 43 (21)
3 β -Sinapoyloxytropan ⁹	2980	347 (16), 224 (7), 207 (7), 180 (7), 168 (2), 140 (12), 124 (100), 123 (18), 96 (29), 95 (12), 94 (25), 83 (29), 82 (42), 67 (8), 42 (6)
3 α -Merresectin C ¹⁸	3025	397 (12), 257 (2), 140 (24), 124 (100), 94 (17), 83 (22)
3 β -Merresectin C ¹	3073	397 (3), 312 (1), 257 (1), 140 (14), 124 (100), 96 (33), 94 (41), 83 (30), 82 (74), 67 (24), 55 (21)

¹ GC-MS von *Falkia repens*, Wurzeln und Rhizome

² GC-MS von *Bonamia trichantha*, Wurzeln

³ Witte *et al.*, 1987

⁴ Doerk-Schmitz *et al.*, 1994

⁵ GC-MS von *Maripa panamensis*, Blätter

⁶ Jenett-Siems *et al.*, 2005b

⁷ GC-MS von *Falkia repens*, ganze Pflanze

⁸ GC-MS von *Dichondra sericea*, Kraut

⁹ GC-MS von *Falkia repens*, Kraut

¹⁰ GC-MS von *Convolvulus sagittatus*, Wurzeln

¹¹ GC-MS von *Ipomoea tricolor* „HB“, Kraut

¹² GC-MS von *Evolvulus nummularis*, ganze Pflanze

¹³ GC-MS von *Ipomoea tricolor* „HB“, Wurzeln

¹⁴ GC-MS von *Bonamia spectabilis*, Wurzeln

¹⁵ GC-MS von *Astripomoea malvacea*, Wurzelrinde

¹⁶ Weigl, 1992

¹⁷ Henrici, 1996

¹⁸ Mann, 1997

¹⁹ GC-MS von *Ipomoea lonchophylla*, Kraut

²⁰ GC-MS von *Convolvulus sabatius*, Wurzeln

²¹ Jenett-Siems, 1995

²² GC-MS von *Ipomoea bonariensis*, Wurzeln

²³ GC-MS von *Bonamia spectabilis*, Kraut

²⁴ GC-MS von *Operculina aequisejala*, Wurzeln

²⁵ GC-MS von *Maripa panamensis*, Sproßachsen

Di- und trisubstituierte Tropane

Sind zwei Zerfallsionen als Basispeak fettgedruckt, so sind sie entweder nahezu gleichwertig oder bei mehreren Nachweisen treten beide gleichberechtigt auf. Nicht abschließend strukturaufgeklärte Verbindungen sind durch Anführungszeichen gekennzeichnet. „!“ bedeutet, daß die Zählweise am Tropan-Grundkörper definitiv mit der in dieser Arbeit verwendeten Zählweise übereinstimmt.

Tab. 29: GC-MS-Daten von di- und trisubstituierten Tropanen

Verbindung	RI	Charakteristische Ionen, <i>m/z</i> (%)
2,3		
2-Hydroxy-tropan-3 α -ol ¹	1348	157 (23), 140 (74), 96 (43), 83 (77), 82 (100), 68 (25), 57 (38)
2,(6)7		
„2?,7 β ?-Dihydroxy-nortropanol“ ²	~1335	143 (4), 125 (19), 122 (51), 114 (5), 106 (20), 99 (100), 98 (13), 97 (24), 84 (61), 82 (78), 80 (29), 78 (34), 70 (37), 68 (50), 56 (40), 43 (80)
„2?,7 β ?-Dihydroxy-nortropanol“ ²	~1350	143 (6), 125 (20), 122 (9), 118 (50), 114 (7), 108 (4), 106 (6), 99 (100), 98 (15), 97 (23), 96 (9), 84 (58), 82 (74), 80 (26), 70 (39), 68 (38), 56 (73), 43 (80)
„2-Methylbutyryloxy-7 β ?-hydroxy-nortropan“ ²	1700	227 (?), 142 (8), 125 (56), 108 (41), 97 (5), 96 (6), 85 (19), 82 (52), 81 (100), 80 (47), 68 (15), 57 (38)
„2 α -Methylbutyryloxy-7 β -hydroxy-tropan“ ³	1708	241 (8), 212 (1), 197 (1), 157 (7), 156 (13), 140 (8), 125 (10), 112 (6), 110 (5), 108 (9), 98 (31), 95 (100), 82 (16), 81 (36), 57 (29)
„2 β ?-Methylbutyryloxy-6/7 β -hydroxy-tropan“ ⁴	1717	241 (5), 212 (1), 197 (1), 157 (7), 156 (10), 140 (10), 125 (6), 124 (8), 112 (6), 111 (8), 110 (12), 108 (15), 98 (33), 96 (40), 95 (44), 94 (52), 83 (34), 82 (100), 57 (41)
„2 β -Tigloyloxy-6/7 β -hydroxy-tropan“ ^{3,4}	1760	239 (14), 195 (1), 156 (28), 140 (10), 125 (21), 112 (6), 111 (8), 110 (12), 108 (20), 98 (28), 96 (60), 95 (56), 94 (56), 83 (47), 82 (82), 81 (38), 55 (100)
„2-Tigloyloxy-6/7-hydroxy-tropan“ ⁵	1778	239 (21), 210 (2), 195 (2), 156 (51), 140 (12), 112 (14), 110 (14), 108 (14), 98 (27), 96 (100), 95 (96), 94 (43), 83 (23), 55 (19)
„2 α ?-Tigloyloxy-7 β -hydroxy-nortropan“ ²	1802	225 (2), 196 (2), 180 (1), 166 (1), 142 (18), 135 (1), 125 (93), 108 (49), 97 (7), 96 (8), 83 (51), 82 (64), 81 (100), 80 (62), 68 (14), 55 (51)
„2-Tigloyloxy-6/7-hydroxy-tropan“ ⁶	1806	239 (38), 222 (2), 210 (3), 195 (1), 156 (54), 140 (10), 112 (6), 110 (7), 100 (6), 98 (42), 96 (68), 95 (100), 94 (60), 83 (2), 55 (13)

„2-Tigloyloxy-6/7 β -hydroxy-tropan“ ⁷	1813	239 (13), 211 (4), 195 (1), 185 (3), 157 (4), 156 (26), 140 (5), 129 (5), 128 (4), 122 (3), 112 (7), 111 (11), 110 (16), 100 (43), 98 (47), 96 (60), 95 (64), 94 (75), 85 (27), 83 (42), 82 (95), 55 (100)
„2?-Hydroxy-7 β -tigloyloxy-nortropan“ ⁸	1815	225 (1), 196 (1), 142 (18), 126 (7), 125 (55), 108 (46), 100 (11), 98 (4), 97 (8), 96 (14), 94 (3), 84 (11), 81 (100), 68 (15), 55 (33)
2 α -Tigloyloxy-7 β -acetoxy-tropan (Ipvelutin) ³ liegt im GC-MS deacetyliert vor als 2 α -Tigloyloxy-7 β -hydroxy-tropan!	1818	281 (n.d.), 239 (43), 224 (1), 222 (2), 210 (3), 195 (2), 157 (9), 156 (50), 140 (20), 128 (11), 125 (5), 124 (6), 122 (9), 112 (16), 111 (12), 110 (26), 108 (6), 100 (27), 98 (56), 95 (100), 84 (11), 82 (100), 55 (56)
„2-Tigloyloxy-6/7-hydroxy-tropan“ ⁵	1825	239 (19), 210 (2), 195 (1), 156 (40), 140 (9), 112 (7), 110 (7), 108 (1), 100 (7), 98 (42), 96 (70), 95 (100), 94 (64), 83 (25), 82 (11), 55 (19)
„2/3-Tigloyloxy-6/7-hydroxy-tropan“ ⁴	1845	239 (2), 195 (3), 140 (3), 125 (6), 124 (40), 108 (19), 106 (17), 100 (18), 96 (13), 95 (10), 94 (27), 83 (28), 82 (100), 55 (37)
„2-Tigloyloxy-7 β -hydroxy-nortropan“ ⁹	1860	225 (1), 196 (1), 142 (19), 125 (100), 108 (67), 97 (9), 96 (15), 94 (4), 84 (10), 83 (38), 82 (63), 81 (97), 80 (89), 68 (26), 55 (79)
„2 α -Hydroxymethylbutyryloxy-7 β -hydroxy-tropan“ ³	1870	257 (5), 239 (3), 213 (3), 156 (18), 140 (46), 125 (15), 124 (11), 112 (10), 111 (15), 110 (9), 108 (13), 107 (12), 98 (36), 97 (32), 96 (93), 95 (100), 94 (97), 83 (38), 82 (56), 81 (70), 73 (33), 57 (62)
„2 β -Hydroxymethylbutyryloxy-7 β -hydroxy-tropan“ ³	1877	257 (3), 239 (1), 213 (1), 156 (9), 140 (26), 125 (4), 124 (4), 112 (5), 111 (5), 110 (6), 108 (4), 107 (4), 98 (32), 96 (37), 95 (100), 83 (13), 82 (21), 81 (24), 73 (26), 57 (50)
„x-Hydroxy-2 α -tigloyloxy-7 β -hydroxy-tropan“ ³	2088	255 (16), 211 (1), 156 (39), 140 (12), 112 (6), 111 (8), 110 (12), 98 (52), 96 (68), 95 (100), 94 (91), 82 (53), 55 (18)
„x-Hydroxy-2 β -tigloyloxy-7 β -hydroxy-tropan“ ³	2097	255 (12), 211 (1), 156 (38), 140 (11), 112 (8), 110 (12), 105 (10), 98 (52), 96 (67), 95 (100), 94 (93), 82 (58), 55 (20)
„2/3-Tigloyloxy-2/3?,6/7-dihydroxy-tropan“ ⁴	2113	255 (7), 211 (1), 156 (19), 140 (6), 124 (3), 111 (10), 110 (15), 98 (36), 96 (44), 95 (49), 94 (52), 83 (27), 82 (100), 55 (29)
3,6/7		
7 β -Hydroxy-tropan-3-on? ¹⁰	1346	155 (4), 122 (14), 111 (12), 94 (26), 93 (11), 85 (10), 83 (15), 81 (17), 71 (55), 59 (96), 43 (100)
3,6!-Dihydroxytropan ¹¹	1365	157 (21), 140 (6), 113 (100), 98 (10), 96 (71), 94 (19), 84 (13), 82 (17), 70 (14), 57 (46), 44 (24), 42 (74)
3-Hydroxy-6!-butyryloxy-tropan ¹²	1634	227 (17), 140 (18), 113 (100), 96 (41), 94 (60), 82 (17)

3-Hydroxy-6!-(2'-methylbutyryloxy)tropan ¹³	1730	241 (7), 156 (7), 140 (9), 122 (8), 113 (100), 96 (32), 94 (20), 82 (10), 57 (20)
„3 α ?-Tigloyloxy-7 β -hydroxy-tropan“ ¹⁴	1778	239 (2), 195 (4), 156 (1), 140 (23), 122 (5), 112 (4), 110 (4), 98 (3), 95 (54), 94 (100), 83 (6), 82 (12), 55 (19), 42 (23)
„3 β ?-Tigloyloxy-7 β -hydroxy-tropan“ ¹⁴	1786	239 (2), 195 (4), 156 (1), 140 (23), 122 (6), 112 (4), 110 (4), 98 (4), 95 (54), 94 (100), 83 (6), 82 (7), 81 (7), 80 (8), 55 (21), 42 (25)
3-Tigloyloxy-6(=7!)-hydroxy-tropan ¹³	1825	239 (9), 195 (4), 140 (20), 112 (5), 95 (70), 94 (100), 83 (7), 55 (21), 42 (23)
„x-Hydroxy-y-tigloyloxy-tropan“ ¹⁵	1834	239 (30), 210 (2), 195 (1), 156 (46), 142 (6), 140 (11), 138 (2), 128 (6), 125 (30), 122 (5), 113 (3), 112 (12), 111 (3), 110 (12), 108 (19), 100 (10), 98 (64), 96 (88), 95 (92), 94 (100), 84 (11), 83 (58), 82 (42), 81 (41), 80 (32), 55 (81), 42 (59)
„3-Tigloyloxy-6/7-hydroxy-tropan“ ¹⁶	1868	239 (3), 195 (3), 156 (2), 140 (18), 122 (5), 112 (4), 110 (5), 108 (1), 98 (3), 97 (2), 96 (7), 95 (52), 94 (100), 83 (8), 82 (8), 81 (7), 80 (6), 55 (24), 42 (19)
„3-Tigloyloxy-6 β /7 β -methylbutyryloxy-6 β /7 β -hydroxy-tropan“ ¹⁷	2013	339 (1), 256 (18), 239 (6), 195 (19), 156 (9), 140 (4), 138 (4), 112 (5), 110 (6), 95 (68), 94 (100), 84 (12), 83 (13), 57 (17), 55 (16), 43 (19)
„3-Tigloyloxy-6 β ,7 β -dihydroxy-tropan“ ¹⁶	2037	255 (2), 195 (12), 156 (9), 138 (3), 126 (3), 124 (2), 112 (4), 110 (3), 108 (2), 96 (9), 94 (100), 84 (9), 83 (12), 82 (5), 81 (3), 55 (30), 42 (36)
„3-Tigloyloxy-6 β /7 β -methylbutyryloxy-6 β /7 β -hydroxy-tropan“ ¹⁶	2088	339 (2), 255 (1), 253? (3), 231? (2), 195 (4), 156 (4), 154 (7), 153 (8), 140 (2), 138 (3), 125 (9), 124 (40), 109? (28), 108? (34), 98 (3), 97 (8), 96 (10), 95 (53), 94 (100), 84 (12), 83 (32), 82 (20), 81 (10), 80 (19), 57 (37), 55 (56), 42 (25)
„x-Hydroxy-y-(2'-methylbutyryloxy)-6 β /7 β -tigloyloxy-tropan“ ¹⁶	2131	339 (29), 324 (3), 310 (2), 256 (8), 224 (2), 212 (6), 140 (14), 124 (84), 122 (12), 121 (11), 110 (4), 108 (6), 97 (8), 96 (30), 95 (31), 94 (44), 84 (9), 82 (100), 67 (36), 57 (12), 55 (49), 42 (32)
„x-Hydroxy-y-(2'-methylbutyryloxy)-6 β /7 β -tigloyloxy-tropan“ ¹⁶	2156	339 (14), 324 (1), 310 (1), 256 (3), 224 (1), 212 (3), 140 (7), 125 (21), 124 (100), 122 (6), 121 (7), 110 (13), 108 (4), 97 (5), 96 (14), 95 (20), 94 (44), 83 (69), 82 (87), 67 (28), 57 (9), 55 (54), 42 (25)
3 β ?-(3'-Methylbutyryloxy-2'-methylbutyryloxy)-6/7-hydroxy-tropan ¹⁸	2261	341 (1), 297 (4), 256 (1), 242 (1), 240 (1), 213 (1), 156 (2), 140 (40), 124 (3), 122 (5), 110 (8), 96 (11), 95 (94), 94 (100), 85 (10), 83 (6), 82 (6), 57 (34)
„x-(3'-Hydroxy-2'-methylbutyryloxy)?-y-tigloyloxy-6 β /7 β -hydroxy-tropan“ ¹⁶	2308	355 (2), 311 (5), 250 (1), 240 (2), 156 (2), 141 (4), 140 (42), 124 (3), 122 (6), 112 (3), 111 (2), 110 (6), 98 (3), 97 (4), 96 (16), 95 (75), 94 (100), 85 (4), 84 (4), 83 (41), 81 (8), 57 (16), 55 (33), 43 (17), 42 (15)

3β?-(3'-Tigloyloxy-2'-methylbutyryloxy)-6/7-hydroxy-tropan (6/7-Hydroxy-Astrimalvin A) ¹⁸	2332	339 (1), 295 (4), 240 (1), 238 (1), 224 (1), 221 (1), 156 (1), 140 (25), 124 (7), 122 (4), 110 (8), 95 (84), 94 (100), 83 (28), 81 (6), 55 (29)
3β?-(3'-Tigloyloxy-2'-methylbutyryloxy)-6,7-epoxy-tropan (6,7-Epoxy-Astrimalvin A) ¹⁹	2445	337 (7), 322 (2), 309 (2), 254 (1), 238 (3), 211 (1), 183 (1), 182 (2), 156 (3), 154 (3), 139 (8), 138 (100), 136 (5), 126 (1), 124 (1), 122 (1), 111 (3), 110 (41), 108 (16), 96 (3), 95 (7), 94 (3), 93 (13), 91 (3), 83 (59), 82 (36), 80 (11), 68 (20), 55 (48)

2,3¹ Henrici, 1996**2,(6)7**² GC-MS von *Ipomoea asarifolia*, Wurzeln&Rhizom³ GC-MS von *Ipomoea velutina*, Kraut⁴ GC-MS von *Convolvulus graminetinus*, Kraut⁵ GC-MS von *Convolvulus sagittatus*, Kraut⁶ GC-MS von *Convolvulus sagittatus*, Wurzeln⁷ GC-MS von *Ipomoea abrupta*, Sproßachsen⁸ GC-MS von *Convolvulus graminetinus*, Wurzeln⁹ GC-MS von *Ipomoea velutina*, Wurzeln**3,6/7**¹⁰ GC-MS von *Polymeria calycina*, Kraut¹¹ Freitas *et al.*, 1996¹² Jenett-Siems *et al.*, 2005b¹³ Ionkova *et al.*, 1994¹⁴ GC-MS von *Evolvulus alsinoides*, GanzpflanzePAN¹⁵ GC-MS von *Ipomoea abrupta*, Kraut¹⁶ GC-MS von *Evolvulus alsinoides*, KrautAUS (Müller)¹⁷ GC-MS von *Evolvulus alsinoides*, KrautAUS(Witte)¹⁸ GC-MS von *Astripomoea malvacea*, Kraut¹⁹ GC-MS von *Astripomoea malvacea*, Wurzelrinde**5.3.3.3 Pyrrolizidin-Alkaloide**

Die Identifizierung der einzelnen Pyrrolizidin-Alkaloide begründet sich auf Zuordnung der Verbindungen anhand von Retentionsindex und Massenspektrum zu den publizierten Substanzen (Jenett-Siems *et al.*, 2005; Jenett-Siems *et al.*, 1998). Die Angaben zu den charakteristischen Zerfallsionen von Ipangulin D₉ und Ipangulin D₁₀ sowie der gesamte Datensatz zu Ipangulin D₁₇ entstammen den Originalspektren (s. u.).

Tab. 30: GC-MS-Daten von Pyrrolizidin-Alkaloiden

Verbindung	RI	Charakteristische Ionen, <i>m/z</i> (%)
Anhydroplatynecin ¹	1130	139 (40), 138 (28), 122 (5), 110 (10), 96 (15), 82 (100)
9-Acetylplatynecin ²	1557	199 (1), 181 (5), 155 (5), 140 (3), 95 (56), 82 (100), 55 (10), 43 (19)
7-(2-Methylbutyryl)-platynecin ²	1778	241 (0.2), 210 (0.4), 156 (34), 139 (63), 122 (5), 113 (17), 82 (100), 57 (12)

Minalobin E ³	1795	241 (5), 197 (2), 140 (7), 124 (85), 110 (5), 95 (8), 83 (32), 82 (20)
9-(2-Methylbutyryl)-platynecin ²	1803	241 (0.6), 223 (9), 197 (2), 140 (9), 124 (6), 95 (100), 82 (89), 55 (8)
Minalobin G ³	1847	241 (2), 157 (5), 140 (7), 124 (85), 110 (5), 96 (7), 83 (67), 82 (38)
Isoipangulin D ₅ ²	2108	315 (1.4), 297 (2), 271 (5), 254 (2), 228 (10), 200 (7), 158 (9), 140 (29), 95 (72), 82 (100), 43 (23)
Ipangulin D ₅ ²	2157	315 (2), 297 (2), 271 (9), 254 (2), 228 (13), 200 (6), 158 (10), 140 (30), 95 (68), 82 (100), 43 (41)
Minalobin L ³	2183	341 (5), 256 (3), 212 (8), 142 (8), 124 (100), 110 (3), 96 (4), 83 (16), 82 (9), 57 (22)
Minalobin M ³	2200	339 (4), 256 (1), 212 (10), 142 (8), 124 (100), 110 (3), 96 (8), 83 (52), 82 (9), 55 (38)
Ipangulin D ₇ ²	2212	275 (1), 257 (5), 231 (8), 140 (5), 95 (64), 91 (18), 82 (100), 55 (18)
Ipangulin D ₈ ^{2,3}	2226	343 (2), 299 (2), 228 (25), 158 (8), 140 (40), 122 (11), 96 (89), 95 (62), 82 (100), 71 (40), 43 (33)
Minalobin O ³	2236	339 (6), 256 (2), 212 (7), 196 (6), 140 (10), 124 (100), 96 (18), 83 (75), 55 (65)
Isoipangulin D ₉ ^{2,3}	2246	357 (1), 339 (1), 313 (8), 228 (6), 140 (17), 138 (8), 122 (7), 95 (100), 82 (91), 43 (34)
Ipangulin D ₉ ^{3,4}	2283	357 (1), 339 (1), 313 (4), 228 (5), 140 (13), 138 (17), 122 (9), 119 (13), 95 (91), 82 (100), 43 (79)
Ipangulin C ₁ ²	2311	357 (-), 312 (0.5), 255 (7), 242 (19), 238 (13), 224 (19), 140 (100), 138 (64), 122 (63), 96 (24), 95 (37), 82 (79), 57 (30)
Minalobin Q ³	2312	357 (1), 256 (2), 212 (5), 140 (5), 124 (100), 110 (5), 96 (8), 83 (81)
Ipangulin C ₆ ³	2318	355 (2), 242 (8), 224 (7), 196 (8), 140 (29), 138 (31), 122 (30), 95 (33), 83 (78), 82 (100)
Isoipangulin D ₁₀ ^{2,3}	2327	357 (3), 313 (3), 242 (14), 228 (16), 158 (12), 140 (44), 122 (13), 96 (100), 95 (61), 85 (30), 82 (93), 57 (41)
Ipangulin D ₁₀ ^{3,5}	2349	357 (3), 313 (1), 242 (6), 228 (8), 158 (4), 156 (5), 140 (20), 139 (16), 138 (11), 122 (15), 96 (52), 95 (53), 85 (33), 82 (100), 57 (58)
Ipangulin D ₁₃ ²	2358	355 (4), 312 (1), 296 (2), 196 (15), 156 (29), 139 (100), 122 (9), 113 (18), 96 (11), 83 (46), 82 (79), 55 (27)
Ipangulin D ₁₄ ²	2375	355 (11), 337 (2), 240 (10), 228 (12), 196 (56), 140 (30), 122 (10), 96 (52), 95 (47), 83 (72), 82 (100), 55 (43)
Ipangulin X ₂ ²	2376	355 (0.2), 340 (0.2), 311 (2), 255 (12), 240 (25), 238 (23), 222 (19), 140 (100), 138 (91), 122 (65), 96 (31), 95 (36), 83 (44), 82 (77), 55 (28)
Ipangulin D ₁₅ ²	2387	355 (12), 337 (1), 240 (10), 228 (12), 196 (29), 140 (32), 122 (10), 96 (60), 95 (50), 83 (74), 82 (100), 55 (43)

Isoipangulin C ₂ ²	2391	399 (0.1), 313 (8), 297 (22), 254 (37), 242 (14), 224 (32), 140 (32), 138 (90), 122 (77), 95 (65), 82 (100), 57 (39), 43 (38)
Ipangulin C ₂ ²	2426	399 (0.1), 313 (6), 297 (18), 254 (46), 242 (13), 224 (32), 140 (32), 138 (88), 122 (76), 95 (65), 82 (100), 57 (41), 43 (39)
Ipangulin D ₁₇ ⁵	2452	355 (2), 296 (1), 240 (3), 228 (5), 196 (18), 140 (13), 139 (20), 138 (23), 122 (26), 96 (33), 95 (43), 83 (87), 82 (100)
Ipangulin D ₁₈ ³	2480	355 (3), 296 (1), 240 (5), 228 (10), 196 (23), 140 (17), 139 (22), 122 (12), 96 (32), 95 (38), 83 (64), 82 (100)
Ipangulin C ₇ ³	2494	355 (2), 254 (21), 240 (8), 222 (14), 196 (12), 140 (17), 138 (54), 122 (48), 95 (51), 83 (62), 82 (100)
Ipangulin C ₅ ^{1,3}	2645	439 (-), 337 (25), 254 (25), 224 (36), 196 (15), 171 (10), 138 (80), 122 (85), 96 (40), 95 (30), 83 (100), 82 (60), 57 (35), 55 (45)
Isoipangulin A ₁ ²	2702	391 (0.1), 373 (0.2), 347 (1), 276 (18), 258 (18), 255 (12), 238 (28), 140 (100), 138 (55), 122 (55), 95 (41), 91 (40), 82 (92)
Ipangulin A ₁ ²	2707	391 (0.1), 373 (0.2), 347 (1), 276 (18), 258 (18), 255 (12), 238 (28), 140 (100), 138 (55), 122 (55), 95 (41), 91 (40), 82 (92)
Isoipangulin B ₁ ²	2770	393 (0.1), 375 (0.5), 349 (0.5), 278 (8), 260 (2), 255 (12), 238 (20), 140 (100), 138 (45), 122 (45), 121 (22), 95 (25), 82 (60)
Ipangulin B ₁ ²	2772	393 (0.1), 375 (0.5), 349 (0.5), 278 (8), 260 (2), 255 (12), 238 (20), 140 (100), 138 (45), 122 (45), 121 (22), 95 (25), 82 (60)
Ipangulin A ₂ ²	2810	433 (0.1), 297 (25), 276 (7), 258 (20), 254 (34), 140 (24), 138 (70), 122 (58), 96 (25), 95 (62), 91 (35), 82 (100), 43 (33)

¹ Jenett-Siems, 1996

² Jenett-Siems *et al.*, 1998

³ Jenett-Siems *et al.*, 2005a

⁴ GC-MS von *Ipomoea cholulensis*, Wurzeln

⁵ GC-MS von *Ipomoea cristulata*, Wurzeln

5.3.3.4 Ergolin-Alkaloide

Die im GC-MS gefundenen Ergolin-Alkaloide wurden von L. Witte (AK Hartmann, Braunschweig) anhand von Reinsubstanzen oder anhand von Referenzen aus der Datenbank zugeordnet. Die Fragmentierungsmuster der einzelnen Verbindungen stammen aus den unten aufgeführten GC-MS-Spektren. Einigen Ergolinen kann keine konkrete Strukturformel zugeschrieben werden; sie sind jedoch anhand ihres Massenspektrums eindeutig dieser Stoffklasse zuzurechnen. Da sie jeweils in mehreren Mutterkornalkaloid-führenden Pflanzen vorkommen, sollen sie hier ebenfalls aufgeführt werden.

Tab.31: GC-MS-Daten von Ergolin-Alkaloiden

Verbindung	RI	Charakteristische Ionen, <i>m/z</i> (%)
N-Methyl-seco-agroclavin ¹	2148	240 (45), 225 (6), 208 (13), 194 (17), 182 (23), 168 (51), 155 (92), 154 (71), 139 (13), 127 (28), 115 (18), 85 (100)

Cycloclavin ²	2154	238 (76), 237 (41), 223 (19), 194 (16), 180 (30), 167 (100), 154 (52), 142 (21), 127 (26), 115 (17), 111 (26)
Ergolin ² (MG 224 BP 167 RI 2197)	2197	224 (96), 209 (19), 194 (28), 180 (42), 168 (48), 167 (100), 154 (80), 142 (15), 127 (28), 115 (22), 104 (24)
Ergolin ² (MG 226 BP 226 RI 2248)	2248	226 (100), 196 (7), 183 (36), 167 (29), 155 (18), 154 (59), 144 (31), 127 (23), 115 (9), 113 (8)
Ergolin (8-Epicostaclavin ?) ²	2254	240 (100), 225 (7), 197 (38), 182 (18), 167 (26), 154 (67), 144 (76), 127 (31), 120 (8)
Festuclavin ²	2268	240 (100), 225 (7), 197 (40), 182 (17), 167 (29), 154 (73), 144 (88), 127 (34), 120 (10), 115 (10)
Agroclavin ¹	2330	238 (59), 237 (100), 223 (7), 206 (7), 192 (5), 180 (11), 167 (18), 155 (28), 154 (33), 139 (5), 127 (12), 118 (18), 111 (15)
Chanoclavin ¹	2420	256 (41), 237 (30), 223 (10), 206 (12), 196 (20), 183 (100), 168 (49), 167 (49), 155 (72), 154 (65), 144 (13), 130 (23), 127 (18), 115 (13), 108 (17), 101 (28)
Ergolin ³ (MG 270 BP 168 RI 2458)	2458	270 (69), 237 (20), 208 (23), 196 (38), 183 (42), 168 (100), 167 (36), 155 (71), 154 (68), 130 (16), 115 (75), 100 (26)
Ergolin ⁴ (MG 270 BP 168 RI 2468)	2468	270 (96), 237 (11), 223 (7), 208 (16), 196 (35), 182 (26), 168 (100), 167 (47), 155 (70), 154 (72), 130 (18), 127 (17), 115 (88), 100 (31)
Ergolin ⁴ (MG 268 BP 237 RI 2479)	2479	268 (70), 237 (100), 223 (21), 206 (7), 196 (12), 183 (19), 168 (32), 167 (28), 158 (30), 154 (34), 144 (28), 130 (45), 110 (67), 108 (85), 96 (36)
Elymoclavin ¹	2635	254 (65), 253 (100), 223 (18), 207 (8), 192 (12), 182 (17), 167 (24), 154 (24), 127 (23), 124 (23), 111 (24)
Ergolin ¹ (MG 252 BP 252 RI 2658)	2658	252 (100), 237 (14), 221 (11), 209 (12), 196 (27), 194 (24), 181 (40), 180 (50), 167 (16), 154 (85), 140 (16), 127 (25), 111 (18), 96 (14), 83 (33)
Lysergsäureamid ¹	2900	267 (100), 223 (30), 221 (68), 207 (90), 196 (66), 192 (35), 181 (52), 180 (92), 167 (40), 154 (69), 127 (28), 111 (46)
x-Hydroxylysergsäureamid ³	2930	283 (34), 267 (15), 248 (9), 240 (43), 221 (25), 205 (9), 196 (31), 194 (29), 181 (24), 167 (77), 154 (100), 139 (11), 127 (12), 119 (7)
y-Hydroxylysergsäureamid ³	2940	283 (26), 267 (10), 248 (9), 240 (50), 221 (21), 205 (8), 196 (28), 194 (27), 181 (21), 167 (75), 154 (100), 139 (11), 127 (10), 119 (6)
Ergometrin ¹	3110	325 (52), 307 (11), 235 (8), 223 (39), 221 (71), 208 (35), 207 (51), 196 (84), 192 (37), 181 (100), 179 (40), 168 (30), 154 (41), 125 (17), 112 (37), 104 (31)

¹ GC-MS von *Ipomoea argillicola*, Blätter² GC-MS von *Ipomoea hildebrandtii*, Kraut³ GC-MS von *Ipomoea asarifolia*, Sproß⁴ GC-MS von *Ipomoea asarifolia*, Blatt

5.3.3.5 Sonstige

Die Strukturvorschläge aus den unten angeführten Spektren stammen von L. Witte (AG Hartmann, Braunschweig); die Verbindungen wurden jeweils anhand ihres Retentionsindex und ihres Massenspektrums identifiziert. Bei einigen Substanzen wurden auch Literaturangaben hinzugezogen.

