



Beatrix Girmann (Autor)

**Beiträge zur Isolierung und Strukturaufklärung der
Viscotoxine aus *Viscum album* L. sowie von
cytotoxischen Komponenten der Gilvocarcin-Reihe
aus Streptomyceten**

Beatrix Girmann

Beiträge zur Isolierung und Strukturaufklärung
der Viscotoxine aus *Viscum album* L.
sowie von cytotoxischen Komponenten
der Gilvocarcin-Reihe aus Streptomyceten



Cuvillier Verlag Göttingen

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/3263>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

Inhaltsverzeichnis

A. Theoretischer Teil

I. Einleitung	1
1. Naturstoffe als Antitumorwirkstoffe	1
2. Ansätze für eine selektivere Tumorthherapie	5
II. Aufgabenstellung	8
III. Viscotoxine aus der europäischen Mistel <i>Viscum album</i> L.	10
1. Die Pflanze <i>Viscum album</i> L.	10
1.1. Botanik der Mistel	10
1.1.1. Systematische Stellung und Verbreitung	10
1.1.2. Lebensweise und Wirtsbäume der Mistel	10
1.1.3. Entwicklung und Wachstum	11
1.1.4. Die Sonderstellung der Mistel	12
1.2. Eine heilkräftige Pflanze mit langer Tradition	12
1.3. Viscotoxine und andere Inhaltsstoffe der Mistel	14
1.3.1. Viscotoxine	14
1.3.2. Mistellektine	17
1.3.3. Weitere Inhaltsstoffe	20
2. HPLC-Analytik von Viscotoxinen	21
2.1. Optimierung der HPLC-Analytik mit Referenzsubstanzen	21
2.2. Reproduktion der Referenzsubstanzen mittels HPLC und Massenspektrometrie	23
3. Isolierung der Viscotoxine von verschiedenen Wirtsbäumen	26
3.1. Viscotoxine aus <i>Viscum album</i> ssp. <i>album</i> (Pappel)	27
3.1.1. Aufarbeitung des Pflanzenmaterials	27
3.1.2. Präparative Isolierung mittels HPLC	28
3.1.3. Massenspektrometrische Analyse der isolierten Substanzen	30
3.1.4. Diskussion der Ergebnisse	32
3.2. Viscotoxin U-PS (17) aus <i>Viscum album</i> ssp. <i>austriacum</i> (Kiefer)	34
3.2.1. Aufarbeitung des Pflanzenmaterials	34
3.2.2. Präparative Isolierung mittels HPLC	35

3.2.3. Massenspektrometrische Analyse von Viscotoxin U-PS (17)	37
4. Zur biologischen Aktivität der Viscotoxine	37
4.1. Übersicht zum Stand der Forschung	37
4.2. Eigene Arbeiten zur biologischen Aktivität	39
5. Versuche zur Stabilität von Viscotoxin A1 (12), A2 (13), A3 (14), B (15), 1-PS (16), U-PS (17) und B2 (19)	42
6. Phosphatbestimmung	43
6.1. Qualitative Phosphorbestimmung	43
6.2. Quantitative Photometrische Analyse	44
6.3. Diskussion der Ergebnisse	45
7. Primärstrukturanalysen von Viscotoxin A3 (14) und Viscotoxin U-PS (17)	45
7.1. Viscotoxin A3 (14)	46
7.1.1. Reduktive Carboxymethylierung und tryptischer Verdau	46
7.1.2. Sequenzierung mit Tandem-Massenspektrometrie	49
7.2. Viscotoxin U-PS (17)	55
7.2.1. N-terminale Sequenzierung durch automatisierten Edman-Abbau	55
7.2.2. Reduktive Carboxymethylierung und tryptischer Verdau	57
7.2.3. ESI-MS/MS-Analyse	58
7.2.4. Datenbank-Recherche	62
8. Röntgenstrukturanalyse	64
8.1. Röntgenstrukturanalyse von Viscotoxin A3 (14)	65
8.1.1. Kristallisation, Datensammlung und Strukturlösung	65
8.1.2. Interpretation der Kristallstruktur von Viscotoxin A3 (14)	66
8.2. Röntgenstrukturanalyse von Viscotoxin B2 (19)	68
8.2.1. Kristallisation, Datensammlung und Strukturlösung	68
8.2.2. Interpretation der Kristallstruktur von Viscotoxin B2 (19)	70
9. Ausblick	72
IV. Sekundärmetaboliten der Gilvocarcin-Gruppe	75
1. <i>Streptomyces griseoflavus</i> Stamm Gö 3592/1	75
1.1. Bekannte Sekundärmetaboliten	75
1.2. Variation der Kultivierungsbedingungen	76
1.2.1. Nährmedienvariationen	77
1.2.2. Kultivierungsgefäße	82
1.2.3. Zusatz von Oberflächenmaterialien	84

