

Chemie und Biologie von Alkannin, Shikonin und verwandten Naphthazarin-Naturstoffen**

Vassilios P. Papageorgiou,* Andreana N. Assimopoulou, Elias A. Couladouros, David Hepworth und K. C. Nicolaou*

Nur wenige Naturstoffe können eine derart vielseitige Geschichte vorweisen wie die enantiomeren Naphthochinone Alkannin und Shikonin. Extrakte der Wurzeln von *Alkanna tinctoria* in Europa und *Lithospermum erythrorhizon* in Asien sind über viele Jahrhunderte als rote Naturfarbstoffe und als magisches Heilmittel zur schnellen Wundheilung verwendet worden. Erst 1935 wurden Alkannin und Shikonin als Hauptinhaltstoffe dieser Extrakte isoliert und als Enantiomere identifiziert. 1976 wurde die wundheilende Wirkung von Alkannin auch durch

klinische Studien belegt. Vor allem in Japan ist Shikonin heute wegen seiner medizinischen Wirkung und seiner Färbeeigenschaften sehr geschätzt. Da ein effizienter präparativer Zugang zu diesen Verbindungen bis vor kurzem nicht möglich war und die pflanzlichen Ressourcen zur Befriedigung der Nachfrage nicht ausreichen, entwickelten Biotechnologen ein Verfahren zur Herstellung dieser Substanzen, das zudem das erste kommerzielle Verfahren zur Gewinnung von Verbindungen aus Pflanzenzellkulturen war. In Europa werden Alkanninderivate

als Wirkstoffe in Salben zur Behandlung von Geschwüren und Verbrennungen verwendet. Dieser Aufsatz versucht, möglichst umfassend auf die Geschichte von Alkannin und Shikonin einzugehen, vom fünften vorchristlichen Jahrhundert bis zu neuesten Erkenntnissen über ihre biologischen und pharmakologischen Eigenschaften sowie bioorganische, präparative und medizinische Aspekte.

Stichwörter: Bioorganische Chemie • Chinone • Naturstoffe • Phytochemie • Wundheilung

1. Historische Einleitung

Die Geschichte der enantiomeren Naphthochinon-Naturstoffe Alkannin **1** und Shikonin **2** (Abbildung 1) lässt sich mehrere Jahrhunderte zurückverfolgen. Genaugenommen

[*] Prof. V. P. Papageorgiou, A. N. Assimopoulou
Organic Chemistry Laboratory, Chemical Engineering Department
Aristotle University of Thessaloniki
54006 Thessaloniki (Griechenland)
Fax: (+30) 31-996252
E-mail: vaspap@eng.auth.gr
Prof. K. C. Nicolaou, Dr. D. Hepworth
Department of Chemistry and The Skaggs Institute for Chemical Biology
The Scripps Research Institute
10550 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037 (USA)
Fax: (+1) 619-784-2469
E-mail: kcn@scripps.edu
und
Department of Chemistry and Biochemistry
University of California, San Diego
9500 Gilman Drive, La Jolla, CA 92093 (USA)
Prof. E. A. Couladouros
Chemical Laboratories, Agricultural University of Athens
Iera Odos 75, 118.55 (Griechenland)
und
Organic and Bio-organic Laboratories, NCSR „DEMOKRITOS“
153.10 Ag. Paraskevi Attikis, POB 60228 (Griechenland)

[**] Einige häufiger verwendete Abkürzungen werden im Anhang erklärt.

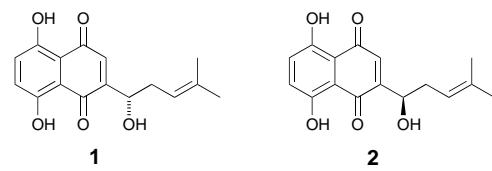


Abbildung 1. Strukturen von Alkannin **1** und Shikonin **2**.

besteht diese Geschichte aus zwei Teilhandlungen, die in bemerkenswert paralleler Weise in Europa und in Asien verliefen und die erst im 20. Jahrhundert zusammengeführt wurden.

In Europa kommt das (S)-Enantiomer Alkannin **1** (Abbildung 2) in den Wurzeln der Pflanze *Alkanna tinctoria* TAUSCH (AT) vor, auch bekannt unter dem Namen *Anchusa tinctoria* (engl. alkanet; Abbildung 3a).^[1] Diese Verbindung ist die Hauptkomponente der tiefroten Pigmente, die sich aus den Wurzeln der Pflanze extrahieren lassen.^[2] Wahrscheinlich war es die intensive Farbe von Alkannin, die zuerst die Aufmerksamkeit der Botaniker erregte. Die Anfänge der Verwendung dieser Substanz als Farbstoff für Textilien lassen sich mit Sicherheit auf einige Jahrhunderte vor Christus datieren.^[3] Der vielleicht erste dokumentierte Gebrauch der AT-Wurzeln findet sich im Werk des griechischen Arztes und Philosophen Hippokrates (5. bis 4. Jahrhundert vor Christus),

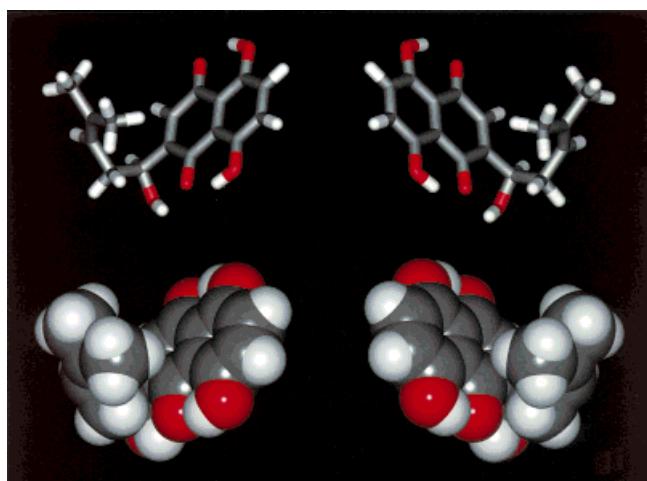


Abbildung 2. Computerberechnete Molekülmodelle von Alkannin **1** (links) und Shikonin **2** (rechts). Kohlenstoff: grau, Wasserstoff: weiß, Sauerstoff: rot.

der die Verwendung der Wurzeln zur Behandlung von Geschwüren beschrieb.^[4] Auch der Botaniker und Gelehrte Theophrastus (4. bis 3. Jahrhundert vor Christus) verweist auf ihre Verwendung als Farbstoff und in der Medizin.^[5] Von Alexander dem Großen ist bekannt, daß er in Pflanzenheilkunde versierte Ärzte beschäftigte.^[6] So ist es wahrscheinlich, daß man die medizinischen Eigenschaften der *AT*-Wurzel während der Feldzüge zur Behandlung der Kranken und Verwundeten nutzte. Dioskorides (Abbildung 4), den viele für den Gründer der Pharmakognosie halten, beschreibt die Eigenschaften der Wurzelextrakte ausführlich in seiner *De Materia Medica* aus dem Jahr 77 nach Christus (Abbildung 5).^[7]

In seinen Berichten über die verwandte Pflanze *Anchusa etera* beschreibt Dioskorides auch recht seltsame Effekte:^[8] „... ye roots red, ... having something like blood in them. But ye faculty of it, and ye leaves is to help ye venomous-beast-bitten, especially ye viper-bitten, being eaten or drank or



V. P. Papageorgiou



A. N. Assimopoulou



E. A. Couladouros



D. Hepworth



K. C. Nicolaou

Vassilios P. Papageorgiou wurde 1942 in Griechenland geboren. Er erhielt den Ph.D. und den D.Sc. von der Aristoteles-Universität Thessaloniki für Arbeiten zur Isolierung und Strukturaufklärung von Substanzen pflanzlichen Ursprungs mit wundheilender Wirkung. Nach einem Postdoktoranden-Aufenthalt an der Pharmacy School, University of Kentucky, wurde er zunächst zum Professor für Organische Chemie, später zum Leiter des Instituts für Chemieingenieurwesen der Universität Thessaloniki gewählt. Der Schwerpunkt seiner Arbeiten sind die Isolierung und Untersuchung biologisch aktiver Verbindungen pflanzlicher Herkunft und die Entwicklung neuer Substanzen mit wundheilender Wirkung.