Tab.32: GC-MS-Daten sonstiger detektierter Alkaloide

Verbindung	RI	Charakteristische Ionen, <i>m/z</i> (%)
Phenylethylamin ¹	1070	121 (4), 91 (14), 65 (8), 51 (4), 39 (5), 30 (100)
N-(2-Phenylethyl) methanamid ¹	1414	149 (7), 104 (100), 91 (37), 77 (6), 65 (13), 58 (28), 51 (5)
N-(2-Phenylethyl)ethanamid ¹	1450	163 (21), 104 (100), 91 (23), 77 (7), 72 (21), 65 (12), 43 (46)
Tyramin ²	1387	137 (14), 122 (4), 108 (100), 107 (53), 91 (7), 77 (29), 65 (5), 53 (9), 44 (22)
Methoxytyramin ²	1475	167 (11), 138 (100), 137 (44), 123 (21), 122 (15), 107 (5), 94 (15), 84 (7), 77 (11), 65 (7), 51 (8), 43 (4)
N-Acetyltyramin ²	1812	197 (1), 145 (2), 133 (9), 121 (5), 120 (100), 107 (52), 94 (3), 91 (2), 77 (5), 51 (2)
Tryptamin ³	1677	160 (20), 131 (58), 130 (100), 103 (8), 102 (5), 77 (9), 51 (2)
N-Formyltryptamin ³	2090	188 (15), 143 (60), 131 (7), 130 (100), 103 (7), 77 (9), 51 (2)
N-Acetyltryptamin ³	2110	202 (11), 143 (100), 131 (8), 130 (96), 103 (9), 77 (8), 51 (2)
Indol ⁴	1250	117 (100), 90 (42), 89 (33), 70 (33)
Norharman ¹	1895	168 (100), 141 (6), 140 (19), 114 (9), 87 (3)
Harman (2-Methyl- β -carbolin) ¹	1898	182 (100), 154 (22), 146 (1), 91 (6)
1-Acetyl- β -carbolin ⁵	1935	210 (100), 182 (29), 167 (82), 154 (28), 149 (25), 121 (14), 107 (7), 91 (11), 77 (15), 55 (8)

¹ Mann, 1997

⁴ Henrici, 1996

² GC-MS von *Bonamia spectabilis*, Kraut, GH

⁵ GC-MS von *Ipomoea pes-tigridis*, Wildkraut

³ GC-MS von *Evolvulus pilosus*, Blüten

5.3.4 Calystegin-Analytik

Calystegine sind hydrophile, da polyhydroxylierte Tropan-Alkaloide. Um sie zu erfassen, mußte daher eine von 5.3.1 abweichende Extraktionsmethode herangezogen werden.

Extraktionsverfahren für Calystegine

Für die Prüfung auf Calystegine wurden, soweit vorhanden, 10 g getrocknete Droge eingesetzt. Kraut- und Wurzelmaterial wurden fein gemahlen, Blüten wurden mit der Schere grob zerkleinert. Mittels eines Ultra-Turrax wurde die Droge in 100 mL Methanol-Wasser-Gemisch (50:50, V/V) homogenisiert und 5 Minuten extrahiert. Nach Abnutschen wurde noch zweimal in gleicher Weise extrahiert. Das Filtrat wurde jeweils am Rotavapor bei 40°C (WB) i. V. zur Trockne eingengt. Der Rückstand wurde im Ultraschallbad in 10 mL Aqua dest. gelöst; unlösliche Bestandteile wurden durch Zentrifugieren (10 min, 4000 U/min) abgetrennt. Der Überstand wurde dekantiert, mit 2 g wasserunlöslichem PVP (Polyclar AT®, Fa. Serva) versetzt, gut geschüttelt und filtriert. Das Filtrat wurde auf eine mit Dowex® 50 WX8 Kationenaustauscher (Fa. Serva) gefüllte Säule (Herstellungsvorschrift s. 5.2.2) gegeben und mit Hilfe des Spritzenkolbens eine Tropfgeschwindigkeit von etwa einem Tropfen pro Sekunde eingestellt. Mit Aqua dest. wurde nachgewaschen, bis das durch erfolgenden Kationenaustausch anfangs sauer reagierende Eluat einen neutralen pH-Wert aufwies. Zur Gewinnung der Calystegine wurde nun mit ca. 30 mL 4%iger wässriger NH₃-Lösung eluiert und mit Aqua dest. bis zur neutralen Reaktion nachgewaschen. Dieses Eluat wurde bei 40°C (WB) i. V. zur Trockne einrotiert (→ Calystegin-Extrakt).

Probenvorbereitung für die GC-MS-Analytik

Der Calystegin-Extrakt wurde in 1 mL Methanol/Aqua dest. (50:50, V/V) aufgenommen und für die GC-MS-Analytik ein Viertel der Lösung (250 µL) abpipettiert. Die Probe wurde erst über Nacht bei 40°C im Trockenschrank eingetrocknet und anschließend eventuelle Wasserreste im Vakuumexsikkator über Blaugel entfernt.

Zum Nachweis mittels GC-MS müssen die Calystegine silyliert werden. Dazu wurde der trockene Rückstand im Ultraschallbad in 50 µL wasserfreiem Pyridin gelöst. Dann wurde der Ansatz mit 40 µL Hexamethyldisilazan (HMDS) und 10 µL Chlortrimethylsilan (TMCIS) versetzt, leicht umgeschwenkt und im verschlossenen Gefäß 15 min auf der Heizplatte (ca. 50°C) erwärmt. Der Mischung wurden 50 µL Octadecan-Stammlösung (2 mg in 10 mL Hexan) hinzugefügt. Nach dem Abkühlen wurde der Überstand vorsichtig abpipettiert (Ammoniumchlorid fällt aus) und 50 µL des so erhaltenen Gemisches in ein Schraubfläschchen überführt, das bis zur GC-MS-Analyse im Tiefkühlfach gelagert wurde.

Meßbedingungen

GC-MS:	GC: Carlo Erba MFC 500; MS: Kratos 25 RF
GC-Säule:	DB-1; 0.25 mm x 30 m
Trägergas:	Helium; 1 mL/min; Split 1:10
Temperaturprogramm:	2 min lang 160°C isotherm; Temperaturanstieg 5°C/min bis 240°C
Injektorblocktemperatur:	200 °C
Injektionsvolumen:	1 µL
Vergleichssubstanzen:	Calystegine A ₃ , A ₅ , A ₆ , A ₇ , B ₁ , B ₂ , B ₃ , B ₄ , C ₁ (alle silyliert wie oben beschrieben)

Tab. 33: GC-MS-Daten der silylierten Calystegin-Vergleichssubstanzen
(nach Schimming, 2003)

Verbindung	RR _t	Charakteristische Ionen; <i>m/z</i> (%)
Tri-TMSi-Calystegin A ₃	0.90	375 (-), 360 (6), 286 (33), 285 (33), 244 (47), 170 (48), 156 (100)
Tri-TMSi-Calystegin A ₅	0.85	375 (-), 360 (6), 286 (14), 285 (18), 259 (48), 204 (63), 156 (100)
Tri-TMSi-Calystegin A ₆	0.76	375 (100), 359 (13), 311 (3), 288 (18), 260 (90), 259 (39), 244 (36), 229 (4), 198 (8), 170 (50), 156 (7)
Tri-TMSi-Calystegin A ₇	0.69	375 (5), 374 (17), 360 (32), 307 (2), 267 (69), 266 (100), 250 (44), 222 (7), 182 (49), 170 (51), 156 (73)
Tetra-TMSi-Calystegin B ₁	1.28	463 (-), 448 (1), 373 (6), 244 (50), 129 (51)
Tetra-TMSi-Calystegin B ₂	1.55	463 (-), 448 (1), 373 (2), 259 (25), 217 (100), 170 (10), 156 (13), 129 (6)
Tetra-TMSi-Calystegin B ₃	1.26	463 (-), 448 (1), 373 (3), 284 (14), 259 (29), 217 (99), 156 (18), 129 (8)
Tetra-TMSi-Calystegin B ₄	1.16	463 (-), 448 (1), 373 (1), 284 (9), 259 (7), 244 (15), 217 (100), 170 (9), 156 (12), 129 (5)
Penta-TMSi-Calystegin C ₁	1.90	551 (-), 373 (4), 347 (8), 258 (6), 244 (5), 217 (100), 129 (7)

TMSi = Trimethylsilyl-

RR_t = relative Retentionszeit, bezogen auf Octadecan als inneren Standard

Alle Spektren weisen außerdem folgende Zerfallsionen auf:



5.4 Isolierung und Strukturaufklärung

5.4.1 Hydroxyzimtsäureamide

5.4.1.1 *N-trans-p*-Cumaroyltyramin (1)

Die Ausläufer von *Operculina riedeliana* wurden im institutseigenen Gewächshaus geerntet, in ca. 10 cm lange Stücke zerkleinert und im Trockenschrank bei etwa 40°C getrocknet. Die Droge wurde gemahlen, und so standen 585 g Trockenmasse zur Verfügung. Diese wurde in zwei Portionen geteilt, und beide dreimal mit je 3 L Methanol vier Stunden unter Rühren mit dem Flügelrührer extrahiert. Der Extrakt wurde jeweils abgenutscht, und das Filtrat bei 50°C i.V. zur Trockne einrotiert. Insgesamt wurden 112.1 g Trockenrückstand erhalten. Dieser wurde im Ultraschallbad in 500 mL 2%iger wässriger Weinsäure gelöst. Im Schütteltrichter wurde die Weinsäure-Lösung fünfmal mit je 400 mL Petrolether ausgeschüttelt, anschließend fünfmal mit je 400 mL Dichlormethan. Die Dichlormethan-Fractionen wurden jeweils über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer bei 40°C i.V. zur Trockne einrotiert. Die vereinigten Trockenrückstände (1.25 g) wurden in 10 mL Chloroform aufgenommen, mit 1.5 g Kieselgur (Celite®) versetzt, und das durch Einengen erhaltene Pulver auf folgende Säule gegeben:

Säule:	Glassäule, ID = 30 mm
Stationäre Phase:	30 g Kieselgel 60 in 200 mL CHCl ₃ , FH = 21 cm
Mobile Phase:	150 mL CHCl ₃
	150 mL CHCl ₃ /MeOH (98:2, V/V)
	150 mL CHCl ₃ /MeOH (95:5, V/V)
	150 mL CHCl ₃ /MeOH (90:10, V/V)
	150 mL CHCl ₃ /MeOH (80:20, V/V)
	150 mL Methanol

Anhand der Kontroll-DC (Fließmittel: EtOAc/H₂O/Ameisensäure/Eisessig, 40:4:4:8; s. 5.3.1) von jeder zweiten Fraktion wurden die Eluate wie folgt vereinigt:

1+2	7-10	15-17	20-23	27-32	38-42
3-6	11-14	18+19	24-26	33-37	Spüllsg.

Die vereinigten Fraktionen wurden jeweils der HPLC-Analytik zugeführt.

Fraktionen **11-14** ergaben mittels DC- / HPLC-Vergleich mit Referenzsubstanz Loliolid. Aus den Fraktionen **18+19** konnte Tyrosol isoliert werden; aus den Fraktionen **20-23** – neben Verbindung **1** – auch Vanillinsäure und Syringasäure.

Fractionen **20-23** wurden mittels präparativer HPLC weiter aufgetrennt:

Gerät: Knauer HPLC-Gradienten-Anlage
 Säule: Nucleosil P 300 C-18, 10 μ m, 16 x 250 mm
 Fließmittel: H₂O^{Sre}/MeOH
 Gradient: 90:10 nach 50:50 in 50 min

Peak **B** wurde jeweils nach 32 min von der Säule eluiert, wobei die entsprechenden Fraktionen der verschiedenen Läufe vereint wurden. Der Methanol wurde abrotiert, und die phosphorsaure Wasserphase mit dreimal 50 mL Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinten organischen Phasen wurden über NaSO₄ getrocknet und i.V. eingengt.

Peak **B** wurde identifiziert als

N-trans-p-Cumaroyltyramin (1)

Menge: 6 mg
 Summenformel: C₁₇H₁₇NO₃
 Molmasse: [M]⁺ 283
 R_t: 630 s (70:30 H₂O^{Sre}/MeOH, nach 20 min 30:70, nach 30 min 1:99)
 32 min (90:10 H₂O^{Sre}/MeOH nach 50:50 in 50 min)
 UV (λ_{\max}): 204 nm, 226 nm, 293 nm, 309 nm
 EIMS, *m/z* (rel. Int. %), 70 eV, 200°C: **283** (13), 177 (16), 164 (72), **147** (100), 137 (18), 120 (73), 119 (23), 107 (18), 91 (23)
¹H-NMR (400 MHz, MeOD) δ (ppm): 7.43 (1H, *d*, *J* = 15.7 Hz, H-7), 7.39 (2H, *d*, *J* = 8.6 Hz, H-2/H-6), 7.05 (2H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-2'/H-6'), 6.78 (2H, *d*, *J* = 8.6 Hz, H-3/H-5), 6.71 (2H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-3'/H-5'), 6.38 (1H, *d*, *J* = 15.7 Hz, H-8), 3.45 (2H, *t*, *J* = 7.4 Hz, CH₂-8'), 2.75 (2H, *t*, *J* = 7.4 Hz, CH₂-7')

5.4.1.2 N-trans-Feruloyltyramin (2)

Als Ausgangsmaterial diente im Mai 2000 geerntetes Kraut von *Ipomoea plebeia* aus dem institutseigenen Tropengewächshaus. 50 g Kraut wurden wie unter 5.3.1 beschrieben extrahiert. Der saure Dichlormethan-Extrakt bestand fast ausschließlich aus einer Hauptkomponente, die identifiziert wurde als

N-trans-Feruloyltyramin (2)

Menge:	8 mg
Summenformel:	$C_{18}H_{19}NO_4$
Molmasse:	$[M]^+$ 313
R _f :	689 s (70:30 H ₂ O ^{Sre} /MeOH, nach 20 min 30:70, nach 30 min 1:99)
UV (λ_{max}):	198 nm, 220 nm, 293 nm, 317 nm
¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃) δ (ppm):	7.43 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 15.7 Hz, H-7), 7.11 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 1.7 Hz, H-2), 7.05 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8.3 Hz, H-2'/H-6'), 7.02 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 1.8 Hz und 8.6 Hz, H-6), 6.79 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8.1 Hz, H-5), 6.71 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8.2 Hz, H-3'/H-5'), 6.40 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 15.6 Hz, H-8), 3.87 (3H, <i>s</i> , O-CH ₃), 3.46 (2H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7.3 Hz, CH ₂ -8'), 2.75 (2H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7.3 Hz, CH ₂ -7')

5.4.2 Pyrrolidin-Alkaloide

5.4.2.1 Cuscohygrin (3)

Neben den Bonabilinen konnte aus den Wurzeln von *Bonamia spectabilis* auch Verbindung **3** isoliert werden. Die mit Methanol bzw. der MeOH/NH₃-Mischung eluierten Phasen der unter 5.4.4.5 beschriebenen Kieselgel-Säule wurden zur Fraktion **96-Ende** vereinigt und über präparative DC weiter fraktioniert.

Stationäre Phase:	DC-Alufolien Kieselgel 60 F ₂₅₄
Mobile Phase:	CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz. (50:50:1, V/V/V)
Laufstrecke:	14.5 cm

Dragendorff-positive Substanzbanden wurden mit dem Spatel ausgeschabt. Das Kieselgel wurde zweimal mit 30 mL 10%iger wässriger Natriumcarbonat-Lösung eluiert und dann abzentrifugiert. Anschließend wurden die basischen Eluate dreimal mit 50 mL Dichlormethan ausgeschüttelt.

Substanzbande **Z** konnte identifiziert werden als

Cuscohygrin (3)

Menge:	3.46 mg
Summenformel:	$C_{13}H_{24}N_2O$
Molmasse:	$[M]^+$ 224
R _f -Wert:	0.20 (CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz.; 50:50:1)

EIMS, m/z (rel. Int. %), 70 eV:	224 (0.5), 223 (0.5), 209 (2), 140 (8), 126 (1.5), 124 (2), 98 (7.5), 84 (100)
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm):	3.27 (2H, <i>br s</i> , H-5d/H-5'd), 2.99 (4H, <i>m</i> , H-2/H-2'/H-6d/H-6'd), 2.66 (2H, <i>m</i> , H-6u/H-6'u), 2.46 und 2.44 (6H, 2 <i>s</i> , N-CH ₃ und N'-CH ₃), 2.38 (2H, <i>m</i> , H-5u/H-5'u), 2.12 (2H, <i>m</i> , H-3d/H-3'd), 1.82 (4H, <i>m</i> , CH ₂ -4/CH ₂ -4'), 1.54 (2H, <i>m</i> , H-3u/H-3'u)
$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3) δ_c (ppm):	203.97 (<i>s</i> , C-7), 63.44 (<i>d</i> , C-2/C-2'), 55.89 (<i>t</i> , C-5/C-5'), 44.29 (<i>t</i> , C-6/C-6'), 42.11 (<i>q</i> , N-CH ₃ /N'-CH ₃), 29.97 (<i>t</i> , C-3/C-3'), 22.60 (<i>t</i> , C-4/C-4')

5.4.3 Pyrrolizidin-Alkaloide

5.4.3.1 Minalobin O (4)

50 g Kraut der im institutseigenen Gewächshaus angebauten *Ipomoea cristulata* wurden wie unter 5.3.1 extrahiert und ausgeschüttelt. Die Basen-Fraktion wurde wie in 5.3.2 aufgereinigt und dann direkt zur Vermessung gegeben. Verbindung **4** konnte strukturaufgeklärt werden als

Minalobin O (4)

Menge:	4 mg
Summenformel:	$\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{NO}_5$
Molmasse:	$[\text{M}]^+$ 339
R_f -Wert:	0.34 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_3$ konz.; 40:10:1)
EIMS, m/z (rel. Int. %), 80 eV:	339 (6), 256 (2), 212 (7), 196 (6), 140 (10), 124 (100), 96 (18), 83 (75), 55 (65)
HRMS, m/z :	339.20443 ($\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{NO}_5$, ber. 339.20457) 295.17689 ($\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_4$, ber. 295.17836) 256.15475 ($\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{NO}_4^+$, ber. 256.15488) 212.12859 ($\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{NO}_3^+$, ber. 212.12867) 196.13358 ($\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{NO}_2^+$, ber. 196.13375) 140.10749 ($\text{C}_8\text{H}_{14}\text{NO}^+$, ber. 140.10754) 124.11272 ($\text{C}_8\text{H}_{14}\text{N}^+$, ber. 124.11262) 83.073957 ($\text{C}_5\text{H}_9\text{N}$, ber. 83.07350; 30%) 83.049659 ($\text{C}_5\text{H}_7\text{O}^+$, ber. 83.04969; 70%)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Aceton- D_6) δ (ppm):	6.87 (1H, <i>q</i> , $J = 5.5$ Hz, H-3''), 5.09 (1H, <i>q</i> , $J = 6.3$ Hz, H-3'), 4.35 (1H, <i>dd</i> , $J = 5.6$ Hz und 11.4 Hz, H-9d), 4.21 (1H, <i>dd</i> , $J = 9.0$ Hz und 11.4 Hz, H-9u), 2.80-2.90 (2H, <i>m</i> , H-3d/H-8), 2.49 (1H, <i>m</i> , H-5d), 2.20 (2H, <i>m</i> , H-3u/H-5u), 1.78 (3H, <i>s</i> , CH_3 -5'), 1.77 (3H, <i>d</i> , $J = 5.5$ Hz, CH_3 -4''), 1.36-1.44 (5H, <i>m</i> , H-1/H-2d/H-6d/ CH_2 -7), 1.38 (3H, <i>s</i> , CH_3 -5'), 1.20-1.28 (2H, <i>m</i> , H-2u/H-6u), 1.25 (3H, <i>d</i> , $J = 6.3$ Hz, CH_3 -4')
$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, Aceton- D_6) δ_{C} (ppm)	174.7 (<i>s</i> , C-1'), 169.2 (<i>s</i> , C-1''), 138.3 (<i>d</i> , C-3''), 129.4 (<i>d</i> , C-2''), 77.1 (<i>s</i> , C-2'), 75.2 (<i>d</i> , C-3'), 67.9 (<i>t</i> , C-9), 65.3 (<i>d</i> , C-8), 53.1 (<i>t</i> , C-3), 52.0 (<i>t</i> , C-5), 40.4 (<i>d</i> , C-1), 31.4 (<i>t</i> , C-2), 30.9 (<i>t</i> , C-6), 25.8 (<i>t</i> , C-7), 22.6 (<i>q</i> , C-5'), 14.4 (<i>q</i> , C-5''), 13.9 (<i>q</i> , C-4'), 12.2 (<i>q</i> , C-4'')

5.4.4 Tropan-Alkaloide

5.4.4.1 Einfache Tropane

5.4.4.1.1 Tropan-3-on (5)

Wurzeln und Rhizome von *Falkia repens* wurden wie unter 5.4.4.2 beschrieben extrahiert, ausgeschüttelt und säulenchromatographisch aufgetrennt. Fraktionen **2-5** der Kieselgel-Säule wurden an einer Sephadex-Säule weiterfraktioniert (s. 5.4.4.2.5). Die davon eluierten Fraktionen **18-23** wurden einer präparativen DC unterzogen (s. 5.4.4.2.6). Substanzzone **18 Seph A** konnte identifiziert werden als

Tropan-3-on (5)

Menge:	13.1 mg
Summenformel:	$\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NO}$
Molmasse:	$[\text{M}]^+$ 139
R_f -Wert:	0.21 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_3$ konz.; 48:2:0.2; 2x)
EIMS, m/z (rel. Int. %), 70 eV:	139 (20), 111 (5), 110 (9), 97 (12), 96 (31), 83 (44), 82 (100), 81 (47), 68 (10), 55 (22), 42 (72)
HRMS, m/z :	139.09964 ($\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NO}$, ber. 139.09971) 110.09693 ($\text{C}_7\text{H}_{12}\text{N}^+$, ber. 110.09697; 50%) 110.06049 ($\text{C}_6\text{H}_8\text{NO}^+$, ber. 110.06059; 50%) 96.081261 ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{N}^+$, ber. 96.081324) 82.065648 ($\text{C}_5\text{H}_8\text{N}^+$, ber. 82.065674) 66.047009 (C_5H_6 , ber. 66.04695; 20%) 66.01099 ($\text{C}_4\text{H}_2\text{O}$, ber. 66.010565; 80%)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) $\delta(\text{ppm})$:	3.57 (2H, <i>br s</i> , H-1/H-5), 2.84 (2H, <i>dd</i> , $J = 3.4$ Hz und 16.2 Hz, H-2e/H-4e), 2.34 (3H, <i>s</i> , N- CH_3), 2.25 (2H, <i>d</i> , $J = 16.2$ Hz, H-2a/H-4a), 2.18 (2H, <i>m</i> , H-6x/H-7x), 1.68 (2H, <i>d</i> , $J = 8.2$ Hz, H-6n/H-7n)
$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3) $\delta_{\text{C}}(\text{ppm})$:	209.44 (<i>s</i> , C-3), 60.91 (<i>d</i> , C-1/C-5), 47.33 (<i>t</i> , C-2/C-4), 38.29 (<i>q</i> , N- CH_3), 27.41 (<i>t</i> , C-6/C-7)

5.4.4.1.2 3 α -Tropanol (6)

Im Rahmen der Isolierung der Bonabiline aus den Wurzeln von *Bonamia spectabilis* wurde auch Verbindung **6** erhalten. Bei der unter 5.4.2.1 beschriebenen dünn-schichtchromatographischen Aufarbeitung der mit Methanol bzw. der MeOH/NH₃-Mischung von der Kieselgelsäule eluierten Fraktion **96-Ende** wurde neben Substanzbande **Z** (Cuscohygrin) auch eine Substanzbande **X** erhalten, die verifiziert werden konnte als

3 α -Tropanol (6)

Menge:	2.86 mg
Summenformel:	$\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NO}$
Molmasse:	$[\text{M}]^+$ 141
R_f -Wert:	0.09 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_3$ konz.; 50:50:1)
EIMS, m/z (rel. Int. %), 70 eV, 90°C:	141 (32), 124 (32), 113 (24), 112 (15), 97 (34), 96 (76), 84 (54), 83 (83), 82 (100), 42 (77)
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) $\delta(\text{ppm})$:	4.11 (1H, <i>t</i> , $J = 4.9$ Hz, H-3), 3.37 (2H, <i>br s</i> , H-1/H-5), 2.49 (3H, <i>s</i> , N- CH_3), 2.47 (2H, <i>m</i> , H-2a/H-4a), 2.32 (2H, <i>d</i> , $J = 8.1$ Hz, H-6n/H-7n), 2.07 (2H, <i>m</i> , H-6x/H-7x), 1.81 (2H, <i>d</i> , $J = 14.7$ Hz, H-2e/H-4e)
$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3) $\delta_{\text{C}}(\text{ppm})$:	62.81 (<i>d</i> , C-3), 62.19 (<i>d</i> , C-1/C-5), 39.26 (<i>q</i> , N- CH_3), 37.33 (<i>t</i> , C-2/C-4), 24.52 (<i>t</i> , C-6/C-7)

5.4.4.1.3 3 β -Tropanol (7)

Unter 5.4.4.3 ist die Extraktion und Fraktionierung der Wurzelrinde von *Astripomoea malvacea* beschrieben. Die mit Zink/HCl reduktiv aufgeschlossene Wasserphase wurde mittels präparativer DC aufgetrennt (s. 5.4.4.3.2). Die hierbei erhaltene Substanzbande **B** konnte identifiziert werden als

3 β -Tropanol (7)

Menge:	3.8 mg
Summenformel:	C ₈ H ₁₅ NO
Molmasse:	[M] ⁺ 141
R _f -Wert:	0.08 (CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz.; 40:10:1)
EIMS, <i>m/z</i> (rel. Int. %), 70 eV, 70°C:	141 (24), 124 (25), 113 (24), 112 (12), 97 (26), 96 (58), 83 (58), 82 (100), 67 (20), 55 (44), 42 (51)
¹ H-NMR (400 MHz, MeOD) δ (ppm):	4.02 (1H, <i>m</i> , H-3), 3.68 (2H, <i>br s</i> , H-1/H-5), 2.63 (3H, <i>s</i> , N-CH ₃), 2.22 (2H, <i>m</i> , H-6x/H-7x), 2.03 (2H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 3.0 Hz, 5.9 Hz und 11.9 Hz, H-2e/H-4e), 1.91 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8.0 Hz, H-6n/H-7n), 1.78 (2H, <i>dt</i> , <i>J</i> = 2.1 Hz und 12.4 Hz, H-2a/H-4a)
¹³ C-NMR (100.6 MHz, MeOD) δ _C (ppm):	64.02 (<i>d</i> , C-3), 61.95 (<i>d</i> , C-1/C-5), 39.52 (<i>t</i> , C-2/C-4), 38.63 (<i>q</i> , N-CH ₃), 25.93 (<i>t</i> , C-6/C-7)

Alternativ wurde 3 β -Tropanol aus den Wurzeln und Rhizomen von *Falkia repens* isoliert. Fraktionen **96-106** der unter 5.4.4.2 beschriebenen Kieselgel-Säule ergaben 42.7 mg.

¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃) δ (ppm):	3.87 (1H, <i>m</i> , H-3), 3.18 (2H, <i>t</i> , <i>J</i> = 3.2 Hz, H-1/H-5), 2.30 (3H, <i>s</i> , N-CH ₃), 2.00 (2H, <i>m</i> , H-6x/H-7x), 1.82 (2H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 3.0 Hz, 6.0 Hz und 12.9 Hz, H-2e/H-4e), 1.67 (2H, <i>dt</i> , <i>J</i> = 2.1 Hz und 12.6 Hz, H-2a/H-4a), 1.55 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8.0 Hz, H-6n/H-7n)
¹³ C-NMR (100.6 MHz, CDCl ₃) δ _C (ppm):	63.63 (<i>d</i> , C-3), 60.56 (<i>d</i> , C-1/C-5), 39.72 (<i>t</i> , C-2/C-4), 38.74 (<i>q</i> , N-CH ₃), 26.67 (<i>t</i> , C-6/C-7)

5.4.4.2 3-Tropanolester aus *Falkia repens*

Von der im gemäßigt-temperierten Gewächshaus des Botanischen Gartens Berlin angebauten *Falkia repens* konnten 560 g Wurzeln und Rhizome geerntet werden. Diese wurden getrocknet und gemahlen dreimal mit je 4 L Methanol versetzt und jeweils vier Stunden unter Verwendung eines Flügelrührers extrahiert. Außerdem wurde die Droge noch einmal mit 2.8 L Methanol und 700 mL 2%iger wässriger Weinsäure-Lösung versetzt und gerührt. Das Lösemittel wurde bis auf 600 mL der weinsäuren Lösung abrotiert. Die 69.7 g Trockenrückstand der Methanol-Extrakte wurden im Ultraschallbad darin gelöst, und das Ganze nacheinander mit je dreimal 500 mL Petrolether, Dichlormethan und Ethylacetat ausgeschüttelt. Die im Schütteltrichter verbliebene Wasserphase wurde mit 25%iger wässriger Ammoniaklösung auf pH 11 alkalisiert und nochmals ausgeschüttelt mit

viermal 500 mL Dichlormethan. Die vereinigten basischen Dichlormethan-Fractionen ergaben einen Trockenrückstand von 512.4 mg. Dieser Basen-Rohextrakt wurde mit 1 g Celite® (Kieselgur) und 20 mL Chloroform versetzt und einrotiert. Das so erhaltene Pulver wurde der Säulenchromatographie zugeführt.