1.3. Identifizierung der Sekundärmetaboliten	85
1.3.1. Gilvocarcin V (22)	85
1.3.2. Gilvocarcin M (28)	87
1.3.3. Calcium-3-hydroxychinolin-2-carboxylat (23)	88
1.3.4. Ferrioxamin E (29)	90
2. <i>Streptomyces</i> sp. Stamm Tü 2471	91
2.1. Bekannte Sekundärmetaboliten	91
2.2. Variation der Kultivierungsbedingungen	92
2.2.1. Nährmedien	92
2.2.2. Kultivierungsgefäße	95
2.2.3. Zusatz von Oberflächenmaterialien	95
2.3. Charakterisierung und Strukturaufklärung	96
2.3.1. Chrysomycin A (11)	96
2.3.2. Chrysomycin B (34)	97
2.3.3. Chrysomycin C (35)	98
2.3.4. Chrysomycin D (36)	99
2.3.5. Chrysomycin E (37)	100
2.3.6. Chrysomycin A ₂ (38)	103
2.3.7. Chrysomycin B ₂ (39)	104
2.4. Versuche zur Interaktion des Stammes Tü 2471 mit <i>Streptomyces</i> sp. Stamm Tü 6024	105
2.4.1. Allgemeines	105
2.4.2. Plattenausstrichmethoden	106
2.4.3. Mischfermentationen	107
2.5. Beurteilung der Biosyntheseleistung der Stämme Gö 3592/1 und Tü 2471	108
2.6. Zur biologischen Aktivität der isolierten Substanzen	109
2.7. Weitere Metaboliten der Gilvocarcin-Reihe	113
V. Zusammenfassung der Ergebnisse	115

B. Experimenteller Teil

I. Allgemeines	119
1. Verwendete Geräte	119
2. Chromatographische Methoden	121
3. Mikrobiologische Methoden	124
4. Biologische Tests	125
II. Viscotoxine aus der europäischen Mistel <i>Viscum album</i> L.	126
1. Erstellung des HPLC-Viscotoxin-Standards	126
2. Isolierung der Viscotoxine aus <i>Viscum album</i> L.	127
2.1. Aufarbeitung des Pflanzenmaterials bis zum Viscotoxin-Rohprodukt	127
2.2. Aufreinigung der Viscotoxine aus dem Rohprodukt	128
2.3. Aufarbeitung von Pflanzenmaterial und Isolierung von U-PS (17) aus Kiefernmisteln	133
3. Versuche zur Stabilität der Viscotoxine	135
4. Quantitative photometrische Analyse von Phosphor	135
5. Primärstrukturanalyse von Viscotoxin A3 (14) und U-PS (17)	136
5.1. Reduktion und Carboxymethylierung	136
5.2. Tryptischer Abbau am nativen Mikroprotein	137
5.3. Tryptischer Abbau von reaktiv-carboxymethylierten Mikroproteinen	138
III. Arbeiten an Produzenten der Gilvocarcin-Reihe	144
1. Stammhaltung	144
1.1. Agarplatten	144
1.2. Langzeithaltung in flüssigem Stickstoff	144
2. Nährmedienvariationen und chemisches Screening	144
3. Weitere Variationen der Kultivierungsbedingungen	145
4. <i>Streptomyces griseoflavus</i> Stamm Gö 3592/1	146
4.1. Vorkulturen	146
4.2. Variationen der Hauptkultur	146
4.3. Aufarbeitung von Fermentationsansätzen	147
4.4. Isolierung und Charakterisierung der Metaboliten aus Gö 3592/1	147
5. <i>Streptomyces</i> sp. Stamm Tü 2471	152
5.1. Vorkulturen	152

5.2. Variationen der Hauptkultur	152
5.3. Aufarbeitung von Fermentationsansätzen	152
5.4. Isolierung und Charakterisierung der Metaboliten aus Tü 2471	153
6. Versuche zur gegenseitigen Beeinflussung von <i>Streptomyces</i> sp. Tü 2471 und <i>Streptomyces</i> sp. Tü 6024	160
6.1. Agarplatten-Ausstriche	160
6.2. Flüssige Mischkulturen	160

C. Anhang

I. Kristalldaten der Verbindungen (<u>14</u>) und (<u>19</u>)	162
II. Ein- und Drei-Buchstaben-Code der Aminosäuren	164
III. Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen	165
IV. Literaturverzeichnis	168