Andreana N. Assimopoulou wurde 1974 in Griechenland geboren. 1997 erhielt sie den B.Sc. in Chemieingenieurwesen von der Aristoteles-Universität in Thessaloniki. Zur Zeit ist sie Doktorandin in der Arbeitsgruppe von Professor Papageorgiou.

Elias A. Couladouros, geboren 1956 in Griechenland, erhielt den B.Sc. von der Universität Athen und den Ph.D. von der Agricultural University von Athen unter der Anleitung von Professor M. P. Georgiadis. Nach einem Postdoktoranden-Aufenthalt bei Professor Nicolaou an der University of Pennsylvania (1988–1989) wurde er Fakultätsmitglied an der Agrarwissenschaftlichen Universität von Athen und ist dort gegenwärtig Professor für Chemie. Er ist auch Dozent am Forschungszentrum „Demokritos“ in Athen. Seine Forschungsinteressen sind neue Synthesemethoden und die Totalsynthese von Naturstoffen.

David Hepworth, 1970 in England geboren, studierte Chemie an der University of Oxford. Seinen Abschluß als D.Phil. erreichte er 1996 unter der Anleitung von Professor S. G. Davies mit einer Arbeit über asymmetrische Synthesen mit Organochromverbindungen und chiralen Hydroxylaminen. 1997 trat er in die Arbeitsgruppe von Professor Nicolaou ein, wo er zunächst eine Synthese von Alkannin und Shikonin fertigstellte und seitdem das Epothilon-Team unterstützt.

K. C. Nicolaou ist Direktor des Chemischen Instituts am Scripps Research Institute, La Jolla, Kalifornien, und Darlene Shiley Professor of Chemistry sowie Skaggs Professor of Chemical Biology. Er ist außerdem Professor für Chemie an der University of California, San Diego.

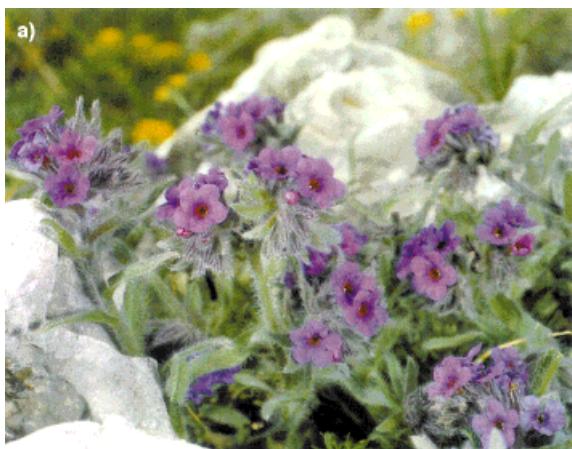


Abbildung 3. Die Pflanzen a) *Alkanna tinctoria* TAUSCH, eine natürliche Quelle für Alkannin 1, und b) *Lithospermum erythrorhizon* SIEB. ET ZUCC., eine natürliche Quelle für Shikonin 2 (mit freundlicher Genehmigung von Medpharm Scientific Publications (a) und der Kyoto Pharmaceutical University (b)).

hanged about one. And if one having chewed it, do spitt it out into ye mouth of ye venomous beast, it will kill him.“ Zwar handelt es sich hierbei offensichtlich um ein Abgleiten in das Reich der Phantasie, doch berichteten auch andere über die wundheilenden Eigenschaften von *AT* – unabhängig von seinem Zeitgenossen Dioskorides erwähnt auch Plinius ähnliche medizinische Eigenschaften von *AT*:^[9] „It stains the hands the colour of blood; it is used for imparting rich colours to wool. Applied with cerate it heals ulcerous sores, those of the aged in particular: it is employed also for the cure of burns.“

Über Jahrhunderte blieb *De Materia Medica* eines der Standardwerke der Botanik in Europa, und viele pflanzliche Präparate wurden mit Hilfe dieses Buches entwickelt. Die heilende Wirkung von Alkannin verbeitete sich daher in ganz Europa, vielleicht sogar darüber hinaus.^[10] Der englische



Abbildung 4. Dioskorides, der Begründer der Pharmakognosie, beim Sammeln von Pflanzen (mit freundlicher Genehmigung von Parke Davis).

HERBS AND ROOTS

421



23. ANCHOUSA. *Anchusa tinctoria*
Alkanet

Anchusa, which some call Calyx, some Onoclea [Some Catanchusa, some Lybica, some Archibellion, some Onophyllum, some Porphyris, some Mydusa, some Salyx, some Nonea, ye Africans Buinesath] hath leaves like to the sharp-leaved lettuce, rough, sharp, black, many, on every side of ye root joining to ye earth, prickly. The root, ye thickness of a finger of ye colour almost of blood in ye summer becoming severe, dyeing of the hands. It grows in good grounds. The root is of a binding nature, being good for burnings, and old ulcers being sodden in wax & oil, and being laid on with Polenta it cures ye Erysipela & ye vitiliges & Leprosies being smeared on with acetum & being given as a Pessum it draws out ye Embrya. But ye decoction of it is given also to ye ictericall, nephriticall & spleneticall, if they have a fever, with melicrate. But ye leaves being drank with wine do stop ye belly. And ye Unguentarians do use the root for ye thickening of ye ointments.

Abbildung 5. Englische Übersetzung eines Auszugs aus *De Materia Medica*.

„gentleman student of Physick and astrology“ Nicolas Culpeper berichtet im 17. Jahrhundert davon, daß Alkanet Geschwüre, Entzündungen und Verbrennungen zu kurieren vermag.^[11] Der Arzt William Salmon beschreibt in seiner Abhandlung *English Herbs* (ca. 1710)^[12] eine Zubereitung zur Behandlung von „deep wounds and punctures of the nerves made with thrusts, stabs or pricking with any pointed weapon.“ Die Rezeptur lautet wie folgt: „Olive oil 2 lbs., Alkanet root 3 or 4 ounces, Earthworms cleaned and purged number 40. Boil them together, then strain out whilst hot and keep it close for use.“

Seit dieser Zeit sind die medizinischen Eigenschaften dieser Pflanze entweder in die Folklore übergegangen, oder sie sind lange Zeit ganz in Vergessenheit geraten. Tatsächlich werden in der modernen Literatur zur Pflanzenheilkunde die Wurzeln beschrieben als „rarely used for medicinal purposes“^[12], „not widely available“^[13] und „[of] no medical importance“^[14]. Dennoch wird Alkannin **1** noch immer im *Merck Index* als Adstringens aufgeführt.^[15]

1976 berichtete Papageorgiou über Experimente, die die wundheilenden und antimikrobiellen Eigenschaften der *AT*-Wurzelextrakte bestätigen, und identifizierte als erster Alkanninderivate als deren aktive Inhaltstoffe (Abschnitte 5.1 bzw. 5.3). Vor kurzem konnten für diese Verbindungen auch bedeutende Antitumoreigenschaften nachgewiesen werden, und sie wirken antibakteriell und entzündungshemmend. Die verschiedenen Aspekte dieses Wirkungsspektrums werden in Abschnitt 5 diskutiert.