Säule:	Glassäule, ID = 1.7 cm, l = 45 cm
Stationäre Phase:	12 g Kieselgel 60 in 100 mL CHCl ₃ , FH = 11.2 cm
Mobile Phase:	230 mL CHCl ₃ /MeOH (98:2, V/V) + 0.5 mL NH ₃ konz. (32%) 200 mL CHCl ₃ /MeOH (96:4, V/V) + 0.5 mL NH ₃ konz. (32%) 100 mL CHCl ₃ /MeOH (94:6, V/V) + 0.5 mL NH ₃ konz. (32%) 100 mL CHCl ₃ /MeOH (90:10, V/V) + 0.5 mL NH ₃ konz. (32%) 100 mL CHCl ₃ /MeOH (80:20, V/V) + 0.5 mL NH ₃ konz. (32%) 100 mL MeOH + 0.5 mL NH ₃ konz. (32%)
Fraktionsvolumen:	7 mL
Flußrate:	1.2 mL/min

Nach Equilibrierung mit 100 mL CHCl₃/MeOH (98:2, V/V) + 0.5 mL NH₃ konz. (32%) wurden die Fließmittelgemische auf die Säule gegeben und die Fraktionen gesammelt. Zur Kontrolle wurde jede zweite Fraktion auf eine DC-Platte aufgetragen, die im Fließmittel CHCl₃/MeOH/NH₃ konz. (40:10:1, V/V/V) entwickelt wurde. Die Detektion der meist nicht löslichen Verbindungen erfolgte mit Dragendorffs Reagenz nach MUNIER und MACHEBOEUF.

5.4.4.2.1 3 α -Acetoxytropa α n (8)

Anhand der unter 5.4.4.2 angefertigten Kontroll-DCs wurden ähnliche Fraktionen vereinigt. Fraktionen **20-32** konnten strukturaufgeklärt werden als

3 α -Acetoxytropa α n (8)

Menge:	39.7 mg
Summenformel:	C ₁₀ H ₁₇ NO ₂
Molmasse:	[M] ⁺ 183
R _f -Wert:	0.44 (CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz.; 40:10:1)
EIMS, <i>m/z</i> (rel. Int. %), 70 eV:	183 (18), 168 (1), 155 (1), 140 (9), 124 (100), 97 (6), 96 (19), 95 (11), 94 (25), 83 (33), 82 (47), 67 (18), 43 (19), 42 (28)
HRMS, <i>m/z</i> :	183.12633 (C ₁₀ H ₁₇ NO ₂ , ber. 183.12593)
¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃) δ (ppm):	4.97 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 5.3 Hz, H-3), 3.10 (2H, <i>br s</i> , H-1/H-5), 2.28 (3H, <i>s</i> , N-CH ₃), 2.12 (2H, <i>td</i> , <i>J</i> = 4.2 Hz und 15.0 Hz, H-2a/H-4a), 2.04 (3H, <i>s</i> , CH ₃ -2'), 2.01 (2H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 4.1 Hz und 5.5 Hz, H-6x/H-7x), 1.93 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7.7 Hz, H-6n/H-7n), 1.70 (2H, <i>br d</i> , <i>J</i> = 14.8 Hz, H-2e/H-4e)

^{13}C -NMR (100.6 MHz, CDCl_3) 170.42 (*s*, C-1'), 67.47 (*d*, C-3), 59.81 (*d*, C-1/C-5), 40.35 (*q*, N-CH₃), 36.48 (*t*, C-2/C-4), 25.61 (*t*, C-6/C-7), 21.58 (*q*, C-2')

5.4.4.2.2 3 α -Acetoxytropan-N-oxid (9)

Fractionen **61-67** der Kieselgel-Säule unter 5.4.4.2 wurden zur präparativen DC weiterverwendet.

Stationäre Phase: DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄
 Mobile Phase: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_3$ konz. (40:10:1, V/V/V)
 Laufstrecke: 8 cm, Zweifachentwicklung

Die Substanzzone mit R_f 0.24 wurde mit dem Spatel ausgeschabt. Das Kieselgel wurde mit 5 mL Aceton und 5 mL Methanol versetzt und im Ultraschallbad 20 min eluiert. Die Suspension wurde 30 min zentrifugiert, und die überstehende Lösung abpipettiert. Nach Abrotieren des Lösemittels erhielt man

3 α -Acetoxytropan-N-oxid (9)

Menge: 5.7 mg
 Summenformel: $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_3$
 Molmasse: $[\text{M}]^+$ 199
 R_f -Wert: 0.24 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_3$ konz.; 40:10:1)
 EIMS, m/z (rel. Int. %), 70 eV: **183** (19), 169 (1), 156 (28), 140 (6), 124 (85), 96 (20), 95 (15), 94 (26), 83 (45), 82 (75), 67 (18), 43 (100), 42 (49)
 (+)-FABMS, m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 200
 ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 5.08 (1H, *t*, $J = 5.0$ Hz, H-3), 3.64 (2H, *br s*, H-1/H-5), 3.36 (3H, *s*, N-CH₃), 3.18 (2H, *br d*, $J = 15.5$ Hz, H-2a/H-4a), 2.38 (2H, *d*, $J = 8.8$ Hz, H-6n/H-7n), 2.15 (2H, *m*, H-6x/H-7x), 2.07 (3H, *s*, CH₃-2'), 1.73 (2H, *br d*, $J = 15.4$ Hz, H-2e/H-4e)
 ^{13}C -NMR (100.6 MHz, CDCl_3) δ_c (ppm); aus HMBC: 171.0 (*s*, C-1'), 70.5 (*d*, C-1/C-5), 65.0 (*d*, C-3), 54.5 (*q*, N-CH₃), 32.0 (*t*, C-2/C-4), 23.0 (*t*, C-6/C-7), 20.5 (*q*, C-2')

5.4.4.2.3 3 β -Acetoxytropan-N-oxid (10)

Fractionen **18-23** der unter 5.4.4.2.5 beschriebenen Sephadex-Säule enthielten ein Substanzgemisch, das mittels präparativer DC weiter aufgetrennt wurde (s. 5.4.4.2.6). Substanzbande **18 Seph C** erwies sich als

3 β -Acetoxytropan-N-oxid (10)

Menge:	8.9 mg
Summenformel:	C ₁₀ H ₁₇ N ₂ O ₃
Molmasse:	[M] ⁺ 199
R _f -Wert:	0.41 (CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz.; 48:2:0.2; 2x)
EIMS, <i>m/z</i> (rel. Int. %), 70 eV, 90°C:	183 (14), 169 (2), 155 (2), 140 (6), 124 (67), 96 (22), 95 (15), 94 (22), 83 (43), 82 (65), 67 (17), 43 (100), 42 (46)
(+)-FABMS, <i>m/z</i> :	[M+H] ⁺ 200
¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃) δ (ppm):	5.03 (1H, <i>m</i> , H-3), 3.58 (2H, <i>br t</i> , <i>J</i> = 3.2 Hz, H-1/H-5), 3.49 (3H, <i>s</i> , N-CH ₃), 2.77 (2H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 4.0 Hz und 15.8 Hz, H-2a/ H-4a), 2.15 (2H, <i>m</i> , H-6x/H-7x), 2.03 (3H, <i>s</i> , CH ₃ -2'), 1.96 (2H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 3.1 Hz, 6.2 Hz und 13.8 Hz, H-2e/H-4e), 1.86 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8.6 Hz, H-6n/H-7n)

5.4.4.2.4 3 α -(2'-Methylbutyryloxy)tropan (11)

Die Fraktionen **9-12** (90.6 mg) der unter 5.4.4.2 beschriebenen Kieselgel-Säule wurden mittels präparativer DC weiter aufgetrennt. Nach mehreren Versuchen erwies sich folgendes System als am erfolgversprechendsten

Stationäre Phase:	DC-Alufolien Kieselgel 60 F ₂₅₄
Mobile Phase:	CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz. (40:10:1, V/V/V)
Laufstrecke:	8 cm, Dreifachentwicklung

Nach Entwicklung der DC-Platten wurde jeweils der Rand abgetrennt und mit Dragendorffs Reagenz besprüht. Die bei R_f 0.46 detektierte Bande wurde ausgekratzt, und das Kieselgel mit 5 mL Aceton und 5 mL Methanol im Ultraschallbad 20 min eluiert. Die Suspension wurde 30 min zentrifugiert, und der Überstand abpipettiert und einrotiert. Die so isolierte Verbindung **11** konnte strukturaufgeklärt werden als

3 α -(2'-Methylbutyryloxy)tropan (11)

Menge:	10.2 mg
Summenformel:	C ₁₃ H ₂₃ NO ₂
Molmasse:	[M] ⁺ 225
R _f -Wert:	0.46 (CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz.; 40:10:1)

EIMS, m/z (rel. Int. %), 70 eV:	225 (12), 210 (3), 208 (5), 196 (2), 183 (5), 140 (17), 124 (100), 96 (29), 95 (32), 94 (24), 83 (67), 82 (58), 57 (76)
(+)-FABMS, m/z :	[M+H] ⁺ 226
HRMS, m/z :	225.17355 (C ₁₃ H ₂₃ NO ₂ , ber. 225.17288) 140.10688 (C ₈ H ₁₄ NO, ber. 140.10754) 124.11344 (C ₈ H ₁₄ N, ber. 124.11263)
¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃) δ (ppm):	5.04 (1H, <i>t</i> , $J = 5.1$ Hz, H-3), 3.29 (2H, <i>br s</i> , H-1/H-5), 2.40 (3H, <i>s</i> , N-CH ₃), 2.38 (2H, <i>m</i> , H-2a/H-4a), 2.33 (1H, <i>m</i> , H-2'), 2.07 (2H, <i>m</i> , H-6x/H-7x), 1.82 (2H, <i>d</i> , $J = 7.9$ Hz, H-6n/H-7n), 1.74 (2H, <i>d</i> , $J = 14.8$ Hz, H-2e/H-4e), 1.69 (1H, <i>dq</i> , $J = 7.3$ Hz und 14.7 Hz, H-3'd), 1.50 (1H, <i>dq</i> , $J = 7.1$ Hz und 13.9 Hz, H-3'u), 1.15 (3H, <i>d</i> , $J = 7.1$ Hz, CH ₃ -5'), 0.93 (3H, <i>t</i> , $J = 7.4$ Hz, CH ₃ -4')
¹³ C-NMR (100.6 MHz, CDCl ₃) δ_c (ppm):	175.51 (<i>s</i> , C-1'), 65.92 (<i>d</i> , C-3), 59.98 (<i>d</i> , C-1/C-5), 41.42 (<i>q</i> , N-CH ₃), 35.47 (<i>t</i> , C-2/C-4), 29.71 (<i>d</i> , C-2'), 25.31 (<i>t</i> , C-6/C-7), 22.70 (<i>t</i> , C-3'), 16.42 (<i>q</i> , C-5'), 11.67 (<i>q</i> , C-4')

5.4.4.2.5 3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan (12)

Die durch Säulenchromatographie des Basen-Extraktes der Wurzeln und Rhizome von *Falkia repens* in 5.4.4.2 erhaltenen Fraktionen **2-5** enthielten zahlreiche Dragendorff-positive Substanzen. Die durch Vereinigen und Einrotieren erhaltene Trockenmasse wog 41.2 mg und wurde erneut der Säulenchromatographie zugeführt.

Säule:	Glassäule, ID = 1.7 cm, l = 45 cm
Stationäre Phase:	20 g Sephadex LH-20 in 100 mL Aceton, FH = 24.5 cm
Mobile Phase:	150 mL Aceton
Fraktionsvolumen:	2 mL
Flußrate:	0.7 mL/min, dann 0.9 mL/min

Anhand der mit Dragendorffs Reagenz detektierten Kontroll-DCs (Fließmittel CHCl₃/MeOH/NH₃ konz.; 40:10:1, V/V/V) wurden Fraktionen **13-15 Seph** vereint und einrotiert. Die enthaltene Verbindung konnte strukturaufgeklärt werden als

3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan (12)

Menge:	17.8 mg
Summenformel:	C ₁₃ H ₂₃ NO ₂
Molmasse:	[M] ⁺ 225

R _f -Wert:	0.33 (CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz.; 46:4:0.4)
EIMS, <i>m/z</i> (rel. Int. %), 70 eV:	225 (15), 210 (2), 208 (6), 196 (1), 183 (1), 140 (9), 124 (100), 96 (14), 95 (18), 94 (27), 83 (40), 82 (54), 57 (27)
HRMS, <i>m/z</i> :	225.17347 (C ₁₃ H ₂₃ NO ₂ , ber. 225.17288) 208.17166 (C ₁₃ H ₂₂ NO ⁺ , ber. 208.17014) 140.10744 (C ₈ H ₁₄ NO ⁺ , ber. 140.10754) 124.11367 (C ₈ H ₁₄ N ⁺ , ber. 124.11263) 96.08155 (C ₆ H ₁₀ N ⁺ , ber. 96.08132) 95.07347 (C ₆ H ₉ N, ber. 95.07350) 94.06529 (C ₆ H ₈ N ⁺ , ber. 94.06567) 83.07382 (C ₅ H ₉ N, ber. 83.07350) 82.06529 (C ₅ H ₈ N ⁺ , ber. 82.06567)
¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃) δ(ppm):	5.00 (1H, <i>m</i> , H-3), 3.23 (2H, <i>br s</i> , H-1/H-5), 2.34 (3H, <i>s</i> , N-CH ₃), 2.31 (1H, <i>sext</i> , <i>J</i> = 6.8 Hz, H-2'), 2.05 (2H, <i>m</i> , H-6x/ H-7x), 1.85 (2H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 3.0 Hz, 5.6 Hz und 12.5 Hz, H-2e/ H-4e), 1.76 (2H, <i>br t</i> , <i>J</i> = 11.4 Hz, H-2a/H-4a), 1.67 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8.1 Hz, H-6n/H-7n), 1.63 (1H, <i>dq</i> , <i>J</i> = 7.0 Hz und 14.1 Hz, H-3'd), 1.44 (1H, <i>dq</i> , <i>J</i> = 7.1 Hz und 13.9 Hz, H-3'u), 1.10 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7.1 Hz, CH ₃ -5'), 0.88 (3H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7.4 Hz, CH ₃ -4')
¹³ C-NMR (100.6 MHz, CDCl ₃) δ _c (ppm):	176.42 (<i>s</i> , C-1'), 66.33 (<i>d</i> , C-3), 60.52 (<i>d</i> , C-1/C-5), 38.62 (<i>q</i> , N-CH ₃), 35.42 (<i>t</i> , C-2/C-4), 29.71 (<i>d</i> , C-2'), 26.78 (<i>t</i> , C-6/C-7), 18.94 (<i>t</i> , C-3'), 16.60 (<i>q</i> , C-5'), 11.54 (<i>q</i> , C-4')

5.4.4.2.6 3β-(2'-Methylbutyryloxy)tropan-N-oxid (13)

Fraktionen **18-23** der Sephadex-Säule (s. 5.4.4.2.5) wurden der präparativen DC unterzogen.

Stationäre Phase: DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄
Mobile Phase: 50 mL CHCl₃/MeOH (48:2, V/V) + 200 μl NH₃ konz.
Laufstrecke: 8 cm, Zweifachentwicklung

Es zeigten sich mehrere Dragendorff-positive Substanzzonen, die jeweils ausgekratzt wurden. Nach 20minütiger Elution des Kieselgels mit 5 mL Aceton und 5 mL Methanol im Ultraschallbad wurde es 30 min zentrifugiert, und der Überstand abpipettiert.

Substanzzone **18 Seph B1** wurde strukturaufgeklärt als

3β-(2'-Methylbutyryloxy)tropan-N-oxid (13)

Menge: 4.5 mg

Summenformel: C₁₃H₂₃NO₃

Molmasse:	[M] ⁺ 241
R _f -Wert:	0.29 (CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz.; 48:2:0.2; 2x)
EIMS, <i>m/z</i> (rel. Int. %), 70 eV:	225 (42), 210 (4), 208 (1), 196 (1), 183(1), 140 (9), 124 (100), 96 (8), 95 (9), 94 (16), 83 (26), 82 (32), 57 (14)
(+)-FABMS, <i>m/z</i> :	[M+H] ⁺ 242
¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃) δ(ppm):	5.04 (1H, <i>m</i> , H-3), 4.04 (2H, <i>br s</i> , H-1/H-5), 3.53 (3H, <i>s</i> , N-CH ₃), 2.73 (2H, <i>m</i> , H-2a/H-4a), 2.33 (1H, <i>sext</i> , <i>J</i> = 6.9 Hz, H-2'), 2.14 (2H, <i>m</i> , H-2e/H4e), 2.09 (2H, <i>m</i> , H-6x/H-7x), 1.83 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8.5 Hz, H-6n/H-7n), 1.62 (1H, <i>m</i> , H-3'd), 1.43 (1H, <i>m</i> , H-3'u), 1.11 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7.0 Hz, CH ₃ -5'), 0.88 (3H, <i>t</i> , <i>J</i> = 7.3 Hz, CH ₃ -4')
¹³ C-NMR (100.6 MHz, CDCl ₃) δ _C (ppm):	176.31 (<i>s</i> , C-1'), 70.21 (<i>d</i> , C-1/C-5), 64.78 (<i>d</i> , C-3), 50.05 (<i>q</i> , N-CH ₃), 31.93 (<i>t</i> , C-2/C-4), 29.37 (<i>d</i> , C-2'), 24.89 (<i>t</i> , C-6/C-7), 22.70 (<i>t</i> , C-3'), 20.20 (<i>q</i> , C-5'), 14.13 (<i>q</i> , C-4')

5.4.4.2.7 3β-Tigloyloxytropan-N-oxid (14)

Fractionen **18-23** der unter 5.4.4.2.5 beschriebenen Sephadex-Säule wurden vereinigt und der präparativen DC zugeführt (s. 5.4.4.2.6).

Dragendorff-positive Substanzzonen wurden mit dem Spatel ausgeschabt, und das Kieselgel wie oben eluiert. Substanzbande **18 Seph B2** konnte identifiziert werden als

3β-Tigloyloxytropan-N-oxid (14)

Menge:	3.9 mg
Summenformel:	C ₁₃ H ₂₁ NO ₃
Molmasse:	[M] ⁺ 239
R _f -Wert:	0.34 (CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz.; 48:2:0.2; 2x)
EIMS, <i>m/z</i> (rel. Int. %), 70 eV, 90°C:	223 (9), 140 (8), 124 (100), 110 (4), 96 (17), 95 (15), 94 (21), 83 (54), 82 (56), 67 (15), 55 (14), 42 (23)
¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃) δ(ppm):	6.84 (1H, <i>q</i> , <i>J</i> = 6.4 Hz, H-3'), 5.04 (1H, <i>m</i> , H-3), 3.82 (2H, <i>br s</i> , H-1/H-5), 3.64 (3H, <i>s</i> , N-CH ₃), 2.31 (2H, <i>m</i> , H-6x/H-7x), 2.15 (2H, <i>m</i> , H-2a/H-4a), 1.95 (2H, <i>m</i> , H-2e/H-4e), 1.84 (3H, <i>s</i> , CH ₃ -5'), 1.81 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6.5 Hz, CH ₃ -4'), 1.64 (2H, <i>br d</i> , <i>J</i> = 8.0 Hz, H-6n/H-7n)

5.4.4.2.8 3 β -*trans*-Isoferuloyloxytropan (15)

Die Fraktionen **51-53** der unter 5.4.4.2 beschriebenen Kieselgel-Säule wurden zur weiteren Auftrennung der präparativen DC zugeführt.

Stationäre Phase: DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄
 Mobile Phase: CHCl₃/MeOH/NH₃ konz. (40:10:1, V/V/V)
 Laufstrecke: 8 cm, Zweifachentwicklung

Nach Abtrennung der Randzone und Detektion mit Dragendorffs Reagenz wurde der Bereich um R_f 0.39 ausgekratzt, und das Kieselgel mit 5 mL Aceton und 5 mL Methanol eluiert. Anschließend wurde die Suspension ins Ultraschallbad gestellt und dann abzentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und einrotiert und ergab

3 β -*trans*-Isoferuloyloxytropan (15)

Menge:	13.0 mg
Summenformel:	C ₁₈ H ₂₃ NO ₄
Molmasse:	[M] ⁺ 317
R _f -Wert:	0.39 (CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz.; 40:10:1)
EIMS, <i>m/z</i> (rel. Int. %), 70 eV, 300°C:	317 (16), 302 (1), 194 (3), 177 (4), 149 (5), 140 (9), 124 (100), 96 (35), 95 (17), 94 (29), 83 (51), 82 (94), 43 (74), 42 (41)
¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃) δ (ppm):	7.58 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 15.9 Hz, H-7'), 7.06 (1H, <i>br s</i> , H-2'), 6.98 (1H, <i>br d</i> , <i>J</i> = 8.0 Hz, H-6'), 6.85 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8.0 Hz, H-5'), 6.30 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 15.9 Hz, H-8'), 5.16 (1H, <i>m</i> , H-3), 3.88 (3H, <i>s</i> , O-CH ₃), 3.55 (2H, <i>br s</i> , H-1/H-5), 2.52 (3H, <i>s</i> , N-CH ₃), 2.14 (2H, <i>m</i> , H-6x/H-7x), 2.06 (2H, <i>m</i> , H-2a/H-4a), 1.94 (2H, <i>m</i> , H-2e/H-4e), 1.88 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8.4 Hz, H-6n/H-7n)
¹³ C-NMR (100.6 MHz, CDCl ₃) δ _C (ppm):	166.45 (<i>s</i> , C-9'), 151.41 (<i>s</i> , C-4'), 149.13 (<i>s</i> , C-3'), 144.41 (<i>d</i> , C-7'), 130.04 (<i>s</i> , C-1'), 122.46 (<i>d</i> , C-6'), 117.15 (<i>d</i> , C-8'), 114.32 (<i>d</i> , C-2'), 110.88 (<i>d</i> , C-5'), 65.77 (<i>d</i> , C-3), 60.48 (<i>d</i> , C-1/C-5), 55.99 (<i>q</i> , O-CH ₃), 37.73 (<i>q</i> , N-CH ₃), 34.68 (<i>t</i> , C-2/C-4), 25.92 (<i>t</i> , C-6/C-7)

5.4.4.3 Astrimalvine aus *Astripomoea malvacea*

Als Ausgangsmaterial dienten 262 g Wurzelrinde von *Astripomoea malvacea* aus Uganda, die dem Arbeitskreis von Dr. Bernardina Onegi zur Verfügung gestellt wurden. Diese wurden jeweils vier Stunden mit dreimal 3 L Methanol am Flügelrührer extrahiert. Die abgenutzten Methanol-Extrakte wurden bei 50°C i.V. einrotiert und ergaben 31.9 g Trockenrückstand. Dann wurde die Droge mit einem Gemisch aus 2.4 L Methanol und 600 mL 2%iger wäßriger Weinsäure-Lösung versetzt und nochmals vier Stunden gerührt. Der Methanol wurde am Rotavapor entfernt; der obige Rückstand wurde im Ultraschallbad in den verbliebenen 600 mL Weinsäure-Lösung gelöst. Im Schütteltrichter wurde je dreimal mit Petrolether, Dichlormethan und Ethylacetat ausgeschüttelt, und zwar zweimal mit 300 mL und einmal mit 400 mL. Nun wurde der pH-Wert der wäßrigen Phase mit 15%iger Ammoniaklösung auf etwa pH 10 eingestellt und erneut mit zweimal 300 mL und einmal 400 mL Dichlormethan ausgeschüttelt.

5.4.4.3.1 Astrimalvin A-N-oxid (16)

Einrotiert (40°C i.V.) ergaben die so erhaltenen basischen Dichlormethan-Fractionen 78.04 mg Rohextrakt. Dieser wurde in 1 mL Chloroform/Methanol-Gemisch (1:1, V:V) gelöst und über präparative HPLC weiter aufgetrennt.

Gerät: Knauer HPLC-Gradienten-Anlage
Säule: Eurospher C-18 (reversed phase; 10 µm, 22 x 250 mm)
Fließmittel: H₂O^{Sre}/MeOH
Gradient: 75:25 nach 45:55 in 80 min
Flußrate: 5 mL/min

Der Methanol der einzelnen Fraktionen wurde jeweils bei 50°C i.V. abgezogen und die phosphorsaure Wasserphase mit 15%iger Ammoniaklösung alkalisiert (pH~10). Nun wurde dreimal mit einer der jeweiligen Wasserphase entsprechenden Menge Dichlormethan ausgeschüttelt, dieses mit Natriumsulfat wasserfrei gemacht und das Lösemittel i.V. entfernt. Die Trockenrückstände wurden der Strukturaufklärung zugeführt. Fraktion **13** ergab

Astrimalvin A-N-oxid (16)

Menge: 7.8 mg
Summenformel: C₁₈H₂₉NO₅
Molmasse: [M]⁺ 339
R_f-Wert: 0.50 (CHCl₃/MeOH/NH₃ konz.; 40:10:1)
R_t: 57 min (75:25 H₂O^{Sre}/MeOH nach 45:55 in 80 min)

UV (λ_{\max}):	201, 220, 269
EIMS, m/z (rel. Int. %), 80 eV, 130°C:	323 (17), 309 (7), 294 (2), 240 (4), 224 (9), 183 (2), 140 (19), 124 (100), 110 (66), 96 (14), 95 (18), 94 (16), 84 (93), 83 (61), 82 (48), 55 (34)
(+)-FABMS, m/z :	[M+H] ⁺ 340
HRMS, m/z :	323.20942 (C ₁₈ H ₂₉ NO ₄ , ber. 323.20966) 309.19365 (C ₁₇ H ₂₇ NO ₄ , ber. 309.19401) 294.16903 (C ₁₆ H ₂₄ NO ₄ ⁺ , ber. 294.17053) 240.15993 (C ₁₃ H ₂₂ NO ₃ ⁺ , ber. 240.15997) 224.16487 (C ₁₃ H ₂₂ NO ₂ ⁺ , ber. 224.16505) 183.10206 (C ₁₀ H ₁₅ O ₃ ⁺ , ber. 183.10212) 140.10749 (C ₈ H ₁₄ NO ⁺ , ber. 140.10754) 124.11248 (C ₈ H ₁₄ N ⁺ , ber. 124.11262) 110.09693 (C ₇ H ₁₂ N ⁺ , ber. 110.09697) 83.049659 (C ₅ H ₇ O ⁺ , ber. 83.04969)
¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃) δ (ppm):	6.83 (1H, <i>q</i> , $J = 6.5$ Hz, H-3''), 5.14 (1H, <i>m</i> , H-3), 5.11 (1H, <i>m</i> , H-3'), 4.38 (2H, <i>br s</i> , H-1/H-5), 3.64 (3H, <i>s</i> , N-CH ₃), 2.72 (1H, <i>quint</i> , $J = 7.0$ Hz, H-2'), 2.25 (6H, <i>m</i> , H-2a/H-4a/H-6x/ H- 6n/H-7x/H-7n), 2.03 (2H, <i>m</i> , H-2e/H-4e), 1.80 (3H, <i>br s</i> , CH ₃ -5''), 1.79 (3H, <i>d</i> , $J = 6.5$ Hz, CH ₃ -4''), 1.26 (3H, <i>d</i> , $J =$ 7.0 Hz, CH ₃ -4'), 1.17 (3H, <i>d</i> , $J = 7.0$ Hz, CH ₃ -5')
¹ H-NMR (500 MHz, MeOD) (ppm):	δ 6.84 (1H, <i>q</i> , $J = 6.5$ Hz, H-3''), 5.22 (1H, <i>m</i> , H-3), 5.08 (1H, <i>quint</i> , $J = 7.0$ Hz, H-3'), 4.14 (2H, <i>br s</i> , H-1/H-5), 3.47 (3H, <i>s</i> , N-CH ₃), 2.73 (1H, <i>quint</i> , $J = 7.0$ Hz, H-2'), 2.38 (4H, <i>m</i> , H-2a/ H-4a/H-6x/H-7x), 2.26 (2H, <i>d</i> , $J = 8.0$ Hz, H-6n/H-7n), 2.14 (2H, <i>m</i> , H-2e/H-4e), 1.80 (6H, <i>br s</i> , CH ₃ -5''/CH ₃ -4''), 1.25 (3H, <i>d</i> , $J = 7.0$ Hz, CH ₃ -4'), 1.17 (3H, <i>d</i> , $J = 7.0$ Hz, CH ₃ -5')
¹³ C-NMR (100.6 MHz, MeOD) δ_c (ppm):	174.63 (<i>s</i> , C-1'), 168.43 (<i>s</i> , C-1''), 138.97 (<i>d</i> , C-3''), 129.71 (<i>s</i> , C-2''), 73.36 (<i>d</i> , C-1/C-5), 73.01 (<i>d</i> , C-3'), 64.00 (<i>d</i> , C-3), 52.96 (<i>q</i> , N-CH ₃), 46.29 (<i>d</i> , C-2'), 32.00 (<i>t</i> , C-2/C-4), 24.59 (<i>t</i> , C-6/ C-7), 17.48 (<i>q</i> , C-4'), 14.41 (<i>q</i> , C-5''), 13.40 (<i>q</i> , C-5'), 12.09 (<i>q</i> , C-4'')
CD ($c = 0.15$, MeOH)	$\Delta\epsilon_{218} = - 11.6$

5.4.4.3.2 Astrimalvin B (17)

Die 600 mL ammoniakalische Wasserphase von oben (5.4.4.3) wurden bei 60°C i.V. so lange eingengt bis 25.6 g einer dunkelbraunen Paste blieben. Nach einer entsprechenden Vorprobe mit etwa 6 g wurden die restlichen 20 g wie folgt aufgeschlossen. Gelöst in 150 mL Aqua dest. wurde die Probe mit 75 mL Salzsäure auf pH 2 eingestellt. Nun wurden 12 g Zinkpulver vorsichtig (Schaumbildung!) zugegeben. Der Ansatz wurde mit dem Magnetrührer über Nacht gerührt. Dann wurde er abfiltriert, und der Rückstand mit 100 mL Aqua

dest. nachgespült. Die Lösung wurde mit 10%iger Ammoniaklösung alkalisiert und dreimal mit 300 mL Dichlormethan ausgeschüttelt. Nach Trocknen über Natriumsulfat, filtrieren und einrotieren wurden 32.4 mg Rohextrakt erhalten.

Zur Abtrennung der ebenfalls enthaltenen Cumarine wurde die Probe über eine SCX-Kartusche gereinigt. Dazu wurde der Rückstand in zweimal 2 mL 0.6%iger Weinsäure-Lösung in Methanol/Aqua dest. (1:1, V:V) gelöst und auf die Säule aufgebracht. Nach Spülen mit dreimal 2 mL Aqua dest. wurde mit zweimal 2 mL 3.5%iger Ammoniaklösung eluiert. Wiederum wurde mit dreimal 2 mL Aqua dest. gespült. Das basische Eluat wurde bei 50°C i.V. zur Trockne einrotiert.

Das so aufgereinigte Basengemisch wurde mittels präparativer DC aufgetrennt.

Stationäre Phase: DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄
 Mobile Phase: CHCl₃/MeOH/NH₃ konz. (40:10:1, V/V/V)
 Laufstrecke: 8 cm

Nach Sichtbarmachen basischer stickstoffhaltiger Substanzen mit Dragendorffs Reagenz auf dem abgetrennten Randstreifen wurden die korrespondierenden Substanzbanden ausgekratzt. Das Kieselgel wurde jeweils mit 10 mL Aceton/Methanol (1:1, V:V) 20 min im Ultraschallbad extrahiert und dann abzentrifugiert. Der Überstand wurde i.V. zur Trockne einrotiert. Substanzbande **A** wurde strukturaufgeklärt als

Astrimalvin B (17)

Menge:	4.9 mg
Summenformel:	C ₁₃ H ₂₃ NO ₃
Molmasse:	[M] ⁺ 241
R _f -Wert:	0.27 (CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz.; 40:10:1)
EIMS, <i>m/z</i> (rel. Int. %), 80 eV, 100°C:	241 (22), 226 (1), 224 (1), 197 (1), 196 (1), 140 (6), 124 (100), 110 (2), 96 (8), 95 (12), 94 (20), 83 (19), 82 (28), 45 (13)
(+)-FABMS, <i>m/z</i> :	[M+H] ⁺ 242 [M+Na] ⁺ 264
HRMS, <i>m/z</i> :	241.16795 (C ₁₃ H ₂₃ NO ₃ , ber. 241.16779) 226.14472 (C ₁₂ H ₂₀ NO ₃ ⁺ , ber. 226.14432) 224.16487 (C ₁₃ H ₂₂ NO ₂ ⁺ , ber. 224.16505) 197.14176 (C ₁₁ H ₁₉ NO ₂ , ber. 197.14158) 196.13397 (C ₁₁ H ₁₈ NO ₂ ⁺ , ber. 196.13376) 140.10749 (C ₈ H ₁₄ NO ⁺ , ber. 140.10754) 124.11248 (C ₈ H ₁₄ N ⁺ , ber. 124.11263) 94.06559 (C ₆ H ₈ N ⁺ , ber. 94.065674) 83.086025 (C ₆ H ₁₁ ⁺ , ber. 83.08607; 20%) 83.073552 (C ₅ H ₉ N, ber. 83.07350; 80%) 82.078202 (C ₆ H ₁₀ , ber. 82.07825; 20%) 82.065648 (C ₅ H ₈ N ⁺ , ber. 82.06567; 80%)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOD) δ (ppm):	5.10 (1H, <i>m</i> , H-3), 3.86 (1H, <i>quint</i> , $J = 6.6$ Hz, H-3'), 3.62 (2H, <i>br s</i> , H-1/H-5), 2.57 (3H, <i>s</i> , N-CH ₃), 2.41 (1H, <i>quint</i> , $J = 7.2$ Hz, H-2'), 2.23 (2H, <i>m</i> , H-6x/H-7x), 2.11 (2H, <i>m</i> , H-2e/H-4e), 1.93 (2H, <i>d</i> , $J = 8.0$ Hz, H-6n/H-7n), 1.88 (2H, <i>br t</i> , $J = 12.2$ Hz, H-2a/H-4a), 1.15 (3H, <i>d</i> , $J = 6.4$ Hz, CH ₃ -4'), 1.07 (3H, <i>d</i> , $J = 7.0$ Hz, CH ₃ -5')
$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, MeOD) δ_{C} (ppm):	176.20 (<i>s</i> , C-1'), 70.27 (<i>d</i> , C-3'), 66.35 (<i>d</i> , C-3), 63.22 (<i>d</i> , C-1/C-5), 38.82 (<i>q</i> , N-CH ₃), 36.23 (<i>t</i> , C-2/C-4), 33.83 (<i>d</i> , C-2'), 26.10 (<i>t</i> , C-6/C-7), 20.50 (<i>q</i> , C-4'), 13.50 (<i>q</i> , C-5')
CD ($c = 0.21$, MeOH)	$\Delta\epsilon_{221} = -12.9$

5.4.4.4. 3-Tropanolester aus *Convolvulus sabatius*

1826 g Wurzeln aus dem Freilandanbau im Botanischen Garten der FU Berlin wurden im Trockenschrank bei 28°C getrocknet und dann gemahlen. In vier Portionen à ca. 450 g geteilt, wurden diese dreimal unter Rühren mit je 3 L Methanol extrahiert, wobei der Überstand durch einen Filter dekantiert und beim dritten Mal das Filtrat abgenutscht wurde. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer bei 50°C i.V. abgedampft. Die Auswaage der Trockenrückstände ergab 216.2 g. Nach wie vor in vier Teilen wurden diese jeweils in 300 mL 2%iger wässriger Weinsäure-Lösung aufgenommen und im Ultraschallbad vollständig in Lösung gebracht. Nun wurde nacheinander ausgeschüttelt mit je viermal 300 mL Petrolether, Dichlormethan und Ethylacetat. Die Wasserphasen wurde mit 20%iger Ammoniaklösung auf pH 10 eingestellt und viermal mit 300 mL Dichlormethan ausgeschüttelt. Den basischen Dichlormethan-Phasen wurde bei 40°C i.V. das Lösungsmittel entzogen; zusammen ergaben sie 460 mg Basen.

5.4.4.4.1 Consabatin (18)

Die Basen-Fraktion der Wurzeln von *Convolvulus sabatius* ließ bei der HPLC-Analyse neun Peaks erkennen. Zur Auftrennung wurde folglich die präparative HPLC herangezogen.

Gerät:	Knauer HPLC-Gradienten-Anlage
Säule:	Nucleosil 300 C-18
Fließmittel:	H ₂ O ^{Sre} /MeOH
Gradient:	80:20 nach 40:60 in 60 min

Es wurden jeweils die zusammenhängenden Peaks **2**, **3** und **4**, der Doppelpeak **5** und **6**, Peak **8** und Peak **9** gesammelt. Der Methanol wurde mit dem Rotavapor entfernt. Die verbleibenden wässrigen Lösungen wurden mit Ammoniaklösung alkalisiert (pH 10) und dreimal mit jeweils der entsprechenden Menge Dichlormethan ausgeschüttelt. Die zur

Trockne eingedampften Rückstände wurden in Chloroform gelöst und der DC zugeführt. Während Fraktion **2+3+4** als Hygrine identifiziert werden konnten, enthielt Fraktion **5+6** u. a. Consabatin. Daher wurde letztere mittels präparativer DC weiter aufgetrennt.

Stationäre Phase: DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄
 Mobile Phase: CHCl₃/MeOH/NH₃ konz. (80:20:2, V/V/V)
 Laufstrecke: 16.5 cm

Fünf löschende Zonen wurden mit dem Spatel ausgeschabt und in Erlmeyerkolben mit je zweimal 50 mL Aceton und einmal 50 mL Methanol eluiert. Die Kolben wurden 5 min ins Ultraschallbad gehängt; das Eluat wurde abgenutscht und einrotiert.

Zone **A** wurde mittels ¹H-NMR als Consabatin identifiziert, das zur Klärung der Stereochemie wie folgt weiter aufgereinigt wurde. Die hellgelbe, gallertartige Probe wurde zur Bildung des Salzes mit der äquimolaren Menge (-)-D-Weinsäure und 10 mL Ethanol versetzt. Da dieses auch nach längerem Stehenlassen nicht ausfiel, wurde der Ethanol abgedampft. Der Rückstand wurde in 10 mL Aqua dest. aufgenommen und nach Alkalisierung mit wässriger Ammoniaklösung dreimal mit 10 mL Dichlormethan ausgeschüttelt. Restliches Wasser wurde mit Natriumsulfat entfernt, und das Lösemittel bei 40°C im Vakuum entfernt. So konnte es der Strukturaufklärung als Reinsubstanz zugeführt werden.

Consabatin (18)

Menge:	12.2 mg
Summenformel:	C ₂₀ H ₂₉ NO ₄
Molmasse:	[M] ⁺ 347
R _f -Wert:	0.45 (CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz.; 40:10:1)
R _t :	416 s (70:30 H ₂ O ^{Sre} /MeOH, nach 20 min 30:70, nach 30 min 1:99)
UV (λ _{max}):	202, 256
EIMS, m/z (rel. Int. %), 70 eV:	347 (16), 330 (1), 223 (1), 141 (7), 140 (3), 125 (12), 124 (100), 97 (9), 96 (18), 95 (8), 94 (8), 83 (26), 82 (21)
¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃) δ(ppm):	6.40 (1H, s, H-2'), 5.10 (2H, t, J = 5.0 Hz, H-3/H-2''), 3.14 (2H, br s, H-1/H-5), 2.96 (2H, br d, J = 7.0 Hz, CH ₂ -1''), 2.74 (1H, ddd, J = 5.5 Hz, 7.5 Hz und 17.1 Hz, H-5'd), 2.62 (1H, ddd, J = 5.2 Hz, 8.9 Hz und 17.1 Hz, H-5'u), 2.37 (1H, tt, J = 5.6 Hz und 7.5 Hz, H-6'd), 2.30 (3H, s, N-CH ₃), 2.24 (1H, dt, J = 5.3 Hz und 8.7 Hz, H-6'u), 2.20 (2H, m, H-2a/H-4a), 2.02 (2H, m, H-6x/H-7x), 1.73 (3H, s, CH ₃ -4''), 1.72 (2H, m, H-2e/H-4e), 1.70 (2H, d, J = 8.1 Hz, H-6n/H-7n), 1.60 (3H, s, CH ₃ -5'')

^{13}C -NMR (100.6 MHz, CDCl_3) δ_{C} (ppm): 197.71 (s, C-4'), 173.82 (s, C-7'), 141.07 (d, C-2'), 140.77 (s, C-3'), 134.76 (s, C-3''), 119.67 (d, C-2''), 72.03 (s, C-1'), 70.41 (d, C-3), 59.92 (d, C-1/C-5), 40.17 (q, N-CH₃), 36.27 (t, C-4), 36.18 (t, C-2), 34.14 (t, C-5'), 34.04 (t, C-6'), 27.40 (t, C-1''), 25.82 (q, C-4''), 25.42 (t, C-7), 25.32 (t, C-6), 17.74 (q, C-5'')

5.4.4.4.1.1 Synthese der Mosher-Ester

Die Aufklärung der Stereochemie von Consabatin (**18**) sollte mittels Bildung der sog. Mosher-Ester erfolgen.

Vorbereitend wurden zwei 10 mL-Spitzkolben, zwei Rührkerne und je zwei große und kleine Pipettenspitzen bei 100°C im Trockenschrank absolut lösemittelfrei gemacht. Die oben erhaltenen 12.2 mg Consabatin wurden in zwei Portionen à 6.1 mg geteilt und in je 0.5 mL wasserfreiem Dichlormethan gelöst. Dazu wurde das Dichlormethan über Calciumhydrid (CaH_2) getrocknet und dann destilliert. Es wurde mittels eines Molsiebess (Diatomeenerde) wasserfrei gehalten. Unter N_2 -Begasung wurden in jedem der beiden Spitzkolben 0.5 mL Consabatin-Lösung mit 8.8 mg Dimethylaminopyridin (DMAP) versetzt. Anschließend wurden jeweils 3.7 μL Triethylamin (TEA) zupipettiert, und dann zügig 6.6 μL des (-)- bzw. (+)-2-Methoxy-2-trifluormethyl-phenyllessigsäure(MTPA)chlorids. Die Ansätze wurden über Nacht mit dem Magnetrührer unter N_2 -Begasung gerührt. Um die Reaktion zu beenden, wurden jeweils 4.34 μL 3-[(Dimethylamino)propyl]amin (3-DMAPA) zugegeben, wobei nochmals 10 min gerührt wurde. Nun wurden die beiden Lösungen einrotiert und in Dichlormethan aufgenommen. Zur Abtrennung der Mosher-Ester von den Reaktionsmittelresten wurde eine präparative DC durchgeführt.

Stationäre Phase: DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄
 Mobile Phase: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_3$ konz. (40:10:1, V/V/V)
 Laufstrecke: 7.5 cm
 Detektion: Dragendorffs Reagenz nach MUNIER

Da auch die Reaktanden Dragendorff-positiv reagieren, erfolgte die Identifizierung der S- und R-MTPA-Ester des Consabatins über den Vergleich mit einer DC des Gemisches der reinen Reagenzien. So konnten die Substanzzonen eindeutig den Mosher-Estern zugeordnet werden. Die Banden wurden jeweils mit dem Spatel ausgekratzt, und das Kieselgel mit zweimal 10 mL Aceton eluiert. Dann wurde zentrifugiert, der Überstand dekantiert, und den Proben am Rotationsverdampfer das Lösemittel entzogen. Die beiden Mosher-Ester wurden der Strukturaufklärung zugeführt.

S-MTPA-Consabatin

Menge: 4.2 mg
 Summenformel: $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{NO}_6\text{F}_3$

Molmasse:	[M] ⁺ 563
R _f -Wert:	0.69 (CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz.; 40:10:1)
¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃) δ(ppm):	7.36-7.45 (5H, <i>m</i> , Aromat), 6.92 (1H, <i>s</i> , H-2'), 5.22 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 4.4 Hz, H-3), 5.06 (1H, <i>br t</i> , <i>J</i> = 7.0 Hz, H-2''), 3.78 (1H, <i>m</i> , H-5'd), 3.76 (1H, <i>m</i> , H-5'u), 3.57 (3H, <i>s</i> , N-CH ₃), 3.55 (3H, <i>s</i> , O-CH ₃), 3.39 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7.3 Hz, H-2a/H-4a), 3.09 (2H, <i>m</i> , H-1/H-5), 2.95 (2H, <i>br d</i> , <i>J</i> = 7.4 Hz, CH ₂ -1''), 2.47 (2H, <i>m</i> , H-6x/H-7x), 2.29 (1H, <i>m</i> , H-6'd), 2.24 (1H, <i>m</i> , H-6'u), 2.12 (2H, <i>br d</i> , <i>J</i> = 16.1 Hz, H-6n/H-7n), 1.92 (2H, <i>br d</i> , <i>J</i> = 16.6 Hz, H-2e/H-4e), 1.76 (3H, <i>s</i> , CH ₃ -4''), 1.61 (3H, <i>s</i> , CH ₃ -5'')

R-MTPA-Consabatin

Menge:	3.7 mg
Summenformel:	C ₃₀ H ₃₆ NO ₆ F ₃
Molmasse:	[M] ⁺ 563
R _f -Wert:	0.68 (CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz.; 40:10:1)
¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃) δ(ppm):	7.38-7.49 (5H, <i>m</i> , Aromat), 6.89 (1H, <i>s</i> , H-2'), 5.25 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 5.1 Hz, H-3), 5.05 (1H, <i>br t</i> , <i>J</i> = 7.3 Hz, H-2''), 3.78 (1H, <i>m</i> , H-5'd), 3.75 (1H, <i>m</i> , H-5'u), 3.54 (3H, <i>s</i> , N-CH ₃), 3.50 (3H, <i>s</i> , O-CH ₃), 3.39 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7.2 Hz, H-2a/H-4a), 3.18 (2H, <i>m</i> , H-1/H-5), 2.96 (2H, <i>br d</i> , <i>J</i> = 7.0 Hz, CH ₂ -1''), 2.50 (2H, <i>m</i> , H-6x/H-7x), 2.30 (1H, <i>m</i> , H-6'd), 2.25 (1H, <i>m</i> , H-6'u), 2.14 (2H, <i>br d</i> , <i>J</i> = 15.8 Hz, H-6n/H-7n), 1.98 (2H, <i>br d</i> , <i>J</i> = 16.4 Hz, H-2e/H-4e), 1.73 (3H, <i>s</i> , CH ₃ -4''), 1.57 (3H, <i>s</i> , CH ₃ -5'')

5.4.4.4.2 Merresectin B (19)

Neben dem Consabatin (**18**) wurde aus dem Basen-Extrakt der Wurzeln von *Convolvulus sabatius* Verbindung **19** isoliert. Der Basen-Extrakt wurde mittels präparativer HPLC weiter fraktioniert (s. 5.4.4.4.1). Peak **9** konnte identifiziert werden als

Merresectin B (19)

Menge:	14 mg
Summenformel:	C ₃₁ H ₄₅ NO ₈
Molmasse:	[M] ⁺ 559
R _f -Wert:	0.36 (CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz.; 40:10:1)

R _f :	830 s (70:30 H ₂ O ^{Sre} /MeOH, nach 20 min 30:70, nach 30 min 1:99) 49 min (80:20 H ₂ O ^{Sre} /MeOH nach 40:60 in 60 min)
UV (λ _{max}):	209, 249
¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃) δ(ppm):	7.67 (2H, s, H-2'/H-6'), 5.24 (1H, t, J = 4.0 Hz, H-3), 5.08 (2H, qt, J = 1.5 Hz und 7.3 Hz, H-2''/H-2'''), 4.73 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1''''), 3.80 (1H, m, H-6''''d), 3.70 (1H, dd, J = 7.0 Hz und 14.0 Hz, H-6''''u), 3.36-3.55 (3H, m, H-2''''/H-3''''/H-4''''), 3.25 (1H, td, J = 4.2 Hz und 8.7 Hz, H-5''''), 3.20 (1H, br s, H-5), 3.16 (1H, br s, H-1), 2.92 (4H, d, J = 7.4 Hz, CH ₂ -1''/CH ₂ -1'''), 2.78 (3H, br s, N-CH ₃), 2.48 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-6n/H-7n), 2.38 (2H, m, H-2a/H-4a), 2.31 (2H, m, H-6x/H-7x), 2.11 (2H, d, J = 15.2 Hz, H-2e/H-4e), 1.76 (6H, s, CH ₃ -4''/CH ₃ -4'''), 1.60 (6H, s, CH ₃ -5''/CH ₃ -5''')

5.4.4.4.3 Merresectin D-β-glucosid (20)

Nach der Aufarbeitung des Basen-Extraktes aus den Wurzeln von *Convolvulus sabatius* mittels präparativer HPLC in 5.4.4.4.1 wurde Fraktion **5+6** wie dort beschrieben über präparative DC weiter aufgetrennt. Zone **C** konnte identifiziert werden als

Merresectin D-β-glucosid (20)

Menge:	5 mg
Summenformel:	C ₂₇ H ₃₉ NO ₉
Molmasse:	[M] ⁺ 521
R _f -Wert:	0.23 (CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz.; 40:10:1)
EIMS, m/z (rel. Int. %), 70 eV, 230°C:	359 (11), 329 (2), 219 (2), 180 (1), 163 (2), 151 (3), 140 (20), 124 (100), 108 (2), 97 (16), 95 (18), 94 (14), 83 (44), 82 (25), 67 (12), 55 (17)
(+)-FABMS, m/z:	[M+H] ⁺ 522
¹ H-NMR (400 MHz, Aceton-D ₆) δ(ppm):	7.49 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 7.48 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6'), 5.35 (1H, br t, J = 7.5 Hz, H-2''), 5.27 (1H, m, H-3), 5.06 (1H, d, J = 7.4 Hz, H-1'''), 3.93 (3H, s, O-CH ₃), 3.78 (1H, m, H-6''d), 3.64 (1H, m, H-6''u), 3.53 (2H, br d, J = 7.6 Hz, CH ₂ -1''), 3.24-3.51 (4H, m, H-2'''/H-3'''/H-4'''/H-5'''), 3.14 (1H, br s, H-5), 3.11 (1H, br s, H-1), 2.48 (3H, s, N-CH ₃), 2.36 (2H, m, H-2a/H-4a), 2.28 (4H, m, CH ₂ -6/CH ₂ -7), 1.74 (2H, d, J = 13.9 Hz, H-2e/H-4e), 1.72 (3H, s, CH ₃ -4''), 1.63 (3H, s, CH ₃ -5'')

5.4.4.4 Merresectin E- β -glucosid (21)

Die aus dem Basen-Extrakt der Wurzeln von *Convolvulus sabatius* nach präparativer HPLC und anschließender Auftrennung der Fraktion **5+6** mittels präparativer DC (s. 5.4.4.4.1) erhaltene Zone **D** erwies sich als

Merresectin E- β -glucosid (21)

Menge:	8 mg
Summenformel:	C ₂₆ H ₃₇ NO ₈
Molmasse:	[M] ⁺ 491
R _f -Wert:	0.17 (CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz.; 40:10:1)
EIMS, <i>m/z</i> (rel. Int. %), 70 eV, 220°C:	491 (18), 329 (11), 189 (5), 167 (13), 151 (6), 140 (28), 124 (100), 105 (4), 97 (29), 95 (29), 94 (18), 83 (67), 82 (32), 67 (19), 55 (34)
¹ H-NMR (400 MHz, CD ₃ OD) δ (ppm):	7.86 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 2.0 Hz und 8.7 Hz, H-6'), 7.80 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2.0 Hz, H-2'), 7.22 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8.7 Hz, H-5'), 5.36 (1H, <i>br t</i> , <i>J</i> = 7.3 Hz, H-2''), 5.22 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 4.5 Hz, H-3), 5.03 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7.4 Hz, H-1'''), 3.90 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 1.8 Hz und 12.0 Hz, H-6'''d), 3.70 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 5.5 Hz und 12.0 Hz, H-6'''u), 3.53 (2H, <i>br s</i> , H-1/H-5), 3.44 (2H, <i>br d</i> , <i>J</i> = 7.5 Hz, CH ₂ -1''), 3.36-3.56 (4H, <i>m</i> , H-2'''/H-3'''/H-4'''/H-5'''), 2.56 (3H, <i>s</i> , N-CH ₃), 2.32 (2H, <i>td</i> , <i>J</i> = 1.5 Hz und 16.0 Hz, H-2a/H-4a), 2.27 (4H, <i>br s</i> , CH ₂ -6/CH ₂ -7), 2.00 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 15.3 Hz, H-2e/ H-4e), 1.78 (3H, <i>s</i> , CH ₃ -4''), 1.72 (3H, <i>s</i> , CH ₃ -5'')

5.4.4.5 Bonabiline aus *Bonamia spectabilis*

Aus in Madagaskar gesammelten Samen von *Bonamia spectabilis* wurden Pflanzen angezogen, die im institutseigenen Gewächshaus kultiviert wurden. Insgesamt 484 g getrocknete und gemahlene Wurzeln wurden erst mit 4 L, dann zweimal mit 3.5 L Methanol und schließlich mit 3.5 L einer Mischung aus Methanol und 2%iger wässriger Weinsäure-Lösung (4:1, V/V) jeweils fünf Stunden unter Verwendung eines Flügelrührers extrahiert. Der Methanol wurde am Rotationsverdampfer bei 50°C i.V. abrotiert, und die 53.3 g Trockenrückstand in den verbliebenen 500 mL Weinsäure-Lösung aufgenommen. Nun wurde im Schütteltrichter mit viermal 400 mL Petrolether und mit je dreimal 400 mL Dichlormethan und Ethylacetat ausgeschüttelt. Die Wasserphase wurde anschließend mit 25%iger wässriger Ammoniaklösung alkalisiert und mit dreimal 400 mL Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten Trockenrückstände ergaben nach Trocknen über Natriumsulfat und Entfernen des Lösemittels am Rotavapor 357.4 mg Basen-Rohextrakt.

Zur weiteren Auftrennung wurde der Extrakt mit 0.5 g Kieselgur (Celite®) und 20 mL Chloroform versetzt und einrotiert. Das so erhaltene Pulver wurde säulenchromatographisch fraktioniert.

Säule:	Glassäule, ID = 1.7 cm, l = 45 cm
Stationäre Phase:	10 g Kieselgel 60 in 100 mL CHCl ₃ , FH = 13 cm
Mobile Phase:	150 mL CHCl ₃ /MeOH (99:1, V/V) + 100 µL NH ₃ (25%) 100 mL CHCl ₃ /MeOH (95:5, V/V) + 100 µL NH ₃ (25%) 100 mL CHCl ₃ /MeOH (90:10, V/V) + 100 µL NH ₃ (25%) 200 mL CHCl ₃ /MeOH (80:20, V/V) + 100 µL NH ₃ (25%) 100 mL CHCl ₃ /MeOH (70:30, V/V) + 100 µL NH ₃ (25%) 100 mL CHCl ₃ /MeOH (30:70, V/V) + 100 µL NH ₃ (25%) 150 mL MeOH 100 mL MeOH + 1.5 mL NH ₃ (25%)
Fraktionsvolumen:	7 mL
Flußrate:	1.3 mL/min

5.4.4.5.1 Bonabilin A (22)

Fraktionen **41-48** der zur Auftrennung des Basen-Extrakts der Wurzeln von *Bonamia spectabilis* verwendeten Kieselgel-Säule wurden direkt der Strukturaufklärung zugeführt und ergaben

Bonabilin A (22)

Menge:	12.7 mg
Summenformel:	C ₁₈ H ₂₉ NO ₄
Molmasse:	[M] ⁺ 323
R _f -Wert:	0.34 (CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz.; 70:30:2)
$[\alpha]_{20}^D$ (grad mL g ⁻¹ dm ⁻¹)	-7.26
EIMS, <i>m/z</i> (rel. Int. %), 80 eV, 100°C:	323 (11), 305 (6), 238 (6), 236 (4), 222 (2), 220 (2), 140 (11), 124 (100), 96 (11), 95 (7), 94 (11), 83 (3), 82 (19)
HRMS, <i>m/z</i> :	323.20956 (C ₁₈ H ₂₉ NO ₄ , ber. 323.20966) 305.19899 (C ₁₈ H ₂₇ NO ₃ , ber. 305.19909) 238.14481 (C ₁₃ H ₂₀ NO ₃ ⁺ , ber. 238.14432) 236.12877 (C ₁₃ H ₁₈ NO ₃ ⁺ , ber. 236.12867) 140.10749 (C ₈ H ₁₄ NO ⁺ , ber. 140.10754) 124.11260 (C ₈ H ₁₄ N ⁺ , ber. 124.11262)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 5.07 (1H, *br t*, $J = 5.2$ Hz, H-3), 4.82 (1H, *dd*, $J = 3.6$ Hz und 7.8 Hz, H-3'), 4.28 (1H, *ddd*, $J = 1.4$ Hz, 3.0 Hz und 7.7 Hz, H-4'), 3.17 (2H, *br s*, H-1/H-5), 2.80 (1H, *t*, $J = 3.2$ Hz, H-2'), 2.56 (1H, *dt*, $J = 2.9$ Hz und 5.8 Hz, H-1'), 2.32 (3H, *s*, N- CH_3), 2.25 (1H, *m*, H-7'd), 2.20 (2H, *m*, H-2a/H-4a), 2.14 (1H, *dt*, $J = 3.2$ Hz und 5.4 Hz, H-5'), 2.06 (2H, *m*, H-6x/H-7x), 1.93 (2H, *d*, $J = 7.6$ Hz, H-6n/H-7n), 1.68 (2H, *br d*, $J = 12.3$ Hz, H-2e/H-4e), 1.46 (1H, *d*, $J = 10.6$ Hz, H-7'u), 1.30 (3H, *s*, CH_3 -8'), 0.77 (3H, *s*, CH_3 -9')

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, MeOD) δ_c (ppm): 174.1 (*s*, C-10'), 68.9 (*d*, C-4'), 67.9 (*d*, C-3), 64.2 (*d*, C-3'), 60.0 (*d*, C-1/C-5), 55.3 (*d*, C-2'), 47.8 (*d*, C-5'), 43.5 (*d*, C-1'), 40.2 (*s*, C-6'), 39.2 (*q*, N- CH_3), 36.7 (*t*, C-2/C-4), 26.7 (*q*, C-8'), 25.8 (*t*, C-6/C-7), 25.4 (*t*, C-7'), 21.5 (*q*, C-9')

Für die pharmakologische Testung wurde die Substanz wie folgt weiter aufgereinigt. 6 mg Bonabilin wurden in zweimal 2 mL 0.6%iger wässriger Weinsäure-Lösung aufgenommen und auf eine mit Aqua dest. konditionierte SCX-Kationenaustauscher-Fertigsäule gegeben. Nach Spülen mit 8 mL Aqua dest. wurde mit 8 mL 3.5%iger wässriger Ammoniaklösung eluiert. Anschließend wurde mit 4 mL Aqua dest. gespült, bis das Eluat neutral reagierte. Die ammoniakalische Wasserlösung (~ 12 mL) wurde nun dreimal mit 15 mL Dichlormethan ausgeschüttelt. Die Dichlormethan-Fractionen wurden mit Natriumsulfat wasserfrei gemacht und bei 40°C i.V. zur Trockne einrotiert. Es wurden 3.4 mg reinstes Bonabilin A erhalten.