Die Geschichte des (*R*)-konfigurierten Shikonins **2** spielt in Asien und hat ihre Ursprünge in China. Das Molekül ist der Hauptinhaltstoff des roten Pigments, das sich aus der Wurzel der Pflanze *Lithospermum erythrorhizon* Sieb Et Zucc. (*LE*) extrahieren lässt (Abbildung 6). Die Wurzeln sind in China unter verschiedenen Namen bekannt, darunter *tzu ts'ao* (Purpurwurzel) und *hung-tzu ken* (rötliche Purpurwurzel). Die Anfänge des Gebrauchs von Shikonin in der Seidenfärberei liegen vermutlich genauso weit zurück wie die Verwendung von Alkannin **1** in Europa. Möglicherweise hat der berühmte Chirurg Hua To (geboren ca. 136–141 nach Christus), der als einer der ersten einfache Medikamente, z. B.

Antiseptika und entzündungshemmende Salben, eingesetzt haben soll,^[16] Shikonin **2** in die traditionelle chinesische Medizin eingeführt. Die Verwendung von **2** lässt sich mit Sicherheit in die späten Jahre der Ming-Dynastie zurückverfolgen, da die Wurzeln in der klassischen Zusammenstellung traditioneller chinesischer Medikamente, *Pen Ts'ao Kang Mu* aus dem Jahre 1596 nach Christus, aufgeführt sind.^[17]

Die Entwicklung der chinesischen Medizin gilt als ein konstanter Prozeß der Verfeinerung und der Selektion aus allem, was jemals bekannt gewesen ist – im Unterschied zum Verlauf, den die westliche Medizin genommen hat: Neuere Entwicklungen bauen hier auf den Arbeiten anderer auf, und was früher bekannt war, gerät allmählich in Vergessenheit. Die Tatsache, daß *LE*-Wurzeln noch immer in Werken der traditionellen asiatischen Heilkünste aufgeführt werden,^[18] ist daher ein weiteres Zeugnis ihrer medizinischen Eigenschaften. Zu den mit *LE*-Wurzeln behandelbaren Krankheiten zählen unter anderem Verbrennungen, Geschwüre im Analbereich, Hämorrhoiden, entzündete Blutkrusten und Druckgeschwüre, offene Wunden und nässende Dermatitis. Diese Indikationen stimmen bemerkenswert mit denen überein, die unabhängig davon auch in vielen alten Schriften über *AT*-Wurzeln erwähnt werden. Noch heute werden verschiedene Zubereitungen von Shikonin und Derivaten davon in China, Japan und Korea zu medizinischen Zwecken genutzt. In Japan wird Shikonin darüber hinaus in Kosmetika^[19] und als Farbstoff verwendet.^[20] Wie bei Alkannin **1** wurden in jüngerer Zeit auch die medizinischen Eigenschaften von Shikonin **2** wissenschaftlich untersucht. Die interessanten Ergebnisse dieser Experimente werden ebenfalls in Abschnitt 5 diskutiert.

In Europa und Nordamerika wird Alkannin **1** derzeit hauptsächlich als Pigment in Lebensmittelfarben^[13, 21] und für Kosmetika^[13, 22] verwendet, doch weltweit sind beide Naturstoffe Gegenstand wissenschaftlicher Forschungen in vielen Disziplinen, mit Berührungsstellen sowohl in der Chemie als auch in der Biologie. Dieser Aufsatz ist ein Versuch, die Ergebnisse von über 400 Originalarbeiten und Patenten zusammenzufassen, von denen viele erst nach einer ersten Übersicht aus dem Jahr 1980^[23] erschienen sind.

2. Isolierung und Identifizierung von Alkannin und Shikonin

Shikonin **2** wurde zuerst 1922 als sein Acetat **15** von den japanischen Chemikern Majima und Kuroda aus *LE*-Wurzeln isoliert.^[24] Sie ermittelten viele der chemischen Eigenschaften von Shikonin, erkannten die physikalischen und chemischen Ähnlichkeiten zu dem bereits damals bekannten Naphthazarin (Abschnitt 4.1) und schlugen **3** als Struktur für Shikonin vor (Abbildung 7). Es entging ihnen jedoch, daß Shikonin optisch aktiv war. Zudem wurden sie vermutlich durch den gemeinhin akzeptierten, aber falschen Strukturvorschlag für Naphthazarin **64** als 5,6-Dihydroxy-1,4-naphthochinon **4** gefeleit. Nachdem **64** korrekt als 5,8-Dihydroxy-1,4-naphthochinon identifiziert worden war, untersuchte Brockmann Shikonin von neuem.^[1] Er war der erste, der Alkannin **1** und



Abbildung 6. Wurzeln der Pflanze *Lithospermum erythrorhizon* SIEB. ET ZUCC. (mit freundlicher Genehmigung der Kyoto Pharmaceutical University).

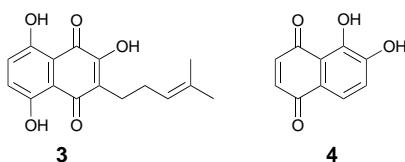


Abbildung 7. Fälschlich den Verbindungen Shikonin (**3**) und Naphthazarin (**4**) zugeordnete Strukturen.^[24]

Shikonin **2** als Enantiomere charakterisierte, ihre Strukturen korrekt zuordnete und somit schließlich die Geschichten der beiden Naturstoffe, die sich so lange parallel und unabhängig voneinander entwickelt hatten, zusammenführte. Die absolute Konfiguration von **1** und **2** konnte erst später durch ihren Abbau zu Äpfelsäure (Hydroxybutandisäure) bestimmt werden.^[25]

Brockmann fand heraus, daß der Betrag der spezifischen Drehwerte von **1** und **2** nicht identisch war, sondern daß der von **1** im allgemeinen größer war als der von **2**. Er führte dies auf die Anwesenheit von Spuren des Racemats, das er Shikalkin **1/2** nannte, in den Extrakten der *LE*-Wurzeln zurück. Später wurde das Enantiomerenverhältnis in verschiedenen Alkannin- und Shikoninquellen durch Messung des Circulardichroismus^[26] und durch HPLC an chiraler stationärer Phase bestimmt.^[27] Interessanterweise stellte sich dabei heraus, daß das Verhältnis von **1:2** je nach extrahierter Pflanzenart variiert.^[26] In dieser Hinsicht sind Alkannin und Shikonin vermutlich einzigartig unter den Naturstoffen.

Außer aus *Alkanna tinctoria* und *Lithospermum erythrorhizon* sind Alkannin **1** und Shikonin **2** auch aus anderen Pflanzen der Gattung *Boraginaceae* isoliert worden. Tabelle 1 ist eine aktuelle Zusammenstellung ausgewählter Naturstoffe aus der Alkannin- und Shikoninfamilie, ihres Vorkommens und ihrer bisher bekannten biologischen Wirkungsweisen.