5.4.4.5.2 Bonabilin B (23)

Im Dünnschichtchromatogramm zeigten Fraktionen **34-40** der vom Basen-Extrakt der Wurzeln von *Bonamia spectabilis* angefertigten Kieselgel-Säule mehrere Dragendorff-positiv reagierende Substanzen. Daher wurden die 22.12 mg mittels präparativer DC weiter aufgetrennt.

Stationäre Phase: DC-Alufohlen Kieselgel 60 F₂₅₄
 Mobile Phase: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_3$ konz. (70:30:2, V/V/V)
 Laufstrecke: 15 cm

Der Rand der entwickelten Platten wurde jeweils abgeschnitten und mit Dragendorffs Reagenz besprüht. Bei positiver Reaktion wurde die korrespondierende Substanzzone mit dem Spatel ausgekratzt und das Kieselgel im Ultraschallbad mit 20 mL CHCl_3 und 20 mL MeOH eluiert. Nach Abzentrifugieren wurde der Überstand einrotiert und der Struktur-aufklärung zugeführt. Fraktion **34E** ergab

Bonabilin B (23)

Menge:	5.2 mg
Summenformel:	C ₁₈ H ₂₇ NO ₃
Molmasse:	[M] ⁺ 305
R _f -Wert:	0.29 (CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz.; 70:30:2)
EIMS, <i>m/z</i> (rel. Int. %), 80 eV, 80°C:	305 (17), 288 (4), 248 (3), 236 (14), 220 (11), 194 (1), 140 (12), 124 (100), 96 (9), 95 (5), 94 (8), 83 (12), 82 (11)
HRMS, <i>m/z</i> :	305.19899 (C ₁₈ H ₂₇ NO ₃ , ber. 305.19909) 288.19639 (C ₁₈ H ₂₆ NO ₂ ⁺ , ber. 288.19635) 236.1290 (C ₁₃ H ₁₈ NO ₃ ⁺ , ber. 236.12867) 220.13312 (C ₁₃ H ₁₈ NO ₂ ⁺ , ber. 220.13375) 140.10749 (C ₈ H ₁₄ NO ⁺ , ber. 140.10754) 124.11248 (C ₈ H ₁₄ N ⁺ , ber. 124.11262)
¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃) δ(ppm):	6.69 (1H, <i>br s</i> , H-3'), 5.06 (1H, <i>br t</i> , <i>J</i> = 4.7 Hz, H-3), 4.47 (1H, <i>br s</i> , H-4'), 3.12 (2H, <i>br s</i> , H-1/H-5), 2.86 (1H, <i>br t</i> , <i>J</i> = 5.2 Hz, H-1'), 2.40 (1H, <i>td</i> , <i>J</i> = 5.7 Hz und 9.5 Hz, H-7'd), 2.29 (3H, <i>s</i> , N-CH ₃), 2.25 (1H, <i>m</i> , H-5'), 2.15 (2H, <i>br d</i> , <i>J</i> = 14.9 Hz, H-2a/H-4a), 2.04 (2H, <i>m</i> , H-6x/H-7x), 1.93 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8.9 Hz, H-6n/H-7n), 1.73 (2H, <i>br d</i> , <i>J</i> = 15.4 Hz, H-2e/H-4e), 1.41 (3H, <i>s</i> , CH ₃ -8'), 1.26 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 10.8 Hz, H-7'u), 0.85 (3H, <i>s</i> , CH ₃ -9')
¹³ C-NMR (100.6 MHz, MeOD) δ _c (ppm); aus C-H-COSY und HMBC:	166.2 (<i>s</i> , C-10'), 143.4 (<i>s</i> , C-2'), 136.0 (<i>d</i> , C-3'), 70.3 (<i>d</i> , C-4'), 68.1 (<i>d</i> , C-3), 60.5 (<i>d</i> , C-1/C-5), 48.1 (<i>d</i> , C-5'), 47.0 (<i>s</i> , C-6'), 42.9 (<i>d</i> , C-1'), 40.5 (<i>q</i> , N-CH ₃), 37.2 (<i>t</i> , C-2/C-4), 29.3 (<i>t</i> , C-7'), 26.7 (<i>q</i> , C-8'), 26.4 (<i>t</i> , C-6/C-7), 20.9 (<i>q</i> , C-9')

5.4.4.5.3 Weitere Bonabiline

Ebenfalls aus den Fraktionen **BonSpecWu 34-40** der Kieselgel-Säule (s. 5.4.4.5) und mittels anschließender präparativer DC (s. 5.4.4.5.2) konnte Substanz **34B** bei R_f 0.48 erhalten werden.

Auch von den Fraktionen **BonSpecWu 41-48** der Kieselgel-Säule (s. 5.4.4.5) wurde eine präparative DC angefertigt:

Stationäre Phase:	DC-Alufolien Kieselgel 60 F ₂₅₄
Mobile Phase:	CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz. (70:30:2, V/V/V)
Laufstrecke:	14 cm

Die einzelnen Substanzzonen wurden wie oben unter 5.4.4.5.2 aufgearbeitet. **BonSpecWu 49B** lag bei R_f 0.26.

Die aus dem Gewächshausanbau erhaltenen 2460 g Kraut von *Bonamia spectabilis* wurden in vier Ansätze aufgeteilt und jeweils mit einmal 4 L und zweimal 3 L Methanol 4 Stunden unter Einsatz eines Flügelrührers extrahiert. Die Trockenrückstände wurden in je 600 mL 2%iger wässriger Weinsäure-Lösung aufgenommen und aufgrund des hohen Chlorophyll-Anteils viermal mit je 500 mL Petrolether und Dichlormethan, dann dreimal mit 500 mL Ethylacetat ausgeschüttelt. Nach Alkalisierung der Wasserphase mit wässriger NH_3 -Lösung wurde viermal mit 500 mL Dichlormethan ausgeschüttelt. Die i. V. zur Trockne einrotierten, nun vereinigten Rückstände der Basen-Extrakte wurden in 100 mL 2%iger wässriger Weinsäure-Lösung gelöst und ein zweites Mal ausgeschüttelt, erst mit 100 mL Petrolether, dann mit je dreimal 100 mL Dichlormethan und Ethylacetat. Mit wässriger NH_3 -Lösung wurde die Wasserphase auf pH 11 eingestellt und fünfmal mit 100 mL Dichlormethan ausgeschüttelt. 222 mg reinste Base wurden in Chloroform gelöst, auf 1 g Celite aufgezogen und der Säulenchromatographie an Kieselgel zugeführt.

Säule:	Glassäule, ID = 1.7 cm, l = 45 cm
Stationäre Phase:	10 g Kieselgel 60 in 100 mL CHCl_3 , FH = 14 cm
Mobile Phase:	100 mL $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (98:2, V/V) + 100 μL NH_3 (25%)
	100 mL $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (95:5, V/V) + 100 μL NH_3 (25%)
	100 mL $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (92:8, V/V) + 100 μL NH_3 (25%)
	100 mL $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (89:11, V/V) + 100 μL NH_3 (25%)
	100 mL $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (86:14, V/V) + 100 μL NH_3 (25%)
	100 mL $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (83:17, V/V) + 100 μL NH_3 (25%)
	100 mL $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (80:20, V/V) + 100 μL NH_3 (25%)
	100 mL $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (75:25, V/V) + 100 μL NH_3 (25%)
	100 mL $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (70:30, V/V) + 100 μL NH_3 (25%)
	100 mL $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (30:70, V/V) + 100 μL NH_3 (25%)
	100 mL MeOH + 100 μL NH_3 (25%)
	150 mL MeOH
	100 mL MeOH + 1.5 mL NH_3 (25%)
Fraktionsvolumen:	7 mL
Flußrate:	1.3 mL/min

Fraktionen **BonSpecKr 60-69** wurden direkt der Strukturaufklärung zugeführt und als Gemisch aus zwei Substanzen identifiziert.

Die Fraktionen **BonSpecKr 70-80** wogen insgesamt 14 mg und enthielten ein Substanzgemisch. Dieses wurde mittels präparativer DC aufgetrennt.

Stationäre Phase:	DC-Alufolien Kieselgel 60 F ₂₅₄
Mobile Phase:	$\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_3$ konz. (40:10:1, V/V/V)
Laufstrecke:	7.5 cm

Das ausgeschabte Kieselgel wurde zweimal mit 5 mL Methanol + 5 mL Aceton extrahiert. Es wurden 4.0 mg Substanz **70A** (R_f 0.29) und 4.6 mg Substanz **70B** (R_f 0.24) erhalten.

5.4.4.6 Ipvelutin (24) aus *Ipomoea velutina*

Das Kraut von *Ipomoea velutina* wurde im institutseigenen Tropengewächshaus geerntet. 234.5 g z.T. welches Kraut wurden getrocknet, gemahlen und dreimal 4 Stunden mit dem Flügelrührer mit je 3 L Methanol extrahiert. Anschließend wurde noch einmal mit einer Mischung aus 2.4 L Methanol und 600 mL 2%iger wässriger Weinsäure-Lösung extrahiert. Der Methanol wurde abrotiert und die vereinigten Trockenrückstände (33.5 g) in der verbliebenen Weinsäure-Lösung aufgenommen. Nun wurde nacheinander mit jeweils dreimal 500 mL Petrolether, Dichlormethan und Ethylacetat ausgeschüttelt. Die Wasserphase wurde mit wässriger Ammoniaklösung auf pH 10 alkalisiert und viermal mit 500 mL Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinten, mit NaSO₄ wasserfrei gemachten und zur Trockne einrotierten basischen Dichlormethan-Fractionen ergaben einen Basen-Rohextrakt von 172 mg. Dieser wurde in 50 mL 2%iger wässriger Weinsäure-Lösung aufgenommen und erneut ausgeschüttelt mit einmal 50 mL Petrolether und je dreimal 50 mL Dichlormethan und Ethylacetat. Die nach Zugabe wässriger Ammoniaklösung basische Wasserphase (etwa pH 10) wurde viermal mit je 50 mL Dichlormethan ausgeschüttelt. Wiederum über NaSO₄ getrocknet und einrotiert ergaben die vereinten basischen Dichlormethan-Extrakte 10 mg Base. Diese wurden direkt zur Vermessung gegeben und strukturaufgeklärt als

Ipvelutin (24)

Menge:	10 mg
Summenformel:	C ₁₅ H ₂₃ NO ₄ (bzw. C ₁₅ H ₂₃ NO ₅)
Molmasse:	[M] ⁺ 281 (bzw. 297)
R _f -Wert:	0.63 (CHCl ₃ /MeOH/NH ₃ konz.; 40:10:1)
EIMS, <i>m/z</i> (rel. Int. %), 80 eV, 110°C:	281 (2), 239 (83), 195 (7), 156 (100), 142 (60), 140 (35), 112 (11), 98 (46), 96 (84), 95 (91), 94 (50), 85 (41), 84 (31), 83 (27), 55 (22), 43 (20)
(+)-FABMS, <i>m/z</i> :	[M+H] ⁺ 282 (bzw. [M+OH] ⁺ 298)
HRMS, <i>m/z</i> :	281.16256 (C ₁₅ H ₂₃ NO ₄ , ber. 281.16271) 239.15283 (C ₁₃ H ₂₁ NO ₃ , ber. 239.15214) 156.10254 (C ₈ H ₁₄ NO ₂ ⁺ , ber. 156.10245) 142.12307 (C ₈ H ₁₆ NO ⁺ , ber. 142.12318; 80%) 142.08678 (C ₇ H ₁₂ NO ₂ ⁺ , ber. 142.08681; 20%) 140.10749 (C ₈ H ₁₄ NO ⁺ , ber. 140.10754) 98.095073 (C ₆ H ₁₂ N ⁺ , ber. 98.09698; 30%) 98.062524 (C ₅ H ₈ NO ⁺ , ber. 98.06059; 70%) 95.072728 (C ₆ H ₉ N, ber. 95.073499) 83.04959 (C ₅ H ₇ O ⁺ , ber. 83.04969)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOD) $\delta(\text{ppm})$:	6.96 (1H, <i>dq</i> , $J = 1.2$ Hz und 6.9 Hz, H-3'), 5.02 (1H, <i>ddd</i> , $J = 2.2$ Hz, 5.9 Hz und 11.3 Hz, H-2a), 4.61 (1H, <i>dd</i> , $J = 3.4$ Hz und 7.9 Hz, H-7n), 3.82 (1H, <i>br t</i> , $J = 5.2$ Hz, H-5), 3.55 (1H, <i>br d</i> , $J = 3.2$ Hz, H-1), 2.91 (3H, <i>s</i> , N-CH ₃), 2.36 (1H, <i>dd</i> , $J = 8.0$ Hz und 14.6 Hz, H-6n), 2.27 (1H, <i>ddd</i> , $J = 3.5$ Hz, 6.3 Hz und 14.7 Hz, H-6x), 1.98 (1H, <i>m</i> , H-3e), 1.93 (3H, <i>s</i> , CH ₃ -2''), 1.89 (1H, <i>m</i> , $J = 4.9$ Hz, 11.9 Hz und 13.7 Hz, H-4a), 1.84 (3H, <i>d</i> , $J = 0.9$ Hz, CH ₃ -5'), 1.83 (3H, <i>d</i> , $J = 7.1$ Hz, CH ₃ -4'), 1.68 (1H, <i>ddd</i> , $J = 2.3$ Hz, 6.7 Hz und 13.7 Hz, H-4e), 1.49 (1H, <i>ddd</i> , $J = 6.4$ Hz, 12.1 Hz und 12.8 Hz, H-3a)
$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, MeOD) $\delta_{\text{C}}(\text{ppm})$:	176.7 (<i>s</i> , C-1''), 167.8 (<i>s</i> , C-1'), 139.3 (<i>d</i> , C-3'), 129.0 (<i>s</i> , C-2'), 72.9 (<i>d</i> , C-1), 70.8 (<i>d</i> , C-7), 68.9 (<i>d</i> , C-2), 64.7 (<i>d</i> , C-5), 40.9 (<i>q</i> , N-CH ₃), 37.8 (<i>t</i> , C-6), 27.5 (<i>t</i> , C-4), 22.8 (<i>t</i> , C-3), 21.9 (<i>q</i> , C-2''), 14.1 (<i>q</i> , C-5'), 11.9 (<i>q</i> , C-4')

5.5 Pharmakologisches Testsystem

Am isolierten Meerschweinchenileum wurde die M₃-antagonistische Wirkung von Bonabilin A und Bonabilin B bestimmt.

Etwa 1.5 cm lange Segmente des Dünndarms wurden am Grund eines 20 mL fassenden Organbades mit einem Bindfaden an Haken befestigt. Das Bad wurde auf 37°C temperiert und enthielt mit 95% O₂/5% CO₂ durchströmte Tyrodelösung, die sich wie folgt zusammensetzt (Angaben jeweils in mmol/L): NaCl 137, KCl 2.7, CaCl₂ 1.8, MgCl₂ 1.0, NaH₂PO₄ 0.4, NaHCO₃ 11.0 und D-Glucose 5.6. Am anderen Ende wurden die Darmstücke mit einem isotonischen Transducer vom Typ TF6V5iso (W. Fleck, Mainz) verbunden; die zu Beginn angelegte Kraft betrug 5 mN. Mit Hilfe eines Siemens C 1016 Recorders wurden die kontraktile Effekte aufgezeichnet. Nach einer Stabilisierungsphase von 20 min wurden die Darmsegmente während der nächsten 45 min dreimal mit 1 μM Carbachol stimuliert, um eine konstante Reaktion, also eine gleichbleibende Kontraktion, zu erhalten. Nach 60 min Wartezeit wurde dem Organbad die Testsubstanz zugegeben. Die Antagonisten wurden 10 min inkubiert, dann wurde erneut mit Carbachol in steigenden Konzentrationen stimuliert. Hierzu wurde das Carbachol jeweils nach 15-30 sec mit 100 mL Tyrodelösung ausgespült und 15 min später die nächsthöhere Konzentration zugegeben.

Auf diese Weise wurden jeweils zwei bis vier kumulative Konzentrations-Wirkungs-Kurven von Carbachol in Abwesenheit, sowie in Anwesenheit der Testsubstanz erstellt.

Ein Maß für die Affinität eines Antagonisten ist der pA₂-Wert, der sich anhand folgender Gleichung berechnen läßt:

$$\text{pA}_2 = \text{pA}_x + \log(r-1)$$

Hierbei ist pA_x der negative Logarithmus der Konzentration des Antagonisten und r das Verhältnis der EC₅₀ des Agonisten in Anwesenheit und Abwesenheit des Antagonisten. Es werden jeweils der Durchschnitt und die Standardabweichung angegeben (pA₂ ± SEM).

6

Verzeichnisse

6.1 Abkürzungsverzeichnis

3-DMAPA	3-[(Dimethylamino)propyl]amin
a	axial; kennzeichnet das axiale Proton einer Methylengruppe
Abb.	Abbildung
AK	Arbeitskreis
analyt.	analytisch
Aqua dest.	destilliertes Wasser
ASDM	Arizona Sonora Desert Museum, in der Nähe von Tucson/Arizona (USA)
AUS	Australien
ax	axial
ber.	berechnet
<i>br</i>	breites
<i>c</i>	Konzentration
ca.	circa
CD	Circulardichroismus
CDCl ₃	deuteriertes Chloroform
CIFlorPan	Centro de Investigaciones Farmacognosticas de la Flora Panameña
CH ₂ Cl ₂	Dichlormethan
CHCl ₃	Chloroform
COSY	Correlated Spectroscopy
cv.	Kultivar
d	downfield; kennzeichnet das Proton einer Methylengruppe im Tieffeld
<i>d</i>	Dublett
δ	chemische Verschiebung
DC	Dünnschichtchromatographie
<i>dd</i>	Doppeldublett
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer
DMAP	Dimethylaminopyridin
DMSO	Dimethylsulfoxid
<i>dt</i>	Dublett eines Triplets
e	equatorial; kennzeichnet das äquatoriale Proton einer Methylengruppe
EI	Electron Impact (Elektronenstoß-Ionisation)
engl.	englisch
eq	äquatorial
<i>et al.</i>	und andere (et alii)
EtOAc	Ethylacetat
eV	Elektronenvolt
Fa.	Firma
FAB	Fast Atom Bombardment
FH	Füllhöhe der Chromatographiesäule mit Trennmaterial
GC	Gaschromatographie

GC-MS	Gaschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie
„HB“	Kultivar „Heavenly Blue“ von <i>Ipomoea tricolor</i>
H ₂ O	(destilliertes) Wasser
H ₂ O ^{Sre}	mit 0,5% Phosphorsäure versetztes destilliertes Wasser
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMDS	Hexamethyldisilazan
HMQC	Heteronuclear Multiple-Quantum Coherence
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography (Hochdruckflüssigkeitschromatographie)
HR	High Resolution (Hochauflösung)
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Coherence
ID	Innendurchmesser
Int.	Intensität
i.V.	im Vakuum
<i>J</i>	Kopplungskonstante
Jhd.	Jahrhundert
KG	Kieselgel 60
KS	Kammersättigung
konz.	konzentriert
l	Länge der Chromatographiesäule
LM	Lösungsmittel
λ	Wellenlänge
λ _{max}	UV-Absorptionsmaximum
<i>m</i>	Multiplett
[M] ⁺	Molpeak
MG	Molekulargewicht
MeOD	deuterierter Methanol
MeOH	Methanol
MS	Massenspektrometrie
MTPA	2-Methoxy-2-trifluormethyl-phenyllessigsäure
<i>m/z</i>	Masse-Ladungs-Verhältnis
n	endo; kennzeichnet das <i>endo</i> -ständige Proton einer Methylengruppe
NaSO ₄	Natriumsulfat
n. d.	nicht detektiert
NH ₃	wässrige Ammoniak-Lösung
NMR	Nuclear Magnetic Resonanz (Kernresonanz)
NOE	Nuclear Overhauser Effect (Kern-Overhauser-Effekt)
PAN	Panama
PE	Petrolether
pH	potentia hydrogenii (der negative dekadische Logarithmus der Wasserstoff-Ionenaktivität)
ppm	parts per million
präp.	präparativ

PVP	Polyvidon
<i>q</i>	Quartett
<i>quint</i>	Quintett
rel.	relativ
R_f	Retentionsfaktor (ratio to front)
RI	Retentionsindex
RP	Reversed Phase
R_t	Retentionszeit (retention time)
RT	Raumtemperatur
<i>s</i>	Singulett
s.	siehe
s.l.	im weiteren Sinne (sensu lato)
<i>sept</i>	Septett
sp.	Spezies
ssp.	Subspezies
sub nom.	unter dem Namen (sub nomine)
Syn.	Synonym(e)
<i>t</i>	Triplett
Tab.	Tabelle
TEA	Triethylamin
tert.	tertiär
TKS	Torf-Kies-Sand-Gemisch
TMCIS	Chlortrimethylsilan
TMS	Tetramethylsilan
u	upfield; kennzeichnet das Proton einer Methylengruppe im Hochfeld
Übers.	Übersetzung
UV	Ultraviolett
var.	Varietät
wäßr.	wäßrig
WB	Wasserbad
x	exo; kennzeichnet das <i>exo</i> -ständige Proton einer Methylengruppe
zit.	zitiert
ZNS	Zentrales Nervensystem

6.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: *Atropa belladonna* L. (BioLib.de)

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/a/a0/Illustration_Atropa_bella-donna0.jpg/180px-Illustration_Atropa_bella-donna0.jpg

Abb. 2: Michael Herr „Zauberey“ (Sammlung Germanisches Nationalmuseum, Nürnberg)

Abb. 3: Atropin als S-(-)-Hyoscyamin und R-(+)-Hyoscyamin

Abb. 4: Scopolamin

Abb. 5: Wirkstoffe von Pamin[®], Buscopan[®], Tropenzilium[®], Spasmex[®]

Abb. 6: Tiotropiumbromid

Abb. 7: Benztropin-mesilat

Abb. 8: Ioflupane

Abb. 9: Cocain

Abb. 10: *Erycibe obtusifolia* BENTH. (data source: China Plant thematic databases)

<http://www.plant.csdb.cn>

und das darin enthaltene Bao Gong Teng A

Abb. 11: *Calystegia sepium* L. (wikipedia.org)

[http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Calystegia_sepium_sepium_\(aka\).jpg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Calystegia_sepium_sepium_(aka).jpg)

und das darin enthaltene Calystegin B₂

Abb. 12: Ololiuqui (aus: *Planta Medica* 4, 354-367; s. Lit.: Hofmann, 1961)

Abb. 13: Extraktionsschema für die getrockneten und gemahlene Drogen

Abb. 14: Strukturformeln einiger nachgewiesener Pyrrolidin-Alkaloide

Abb. 15: Nortropan-3-on, 3 α -Tropanol und 3 β -Tropanol

Abb. 16: Acylkomponenten detektierter aliphatischer und aromatischer 3-Tropanolester

Abb. 17: Merredissin

Abb. 18: Ipvelutin

Abb. 19: Ipangulin A

Abb. 20: Minalobin R

Abb. 21: bei Convolvulaceae häufig auftretende Ergoline

Abb. 22: Phenylethylamin

Abb. 23: Tyramin

Abb. 24: Tryptamin

Abb. 25: Indol

Abb. 26: Harman

Abb. 27: die am häufigsten nachgewiesenen Calystegine A₃, B₁ und B₂

Abb. 28: *Operculina riedeliana* (OLIVER) OOSTSTR. (Photographie: E. Eich)

Abb. 29: DC der Kieselgel-Säule der Ausläufer von *Operculina riedeliana*
(Fließmittel: EtOAc/H₂O/Ameisensäure/Eisessig, 40:4:4:8)

Abb. 30: Fragmentierung von N-*trans-p*-Cumaroyltyramin (1) im EIMS

Abb. 31: *Ipomoea plebeia* R. BR. (© Darren Williams, Herbalistics Pty Ltd, Australia)

http://herbalistics.com.au/shop2/catalog/images/I_pleibia1.jpg

- Abb. 32: UV-Spektrum von N-*trans*-Feruloyltyramin (**2**)
- Abb. 33: N-*trans*-Feruloyltyramin (**2**)
- Abb. 34: Cuscohygrin (**3**)
- Abb. 35: das für den Menschen toxische Pyrrolizidinalkaloid Symphytin
- Abb. 36: *Ipomoea cristulata* HALLIER f. in ihrem natürlichen Habitat (Gila Wilderness, Arizona, USA)
- Abb. 37: Abfolge der Signale am Beispiel von Curassavin (nach Mohanraj und Herz, 1982)
- Abb. 38: HRMS von Verbindung **4** mit Zerfallsionen
- Abb. 39: Minalobin O (**4**)
- Abb. 40: Massenerfall des Tropan-3-on unter α -Spaltung der C₁-C₇-Bindung (aus Budzikiewicz *et al.*, 1964)
- Abb. 41: Massenerfall des Tropan-3-on unter α -Spaltung der C₁-C₂-Bindung (aus Budzikiewicz *et al.*, 1964)
- Abb. 42: Tropan-3-on (**5**)
- Abb. 43: 3 α -Tropanol (**6**)
- Abb. 44: 3 β -Tropanol (**7**)
- Abb. 45: Grundstruktur der 3 α - und 3 β -Tropanolester
- Abb. 46: *Falkia repens* L. f. im Schaugewächshaus des Botanischen Gartens Berlin
- Abb. 47: 3 α -Acetoxytropan (**8**)
- Abb. 48: 3 α -Acetoxytropan-N-oxid (**9**)
- Abb. 49: 3 β -Acetoxytropan-N-oxid (**10**)
- Abb. 50: 3 α -(2'-Methylbutyryloxy)tropan (**11**)
- Abb. 51: Signalaufspaltung von H-3 im ¹H-NMR bei Parello *et al.* und bei Verbindung **12**
- Abb. 52: 3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan (**12**)
- Abb. 53: 3 β -(2'-Methylbutyryloxy)tropan-N-oxid (**13**)
- Abb. 54: Kopplungssequenz von 3 β -Tigloyloxytropan-N-oxid im H-H-COSY
- Abb. 55: 3 β -Tigloyloxytropan-N-oxid (**14**)
- Abb. 56: 3 β -*trans* Isoferuloyloxytropan (**15**)
- Abb. 57: ¹³C-NMR-Werte: nach Inkrementsystem / gemessen
- Abb. 58: *Astripomoea malvacea* (KLOTZSCH) MEEUSE im institutseigenen Gewächshaus
- Abb. 59: wissenschaftliche Zeichnung von *Astripomoea malvacea* (aus Lejoly und Lisowski, 1993)
- Abb. 60: H-H-COSY von Verbindung **16** (in MeOD)
- Abb. 61: C-H-COSY von Verbindung **16** (in MeOD)
- Abb. 62: aus den Kernresonanzspektren ermittelte Strukturdaten und Kopplungssequenz der zweiten Acylkomponente von Verbindung **16**
- Abb. 63: Astrimalvin A-N-oxid (**16**)
- Abb. 64: H-H-COSY von Verbindung **17** (in MeOD)
- Abb. 65: Kopplungssequenz des Tropan-Teils von Verbindung **17** im H-H-COSY
- Abb. 66: Kopplungssequenz der Acylkomponente von Verbindung **17** im H-H-COSY
- Abb. 67: Astrimalvin B (**17**)
- Abb. 68: *Convolvulus sabatius* Viv.
(© Ulrich Katz, Botanischer Garten, Ruhr-Universität Bochum)
- http://www.ruhr-uni-bochum.de/boga/html/Convolvulus_sabatius_Foto.html

- Abb. 69: DC der HPLC-Fractionen
- Abb. 70: ¹H-NMR-Spektrum von Verbindung **18** (in Aceton-D₆)
- Abb. 71: Consabatin (**18**)
- Abb. 72: Mosher-Ester des Consabatin mit Differenzen der δ-Werte
- Abb. 73: HPLC-Lauf der Basen-Fraktion
- Abb. 74: Merresectin B (**19**)
- Abb. 75: Merresectin D-β-glucosid (**20**)
- Abb. 76: Vergrößerung aus dem H-H-COSY von Verbindung **21**
- Abb. 77: ¹H-NMR-Spektrum von Merresectin E-β-glucosid (in MeOD)
- Abb. 78: Merresectin E-β-glucosid (**21**)
- Abb. 79: *Bonamia spectabilis* (CHOISY) HALLIER f. auf Madagaskar (Photographie: E. Eich)
- Abb. 80: HSQC von Verbindung **22**
- Abb. 81: Meßwerte aus den Kernresonanzspektren von Verbindung **22** mit Kopplungssequenz aus dem H-H-COSY
- Abb. 82: Bonabilin A (**22**)
- Abb. 83: *Bonamia spectabilis* (CHOISY) HALLIER f. in der Flora Zambesiaca
- Abb. 84: ¹H-NMR von Verbindung **23** (in CDCl₃)
- Abb. 85: Meßwerte aus den Kernresonanzspektren von Verbindung **23** mit Kopplungssequenz aus dem H-H-COSY
- Abb. 86: Bonabilin B (**23**)
- Abb. 87: Strukturvorschlag für Substanz **70A**
- Abb. 88: Ringsystem der Tropanalkaloide mit Bezifferung (aus Lounasmaa, 1988)
- Abb. 89: *Ipomoea velutina* R. BR. (Photographie: E. Eich)
- Abb. 90: HSQC von Verbindung **24** (in MeOD)
- Abb. 91: H-H-COSY von Verbindung **24** (in MeOD)
- Abb. 92: Kohlenstoffkette aus dem H-H-COSY
- Abb. 93: basischer Grundkörper von Verbindung **24**
- Abb. 94: EIMS-Fragmentierungsschema von Verbindung **24**
- Abb. 95: NOE-Effekte von Verbindung **24**
- Abb. 96: Ipvelutin (**24**)
- Abb. 97: Hemmung der Carbachol-induzierten Kontraktion des Meerschweinchenileums durch Bonabilin A und Bonabilin B
- Abb. 98: Umwandlung des Tropins in Hygrin (aus Woker, 1953)
- Abb. 99: Gliederung der Tropan-Alkaloide dieser Arbeit in Gruppen
- Abb. 100: Schematische Darstellung der hypothetischen biogenetischen Zusammenhänge einiger aromatischer 3-Tropanolester mit den Merresectinen s.l.
- Abb. 101: Necinbasen bei Convolvulaceae auftretender Pyrrolizidinalkaloide
- Abb. 102: *Ipomoea tricolor* CAV. cv. „Flying Saucers“
- Abb. 103: *Ipomoea tricolor* CAV. cv. „Heavenly Blue“ (Photographie: Claus Ott)
- Abb. 104: Pilzkolonie (IasaF13) auf der adaxialen Blattoberfläche von *Ipomoea asarifolia* Sekretdrüsen angefärbt mit Nilrot, Hyphen mit Oregongrün-markiertem Weizenkeim-Agglutinin (l_{Balken} = 50 µm); aus Markert *et al.*, 2008
- Abb. 105: *Falkia repens* L. f. (Radierung mit wissenschaftlicher Darstellung)
- http://digi.azz.cz/Book010/images/0403a_Falkia_repens.jpg