3. Gewinnung von Alkannin und Shikonin

Für Organiker, die mit der Chemie der Chinone nicht näher vertraut sind, mögen die Strukturen von Alkannin **1** und Shikonin **2** sehr einfach erscheinen. Doch trotz intensiver Bemühungen vieler Arbeitsgruppen aus aller Welt ist ein effizienter Syntheseweg zu diesen Enantiomeren erst in jüngster Zeit eröffnet worden (siehe Abschnitt 4.3.4).

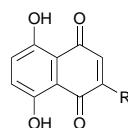
Noch heute muß Shikonin **2** zu kommerziellen Zwecken aus der Natur gewonnen werden. Der Versuch, *LE* in Japan zu kultivieren, konnte die Nachfrage nach den kostbaren Inhaltsstoffen nicht befriedigen. Die Pflanzen müssen über einen Zeitraum von 5–7 Jahren wachsen, damit die Wurzeln einen Shikonin gehalt von 1–2 % erreichen. Früher mußte daher der gesamte Shikoninbedarf Japans durch Importe aus China und Korea gedeckt werden. Wegen dieser Schwierigkeiten wurde intensiv an Verfahren gearbeitet, mit denen **2** aus Pflanzenzellkulturen produziert werden sollte. Die Früchte dieser Bemühungen waren ein effizientes, kommerzielles Produktionsverfahren für **2** sowie eine Fülle von Informationen über die Biosynthese von **2** und verwandten Verbindungen.

3.1. Produktion von Alkannin und Shikonin aus Pflanzenzellkulturen

Das erste erfolgreiche Herstellungsverfahren für Shikonin und verschiedene Esterderivate aus Kalluskulturen wurde 1974 von Tabata und Mitarbeitern entwickelt.^[91] Da sich der Naturstoff nur in den Korkschichten der Pflanzenwurzeln anreichert, gingen diese Forscher davon aus, daß die Biosynthese von **2** durch bestimmte Umweltfaktoren ausgelöst wird, die mit der Produktion von Korkzellen im Zusammenhang stehen.

Das Kultivieren des aus keimenden *LE*-Samen gewonnenen Kallusgewebes gelang in einem mit Kinetin (10^{-6} M) und 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (10^{-6} M) versetzten Linsmaier-Skoog(LS)-Medium.^[92] Diese Kulturen produzierten jedoch keine Naphthochinonpigmente. Durch Transferieren dieses Kallusgewebes nach drei Monaten in ein mit dem Auxin 3-Indolessigsäure (IAA) angereichertes Medium konnte die Pigmentproduktion schließlich stimuliert werden. Gemäß dem Vorkommen der Naturstoffe in den Pflanzenwurzeln und in Übereinstimmung mit den ursprünglichen Annahmen der Autoren ist eine Naphthochinonproduktion nur dann möglich, wenn die Kulturen während des gesamten Verfahrens im Dunkeln gehalten werden. Die Möglichkeit, daß das Ausbleiben der Shikoninproduktion in Zellen, die mit weißem Licht bestrahlt werden, auf eine Zersetzung der lichtempfindlichen Verbindung zurückzuführen ist, konnte ausgeschlossen werden. Auch wenn die Zellen nur in der Phase vor der durch IAA in Gang gesetzten Pigmentbildung bestrahlt wurden, wurde die Shikoninbildung vollständig unterdrückt. Später wurde festgestellt, daß durch die Lichteinwirkung eines der entscheidenden Enzyme in der Biosynthese der Verbindungen zerstört wird (siehe Abschnitt 3.2).

Weitere Experimente führten zur Identifizierung anderer Kontrollfaktoren im Verlauf der Biosynthese von **1** und **2**. Während die Pigmentbildung in einem LS-Agar-Medium stattfindet, bleibt sie in einem flüssigen LS-Medium ohne Agar aus. Zur Erklärung wurde vorgeschlagen, daß dieser Effekt durch einen Sekundärmetabolismus hervorgerufen wird, der von einem im Agar vorhandenen Polysaccharid ausgelöst wird. Diese Hypothese konnte auch experimentell untermauert werden.^[93] Ein entscheidender Fortschritt war die Feststellung, daß Zellmaterial, das zunächst in flüssigem LS-Medium kultiviert worden war, in dem hierfür entwickelten Nährmedium M9 große Mengen an Shikonin produziert.^[94] Dieses Medium enthält statt Ammoniumionen (die sich als Inhibitoren der Shikoninbiosynthese erwiesen) Nitrat als Stickstoffquelle und Cu²⁺-Ionen, die die Biosynthese aktivieren. Auch Polysaccharide, ähnlich denen, die in Agar den Sekundärmetabolismus stimulieren, konnten in Shikoninproduzierenden Zellen aus dem Medium M9 nachgewiesen werden.^[95] Gibberelin A₃ deaktiviert die Shikoninbiosynthese selbst in Konzentrationen von 10⁻⁷ M, ohne daß dadurch das Zellwachstum beeinträchtigt würde. Man vermutet, daß dies einer der wichtigen endogenen Regulationsmechanismen der Biosynthese ist.^[96] Auch Glutamin konnte als Inhibitor der Pigmentbildung identifiziert werden,^[97] wogegen Aktivkohle stimulierend wirkt.^[98]

Tabelle 1. Ausgewählte Verbindungen aus der Familie der Alkannin- und Shikonin-Naturstoffe.^[a]