Abb. 106: Biosynthese der 2-Methylbuttersäure und der Tiglinsäure aus L-Isoleucin
(nach Basey und Woolley)

Abb. 107: *Astripomoea malvacea* (KLOTZSCH) MEEUSE (aus Verdcourt, 1974)

Abb. 108: Astrimalvin A-N-oxid

Abb. 109: Astrimalvin B

Abb. 110: Strukturformeln der möglichen Acylkomponenten bei *Astripomoea malvacea*

Abb. 111: Convolamin-N-oxid

Abb. 112: Differenzen $\Delta\delta_{\text{H}}$ der ^1H -NMR-Werte zwischen N-Oxid und tertiärem Amin

Abb. 113: Differenzen $\Delta\delta_{\text{C}}$ der ^{13}C -NMR-Werte zwischen N-Oxid und tertiärem Amin

Abb. 114: Bonabilin A

Abb. 115: Bonabilin B

Abb. 116: den Acylkomponenten der Bonabiline verwandte Monoterpenoide

Abb. 117: mögliche Strukturvarianten der Acylkomponenten der Bonabiline

Abb. 118: Vergleich der Strukturformeln von Bonabilin A und Hyoscyamin

Abb. 119: Ipvelutin

Abb. 120: Nematoden (© Fa. Neudorff)

<http://www.neudorff.de/uploads/pics/sfne.jpg>

Abb. 121: *Encarsia formosa* (© Fa. Neudorff)

<http://www.neudorff.de/uploads/pics/wesp.jpg>

Abb. 122: *Phytoseiulus persimilis* (© Fa. Neudorff)

<http://www.neudorff.de/uploads/pics/raub.jpg>

Abb. 123: *Aphidoletes aphidimyza* (© Fa. Neudorff)

<http://www.neudorff.de/uploads/pics/gall.jpg>

Abb. 124: *Chrysoperla carnea* (© Fa. Neudorff)

<http://www.neudorff.de/uploads/pics/flor.jpg>

6.3 Tabellenverzeichnis

- Tab. 1: GC-MS-Tabelle Hygrine und einfache Tropane in *Ipomoea*-Arten
Tab. 2: GC-MS-Tabelle Hygrine und einfache Tropane in anderen Gattungen
Tab. 3: GC-MS-Tabelle aliphatischer 3-Tropanolester in *Ipomoea*-Arten
Tab. 4: GC-MS-Tabelle aliphatischer 3-Tropanolester in anderen Gattungen
Tab. 5: GC-MS-Tabelle aromatischer 3-Tropanolester in *Ipomoea*-Arten
Tab. 6: GC-MS-Tabelle aromatischer 3-Tropanolester in anderen Gattungen
Tab. 7: GC-MS-Tabelle Convolvulaceen-spezifischer 3-Tropanolester in *Ipomoea*-Arten
Tab. 8: GC-MS-Tabelle Convolvulaceen-spezifischer 3-Tropanolester in anderen Gattungen
Tab. 9: von P. Bachmann synthetisierte 3-Feruloyloxytropene mit RIs (nach Witte, 2000)
Tab. 10: per GC-MS detektierte di- und trisubstituierte Tropane
Tab. 11: GC-MS-Tabelle Pyrrolizidinalkaloide in *Ipomoea* sp. der Sectio Mina
Tab. 12: GC-MS-Tabelle Ergolinalkaloide
Tab. 13: GC-MS-Tabelle sonstiger stickstoffhaltiger Verbindungen
Tab. 14: Calystegin-Vorkommen bei den hier bearbeiteten Spezies (nach Schimming, 2003)
Tab. 15: ¹H-NMR-Daten von 3β-Tropanol in deuteriertem Methanol und Chloroform
Tab. 16: ¹H-NMR- und ¹³C-NMR-Daten von Astrimalvin A-N-oxid und Astrimalvin B
Tab. 17: ¹H-NMR-Signale der Mosher-Ester und deren konfigurationsabhängige Differenzen Δδ
Tab. 18: ¹H-NMR- und ¹³C-NMR-Werte der Acylkomponente von Verbindung **22**
Tab. 19: von Bonabilin A abweichende ¹H-NMR-Werte der Substanz **70A**
Tab. 20: aus den Kernresonanzspektren erhaltene Daten von Verbindung **24** (in MeOD)
Tab. 21: Tropanvorkommen bei den bearbeiteten Convolvulaceen-Spezies
Tab. 22: GC-MS-Ergebnisse der Basen-Extrakte von *Falkia repens*
Tab. 23: Tropanolester bei *Astripomoea malvacea*
Tab. 24: Vorkommen von 3-Tropanolester bei *Convolvulus sabatius* mit Subspezies
Tab. 25: Bonabiline und verwandte Verbindungen im GC-MS
Tab. 26: GC-MS-Daten von Pyrrolidin-Alkaloiden
Tab. 27: GC-MS-Daten von einfachen Tropanen
Tab. 28: GC-MS-Daten von 3-Tropanolestern
Tab. 29: GC-MS-Daten von di- und trisubstituierten Tropanen
Tab. 30: GC-MS-Daten von Pyrrolizidin-Alkaloiden
Tab. 31: GC-MS-Daten von Ergolin-Alkaloiden
Tab. 32: GC-MS-Daten sonstiger detektierter Alkaloide
Tab. 33: GC-MS-Daten der silylierten Calystegin-Vergleichssubstanzen (nach Schimming, 2003)

6.4 Literaturverzeichnis

- Abraham, R. J., Cooper, M. A., Indyk, H., Siverns, T. M., Whittaker, D. (1973) The NMR spectra and conformations of cyclic compounds – VII: the conformations of β -pinene, pinocarvone and the *cis*- and *trans*-pinocarveols. *Organic magnetic Resonance* **5**, 373-377.
- Abraham, R. J., Cooper, M. A., Salmon, J. R., Whittaker, D. (1972) The NMR spectra and conformations of cyclic compounds – V: proton couplings and chemical shifts in bridged cyclobutanes. *Organic magnetic Resonance* **4**, 489-507.
- Abraham, W.-R. (1994) Phylogeny and biotransformation. Part 5: Biotransformation of isopinocampheol. *Zeitschrift für Naturforschung* **49c**, 553-560.
- Abraham, W.-R., Arfmann, H.-A. (1990) Hydroxy-(methylbutenyl)-benzoic acid and derivatives from *Curvularia fallax*. *Phytochemistry* **29**(8), 2641-2644.
- Adsersen, A., Adsersen, H., Brimer, L. (1988) Cyanogenic constituents in plants from the Galápagos Islands. *Biochemical Systematics and Ecology* **16**(1), 65-77.
- Ahimsa-Müller, M. A., Markert, A., Hellwig, S., Knoop, V., Steiner, U., Drewke, C., Leistner, E. (2007) Clavicipitaceous fungi associated with ergoline alkaloid-containing Convolvulaceae. *Journal of Natural Products* **70**, 1955-1960.
- Akin, M., Demirci, B., Bagci, Y., Baser, K. H. C. (2010) Antibacterial activity and composition of the essential oils of two endemic *Salvia* sp. from Turkey. *African Journal of Biotechnology* **9**(15), 2322-2327.
- Al-Said, M. S., Evans, W. C., Grout, R. J. (1989) Alkaloids of *Erythroxylum hypericifolium* stem bark. *Phytochemistry* **28**, 671-673.
- Al-Said, M. S., Evans, W. C., Grout, R. J. (1986) Alkaloids of *Erythroxylum macrocarpum* and *E. sideroxyloides*. *Phytochemistry* **25**, 851-853.
- Al-Yahya, M. A. I., Evans, W. C., Grout, R. J. (1979) Alkaloids of the genus *Erythroxylum*. Part 2. *E. dekindtii* (ENGL.) O. E. SCHULTZ. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions I*, 2130-2132.
- Amor-Prats, D., Harborne, J. B. (1993a) New Sources of ergoline alkaloids within the genus *Ipomoea*. *Biochemical Systematics and Ecology* **21**(4), 455-462.
- Amor-Prats, D., Harborne, J. B. (1993b) Allelochemical effects of ergoline alkaloids from *Ipomoea parasitica* on *Heliothis virescens*. *Chemoecology* **4**, 55-61.
- Anjaneyulu, A. S. R., Bapuji, M., Row, L. R., Sree, A. (1979) Sapogenins of *Acacia concinna*. Part 3. Structure of acacigenin-B, a novel triterpene ester isolated from *Acacia concinna*. *Phytochemistry* **18**, 463-466.
- Anwar, K., Ghani, A. (1973) Alkaloids of the roots of *Datura metel* var. *fastuosa* grown in Bangladesh. *Bangladesh Pharmaceutical Journal* **2**(2), 25-27 [ref. *Chemical Abstracts* **80**, 57429c (1974)].

- Aripova, S. F. (1985) Convolamine N-oxide from *Convolvulus krauseanus*. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii* **2**, 275.
- Aripova, S. F., Abdilalimov, O. (1993) Convolacine – a new alkaloid from *Convolvulus subhirsutus*. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii* **1**, 88-90.
- Aripova, S. F., Yusunov, S. Y. (1989) Phytochemical investigation of *Datura innoxia*. *Bioorganicheskaya Khimiya* **1**, 36-38 [engl. Übers. in: *Chemistry of Natural Compounds* **25**, 30-32].
- Aripova, S. F., Yusunov, S. Y. (1979) Alkaloids of the epigeal part of *Convolvulus krauseanus*. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii* **4**, 527-529.
- Aripova, S. F., Malikov, V. M., Yusunov, S. Y. (1977) Convalidine – a new alkaloid from *Convolvulus krauseanus*. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii* **2**, 290-291.
- Aripova, S. F., Malikov, V. M., Yusunov, S. Y. (1972) Alkaloids of *Convolvulus*. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii* **3**, 401-402.
- Asahina, Y., Terada, S. X. (1919) Constituents of the seeds of *Pharbitis nil* CHOISY. *Yakugaku Zasshi* **452**, 821.
- Asano, N., Yokoyama, K., Sakurai, M., Ikeda, K., Kizu, H., Kato, A., Arisawa, M., Höke, D., Dräger, B., Watson, A. A., Nash, R. J. (2001) Dihydroxynortropane alkaloids from calystegine-producing plants. *Phytochemistry* **57**, 721-726.
- Asano, N., Nash, R. J., Molyneux, R. J., Fleet, G. W. J. (2000) Sugar-mimic glycosidase inhibitors: natural occurrence, biological activity and prospects for therapeutic application. *Tetrahedron: Asymmetry* **11**(8), 1645-1680.
- Asano, N., Kato, A., Miyauchi, M., Kizu, H., Tomimori, T., Matsui, K., Nash, R. J., Molyneux, R. J. (1997) Specific α -galactosidase inhibitors, N-methylcalystegines. Structure/activity relationships of calystegines from *Lychium chinense*. *European Journal of Biochemistry* **248**, 296-303.
- Asano, N., Kato, A., Kizu, H., Matsui, K., Watson, A. A., Nash, R. J. (1996) Calystegine B₄, a novel trehalase inhibitor from *Scopolia japonica*. *Carbohydrate Research* **293**(2), 195-204.
- Asibal, C. F., Glinski, J. A., Gelbaum, L. T., Zalkow, L. H. (1989) Pyrrolizidine alkaloids from *Cynoglossum creticum*. Synthesis of the pyrrolizidine alkaloids echinatine, rinderine, and analogues. *Journal of Natural Products* **52**, 109-118.
- Austin, D. F. (1998) Vascular plants of Arizona, part 4: Convolvulaceae. *Journal of the Arizona-Nevada Academy of Science* **30** (2), 61-83.
- Austin, D. F. (1986) Nomenclature of the *Ipomoea nil* complex (Convolvulaceae). *Taxon* **35**, 355-358.
- Austin, D. F. (1980) Additional comments on infrageneric taxa in *Ipomoea* (Convolvulaceae). *Taxon* **29**, 501-502.
- Austin, D. F. (1979) An infrageneric classification for *Ipomoea* (Convolvulaceae). *Taxon* **28**, 359-361.

- Austin, D. F. (1975) Typification of the New World subdivisions of *Ipomoea* L. (Convolvulaceae). *Taxon* **24**, 107-110.
- Austin, D. F., Huáman, Z. (1996) A synopsis of *Ipomoea* (Convolvulaceae) in the Americas. *Taxon* **45**, 3-38.
- Aviv, H., Bar, R., Schickler, M., Amselem, S. (2007) High enantiomeric purity dexanabinol for pharmaceutical compositions. *U. S. Patent Application Publication, U. S. Ser. No. 644,687*, p. 32.
- Ayoub, S. M. H., Kingston, D. G. I. (1983) Screening of plants used in Sudan folk medicine for anticancer activity (II). *Fitoterapia* **54**, 119-123.
- Bachmann, K., Philipsborn, W. v. (1972) 69. Stereochemical assignment of the two isomeric tropine N-oxides by proton magnetic resonance at 220 MHz. *Helvetica Chimica Acta* **55**(2), 68-69.
- Barger, G., Martin, W. F., Mitchell, W. (1938) The minor alkaloids of *Duboisia myoporoides*. Part II. Poroidine and isoporoidine. *Journal of Chemical Society*, 1685-1690.
- Barger, G., Martin, W. F., Mitchell, W. (1937) The minor alkaloids of *Duboisia myoporoides*. *Journal of Chemical Society*, 1820-1823.
- Basey, K., McGaw, B. A., Woolley, J. G. (1992) Phygrine, an alkaloid from *Physalis* species. *Phytochemistry* **31** (12), 4173-4176.
- Basey, K., Woolley, J. G. (1973a) Alkaloids of *Physalis alkekengi*. *Phytochemistry* **12**, 2557-2559.
- Basey, K., Woolley, J. G. (1973b) Biosynthesis of the tigloyl esters of *Datura*: *cis-trans* isomerism. *Phytochemistry* **12**, 2883-2886.
- Baslas, R. K. (1979) Essential oil of fruits of *Eucalyptus globulus* raised in Nainital (Uttar Pradesh, India). *Natural and Applied Science Bulletin* **29**(2), 73-74.
- Baumann, H. (1982) *Die griechische Pflanzenwelt in Mythos, Kunst und Literatur*. Hirmer, München. (zit. in: Müller-Ebeling, C., Rätsch, C., Storl, W.-D. (1999) *Hexenmedizin*. 2.Auflage, AT Verlag, Aarau, Schweiz).
- Baveja, S. K., Singla, R. D. (1969) Investigation of *Evolvulus alsinoides* (shankhpushpi). *Indian Journal of Pharmacy* **31**(4), 108-110.
- Beerhues, L. (1992) Pflanzliche Strategien der Pathogenabwehr. *Deutsche Apotheker Zeitung* **132**, 2486-2491.
- Bentham, G. (1863-1878) *Flora Australiensis*. Band IV, Reeve & Co, London, p. 410-442.
- Berkov, S. (2003) Alkaloids of *Datura ceratocaula*. *Zeitschrift für Naturforschung* **58c**, 455-458.
- Berkov, S., Zayed, R. (2004) Comparison of tropane alkaloid spectra between *Datura innoxia* grown in Egypt and Bulgaria. *Zeitschrift für Naturforschung* **59c**, 184-186.

- Berkov, S., Doncheva, T., Philipov, S., Alexandrov, K. (2005) Ontogenetic variation of the tropane alkaloids in *Datura stramonium*. *Biochemical Systematics and Ecology* **33**, 1017-1029.
- Beyerman, H. C., van de Linde, A., Henning, G. J. (1963) Over ergot alkaloiden uit planten. *Chemisch Weekblad* **59**, 508-509.
- Bishop, R. J., Fodor, G., Katritzky, A. R., Soti, F., Sutton, L. E., Swinbourne, F. J. (1966) The conformations of tropanes. *Journal of the Chemical Society (C)*, 74-77.
- Blossey, E. C., Budzikiewicz, H., Ohashi, M., Fodor, G., Djerassi, C. (1964) Mass spectrometry in structural and stereochemical problems – XXXIX Tropane alkaloids. *Tetrahedron* **20**, 585-595.
- Bohlmann, F., Zdero, C., Jakupovic, J., Grenz, M., Castro, V., King, R. M., Robinson, H., Vincent, L. P. D. (1986) Further pyrrolizidine alkaloids and furoeremophilanes from *Senecio* species. *Phytochemistry* **25**, 1151-1159.
- Bohlmann, F., Zdero, C., Berger, D., Suwita, A., Mahanta, P., Jeffrey, C. (1979) Neue Furaneremophilane und weitere Inhaltsstoffe aus südafrikanischen *Senecio*-Arten. *Phytochemistry* **18**, 79-93.
- Bohlmann, F., Zdero, C., Grenz, M. (1977) Weitere Inhaltsstoffe aus südafrikanischen *Senecio*-Arten. *Chemische Berichte* **110**, 474-486.
- Brachet, A., Muñoz, O., Gupta, M., Veuthey, J.-L., Christen, P. (1997) Alkaloids of *Erythroxylum lucidum* stem-bark. *Phytochemistry* **46**, 1439-1442.
- Brandes, R. (1820) Ueber das Atropium, ein neues Alkaloid in den Blättern der Belladonna (*Atropa belladonna* L.). *Journal für Chemie und Physik* **28**(1), 9-31.
- Brand Miller, J., James, K. W., Maggiore, P. (1993) *Tables of composition of Australian aboriginal foods*. Aboriginal Studies Press, Canberra.
- Broom, S. J., Wilkins, A. L., Lu, Y., Ede, R. M. (1994) Novel *nor*-sesquiterpenoids in New Zealand honeys. The relative and absolute stereochemistry of the kamahines: an extension of the Mosher method to hemiacetals. *Journal of Organic Chemistry* **59**, 6425-6430.
- Brown, J. H., Taylor, P. (1996) Chapter 7: Muscarinic receptor agonists and antagonists. In: Goodman and Gilman's (Herausgeber) *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9. Auflage, New York, Chicago, San Francisco: McGraw-Hill, p. 141-160.
- Brown, R. (1827) *Robert Brown's vermischte botanische Schriften*. Band 3.1: Prodrömus Florae Novae Hollandiae et Insulae Van-Diemen. 2. Auflage, Leonard Schrag, Nürnberg, 337-347.
- Budzikiewicz, H., Djerassi, C., Williams, D. H. (1964) *Interpretation of mass spectra of organic compounds*, Holden-Day Inc., San Francisco, p. 92-97.
- Campbell, N. A., Reece, J. B. (2009) *Biologie*. 8. aktualisierte Auflage, Pearson Studium, München.
- Casale, J. F., Moore, J. M. (1996) Lesser alkaloids of cocaine-bearing plants III. 2-Carbo-

- methoxy-3-oxo substituted tropane esters: detection and gas chromatographic-mass spectrometric characterization of new minor alkaloids found in South American *Erythroxylum coca* var. *coca*. *Journal of Chromatography A* **756**, 185-192.
- CHAH (2006) *Australian Plant Census* of the Council of Heads of Australasian Herbaria, an Australian Government Initiative (s. Datenbanken).
- Chandrasekharan, V., Unnikrishnan, P., Shah, G. D., Bhattacharyya, S. C. (1980) Synthesis of methyl 4'',5''-bisnor- Δ 1,6-tetrahydrocannabinol methyl ether 3''-oate – an intermediate *Cannabis* metabolite. *Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry* **19B**(9), 746-747.
- Chapman & Hall (1982-2001) *Dictionary of Natural Products*. CD-ROM, Version 10:1, Chapman & Hall, CRC.
- Chazin, W. J., Colebrook, L. D. (1986) Use of proton spin-lattice relaxation and nuclear overhauser effect data in structure analysis of alkaloids. *Journal of Organic Chemistry* **51**, 1243-1253.
- Chen, Z., Xu, P., Yao, T. (1986) Chemical investigation of Baogongteng (Dinggongteng; *Erycibe obtusifolia*). III. The identification of baogongteng B and studies on baogongteng C. *Zhongcaoyao* **17**(9), 386-387.
- Christen, P., Roberts, M. F., Phillipson, J. D., Evans, W. C. (1995) Alkaloids of *Erythroxylum monogynum* root-bark. *Phytochemistry* **38**, 1053-1056.
- Christen, P., Roberts, M. F., Phillipson, J. D., Evans, W. C. (1993) Alkaloids of *Erythroxylum zambesiacum* stem-bark. *Phytochemistry* **34**, 1147-1151.
- Christen, P., Roberts, M. F., Phillipson, J. D., Evans, W. C. (1990) Alkaloids of hairy root cultures of a *Datura candida* hybrid. *Plant Cell Reports* **9**, 101-104.
- Clarke, R. L. (1977) The Tropane Alkaloids. In: *The Alkaloids* (Herausgeber: R. H. F. Manske), Academic Press, New York, San Francisco, London, Vol. **XVI**, p. 84-180.
- Costa, C., Bertazzo, A., Allegri, G., Curcuruto, O., Traldi, P. (1992) Indole alkaloids from the roots of an African plant *Securidaca longipedunculata*. I. Isolation by column chromatography and preliminary structural characterization by mass spectrometry. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **29**(6), 1641-1647.
- Coulsen, J. F., Griffin, W. J. (1968) The alkaloids of *Duboisia myoporoides*. II. Roots. *Planta Medica* **16**, 174-181.
- Coulsen, J. F., Griffin, W. J. (1967) The alkaloids of *Duboisia myoporoides*. I. Aerial parts. *Planta Medica* **15**, 459-466.
- Culvenor, C. C. J., Heffernan, M. L., Woods, W. G. (1965) Nuclear magnetic resonance spectra of pyrrolizidine alkaloids. I. The spectra of retronecine and heliotridine. *Australian Journal of Chemistry* **18**, 1605-1624.
- Dale, J. A., Mosher, H. S. (1973) Nuclear magnetic resonance enantiomer reagents. Configurational correlations *via* nuclear magnetic resonance chemical shifts of diastereomeric mandelate, *O*-methylmandalate, and α -methoxy- α -trifluoromethyl-phenylacetate (MTPA) esters. *Journal of the American Chemical Society* **95** (2), 512-

519.

- Dawidar, A. M., Winternitz, F., Johns, S. R. (1977) Structure of ipomine, a new alkaloid from *Ipomoea muricata* JACQ.. *Tetrahedron* **33**, 1733-1734.
- Deckers, W., Maier, J. (1953) Über zwei neue Alkaloide aus *Duboisia leichhardtii*. *Chemische Berichte* **86**, 1423-1428.
- Der Marderosian, A. H., Youngken, H. W. jr. (1966) The distribution of indole alkaloids among certain species and varieties of *Ipomoea*, *Rivea* and *Convolvulus* (Convolvulaceae). *Lloydia* **29**(1), 35-42.
- Der Marderosian, A. H., Cho, E., Chao, J. M. (1974) The isolation and identification of the ergoline alkaloids from *Ipomoea muelleri*. *Planta Medica* **25**, 6-16.
- Der Marderosian, A. H., Hauke, R. L., Youngken, H. W. jr. (1964) Preliminary studies of the comparative morphology and certain indoles of *Ipomoea* seeds. *Economic botany* **18**, 67-76.
- Dharmaratne, H. R. W., Jayasinghe, U. L. B., Weerawardhena, W. D. P. P., Herath, H. M. T. B., Fujimoto, Y. (1997) Chemical investigation of *Ipomoea mauritiana*. *ACGC Chemical Research Communications* **6**, 39-41 [ref. *Chemical Abstracts* **128**(18), 215525x (1998)].
- Doerk, K., Witte, L., Alfermann, A. W. (1991) Identification of tropane alkaloids in hairy root cultures of *Hyoscyamus albus*. *Zeitschrift für Naturforschung* **46c**, 519-521.
- Doerck-Schmitz, K., Witte, L., Alfermann, A. W. (1994) Tropane alkaloid patterns in plants and hairy roots of *Hyoscyamus albus*. *Phytochemistry* **35**, 107-110.
- Dräger, B. (1996) Glykosidasehemmstoffe. *Deutsche Apotheker Zeitung* **15**, 1199-1206.
- Dräger, B. (1995) Identification and quantification of calystegines, polyhydroxyl nortropane alkaloids. *Phytochemical Analysis* **6**, 31-37.
- Du, X.-M., Sun, N.-Y., Nishi, M., Kawasaki, T., Guo, Y.-T., Miyahara, K. (1999) Components of the ether-insoluble resin glycoside fraction from the seed of *Cuscuta australis*. *Journal of Natural Products* **62**, 722-725.
- Du, X.-M., Kohinata, K., Kawasaki, T., Guo, Y.-T., Miyahara, K. (1998) Components of the ether-insoluble resin glycoside-like fraction from *Cuscuta chinensis*. *Phytochemistry* **48**, 843-850.
- Dupraz, J.-M., Christen, P., Kapetanidis, I. (1994) Tropane alkaloids in transformed roots of *Datura quercifolia*. *Planta Medica* **60**(2), 158-162.
- Ehmke, A., Borstel, K. v., Hartmann, T. (1988) Alkaloid N-oxides as transport and vacuolar storage compounds of pyrrolizidine alkaloids in *Senecio vulgaris* L.. *Planta* **176**, 83-90.
- Eich, E., Schulz, J., Trumm, S., Sarin, P. S., Maidhof, A., Merz, H., Schröder, H. C., Müller, W. E. G. (1990) Lignanoides: novel *in vitro* anti-HIV active agents. *Planta Medica* **56**, 506.

- Eich, E., Henn, E., Kolshorn, H., Pertz, H., Schulz, J. (1989) Ipobscurine B, a melatonin analogous novel indole alkaloid from the seeds of *Ipomoea obscura*. *Planta Medica* **55**, 607.
- Eich, E., Sattler, H.-J., Henn, E. (1986) Ipobscurines, non-ergoline type indole compounds from the seeds of *Ipomoea obscura*. *Planta Medica* **52**, P41, 523-524.
- El-Imam, Y. M. A., Evans, W. C. (1984) Tropane alkaloids of species of *Anthocercis*, *Cyphanthera* and *Crenidium*. *Planta Medica* **50**, 86-87.
- El-Shazly, A., Tei, A., Witte, L., El-Domiatiy, M., Wink, M. (1997) Tropane alkaloids of *Hyoscyamus boveanus*, *H. desertorum*, *H. muticus* and *H. albus* from Egypt. *Zeitschrift für Naturforschung* **52c**, 729-739.
- Engel, R., Nahrstedt, A., Hammerschmidt, F.-J. (1995) Composition of the essential oils of *Cedronella canariensis* (L.) WEBB & BERTH. ssp. *canariensis* and ssp. *anisata* f. *glabra* and f. *pubescens*. *Journal of Essential Oil Research* **7**(5), 473-487.
- Ethier, J.-C., Neville, G. A. (1986) Quadrupole EI and CI mass spectra of some principal tropane alkaloids. *Canadian Journal of Spectroscopy* **31**, 81-88.
- Evans, W. C., Lampard, J. F. (1972) Alkaloids of *Datura suaveolens*. *Phytochemistry* **11**, 3293-3298.
- Evans, W. C., Major, V. A. (1966) The alkaloids of the genus *Datura*, section Brugmansia. Part IV. New alkaloids of *D. sanguinea* R. and P. *Journal of the Chemical Society (C)*, 1621-1623.
- Evans, W. C., Ramsey, K. P. A. (1983) Alkaloids of the Solanaceae tribe Anthocercideae. *Phytochemistry* **22**, 2219-2225.
- Evans, W. C., Ramsey, K. P. A. (1981a) Alkaloids of *Anthotroche* (Solanaceae). *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **33**, Supplement, 14P.
- Evans, W. C., Ramsey, K. P. A. (1981b) Tropane alkaloids from *Anthocercis* and *Anthotroche*. *Phytochemistry* **20**, 497-499.
- Evans, W. C., Somanabandhu, A.-O. (1974) Cuscohygrine: a constituent of the roots of some British Convolvulaceae. *Phytochemistry* **13**, 519-520.
- Evans, W. C., Treagust, P. G. (1973) Distribution of alkaloids in *Anthocercis littorea* and *A. viscosa*. *Phytochemistry* **12**, 2505-2507.
- Evans, W. C., Wellendorf, M. (1959) The alkaloids of the roots of *Datura*. *Journal of the Chemical Society*, 1406-1409.
- Evans, W. C., Ghani, A., Woolley, V. A. (1972a) Distribution of littorine and other alkaloids in the roots of *Datura* species. *Phytochemistry* **11**, 2527-2529.
- Evans, W. C., Ghani, A., Woolley, V. A. (1972b) Alkaloids of *Solandra* species. *Phytochemistry* **11**, 470-472.
- Evans, W. C., Ghani, A., Woolley, V. A. (1972c) Alkaloids of *Cyphomandra betacea* SENDT.. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions I*, 2017-2019.

- Farooq, A., Hanson, J. R. (1995) The microbiological hydroxylation of some pinane monoterpenoids by *Cephalosporium aphidicola*. *Phytochemistry* **40**, 815-817.
- Fodor, G. (1971) The Tropane Alkaloids. In: *The Alkaloids* (Herausgeber: R. H. F. Manske), Academic Press, New York, London, Vol. **XIII**, p. 352-396.
- Fonseca, L. C., Salive, G. A. (1972) Estudio fitoquimico de *Evolvulus sericeus* variedad *holosericeus*. *Revista Colombiana de Ciencias Quimico-Farmaceuticas* **2**, 27-50.
- Freitas, A. V. L., Trigo, J. R., Brown, K. S. Jr., Witte, L., Hartmann, T., Barata, L. E. S. (1996) Tropane and pyrrolizidine alkaloids in the ithomiines *Placidula euryanassa* and *Miraleria cymothoe* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Chemoecology* **7**, 61-67.
- Friedrich, U., Siems, K., Solis, P. N., Gupta, M. P., Jenett-Siems, K. (2005) New prenylated benzoic acid derivatives of *Piper hispidum*. *Die Pharmazie* **60**(6), 455-457.
- Frölich, C., Ober, D., Hartmann, T. (2007) Tissue distribution, core biosynthesis and diversification of pyrrolizidine alkaloids of the lycopsamine type in three Boraginaceae species. *Phytochemistry* **68**, 1026-1037.
- Fühner, H. (1925) XX. Solanazeen als Berausungsmittel. Eine historisch-ethnologische Studie. *Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie* **111**, 281-294.
- Gardiner, M. R., Royce, R., Oidroyd, B. (1965) *Ipomoea muelleri* intoxication of sheep in Western Australia. *British Veterinary Journal* **121**, 272-277.
- Geiger, P. L. (1833) Ueber einige neue giftige organische Alkalien. *Annalen der Pharmacie* **7**(3), 269-280.
- Gellert, E. (1982) The indolizidine alkaloids. *Journal of Natural Products* **45**, 50-73.
- Genest, K., Sahasrabudhe, M. R. (1966) Alkaloids and lipids of *Ipomoea*, *Rivea* and *Convolvulus* and their application to chemotaxonomy. *Economic Botany* **20**, 416-428.
- Ghasempour, R. H., Shirinpour, E., Heidari, H. (2007) Analysis by gas chromatography-mass spectrometry of essential oil from seeds and aerial parts of *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss gathered in Nevakoh and Shahoo, Zagross Mountain, west of Iran. *Journal of Biological Sciences* **10**(5), 814-817.
- Ghomian, A., Jenett-Siems, K., Siems, K., Witte, L., Eich, E. (1999) Two novel tropane alkaloids from *Convolvulus sabatius* Viv. ssp. *sabatius*. 5th Joint Meeting of ASP, AFERP,GA and PSE, Amsterdam; abstract book N^o 220.
- Giulietti, A. M., Parr, A. J., Rhodes, M. J. C. (1993) Tropane alkaloid production in transformed root cultures of *Brugmansia candida*. *Planta Medica* **59**(5), 428-431.
- Gnecco Medina, D. H., Puset, M., Puset, J., Husson, H.-P. (1983) Alcaloïdes tropaniques de *Crossostylis* sp.. *Journal of Natural Products* **46**(3), 398-400.
- Goldmann, A., Milat, M.-L., Ducrot, P.-H., Lallemand, J.-Y., Maille, M., Lépingle, A., Charpin, I., Tepfer, D. (1990) Tropane derivatives from *Calystegia sepium*. *Phytochemistry* **29**, 2125-2127.

- Gonçalves, M. L. (1987) 117. Convolvulaceae. In: *Flora Zambesiaca* (Herausgeber: E. Launert), Flora Zambesiaca Managing Committee, London, Vol. **8**, Bd. 1, 9-129.
- Gourley, J. M., Heacock, R. A., McInnes, A. G., Nikolin, B., Smith, D. G. (1969) The structure of ipalbine, a new hexahydroindolizidine alkaloid, isolated from *Ipomoea alba* L.. *Chemical Communications*, 709-710.
- Greiner, A., Ortholand, J.-Y. (1992) Erythroselective Aldol Condensation of Amine Free 2-t-Buthyl-5-Methyl-2-Phenyl-1,3-Dioxolan-4-one Lithium Enolate. Synthesis of the Ethyl Acetolactate Enantiomers. *Tetrahedron Letters* **33**, 1897-1900.
- Griffin, W. J., Lin, G. D. (2000) Chemotaxonomy and geographical distribution of tropane alkaloids. *Phytochemistry* **53**, 623-637.
- Gröger, D. (1963a) Über das Vorkommen von Ergolinderivaten in *Ipomoea*-Arten. *Flora* **153**, 373-382.
- Gröger, D. (1963b) Über die Umwandlung von Elymoclavine in *Ipomoea*-Blättern. *Planta Medica* **11**, 444-449.
- Gunn, C. R. (1977) *Merremia discoidesperma*: Its taxonomy and capacity of its seeds for ocean drifting. *Economic Botany* **31**, 237-252.
- Haerdi, F. (1964) Afrikanische Heilpflanzen. Die Eingeborenen-Heilpflanzen des Ulanga-Distriktes Tanganjikas (Ostafrika). *Acta Tropica*, Supplement **8**, 1-278.
- Hagan, D. B., Robins, D. J. (1990) Biosynthesis of the Pyrrolizidine Alkaloids Cynaustaline and Cynaustine in *Cynoglossum australe*. *Journal of Chemical Research (S)*, 292-293.
- Hansen, A. (1980) In: Med-Checklist Notulae, 2 (Herausgeber: W. Greuter). *Willdenowia* **10**, 227-232.
- Hartmann, T., Toppel, G. (1987) Senecionine N-oxide, the primary product of pyrrolizidine alkaloid biosynthesis in root cultures of *Senecio vulgaris*. *Phytochemistry* **26**, 1639-1643.
- Hartmann, T., Witte, L. (1995) Chemistry, Biology and Chemoecology of the Pyrrolizidine Alkaloids. In: Pelletier, W. (Hrsg.) *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*, Vol. **9**, 1. Auflage, Pergamon Press, Trowbridge, S. 155-233.
- Hartmann, T., Witte, L., Oprach, F., Toppel, G. (1986) Reinvestigation of the alkaloid composition of *Atropa belladonna* plants, root cultures, and cell suspension cultures. *Planta Medica* **52**, 390-395.
- Hegnauer, R. (1989) *Chemotaxonomie der Pflanzen*. Birkhäuser Verlag, Basel, Boston, Berlin, Band **8**, S. 321-331.
- Hegnauer, R. (1964) *Chemotaxonomie der Pflanzen*. Birkhäuser Verlag Basel und Stuttgart, Band **3**, S. 547-561, S. 661-662, S. 709-710.
- Henke, H. (1994) *Präparative Gelchromatographie an Sephadex LH-20*. Obernburg.
- Henrici, A. (1996) Neuartige Sekundärstoffe unterschiedlichster Struktur aus tropischen

Convolvulaceen. *Dissertation*, Fachbereich Pharmazie, Freie Universität Berlin.

- Henrici, A., Kaloga, M., Eich, E. (1995) 1,2,3,4-Tetrahydro- β -carboline-3 β -carboxylic acid from *Merremia aegyptia* L. (Convolvulaceae). 43rd Annual Congress on Medicinal Plant Research, Halle/Saale; abstract H 37.
- Henrici, A., Kaloga, M., Eich, E. (1994) Jacpaniculines, the first lignanamide alkaloids from the Convolvulaceae. *Phytochemistry* **37**, 1637-1640.
- Hernández-Carlos, B., Bye, R., Pereda-Miranda, R. (1999) Orizabins V-VIII, tetrasaccharide glycolipids from the Mexican scammony root (*Ipomoea orizabensis*). *Journal of Natural Products* **62**, 1096-1100.
- Herzog, T. (1922) Die von Dr. Th. Herzog auf seiner zweiten Reise durch Bolivien in den Jahren 1910 und 1911 gesammelten Pflanzen. *Mededeelingen van's Rijks Herbarium Leiden* **46**, 20.
- Hesse, M., Bernhard, H. O. (1975) Alkaloide außer Indol-, Triterpen- und Steroidalkaloide. In: *Progress in Mass Spectrometry – Fortschritte der Massenspektrometrie* (Hrsg.: H. Budzikiewicz), Verlag Chemie, Weinheim.
- Hirata, T. (1972) The rearrangement of 2 α -Hydroxy-10 β -pinan-3-one with acetic anhydride. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **45**, 599-603.
- Hofmann, A. (1961) Die Wirkstoffe der mexanischen Zauberdroge „Ololiuqui“. *Planta Medica* **4**, 354-367.
- Huber, C. S., Fodor, G., Mandava, N. (1971) Absolute configuration of scopolamine N-oxide and of related compounds. *Canadian Journal of Chemistry* **49**, 3258-3271.
- Huizing, H.-J., Röder, E., Wiedenfeld, H. (1985) Die ¹³C-NMR-Daten des Pyrrolizidin-Alkaloids Echimidin. *Archiv der Pharmazie* (Weinheim) **318**, 476-477.
- Hunnius' Pharmazeutisches Wörterbuch* (1993) 7. Auflage, de Gruyter, Berlin, New York.
- Ionkova, I., Witte, L., Alfermann, A. W. (1994) Spectrum of tropane alkaloids in transformed roots of *Datura innoxia* and *Hyoscyamus x györflyi* cultivated *in vitro*. *Planta Medica* **60**, 382-384.
- Ishida, T., Asakawa, Y., Takemoto, T. (1982) Metabolism of myrtenal, perilla aldehyde and dehydroabiatic acid in rabbits. *Hiroshima Kogyo Daigaku Kenkyu Kiyo* **16**, 79-91.
- Izumi, S., Moriyoshi, H., Hirata, T. (1994) Identification of absolute configuration of tertiary alcohols by combination of Mosher's method and conformational analysis. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **67**, 2600-2602.
- Jackson, B. P., Berry, M. I. (1973) Hydroxytropane tiglates in the roots of *Mandragora* species. *Phytochemistry* **12**, 1165-1166.
- Jenett, K., Kaloga, M., Eich, E. (1991) Ipanguline and isoipanguline: first pyrrolizidine alkaloids from a Convolvulaceous species. *Planta Medica* **57**, Supplement Issue 2, A 102.
- Jenett-Siems, K. (1996) Phytochemische Untersuchungen an Windengewächsen der

Gattungen *Calystegia*, *Convolvulus*, *Ipomoea* und *Merremia* unter besonderer Berücksichtigung des Alkaloidvorkommens. *Dissertation*, Fachbereich Pharmazie, Freie Universität Berlin.

- Jenett-Siems, K., Eich, E. (1994) P13 Hygrines and tropanes, alkaloids of considerable importance for the chemotaxonomy of the Convolvulaceae. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2**, 122.
- Jenett-Siems, K., Ott, S. C., Schimming, T., Siems, K., Müller, F., Hilker, M., Witte, L., Hartmann, T., Austin, D. F., Eich, E. (2005a) Ipangulines and minalobines, chemotaxonomic markers of the infrageneric *Ipomoea* taxon subgenus Quamoclit, section Mina. *Phytochemistry* **66**, 223-231.
- Jenett-Siems, K., Weigl, R., Böhm, A., Mann, P., Tofern-Reblin, B., Ott, S. C., Ghomian, A., Kaloga, M., Siems, K., Witte, L., Hilker, M., Müller, F., Eich, E. (2005b) Chemotaxonomy of the pantropical genus *Merremia* (Convolvulaceae) based on the distribution of tropane alkaloids. *Phytochemistry* **66**, 1448-1464.
- Jenett-Siems, K., Weigl, R., Kaloga, M., Schulz, J., Eich, E. (2003) Ipobscurines C and D: macrolactam-type indole alkaloids from the seeds of *Ipomoea obscura*. *Phytochemistry* **62**, 1257-1263.
- Jenett-Siems, K., Siems, K., Witte, L., Eich, E. (2001) Merrekentrones A-D, ipomeamarone-like furanosesquiterpenes from *Merremia kentrocaulos*. *Journal of Natural Products* **64**, 1471-1473.
- Jenett-Siems, K., Siems, K., Witte, L., Eich, E. (1999) Merresectin D- β -glucoside, a novel tropane alkaloid from *Merremia guerrichii*. 5th Joint Meeting of ASP, AFERP,GA and PSE, Amsterdam; abstract book N° 223.
- Jenett-Siems, K., Siems, K., Witte, L., Eich, E. (1998a) Minalobine, a novel pyrrolizidine alkaloid from *Ipomoea lobata* (CERV.) THELL.. 46th Annual Congress of the Society for Medicinal Plant Research, Wien; poster und abstract G06.
- Jenett-Siems, K., Schimming, T., Kaloga, M., Eich, E., Siems, K., Gupta, M. P., Witte, L., Hartmann, T. (1998b) Pyrrolizidine alkaloids of *Ipomoea hederifolia* and related species. *Phytochemistry* **47**, 1551-1560.
- Jenett-Siems, K., Mann, P., Kaloga, M., Siems, K., Jakupovic, J., Witte, L., Eich, E. (1998c) Tropane alkaloids with a unique type of acyl moiety from two *Convolvulus* species. *Phytochemistry* **49**, 1449-1451.
- Jenett-Siems, K., Kaloga, M., Eich, E. (1994) Ergobalansine/ergobalansinine, a proline-free peptide-type alkaloid of the fungal genus *Balansia*, is a constituent of *Ipomoea piurensis*. *Journal of Natural Products* **57**, 1304-1306.
- Jenett-Siems, K., Kaloga, M., Eich, E. (1993) Ipangulines, the First Pyrrolizidine Alkaloids from the Convolvulaceae. *Phytochemistry* **34**, 437-440.
- Jirawongse, V., Pharadai, T., Tantivatana, P. (1977) The distribution of indole alkaloids in certain genera of Convolvulaceae growing in Thailand. *Journal of the National Research Council of Thailand* **9**(1), 17-24.
- Johns, S. R., Lamberton, J. A., Sioumis, A. A. (1971) New tropane alkaloids, (+)-(3*R*,6*R*)-3 α -

- acetoxy-6 β -hydroxytropine and (+)-2 α -benzyloxy-3 β -hydroxynortropine, from *Peripentadenia mearsii* (Euphorbiaceae). *Australian Journal of Chemistry* **24**, 2399-2403.
- Jung, M. E., Zeng, L., Peng, T., Zeng, H., Le, Y., Su, J. (1992) Total synthesis of Bao Gong Teng A, a natural antiglaucoma compound. *Journal of Organic Chemistry* **57**(13), 3528-3530.
- Kan-Fan, C., Lounasmaa, M. (1973) Sur les alcaloïdes de *Knightia deplanchei* VIEILL. ex BRONGN. ET GRIS (Protéacées). *Acta Chemica Scandinavica* **27**, 1039-1052.
- Katavic, P. L., Butler, M. S., Quinn, R. J., Forster, P. I., Guymmer, G. P. (1999) Tropane alkaloids from *Darlingia darlingiana*. *Phytochemistry* **52**, 529-531.
- Kato, A., Asano, N., Kizu, H., Matsui, K., Suzuki, S., Arisawa, M. (1997) Calystegine alkaloids from *Duboisia leichhardtii*. *Phytochemistry* **45**, 425-429.
- Kayser, C. (1994) Phytochemische Untersuchungen an pantropischen Arten der Gattung *Ipomoea* als Beitrag zur Chemotaxonomie der Convolvulaceen. *Dissertation*, Fachbereich Pharmazie, Freie Universität Berlin.
- Keller, H., Hohlfeld, H., Wray, V., Hahlbrock, K., Scheel, D., Strack, D. (1996) Changes in the accumulation of soluble and cell wall-bound phenolics in elicitor treated cell suspension cultures and fungus-infected leaves of *Solanum tuberosum*. *Phytochemistry* **42**, 389-396.
- Khattak, K. F., Atta-ur-Rahman, Choudhary, M. I., Hemalal, K. D., Tillekeratne, L. M. (2002) New tropane alkaloids from *Erythroxylum moonii*. *Journal of Natural Products* **65**, 929-931.
- Kim, H. J., Kwon, H. J. (2007) Synthesis and biological activity of fungal metabolite, 4-hydroxy-3-(3'-methyl-2'-butenyl)-benzoic acid. *Journal of Microbiology and Biotechnology* **17**(3), 543-545.
- Knight, D. W., Share, A. C., Gallagher, P. T. (1997) Homoproline homologation by enolate Claisen rearrangement or direct allylation: syntheses of (-)-trachelanthamidine, (-)-isoretronecanol and (\pm)-turneforicidine. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions I*, 2089-2097.
- Kováts, E. (1958) Gas-chromatographische Charakterisierung organischer Verbindungen. Teil 1: Retentionsindices aliphatischer Halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone. *Helvetica Chimica Acta* **41**, 1915-1932.
- Kraft, C. (2003) Traditionell gegen Malaria eingesetzte Arzneipflanzen: *In-vitro*-Aktivität pflanzlicher Extrakte und isolierter Naturstoffe aus dem Phenylpropan- und Terpen-Stoffwechsel gegen *Plasmodium falciparum*. *Dissertation*, Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie, Freie Universität Berlin.
- Kraft, C., Jenett-Siems, K., Köhler, I., Tofern-Reblin, B., Siems, K., Bienzle, U., Eich, E. (2002) Antiplasmodial activity of sesquignans and sesqueneolignans from *Bonamia spectabilis*. *Phytochemistry* **60**, 167-173.
- Krishnamurthy, T. R. (1959) Pharmacological actions of evolvine hydrochloride. *Current Science* **28**, 64-65.

- Kucht, S., Groß, J., Hussein, Y., Grothe, T., Keller, U., Basar, S., König, W. A., Steiner, U., Leistner, E. (2004) Elimination of ergoline alkaloids following treatment of *Ipomoea asarifolia* (Convolvulaceae) with fungicides. *Planta* **219**, 619-625.
- Kuwabo, C., Rollmann, B., Tilquin, B. (1993) Analysis of alkaloids from *Physalis peruviana* by capillary GC, capillary GC-MS, and GC-FTIR. *Planta Medica* **59**, 161-163.
- Lavy, U. I., Funcke, A. B. H., Van Hell, G., Timmerman, H. (1973) Pharmacological properties of [(3 α -tropanyl)oxy]-5H-benzo[4,5]cyclohepta[1,2-b]-pyridine hydrogen maleate (BS 7723). *Arzneimittel-Forschung* **23**(6), 854-858.
- Lazur'evskii, G. V. (1939) Alkaloids from *Convolvulus hamadae*. *Trudy Usbeksogo Gosudarst Universiteta Sbornik Rabot Khimicheskogo* **15**, 43-52 [ref. *Chemical Abstracts* **35**, 4029 (1941)].
- Leary, J. D., Khanna, K. L., Schwarting, A. E., Bobbitt, J. M. (1963) Occurrence of cuscohygrine and 3 α -tigloyloxytropane in *Withania somnifera*. *Lloydia* **26**, 44-48.
- Lee, T. M., Chao, J. M., Der Marderosian, A. H. (1979) Isolation and identification of ergoline alkaloids from seeds of *Stictocardia campanulata* (L.) MERRILL. *Planta Medica* **35**, 247-252.
- Leete, E. (1973) Biosynthetic conversion of α -methylbutyric acid to tiglic acid in *Datura meteloides*. *Phytochemistry* **12**, 2203-2205.
- Leete, E., Murrill, J. B. (1967) Biosynthesis of the tiglic acid moiety of meteloidine in *Datura meteloides*. *Tetrahedron Letters* **18**, 1727-1730.
- Lejoly, J., Lisowski, S. (1993) Les Convolvulaceae dans la flore d'Afrique Centrale (Zaire, Rwanda, Burundi). *Fragmenta Floristica et Geobotanica* **38**(2), 351-400.
- Liebermann, C. (1889) Ueber Hygrin. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft* **22**, 675-679.
- Liebermann, C., Cybulski, G. (1895) Ueber Hygrin und Hygrinsäure. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft* **28**, 578-585.
- Lindenmann, A. (1961) Chemie der Tropan-Verbindungen. *Planta Medica* **9**(4), 317-339.
- Lindström, B., Lüning, B. (1972) Studies on Orchidaceae alkaloids. XXXV. Alkaloids from *Hammarbya paludosa* (L.) O.K. and *Liparis keitaoensis* HAY.. *Acta Chemica Scandinavica* **26** (7), 2963-2965.
- Loder, J. W., Russell, G. B. (1969) Tumour inhibitory plants. The alkaloids of *Bruguiera sexangula* and *Bruguiera exaristata* (Rhizophoraceae). *Australian Journal of Chemistry* **22**, 1271-1275.
- Logie, C. G., Grue, M. R., Liddell, J. R. (1994) Proton NMR spectroscopy of pyrrolizidine alkaloids. *Phytochemistry* **37**, 43-109.
- Lohs, K., Martinetz, D. (1986) *Gift*. Callwey, München.

- Lossen, W. (1865) Ueber das Cocaïn. *Justus Liebig's Annalen der Chemie* **133**, 351-371.
- Lounasmaa, M. (1988) The Tropane Alkaloids. In: *The Alkaloids* (Herausgeber: A. Brossi), Academic Press Inc., San Diego, New York, Berkeley, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto, Vol. **33**, p. 1-81.
- Lounasmaa, M. (1975) Sur les alcaloïdes mineurs de *Knightia deplanchei*. *Planta Medica* **27**, 83-88.
- Lounasmaa, M., Tamminen, T. (1993) The Tropane Alkaloids. In: *The Alkaloids* (Herausgeber: G. A. Cordell), Academic Press Inc., San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto, Vol. **44**, p. 1-114.
- Lounasmaa, M., Pusset, J., Sévenet, T. (1980) Benzyl-2 pseudotropanes et dihydro γ -pyranotropanes, alcaloïdes de *Knightia strobilina*. *Phytochemistry* **19**, 953-955.
- Lounasmaa, M., Wovkulich, P. M., Wenkert, E. (1975) Structures of some *Knightia deplanchei* alkaloids. *Journal of Organic Chemistry* **40**, 3694-3697.
- Lu, Y., Yao, T., Chen, Z. (1986) Studies on the constituents of *Erycibe elliptilimba*. *Yaoxue Xuebao (Acta Pharmaceutica Sinica)* **21**(11), 829-835.
- Ma, S. G., Hu, Y. C., Yu, S. S., Zhang, Y., Chen, X. G., Liu, J., Liu, Y. X. (2008) Cytotoxic triterpenoid saponins acylated with monoterpene acid from *Pithecellobium lucidum*. *Journal of Natural Products* **71**, 41-46.
- Maksay, G., Laube, B., Schemm, R., Grudzinska, J., Drwal, M., Betz, H. (2009) Different binding modes of tropeines mediating inhibition and potentiation of $\alpha 1$ glycine receptors. *Journal of Neurochemistry* **109**, 1725-1732.
- Mann, P. (1997) Zur Phytochemie und Chemotaxonomie tropischer und mediterraner Convolvulaceen unter besonderer Berücksichtigung des Alkaloid-Vorkommens. *Dissertation*, Fachbereich Pharmazie, Freie Universität Berlin.
- Mann, P., Tofern, B., Kaloga, M., Eich, E. (1999) Flavonoid sulfates from the Convolvulaceae. *Phytochemistry* **50**, 267-271.
- Markert, A., Steffan, N., Ploss, K., Hellwig, S., Steiner, U., Drewke, C., Li, S.-M., Boland, W., Leistner, E. (2008) Biosynthesis and accumulation of ergoline alkaloids in a mutualistic association between *Ipomoea asarifolia* (Convolvulaceae) and a Clavicipitalean fungi. *Plant Physiology* **147**, 296-305.
- Martin-Tanguy, J., Cabanne, E., Perdrizet, E., Martin, C. (1978) The distribution of hydroxycinnamic acid amides in flowering plants. *Phytochemistry* **17**, 1927-1928.
- Marzell, H. (1922) *Unsere Heilpflanzen: ihre Geschichte und ihre Stellung in der Volkskunde*. J. F. Lehmanns Verlag, München.
- Maskens, K., Polgar, N. (1973) Studies in the stereochemistry of 2-alkyl-3-hydroxy- and 2-alkyl-3-methoxy-butyric acids. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions I*, 109-115.
- Massiot, G., Chen, X.-F., Lavaud, C., Le Men-Olivier, L., Delaude, C., Viari, A., Vigny, P., Duval, J. (1992) Saponins from stem bark of *Petersianthus macrocarpus*.

Phytochemistry **31**, 3571-3576.

- Meeuse, A. D. J., Welman, W. G. (2000) Convolvulaceae. In: *Flora of Southern Africa* (Herausgeber: G. Germishuizen), National Botanical Institute, Pretoria, Vol. **28**, Bd. I, p. 19-21.
- Miranda, C. L., Chung, W., Reed, R. E., Zhao, X., Henderson, M. C., Wang, J.-L., Williams, D. E., Buhler, D. R. (1991) Flavin-containing monooxygenase: a major detoxifying enzyme for the pyrrolizidine alkaloid senecionine in guinea pig tissues. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **178**(2), 546-552.
- Mirzamatov, R. T., Lutfullin, K. L., Malikov, V. M., Yusunov, S. Y. (1974) Alkaloids of *Physoclaina alaica*. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii* **4**, 540 [engl. Übers. (1974) in: *Chemistry of Natural Compounds* **10**, 558].
- Miyase, T., Akahori, C., Kohsaka, H., Ueno, A. (1991) Acylated iridoid glycosides from *Buddleja japonica* HEMSL.. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **39** (11), 2944-2951.
- Miyazawa, M., Suzuki, Y., Kameoka, H. (1997) Biotransformation of (-)- and (+)-isopinocampheol by three fungi. *Phytochemistry* **45**, 945-950.
- Mody, N. V., Sawhney, R. S., Pelletier, S. W. (1979) Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectral assignments for pyrrolizidine alkaloids. *Journal of Natural Products* **42**, 417-420.
- Mohanraj, S., Herz, W. (1982) High resolution ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectra of saturated pyrrolizidine monoester alkaloids. *Journal of Natural Products* **45**, 328-336.
- Mohanraj, S., Subramanian, P. S., Herz, W. (1982) Minor alkaloids of *Heliotropium curassavicum*. *Phytochemistry* **21**, 1775-1779.
- Molyneux, R. J., McKenzie, R. A., O'Sullivan, B. M., Elbein, A. D. (1995) Identification of the glycosidase inhibitors swainsonine and calystegine B₂ in Weir vine (*Ipomoea* sp. Q6 [aff. *calobra*]) and correlation with toxicity. *Journal of Natural Products* **58**(6), 878-886.
- Molyneux, R. J., Pan, Y. T., Goldmann, A., Tepfer, D. T., Elbein, A. D. (1993) Calystegines, a novel class of alkaloid glycosidase inhibitors. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **304**(1), 81-88.
- Müller-Ebeling, C., Rättsch, C., Storl, W.-D. (1999) *Hexenmedizin*. 2.Auflage, AT Verlag, Aarau, Schweiz.
- Murbeck, S. (1923) Contributions à la connaissance de la flore du Maroc II. *Lunds Universitets Årsskrift N. F.* **19** (1), 1-68.
- Nair, G. G., Daniel, M., Sabnis, S. D. (1988a) Chemosystematics of Convolvuleae (B & H). *Geobios* (Jodhpur, India) **15**(6), 241-244.
- Nair, G. G., Daniel, M., Sabnis, S. D. (1988b) A chemotaxonomic assessment of the status of some infraspecific taxa of *Ipomoea* LINN.. *Current Science* **57**(10), 527-529.
- Nair, G. G., Daniel, M., Sabnis, S. D. (1987) Ergolines in the seeds of some Indian Convolvulaceae. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* **49**, 100-102.

- Nair, G. G., Daniel, M., Sabnis, S. D. (1986) Chemosystematics of *Ipomoea* LINN. and some related taxa. *Current Science* **55**(19), 961-965.
- Nishikawa, K., Hirata, Y. (1967) Chemotaxonomical alkaloid studies I. Structure of nervosine. *Tetrahedron Letters* **27**, 2591-2596.
- Nishikawa, K., Miyamura, M., Hirata, Y. (1967) Chemotaxonomical alkaloid studies II. Structures of kuramerine and kumokirine. *Tetrahedron Letters* **27**, 2597-2600.
- Nishioka, T., Watanabe, J., Kawabata, J., Niki, R. (1997) Isolation and activity of *N-p*-coumaroyltyramine, an α -glucosidase inhibitor in Welsh onion (*Allium fistulosum*). *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry* **61**(7), 1138-1141.
- Nishiyama, Y., Moriyasu, M., Ichimaru, M., Sonoda, M., Iwasa, K., Kato, A., Juma, F. D., Mathenge, S. G., Mutiso, P. B. C. (2007) Tropane alkaloids from *Erythroxylum emarginatum*. *Journal of Natural Medicines* **61**, 56-58.
- Noda, N., Kobayashi, H., Miyahara, K., Kawasaki, T. (1988) Resin glycosides. II. Identification and characterization of the component organic and glycosidic acids of the crude resin glycoside from the seeds of *Ipomoea muricata*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **36** (2), 627-633.
- Noda, N., Ono, M., Miyahara, K., Kawasaki, T. (1987) Resin glycosides. I. Isolation and structure elucidation of orizabin-I, II, III and IV, genuine resin glycosides from the root of *Ipomoea orizabensis*. *Tetrahedron* **43**, 3889-3902.
- Novák, M., Salemink, C. A., Khan, I. (1984) Biological activity of the alkaloids of *Erythroxylum coca* and *Erythroxylum novogranatense*. *Journal of Ethnopharmacology* **10**, 261-274.
- Obermann, H. (1979) Monoterpenic acids as trace components in olibanum oil. *Dragoco Report* (German Edition) **25**(3), 55-60.
- Odake, K., Terahara, N., Saito, N., Toki, K., Honda, T. (1992) Chemical structures of two anthocyanins from purple sweet potato, *Ipomoea batatas*. *Phytochemistry* **31**, 2127-2130.
- Ohashi, M., Morishima, I., Okada, K., Yonezawa, T. (1971) ¹H nuclear magnetic resonance contact shifts of some tropanes. *Chemical Communications*, 34-35.
- Ohtani, I., Kusumi, T., Kashman, Y., Kakisawa, H. (1991) High-field FT NMR application of Mosher's method. The absolute configurations of marine terpenoids. *Journal of the American Chemical Society* **113**, 4092-4096.
- Okuyama, T., Shibata, S., Hoson, M., Kawada, T., Osada, H., Noguchi, T. (1986) Effect of oriental plant drugs on platelet aggregation; III. Effect of Chinese Drug „Xiebai“ on human platelet aggregation. *Planta Medica* **48**, 171-175.
- Ono, M., Noda, N., Kawasaki, T., Miyahara, K. (1990) Resin glycosides. VII. Reinvestigation of the component organic and glycosidic acids of pharbitin, the crude ether-insoluble resin glycoside (Convolvulin) of Pharbitidis semen (seeds of *Pharbitis nil*). *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **38** (7), 1892-1897.