Verbindung	R =	Name	Vorkommen und biologische Eigenschaften
1		Alkannin (auch Arnebin-4)	Wurzeln: <i>Alkanna tinctoria</i> , ^[1, 2, 28–31, 159] <i>Arnebia hispidissima</i> , ^[2, 32, 33] <i>A. nobilis</i> , ^[171] <i>A. tinctoria</i> , ^[34] <i>Macrotomia cephalotes</i> , ^[35] <i>M. euchroma</i> , ^[36] <i>Onosma echoioides</i> , ^[37] <i>O. paniculata</i> , ^[105g] <i>Plagiobotrys arizonicus</i> , ^[26] Zellkulturen: <i>Alkanna tinctoria</i> , ^[104b] <i>Echium lycopsis</i> , ^[26] Biologische Wirkung: wundheilend (Abschnitt 5.1), entzündungshemmend (Abschnitt 5.1), antibakteriell (Abschnitt 5.3), Inhibierung der Topoisomerase I (Abschnitt 5.2), antithrombotisch (Abschnitt 5.4)
5		Acetylalkannin (Arnebin-3)	Wurzeln: <i>Alkanna tinctoria</i> , ^[38, 241a] <i>Arnebia euchroma</i> , ^[44] <i>A. hispidissima</i> , ^[33] <i>A. nobilis</i> , ^[171] <i>Macrotomia cephalotes</i> , ^[35, 39] Zellkulturen: <i>Alkanna tinctoria</i> , ^[104a] <i>Echium lycopsis</i> , ^[26] <i>Onosma paniculatum</i> , ^[105g] Biologische Wirkung: antimikrobiell (Abschnitt 5.3), Inhibierung der Topoisomerase-I (Abschnitt 5.2), antithrombotisch (Abschnitt 5.4), Antitumorwirkung (Abschnitt 5.2)
6		Isobutyrylalkannin	Wurzeln: <i>Alkanna tinctoria</i> , ^[40] Zellkulturen: <i>Echium lycopsis</i> , ^[26]
7		Isovalerylalkannin	Wurzeln: <i>Alkanna tinctoria</i> , ^[38, 47, 202] <i>Arnebia hispidissima</i> , ^[33] <i>A. tinctoria</i> , ^[34] <i>Macrotomia cephalotes</i> , ^[35, 39] <i>Onosma heterophylla</i> , ^[41] Zellkulturen: <i>Echium lycopsis</i> , ^[26] Biologische Wirkung: Inhibierung der Topoisomerase I (Abschnitt 5.2)
8		α -Methylbutyrylalkannin	Wurzeln: <i>Alkanna tinctoria</i> , ^[38] <i>Macrotomia cephalotes</i> , ^[35, 39] Biologische Wirkung: antimikrobiell (Abschnitt 5.3)
9		β,β -Dimethylacrylalkannin (Arnebin-1)	Wurzeln: <i>Alkanna tinctoria</i> , ^[159] <i>Arnebia euchroma</i> , ^[42–45] <i>A. guttata</i> , ^[42] <i>A. nobilis</i> , ^[171] <i>Lithospermum erythrorhizon</i> , ^[42] <i>Macrotomia cephalotes</i> , ^[39] <i>Onosma heterophylla</i> , ^[41] <i>O. hookeri</i> , ^[42] <i>O. paniculata</i> , ^[42] Zellkulturen: <i>Alkanna tinctoria</i> , ^[104a] <i>Echium lycopsis</i> , ^[26] <i>Onosma paniculatum</i> , ^[105g] Biologische Wirkung: Inhibierung der Topoisomerase I und Antitumorwirkung (Abschnitt 5.2), antimikrobiell (Abschnitt 5.3), antithrombotisch (Abschnitt 5.4), entzündungshemmend (Abschnitt 5.1)
10		Teracyrlalkannin	Wurzeln: <i>Arnebia densiflora</i> , ^[46] Biologische Wirkung: antimikrobiell (Abschnitt 5.3)
11		Angelylalkannin	Wurzeln: <i>Alkanna tinctoria</i> , ^[30, 38, 47, 202]
12		β -Hydroxyisovalerylalkannin	Wurzeln: <i>Arnebia euchroma</i> , ^[42, 44] <i>A. hispidissima</i> , ^[33] <i>Macrotomia cephalotes</i> , ^[35] Zellkulturen: <i>Echium lycopsis</i> , ^[26] Biologische Wirkung: antimikrobiell (Abschnitt 5.3)
13		β -Acetoxyisovalerylalkannin	Wurzeln: <i>Alkanna tinctoria</i> , ^[203] <i>Arnebia euchroma</i> , ^[42–44] <i>Onosma heterophylla</i> , ^[41] <i>Moltkiopsis ciliata</i> , ^[85] Zellkulturen: <i>Onosma paniculatum</i> , ^[105g] Biologische Wirkung: antimikrobiell (Abschnitt 5.3)
14		(nicht benannt)	Wurzeln: <i>Cynoglossum officinale</i> , ^[36] <i>Eritrichium incanum</i> , ^[36] <i>E. sichotense</i> , ^[36] <i>Lappula consanguinea</i> , ^[36] <i>Lappula echinata</i> , ^[36] <i>Mertensia maritima</i> , ^[36]

Tabelle 1. (Fortsetzung)

Verbindung	R =	Name	Vorkommen und biologische Eigenschaften
2		Shikonin	Wurzeln: <i>Arnebia euchroma</i> , ^[42–44, 48, 49] <i>A. hispidissima</i> , ^[32] <i>A. guttata</i> , ^[49, 50] <i>A. tibetiana</i> , ^[51–53] <i>Cynoglossum officinale</i> , ^[36] <i>Echium lycopsis</i> , ^[54] <i>E. rubrum</i> , ^[55, 69] <i>E. vulgare</i> , ^[36] <i>Eritrichium incanum</i> , ^[36] <i>E. sitchensis</i> , ^[36] <i>Jatropha glandulifera</i> , ^[56] <i>Lappula consanguinea</i> , ^[36] <i>L. echinata</i> , ^[36] <i>Lithospermum erythrorhizon</i> , ^[48, 57–61, 77] <i>L. officinale</i> , ^[58–62] <i>Macrotomia echioides</i> , ^[63] <i>M. ugamensis</i> , ^[52, 53, 64] <i>M. euchroma</i> , ^[36, 65, 66] <i>Mertensia maritima</i> , ^[36] <i>Onosma caucasicum</i> , ^[52, 55] <i>O. confertum</i> , ^[78] <i>O. hookeri</i> , ^[42] <i>O. livanovii</i> , ^[63] <i>O. polyphyllum</i> , ^[67] <i>O. tauricum</i> , ^[68] <i>O. sericum</i> , ^[63] <i>O. setosum</i> , ^[63] <i>O. visianii</i> , ^[69] <i>O. zerizaminum</i> ^[52–53, 70] Zellkulturen: <i>Arnebia euchroma</i> , ^[107e,f] <i>Echium lycopsis</i> , ^[26] <i>Lithospermum erythrorhizon</i> , ^[91, 99a] <i>Onosma paniculatum</i> ^[105] Biologische Wirkung: Antitumorwirkung (Abschnitt 5.2), antiamöbisch (Abschnitt 5.3), antipyretisch und analgetisch (Abschnitt 5.1), antimykotisch und antibakteriell (Abschnitt 5.3), wundheilend (Abschnitt 5.1), chemoprophylaktisch (Abschnitt 5.2), entzündungshemmend (Abschnitt 5.1), Inhibierung der Topoisomerase II (Abschnitt 5.2), Inhibierung der mikrosomalen Monooxygenase, ^[71] Stimulierung der Peroxidase, ^[72] Schutz vor UV-Strahlung, ^[73] Inhibierung von Testosteron- α -Reduktase, ^[19f] Induktion und Sekretion des Nervenwachstumsfaktors ^[74]
15		Acetylshikonin	Wurzeln: <i>Arnebia decumbens</i> , ^[75] <i>A. euchroma</i> , ^[36, 42–44, 49] <i>A. guttata</i> , ^[42, 49, 50] <i>Cynoglossum officinale</i> , ^[36] <i>Echium vulgare</i> , ^[36] <i>Eritrichium incanum</i> , ^[36] <i>E. sitchensis</i> , ^[36] <i>Jatropha glandulifera</i> , ^[56] <i>Lappula consanguinea</i> , ^[36] <i>L. echinata</i> , ^[36] <i>Lithospermum arvense</i> , ^[76] <i>L. erythrorhizon</i> , ^[42, 57, 77] <i>Mertensia maritima</i> , ^[36] <i>Onosma confertum</i> , ^[78] <i>O. hookeri</i> , ^[42] <i>O. paniculatum</i> ^[42] Zellkulturen: <i>Arnebia euchroma</i> , ^[107e,f] <i>Echium lycopsis</i> , ^[26] <i>L. erythrorhizon</i> , ^[91, 99a] <i>O. echioides</i> ^[106]
16		1-Methoxy-acetylshikonin	Wurzeln: <i>Arnebia euchroma</i> ^[44]
17		Propionylshikonin	Zellkulturen: <i>Lithospermum erythrorhizon</i> ^[79]
18		Isobutyrylshikonin	Wurzeln: <i>Cynoglossum officinale</i> , ^[36] <i>Echium vulgare</i> , ^[36] <i>Eritrichium sitchensis</i> , ^[36] <i>Lappula consanguinea</i> , ^[36] <i>L. echinata</i> , ^[36] <i>Lithospermum arvense</i> , ^[76] <i>L. erythrorhizon</i> , ^[57, 80] <i>Macrotomia euchroma</i> , ^[36] <i>Mertensia maritima</i> ^[36] Zellkulturen: <i>Arnebia euchroma</i> , ^[107f] <i>Echium lycopsis</i> , ^[26] <i>Lithospermum erythrorhizon</i> ^[91, 99a]
19		Isovalerylshikonin	Wurzeln: <i>Arnebia decumbens</i> , ^[81] <i>Cynoglossum officinale</i> , ^[36] <i>Echium vulgare</i> , ^[36] <i>Lappula consanguinea</i> , ^[36] <i>L. echinata</i> , ^[36] <i>Lithospermum arvense</i> , ^[76] <i>L. erythrorhizon</i> , ^[36, 57, 82] <i>Macrotomia euchroma</i> ^[36] Zellkulturen: <i>Echium lycopsis</i> , ^[26] <i>L. erythrorhizon</i> ^[91, 99a] Biologische Wirkung: Inhibierung der Topoisomerase I (Abschnitt 5.2)
20		α-Methyl-butyrylshikonin	Wurzeln: <i>Cynoglossum officinale</i> , ^[36] <i>Echium vulgare</i> , ^[36] <i>Eritrichium incanum</i> , ^[36] <i>E. sitchensis</i> , ^[36] <i>Lappula consanguinea</i> , ^[36] <i>L. echinata</i> , ^[36] <i>L. erythrorhizon</i> , ^[77, 82] <i>Mertensia maritima</i> ^[36] Zellkulturen: <i>L. erythrorhizon</i> ^[99a] Biologische Wirkung: antimikrobiell (Abschnitt 5.3)
21		β,β-Dimethyl-acrylshikonin	Wurzeln: <i>Alkanna hirsutissima</i> , ^[83] <i>Arnebia euchroma</i> , ^[36, 49, 84] <i>A. guttata</i> , ^[49, 84] <i>A. tibetiana</i> , ^[53] <i>Cynoglossum officinale</i> , ^[36] <i>Echium vulgare</i> , ^[36] <i>Eritrichium incanum</i> , ^[36] <i>E. sitchensis</i> , ^[36] <i>Jatropha glandulifera</i> , ^[56] <i>Lappula consanguinea</i> , ^[36] <i>L. echinata</i> , ^[36] andere <i>Echium</i> -Spezies, ^[53] <i>L. erythrorhizon</i> , ^[36, 80, 82, 84] <i>Macrotomia ugamensis</i> , ^[53] <i>Mertensia maritima</i> , ^[36] <i>Onosma confertum</i> , ^[78] <i>O. paniculatum</i> , ^[84] <i>O. hookeri</i> , ^[84] <i>O. zerizaminum</i> ^[53] <i>Moltkiopsis ciliata</i> ^[85] Zellkulturen: <i>Arnebia euchroma</i> , ^[107e] <i>Echium lycopsis</i> , ^[26] <i>L. erythrorhizon</i> ^[91, 99a]
22		Teracrylshikonin	Wurzeln: <i>Arnebia euchroma</i> , ^[49] <i>A. guttata</i> , ^[49] <i>Lithospermum erythrorhizon</i> , ^[86] <i>L. euchromum</i> ^[86] Zellkulturen: <i>Arnebia euchroma</i> ^[107e] Biologische Wirkung: antimikrobiell (Abschnitt 5.3)
23		Angelylshikonin	Wurzeln: <i>Alkanna hirsutissima</i> ^[87, 88]
24		β-Hydroxy-isovalerylshikonin	Wurzeln: <i>Arnebia euchroma</i> , ^[49] <i>A. guttata</i> , ^[49, 50] <i>Lithospermum arvense</i> , ^[76] <i>L. erythrorhizon</i> , ^[57, 61, 77, 86] <i>L. euchromum</i> ^[86] Zellkulturen: <i>Arnebia euchroma</i> , ^[107e] <i>Echium lycopsis</i> , ^[26] <i>L. erythrorhizon</i> ^[91, 99a] Biologische Wirkung: antimikrobiell (Abschnitt 5.3)

Tabelle 1. (Fortsetzung)

Verbindung	R =	Name	Vorkommen und biologische Eigenschaften
25		β -Acetoxyisovalerylshikonin	Wurzeln: <i>Macrotomia euchroma</i> ^[89]
26		Benzoylshikonin	<i>Moltkiopsis ciliata</i> ^[85]
27		(unbenannt)	Wurzeln: <i>Lithospermum erythrorhizon</i> ^[61]
28		Arnebin-2	Wurzeln: <i>Arnebia nobilis</i> ^[171b]
29		Acetylärnebin-2	Wurzeln: <i>Onosma heterophylla</i> ^[41]
30		Arnebin-5	Wurzeln: <i>Arnebia nobilis</i> ^[171b]
31		Arnebin-6	Wurzeln: <i>Arnebia nobilis</i> ^[171b]
32		Desoxyalkannin, Desoxyshikonin oder Arnebin-7	Wurzeln: <i>Alkanna tinctoria</i> , ^[241a] <i>A. hirsutissima</i> , ^[88] <i>Arnebia decumbens</i> , ^[75] <i>A. euchroma</i> , ^[42–44, 49] <i>A. hispidissima</i> , ^[33] <i>A. guttata</i> , ^[42, 49, 50] <i>A. nobilis</i> , ^[90] <i>Cynoglossum officinale</i> , ^[36] <i>E. vulgare</i> , ^[36] <i>Eritrichium incanum</i> , ^[36] <i>E. sitchensis</i> , ^[36] <i>Lappula consanguinea</i> , ^[36] <i>L. echinata</i> , ^[36] <i>Lithospermum erythrorhizon</i> , ^[36, 42, 77, 82] <i>Macrotomia cephalotes</i> , ^[35, 39] <i>M. euchroma</i> , ^[82] <i>Mertensia maritima</i> , ^[36] <i>Onosma confertum</i> , ^[78] <i>O. heterophylla</i> ^[41] Zellkulturen: <i>Arnebia euchroma</i> , ^[107e,f] <i>Echium lycopsis</i> , ^[26] <i>L. erythrorhizon</i> , ^[91, 99a] <i>O. paniculatum</i> ^[105g] Biologische Wirkung: antidermatophytisch und antibakteriell (Abschnitt 5.3), Antitumorwirkung (Abschnitt 5.2)
33		Alkannin	Wurzeln: <i>Alkanna tinctoria</i> , ^[1] <i>Cynoglossum officinale</i> , ^[36] <i>Echium vulgare</i> , ^[36] <i>Eritrichium incanum</i> , ^[36] <i>E. sitchensis</i> , ^[36] <i>Lappula consanguinea</i> , ^[36] <i>L. echinata</i> , ^[36] <i>Lithospermum erythrorhizon</i> , ^[36] <i>M. euchroma</i> , ^[36] <i>Mertensia maritima</i> ^[36]
34		Anhydroalkannin	Wurzeln: <i>Lithospermum erythrorhizon</i> <i>Macrotomia euchroma</i>
35		Lithospermidin-A	Wurzeln: <i>Lithospermum erythrorhizon</i> ^[77]
36		Lithospermidin-B	Wurzeln: <i>Lithospermum erythrorhizon</i> ^[77]