- Orechhoff, A., Konowalowa, R. (1935) 159. Über die Alkaloide von *Convolvulus pseudocantabricus*, III. Mitteilung: Konstitution des Convolvins und Isolierung von zwei neuen Basen. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft B* **68**, 814-819.
- Orechhoff, A., Konowalowa, R. (1934) 224. Über die Alkaloide von *Convolvulus pseudocantabricus* (II. Mitteilung). *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft B* **67**, 1153-1156.
- Orechhoff, A., Konowalowa, R. (1933) 504. Über die Alkaloide von *Convolvulus pseudocantabricus* SCHRENK (I. Mitteilung). *Archiv der Pharmazie* **271**, 145-148.
- Ooststroom, S. J. van (1939) The Convolvulaceae of Malaysia, II. *Blumea* **3**(2), 366-370.
- Pailer, M., Scheidl, O., Gutwillinger, H., Klein, E., Obermann, H. (1981) Composition of pyrolyzates from „Aden“ incense, the gum resin of *Boswellia carteri* BIRDW. Part 1. *Monatshefte für Chemie* **112**(3), 341-358.
- Palic, I., Ursic-Jankovic, J., Stojanovic, G. (2010) Essential oil composition of three Balkan *Micromeria* species. *Journal of Essential Oil Research* **22**, 40-44.
- Parello, J., Longevialle, P., Vetter, W., McCloskey, J. A. (1963) N° 461 – Structure de la phyllalbine. Application de la résonance magnétique nucléaire et de la spectrométrie de masse à l'étude des dérivés du tropane. *Bulletin de la Société chimique de France*, 2787-2793.
- Parr, A. J., Payne, J., Eagles, J., Chapman, B. T., Robins, R. J., Rhodes, M. J. C. (1990) Variation in tropane alkaloid accumulation within the Solanaceae and strategies for its exploitation. *Phytochemistry* **29**, 2545-2550.
- Paungger, J., Poppe, T. (1999) *Vom richtigen Zeitpunkt*. 14. Auflage, Wilhelm Heyne Verlag, München.
- Pearce, G., Marchand, P. A., Griswold, J., Lewis, N. G., Ryan, C. A. (1998) Accumulation of feruloyltyramine and *p*-coumaroyltyramine in tomato leaves in response to wounding. *Phytochemistry* **47**, 659-664.
- Pedersen, E. (1975) Pyrrolizidine alkaloids in Danish species of the family Boraginaceae. *Archiv for Pharmaci og Chemi (Scientific Edition)* **3**(3), 49-72.
- Pereda-Miranda, R., Hernández-Carlos, B. (2002) HPLC Isolation and structural elucidation of diastereomeric nilloyl ester tetrasaccharides from Mexican scammony root. *Tetrahedron* **58**, 3145-3154.
- Pérez-Amador, M. C., González, A., Márquez, J., Bailin, J., García Jiménez, F., Collera, O. (1980) Perfiles cromatográficos de semillas de algunas especies de Convolvuláceas. *Fiton* (Buenos Aires) **39**(1-2), 85-94.
- Pertz, H., Elz, S. (1995) *In vitro* pharmacology of sarpogrelate and the enantiomers of its major metabolite: 5-HT_{2A} receptor specificity, stereoselectivity and modulation of ritanserin-induced depression of 5-HT contractions in rat tail artery. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **47**, 310-316.
- Phillipson, J. D., Handa, S. S. (1978) Alkaloid N-oxides. A review of recent developments. *Lloydia* **41**, 385-431.

- Phillipson, J. D., Handa, S. S. (1976) Hyoscyamine *N*-oxide in *Atropa belladonna*. *Phytochemistry* **15**, 605-608.
- Phillipson, J. D., Handa, S. S. (1975) *N*-oxides of hyoscyamine and hyoscyne in the Solanaceae. *Phytochemistry* **14**, 999-1003.
- Phillipson, J. D., Handa, S. S. (1973) The natural occurrence of tropane alkaloid *N*-oxides. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **25**, Supplement, 116P-117P.
- Phillipson, J. D., Handa, S. S., Gorrod, J. W. (1976) Metabolic *N*-oxidation of atropine, hyoscyne and the corresponding nor-alkaloids by guinea-pig liver microsomal preparations. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **28**, 687-691.
- Polonovski, M., Polonovski, M. (1928) Amine oxides of the alkaloids. IV. *Bulletin de la Société Chimique de France* **43**, 79-97.
- Polonovski, M., Polonovski, M. (1927) Amine oxides of the alkaloids. II. *Bulletin de la Société Chimique de France* **41**, 1186-1190.
- Polonovski, M., Polonovski, M. (1925) Amino oxides of alkaloids of the tropane group. *Compte Rendu* **180**, 1755-1757.
- Pomilio, A. B., González, M. D., Campos Eceizabarrena, C. (1996) 7,8-Dihydroajugasterone C, norhygrine and other constituents of *Nierembergia hippomanica*. *Phytochemistry* **41**, 1393-1398.
- Porter, J. K. (1995) Analysis of endophyte toxins: fescue and other grasses toxic to livestock. *Journal of Animal Science* **73**, 871-880.
- Porter, J. K., Bacon, C. W., Robbins, J. D., Betowski, D. (1981) Ergot alkaloid identification in Clavicipitaceae systemic fungi of pasture grasses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **29**(3), 653-657.
- Potmischil, F., Cîmpeanu, V., Herzog, H., Buddrus, J., Duddeck, H. (2003) Spectral assignments and reference data. Saturated amine oxides: Part 5. Hydroacridines: Part 24. ¹³C NMR chemical shifts of *N*-epimeric saturated six-membered azaheterocyclic amine oxides. *Magnetic Resonance in Chemistry* **41**, 554-556.
- Pouchert, C. J. (1993) *The Aldrich library of ¹³C- and ¹H-FT-NMR spectra*. Edition I, Volume 2, Aldrich Chemical Company Inc., p. 612.
- Pouchert, C. J. (1983) *The Aldrich library of NMR spectra*. Edition II, Volume 2, Aldrich Chemical Company Inc., p. 177.
- Powell, R. G., Plattner, R. D., Yates, S. G., Clay, K., Leuchtman, A. (1990) Ergobalansine, a new ergot-type peptide alkaloid isolated from *Cenchrus echinatus* (sandbur grass) infected with *Balansia obtecta*, and produced in liquid cultures of *Balansia obtecta* and *Balansia cyperi*. *Journal of Natural Products* **53**, 1272-1279.
- Rätsch, C. (1999) *Enzyklopädie der psychoaktiven Pflanzen*. 4. Auflage, AT Verlag, Aarau, Schweiz.
- Rätsch, C. (1988) *Lexikon der Zauberpflanzen*. Akademische Druck- und Verlagsanstalt,

- Graz; Lizenzausgabe 1992 des VMA-Verlag, Wiesbaden.
- Reinhard, W. (1983) Die Hexen und die Obrigkeit. *Journal für Geschichte* (5/83), 18-25.
- Robins, D. J. (1995) Biosynthesis of Pyrrolizidine and Quinolizidine Alkaloids. In: *The Alkaloids* (Herausgeber: G. A. Cordell), Academic Press, San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto, Vol. **46**, p. 1-61.
- Robins, D. J. (1982) The Pyrrolizidine Alkaloids. *Progress in the Chemistry of Organic Natural Compounds* **41**, 115-203.
- Robins, R. J., Bachmann, P., Robinson, T., Rhodes, M. J. C., Yamada, Y. (1991) The formation of 3 α - and 3 β -acetoxytropans by *Datura stramonium* transformed root cultures involves two acetyl-CoA-dependent acyltransferases. *FEBS Letters* **292**(1+2), 293-297.
- Robins, R. J., Parr, A. J., Payne, J., Walton, N. J., Rhodes, M. J. C. (1990) Factor regulating tropane-alkaloid production in a transformed root culture of *Datura candida* \times *D. aurea* hybrid. *Planta* **181**, 414-422.
- Roeder, E. (1995) Medicinal plants in Europe containing pyrrolizidine alkaloids. *Pharmazie* **50**, 83-98.
- Roeder, E. (1990) Carbon-13 NMR spectroscopy of pyrrolizidine alkaloids. *Phytochemistry* **29**, 11-29.
- Röder, E. (1984) Wie verbreitet und wie gefährlich sind Pyrrolizidinalkaloide? *Pharmazie in unserer Zeit* **13**, 33-38.
- Roeder, E., Rengel, B. (1990) Pyrrolizidine alkaloids from *Lithospermum erythrorhizon*. *Phytochemistry* **29**, 690-693.
- Roeder, E., Liu, K., Bourauel, T. (1991) Pyrrolizidine alkaloids from *Echium pininana*. *Phytochemistry* **30**, 3107-3110.
- Roeder, E., Wiedenfeld, H., Britz-Kirstgen, R. (1984) Pyrrolizidine alkaloids from *Senecio cacaliaster*. *Phytochemistry* **23**, 1761-1763.
- Romeike, A. (1975) Versuche zur Veresterung von Tropin und Tropasäure an pflanzlichen Zellkulturen. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen* **168**, 87-92.
- Romeike, A., Aurich, O. (1968) Untersuchungen über den Alkaloidstoffwechsel in *Daturawurzeln* III. Acetyltropin im Alkaloidspektrum von jungem Wurzelgewebe. *Phytochemistry* **7**, 1547-1553.
- Romeike, A., Koblitz, H. (1972) Gewebekulturen aus Alkaloidpflanzen. III. Versuche zur Veresterung von Tropin. *Kulturpflanze* **20**, 165-171.
- Rondelet, J., Das', B. C., Polonsky, J. (1968) N° 350. Sur un nouvel amide naturel, le N(*p*-hydroxy-phényl)- β éthyl *p*-hydroxy-cinnamamide, isolé de *Evodia belahe* B. (Rutacée). *Bulletin de la Société Chimique de France*, 2411-2414.
- Rosenblum, E. I., Taylor, W. S. (1954) The alkaloids of *Duboisia leichhardtii*: Butropine and

- valtropine. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **6**, 410-415.
- Rücker, G., Neugebauer, M., Willems, G. G. (1988) *Instrumentelle pharmazeutische Analytik*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart.
- Salter, T. M. (1950) Convolvulaceae. In: *Flora of the Cape Peninsula*, Cape Town, Johannesburg, p. 686.
- San-Martín, A., Labbé, C., Muñóz, O., Castillo, M., Reina, M., de la Fuente, G., González, A. (1987) Tropane alkaloids from *Schizanthus grahamii*. *Phytochemistry* **26**, 819-822.
- Sanghvi, I., Bindler, E., Gershon, S. (1968) Pharmacology of a potential anti-parkinson agent: tigloidine. *European Journal of Pharmacology* **4**(3), 246-253.
- Sarazin, C., Goethals, G., Séguin, J.-P., Barbotin, J.-N. (1991) Spectral reassignment and structure elucidation of scopolamine free base through two-dimensional NMR techniques. *Magnetic Resonance in Chemistry* **29**, 291-300.
- Schimming, T. (2003) Beiträge zur Chemotaxonomie und Phylogenie der Convolvulaceen auf der Basis des Alkaloidvorkommens. *Dissertation*, Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie, Freie Universität Berlin.
- Schimming, T., Jenett-Siems, K., Mann, P., Tofern-Reblin, B., Milson, J., Johnson, R. W., Deroin, T., Austin, D. F., Eich, E. (2005) Calystegines as chemotaxonomic markers in the Convolvulaceae. *Phytochemistry* **66**, 469-480.
- Schimming, T., Jenett-Siems, K., Siems, K., Witte, L., Gupta, M. P., Eich, E. (2000) Iseluxin: a novel isoquinolinone alkaloid from *Iseia luxurians*. *Zeitschrift für Naturforschung* **55c**, 1023-1025.
- Schimming, T., Tofern, B., Mann, P., Richter, A., Jenett-Siems, K., Dräger, B., Asano, N., Gupta, M. P., Correa, M. D., Eich, E. (1998) Distribution and taxonomic significance of calystegines in the Convolvulaceae. *Phytochemistry* **49**, 1989-1995.
- Schmitz, R., Kuhlen, F.-J. (1989) Schmerz- und Betäubungsmittel vor 1600. *Pharmazie in unserer Zeit* **18**(1), 11-19.
- Schneider, W. (1974) *Lexikon zur Arzneimittelgeschichte*. Band V/1-3: *Pflanzliche Drogen*. Govi-Verlag, Frankfurt am Main.
- Scholl, Y., Höke, D., Dräger, B. (2001) Calystegines in *Calystegia sepium* derive from the tropane alkaloid pathway. *Phytochemistry* **58**, 883-889.
- Schröder, H. C., Merz, H., Steffen, R., Müller, W. E. G., Sarin, P. S., Trumm, S., Schulz, J., Eich, E. (1990) Differential *in vitro* anti-HIV activity of natural lignans. *Zeitschrift für Naturforschung* **45c**, 1215-1221.
- Schultes, R. E., Hofmann, A. (1980) *Pflanzen der Götter*. Hallwag Verlag, Bern, Stuttgart.
- Shima, K., Hisada, S., Inagaki, I. (1972) Studies on the constituents of *Anodendron affine* DURCE. V. Isolation and structure of two new constituents. *Yakugaku Zasshi (Journal of the Pharmaceutical Society of Japan)* **92**(11), 1410-1414.
- Shinners, L. H. (1965) Correct nomenclature of two Mexican narcotic plants. *Taxon* **14**,

103-105.

- Shukla, Y. N., Thakur, R. S. (1992) Tropane alkaloids from *Duboisia myoporoides*. *Phytochemistry* **31**, 4389-4390.
- Siddiqui, M. B., Husain, W. (1991) Traditional treatment of diarrhoea and dysentery through herbal drugs in rural India. *Fitoterapia* **62**(4), 325-329.
- Siddiqui, S., Sultana, N., Ahmed, S. S., Haider, S. I. (1986) Isolation and structure of a new alkaloid datumetine from the leaves of *Datura metel*. *Journal of Natural Products* **49**(3), 511-513.
- Silva, G. L., Cui, B., Chávez, D., You, M., Chai, H.-B., Rasaonoiva, P., Lynn, S. M., O'Neill, M. J., Lewis, J. A., Besterman, J. M., Monks, A., Farnsworth, N. R., Cordell, J. A., Pezzuto, J. M., Kinghorn, A. D. (2001) Modulation of the multidrug-resistance phenotype by new tropane alkaloid aromatic esters from *Erythroxylum pervillei*. *Journal of Natural Products* **64**, 1514-1520.
- Silverstein, R. M. (1970) Attractant pheromones of Coleoptera. *Chemical Contributions to Insect Behaviours, Proceedings Symposium*, meeting date 1969, 21-40.
- Singh, S. P., Kaufman, D., Stenberg, V. I. (1979) Nitrogen Photochemistry. Cocaine and its model compounds. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **16**, 625-631.
- Sipply, K.-J., Friedrich, H. (1975) Alkaloide im Kallus von *Duboisia myoporoides*. *Planta Medica* **27**, Supplement, 186-187.
- Snyder, S. H. (1994) *Chemie der Psyche*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford.
- Stace, C. A. (1972) 5. *Convolvulus* L. In: *Flora Europaea* (Herausgeber: T. G. Tutin, V. H. Heywood, N. A. Burges, D. M. Moore, D. H. Valentine, S. M. Walters, D. A. Webb), University Press, Cambridge, Vol. **3**, p. 79-82.
- Stauffacher, D., Niklaus, P., Tschertter, H., Weber, H. P., Hofmann, A. (1969) Cycloclavin, ein neues Alkaloid aus *Ipomoea hildebrandtii* VATKE – **71** Mutterkornalkaloide. *Tetrahedron* **25**, 5879-5887.
- Stefanović, S., Austin, D. F., Olmstead, R. G. (2003) Classification of Convolvulaceae: A phylogenetic approach. *Systematic Botany* **28**(4), 791-806.
- Steiner, U., Leibner, S., Schardl, C. L., Leuchtman, A., Leistner, E. (2011) *Periglandula*, a new fungal genus within the Clavicipitaceae and its association with Convolvulaceae. *Mycologia* **103**(5), 1133-1145.
- Steiner, U., Ahimsa-Müller, M. A., Markert, A., Kucht, S., Groß, J., Kauf, N., Kuzma, M., Zych, M., Lamshöft, M., Furmanowa, M., Knoop, V., Drewke, C., Leistner, E. (2006) Molecular characterization of a seed transmitted clavicipitaceous fungus occurring on dicotyledoneous plants (Convolvulaceae). *Planta* **224**, 533-544.
- Stelljes, M. E., Kelley, R. B., Molyneux, R. J., Seiber, J. N. (1991) GC-MS determination of pyrrolizidine alkaloids in four *Senecio* species. *Journal of Natural Products* **54**, 759-773.

- Stermitz, F. R., Pass, M. A., Kelley, R. B., Liddell, J. R. (1993) Pyrrolizidine alkaloids from *Cryptantha* species. *Phytochemistry* **33**, 383-387.
- Taber, W. A., Vining, L. C., Heacock, R. A. (1963a) Clavine and lysergic acid alkaloids in varieties of Morning Glory. *Phytochemistry* **2**, 65-70.
- Taber, W. A., Heacock, R. A., Mahon, M. E. (1963b) Ergot-type alkaloids in vegetative tissue of *Rivea corymbosa* (L.) HALL. f. *Phytochemistry* **2**, 99-101.
- Tepfer, D., Goldmann, A., Pamboukdjian, N., Maille, M., Lepingle, A., Chevalier, D., Dénarié, J., Rosenberg, C. (1988) A plasmid of *Rhizobium meliloti* 41 encodes catabolism of two compounds from root exudate of *Calystegia sepium*. *Journal of Bacteriology* **170**, 1153-1161.
- Teuscher, E., Lindequist, U. (1992) Giftstoffe mikrobieller Endo- und Epiphyten. *Deutsche Apotheker Zeitung* **132**(42), 2231-2238.
- Todd, F. G., Stermitz, F. R., Schultheis, P., Knight, A. P., Traub-Dargatz, J. (1995) Tropane alkaloids and toxicity of *Convolvulus arvensis*. *Phytochemistry* **39**, 301-303.
- Tofern, B. (1999) Neue und seltene Sekundärstoffe des Phenylpropan-, Terpen- und Alkaloid-Stoffwechsels aus tropischen Convolvulaceen. *Dissertation*, Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie, Freie Universität Berlin.
- Tofern, B., Jenett-Siems, K., Siems, K., Jakupovic, J., Eich, E. (2000) Bonaspectins and neobonaspectins, first sesquilignans and sesquieolignans from a convolvulaceous species. *Phytochemistry* **53**, 119-128.
- Tofern, B., Mann, P., Kaloga, M., Jenett-Siems, K., Witte, L., Eich, E. (1999a) Aliphatic pyrrolidine amides from two tropical convolvulaceous species. *Phytochemistry* **52**, 1437-1441.
- Tofern, B., Kaloga, M., Witte, L., Hartmann, T., Eich, E. (1999b) Occurrence of loline alkaloids in *Argyrea mollis* (Convolvulaceae). *Phytochemistry* **51**, 1177-1180.
- Tofern, B., Jenett-Siems, K., Siems, K., Jakupovic, J., Eich, E. (1999c) Arcapitins A-C, first dammarane-type triterpenes from the Convolvulaceae. *Zeitschrift für Naturforschung* **54c**, 1005-1010.
- Trautner, E. M., Noack, C. H. (1951) Tigloidine as a substitute for atropine in the treatment of Parkinsonism. *The Medical Journal of Australia* **38**(1/21), 751-754.
- Trinder-Smith, T. H. (2003) 118. Convolvulaceae (Morning Glory family). In: *The Levyns Guide to the Plant Genera of the Southwestern Cape*, Cape Town, p. 266-268.
- Trumm, S. (1991) Dem Shikimat-Weg entstammende niedermolekulare Sekundärstoffe der Convolvulaceen. *Dissertation*, Fachbereich Chemie und Pharmazie, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz.
- Trumm, S., Eich, E. (1989) Cytostatic activities of lignanolides from *Ipomoea cairica*. *Planta Medica* **55**, 658-659.
- Tseng, C.-F., Iwakami, S., Mikajiri, A., Shibuya, M., Hanaoka, F., Ebizuka, Y., Padmawinata, K., Sankawa, U. (1992) Inhibition of *in vitro*-prostaglandin and leukotriene

- biosynthesis by cinnamoyl- β -phenethylamine and *N*-acyldopamine derivatives. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **40**, 396-400.
- Tseng, C.-F., Mikajiri, A., Shibuya, M., Goda, Y., Ebizuka, Y., Padmawinata, K., Sankawa, U. (1986) Effects of some phenolics on the prostaglandin synthesizing enzyme system. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **34**, 1380-1383.
- Uzarewicz, A., Segiet-Kujawa, E. (1978) Action of borane on (+)-2 α ,3 α -epoxypinanone-4. *Polish Journal of Chemistry* **52**, 63-70.
- Verdcourt, B. (1974) 85. Convolvulaceae. In: *Upland Kenya Wild Flowers* (Herausgeber: A. D. Q. Agnew), Oxford University Press, London, p. 530-549.
- Verdcourt, B. (1963) Convolvulaceae. In: *Flora of Tropical East Africa* (Herausgeber: Hubbard, C. E., Milne-Redhead, E.), Crown Agents for Oversea Governments and Administrations, London.
- Verdcourt, B. (1957) Typification on the subdivisions of *Ipomoea* L. (Convolvulaceae) with particular regard to the East African species. *Taxon* **6**, 150-152.
- Voigt, D., Johne, S., Gröger, D. (1974) Untersuchungen zur Massenspektrometrie von Mutterkornalkaloiden. *Pharmazie* **29**(10/11), 697-700.
- Wallace, J. L., Kidd, M. R., Cauthen, S. E., Woodyard, J. D. (1980) New compounds: synthesis of *para*-substituted nortropanyl benzoates. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **69**(11), 1357-1358.
- Wang, G., Li, L., Shen, L., Qian, B., Huang, F. (1987) NMR study of anisodamine and anisodine. *Bopuxue Zazhi (Chinese Journal of Microwave and Radio-frequency Spectroscopy)* **4**(3), 247-252.
- Wang, P., Yao, T., Chen, Z. (1989) Studies on the chemical constituents of *Erycibe hainanensis*. *Zhiwu Xuebao (Acta Botanica Sinica)* **31**(8), 616-619.
- Wang, Q.-Z., Ge, H.-M., Zhang, J., Wu, J.-H., Song, Y.-C., Zhang, Y.-F., Tan, R.-X. (2010) Cochliones A-D, four new tetrahydrochromanone derivatives from endophytic *Cochliobolus* sp.. *Journal of Asian Natural Products Research* **12**(6), 485-491.
- Watson, E. S., Murphy, J. C., ElSohly, H. N., ElSohly, M. A., Turner, C. E. (1983) Effects of the administration of Coca alkaloids on the primary immune responses of mice: Interaction with Δ^9 -tetrahydrocannabinol and ethanol. *Toxicology and Applied Pharmacology* **71**, 1-13.
- Watt, J. M., Breyer-Brandwijk, M. G. (1962) *The medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa*. 2. Auflage, E. & S. Livingstone Ltd., Edinburgh, London.
- Weigl, R. (1992) Entdeckung, Isolierung und Strukturaufklärung neuer Alkaloide im Rahmen chemotaxonomischer Untersuchungen an Convolvulaceen. *Dissertation*, Fachbereich Pharmazie, Freie Universität Berlin.
- Weigl, R., Kaloga, M., Eich, M. (1992) Merresectines: Novel tropane alkaloids from *Merremia dissecta* roots. *Planta Medica* **58**, Supplement Issue 1, A705.

- Wenkert, E., Bindra, J. S., Chang, C.-J., Cochran, D. W., Schell, F. M. (1974) Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of naturally occurring substances. Alkaloids. *Accounts of Chemical Research* **7**, 46-51.
- Werner, G., Schickfluß, R. (1971) Isomere N-Oxide des Tropins. *Liebigs Annalen der Chemie* **746**, 65-69.
- Werner, G., Wiechmann, M., Scheiber, P., Gieren, A., Fischer, T., Hoppe, W. (1976) Untersuchungen zur Struktur der beiden isomeren N-Oxide des Tropins. *Liebigs Annalen der Chemie*, 617-627.
- Wilkinson, R. E., Hardcastle, W. S., McCormick, C. S. (1988) Psychotomimetic ergot alkaloid contents of seed from *Calonyction muricatum*, *Jacquemontia tamnifolia*, *Quamoclit lobata*, and *Q. sloteri*. *Botanical Gazette* **149**(1), 107-109.
- Wilkinson, R. E., Hardcastle, W. S., McCormick, C. S. (1987) Seed ergot alkaloid contents of *Ipomoea hederifolia*, *I. quamoclit*, *I. coccinea* and *I. wrightii*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **39**, 335-339.
- Wilkinson, R. E., Hardcastle, W. S., McCormick, C. S. (1986) Ergot alkaloid contents of *Ipomoea lacunosa*, *I. hederacea*, *I. trichocarpa*, and *I. purpurea* seed. *Canadian Journal of Plant Science* **66**, 339-343.
- Witte, L. (2000) *Persönliche Mitteilung*.
- Witte, L., Müller, K., Arfmann, H.-A. (1987) Investigation of the alkaloid pattern of *Datura innoxia* plants by capillary gas-liquid-chromatography-mass spectrometry. *Planta Medica* **53**, 192-197.
- Wöhler, F., Lossen, W. (1862) Fortsetzung der Untersuchungen über das Coca und das Cocaïn. *Justus Liebig's Annalen der Chemie* **121**, 372-375.
- Woker, G. (1953a) *Die Chemie der natürlichen Alkaloide*. 1.Hälfte. Enke Verlag, Stuttgart, S. 360ff.
- Woker, G. (1953b) *Die Chemie der natürlichen Alkaloide*. 2.Hälfte. Enke Verlag, Stuttgart, S. 464ff.
- Wu, T.-S., Ou, L.-F., Teng, C.-M. (1994) Aristolochic acids, aristolactam alkaloids and amides from *Aristolochia kankauensis*. *Phytochemistry* **36**, 1063-1068.
- Yamaguchi, H., Nishimoto, K. (1965) Studies on the alkaloids of the root of *Physalis alkekengi*. (I). Isolation of 3 α -tigloyloxytropane. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **13** (2), 217-220.
- Yamaguchi, H., Numata, A., Hokimoto, K. (1974) Studies on the alkaloids of the root of *Physalis alkekengi*. II. *Yakugaku Zasshi* **94** (9), 1115-1122.
- Yao, T., Chen, Z., Yi, D., Xu, G. (1981) Chemical study on Bao Gong-teng (*Erycibe obtusifolia* BENTH.). II. Structure of baogongteng A – a new myotic agent. *Yaoxue Xuebao (Acta Pharmaceutica Sinica)* **16**(8), 582-588.
- Yates, S. G., Fenster, J. C., Bartelt, R. J. (1989) Assay of fescue seed extract, fractions and alkaloids using the large milk bug. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **37**,

354-357.

Yoshihara, T., Takamatsu, S., Sakamura, S. (1978) Three new phenolic amides from the roots of eggplant (*Solanum melongena* L.). *Agricultural and Biological Chemistry* **42**(3), 623-627.

Zanolari, B., Guilet, D., Marston, A., Queiroz, E. F., de Queiroz Paulo, M., Hostettmann, K. (2005) Methylpyrrole tropane alkaloids from the bark of *Erythroxylum vacciniifolium*. *Journal of Natural Products* **68**, 1153-1158.

6.5 Digitale Ressourcen

Zur Verifizierung der genauen Bezeichnungen der Artnamen wurden folgende Seiten herangezogen:

The International Plant Names Index

<http://www.ipni.org>

Royal Botanic Gardens, Kew und insbesondere das dort zur Verfügung gestellte ePIC (electronic plant information center)

<http://www.rbkew.org.uk>

<http://www.kew.org/efloras/search.do>

<http://www.kew.org/searchepic/searchpage.do>

Missouri Botanical Garden mit deren Artenverzeichnis w³tropicos

<http://www.mobot.org>

<http://mobot.mobot.org/W3T/Search/vast.html>

<http://www.tropicos.org>

Australian Plant Name Index (APNI) des Australian National Herbarium

<http://www.anbg.gov.au/apni/>

Australian Plant Census des Council of Heads of Australasian Herbaria (CHAH, 2006)

<http://www.anbg.gov.au/chah/apc/>

Der Substanzrecherche dienten folgende Datenbanken und Suchmaschinen:

PubMed:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>

PubChem:

<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

SciFinder[®]

<http://www.wikipedia.org>

<http://www.google.de>

<http://ecasia.org/>

Das Zeichnen der Strukturformeln erfolgte mit:

C-Design 3.0 f (Autoren: Dr. J. Bauer, Dr. Eric Fontain)

freeware; download unter:

<http://www.ch.tum.de/oc1/EFontain/C-Design/>

Die Dissertationsschrift wurde geschrieben und formatiert in:

OpenOffice 1.1.3

open source; download unter:

<http://de.openoffice.org/>