[a] 1. Während der Extraktion kann es in manchen Fällen zur Esterhydrolyse kommen, so daß zusätzlich oder anstelle der Ester Alkannin **1** und Shikonin **2** isoliert werden. 2. Die absolute Konfiguration der Derivate wurde nur in Einzelfällen bestimmt. Es ist daher möglich, daß Alkanninderivate zur Shikoninreihe gehören und umgekehrt, oder daß es sich um Racemate handelt. Experimente zum Circular dichroismus (CD)^[26, 166f, 172] und Trennungen mit HPLC an chiraler stationärer Phase^[27] haben ergeben, daß *Arnebia euchroma* hauptsächlich Alkanninderivate enthält, während Shikoninderivate die Hauptkomponenten von *Onosma confertum* sind. Die Konfiguration verschiedener Ester aus demselben Pflanzenmaterial kann jedoch unterschiedlich sein. Sie variiert auch zwischen den gleichen Pflanzen von unterschiedlichen Fundorten.^[26] Unterschiede können sich auch zwischen den Extrakten aus Pflanzenmaterial und denen aus Zellkulturen ergeben.^[26]

Weitere Verbesserungen der Shikoninproduktion konnten durch Selektion der produktivsten und stabilsten Zelllinien erzielt werden,^[99] wobei sich die intensive Farbe des Naturstoffs als große Hilfe erwies. Auch die verwendeten Nährmedien wurden modifiziert.^[100] Diese Verbesserungen ermöglichen der Firma Mitsui Petrochemical, **1** und **2** in kommerziellem Maßstab zu produzieren.^[101, 102] Bemerkenswerterweise kann **2** unter diesen Bedingungen in Mengen von über 4 g pro Liter Nährmedium gewonnen werden. Dieses Verfahren war die weltweit erste kommerzielle Nutzung von Pflanzenzellkulturen zur Gewinnung eines Sekundärmetaboliten und ist noch heute eines der wenigen Verfahren, das in industriellem Maßstab durchgeführt wird. Es ist daher schon mehrfach darüber berichtet worden,^[99c, 103] so daß wir uns hier auf diese kurze Zusammenfassung beschränken können. Der große Erfolg dieser Methode führte zu verstärkten Bemühungen, Shikonin **2** und Alkannin **1** durch Kultivierung von Zellen auch anderer *Boraginaceae*-Arten zu gewinnen. Diese Versuche waren von unterschiedlichem Erfolg gekrönt.^[26, 104–107] Verbesserungen des Kultivierungsverfahrens mit *LE*-Zellen sind noch immer Gegenstand intensiver Untersuchungen, und ständig erscheinen neue Veröffentlichungen zu diesem Thema.^[108]

3.2. Biosynthese von Alkannin und Shikonin

Die intensive Erforschung der kommerziellen Produktion von **1** und **2** aus Pflanzenzellkulturen erleichterte die Aufklärung verschiedener Stadien der Biosynthese dieser und verwandter Naturstoffe.^[109] Der allgemein akzeptierte Verlauf der Biosynthese ist in Schema 1 zusammengefaßt. Die beiden Hauptvorstufen sind 4-Hydroxybenzoësäure (PHB) **45** und Geranylpyrophosphat (GPP) **54**. Diese beiden Verbindungen werden, katalysiert durch das Enzym PHB-Geranyl-Transferase, zu *m*-Geranyl-PHB **55** umgesetzt. Von den frühen Stufen der Biosynthese von **2** ist wesentlich mehr bekannt als von den späteren.

GPP **54** entsteht auf der gut untersuchten Isoprenoid-Route^[110] über Mevalonsäure als Zwischenstufe, während PHB **45** aus Phenylpropanoid-Metaboliten synthetisiert wird. L-Phenylalanin **38**, aus Shikimisäure **37** gebildet, wird durch Phenylalanin-Ammoniak-Lyase (PAL) zu Zimtsäure **39** abgebaut. Deren Umwandlung zu *p*-Hydroxyzimtsäure **40** wird durch Cinnamat-4-Hydroxylase (C4H) katalysiert. Es bestehen unterschiedliche Auffassungen darüber, ob die biosynthetische Transformation von **40** zu **45** auf der β -Oxidations-Route^[111] oder über einen Retro-Aldol-Mechanismus^[112] verläuft. Die abschließende Beantwortung dieser Frage hat Bedeutung über die Shikoninbiosynthese hinaus, da PHB **45** ein biosynthetisches Intermediat für eine Reihe von Metaboliten wie den Ubichinonen **62**^[113] und Vitamin E **63**^[114] ist (Abbildung 8).

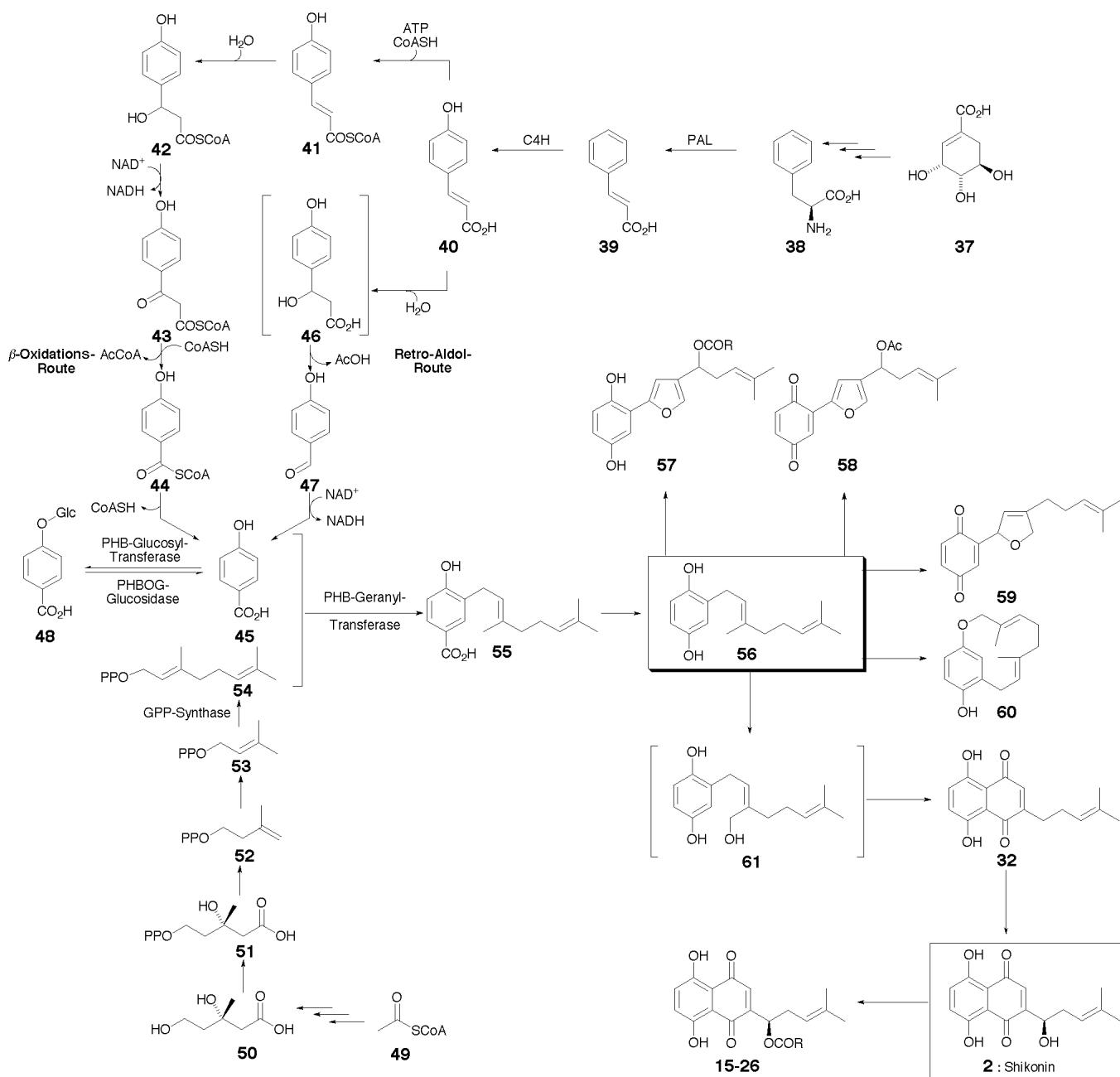
Beweise dafür, daß Shikonin tatsächlich über diese biosynthetische Route gebildet wird, sind auf vielfache Weise erbracht worden. So ergaben Fütterungsexperimente, daß sowohl Shikimisäure **37** als auch L-Phenylalanin **38**, Zimtsäure **39**, PHB **45**, *m*-Geranyl-PHB **55**, *m*-Geranylhydrochinon

56 und Mevalonsäure **50** Zwischenstufen dieser Biosynthese sind.^[115] Darüber hinaus konnten **45**, **55** und **56** auch aus Shikonin-freien *LE*-Kulturen isoliert werden, die in einem flüssigen LS-Medium kultiviert wurden, das die Shikoninbiosynthese inhibiert.^[115b] PHB **45** liegt dort als β -Glucosid PHBOG **48**^[116] in den Vakuolen der Shikonin-freien Zellen vor, was auf einen zellulären Abwehrmechanismus schließen läßt, da von PHB **45** bekannt ist, daß es toxisch auf Zellen wirkt.^[117] Bis hinauf zu *m*-Geranyl-PHB **55** sind Intermediate in diesen Shikonin-freien Zellkulturen nachgewiesen worden, und es wird vermutet, daß dessen Umwandlung zu *m*-Geranylhydrochinon **56** durch Ammoniumionen unterdrückt wird.^[118] Werden die Zellen in das Medium M9 transferiert, das die Shikoninbiosynthese stimuliert, nimmt die Menge an PHBOG **48** rasch ab, was darauf hindeutet, daß **45** oder **48** als Zwischenstufen benötigt werden.^[116] 1995 gelang der Nachweis, daß Desoxyshikonin **32** eine direkte biosynthetische Vorstufe von Shikonin **2** ist.^[115c] Dieses Ergebnis ist der einzige direkte Beweis, den man bislang für die Schritte nach der Synthese von *m*-Geranylhydrochinon **56** hat; die weiteren Schritte von **56** zu Shikonin **2** sind spekulativ.

Indirekte Beweise zur Unterstützung der vorgeschlagenen Biosyntheseroute wurden durch die Isolierung strukturell verwandter Sekundärmetaboliten aus verschiedenen *Boraginaceae*-Arten sowohl aus Pflanzen als auch aus Zellkulturen erbracht. Auf eine Beteiligung des Intermediats **61** kann aus der Isolierung der Furan- und Dihydrofuran-derivate Shikonofuran **57**,^[119] Echinofuran **58**,^[120] und Dihydroechinofuran **59**,^[121] geschlossen werden. Vermutlich entsteht der cyclische Arylether Arnebinol **60** durch eine allylische Hydroxylierung der *trans*-Methylgruppe von **59**, bevor es zur Makrocyclisierung kommt.^[122]

Mehrere an der Shikoninbiosynthese beteiligte Enzyme sind identifiziert und ihre Wirkorte in der Zelle lokalisiert worden. PHB-Geranyl-Transferase ist das Enzym, das durch die Einwirkung von weißem Licht auf *LE*-Zellkulturen gehemmt wird.^[94c] Die Shikoninbildung wird dadurch unterdrückt. Das Enzym wurde aus zellfreien *LE*-Extrakten isoliert und intensiv untersucht.^[123] Ähnliche Enzyme sind aus der Ubichinonbiosynthese bekannt,^[114] und die Nützlichkeit von Prenyl-Transferasen aus *E. coli* in der organischen Synthese ist bekannt.^[124] Es ist auch vorgeschlagen worden, daß Licht die Biosynthese durch den Photoabbau von Flavinmononukleotid (FMN) hemmt. FMN ist ein Cofaktor, der für einen oder mehrere der zur Shikoninbiosynthese notwendigen Oxidationsschritte notwendig sein kann. Dieses Argument wird dadurch untermauert, daß das aus dem Photoabbau von FMN entstehende Lumiflavin, vermutlich durch Zerstörung der PHB-Geranyl-Transferase, die Shikoninbiosynthese hemmt.^[125]

PHB-Geranyl-Transferase ist in einer mikrosomalen Fraktion der *LE*-Zellen lokalisiert, in der spezielle Vesikelmembranen aus dem endoplasmatischen Reticulum enthalten sind.^[126] Auch die PHB-Glucosyl-Transferase, die die Umwandlung von PHB **45** zu PHBOG **48** katalysiert, konnte teilweise gereinigt und charakterisiert werden.^[127] Dieses Enzym befindet sich im Cytosol,^[128] ebenso wie die Glucosidase, die die Rückreaktion steuert, und das zur Produktion von GPP **54** notwenige Enzym GPP-Synthase.^[129] Es liegt



Schema 1. Biosynthese von Shikonin 2.

daher nahe, daß vor Beginn der Shikoninbiosynthese **48** in den Vakuolen gespeichert wird, um es möglicherweise vor der Glucosidase zu schützen.^[128] Werden die Zellen in das Produktionsmedium transferiert, kann das gespeicherte PHBOG **48** zur Shikoninbiosynthese herangezogen werden. Es ist vorgeschlagen worden, daß alle Reaktionsschritte bis einschließlich zur Kupplung von PHB **45** und GPP **54** in speziellen Vesikeln oder in anderen definierten Biosynthese-Kompartimenten ablaufen. Dies würde nicht nur für einen geregelten Verlauf der biosynthetischen Reaktionen sorgen, sondern wäre auch für den Transport und die Sekretion der Sekundärmetaboliten hilfreich.^[126]

Arbeiten zur Shikoninbiosynthese erscheinen noch immer regelmäßig, zum großen Teil von Tabatas Arbeitsgruppe an

der Universität Kioto. Untersuchungen auf diesem Gebiet sind vermutlich weiterhin im Gange, und so können detailliertere Informationen über das späte Stadium der Biosynthese mit Spannung erwartet werden.

4. Die Chemie von Alkannin und Shikonin

Bevor die Chemie von Alkannin und von Shikonin erörtert werden soll, erscheint es sinnvoll, sich zunächst mit den chemischen Eigenschaften der Stammverbindung Naphthazarin **64** vertraut zu machen.

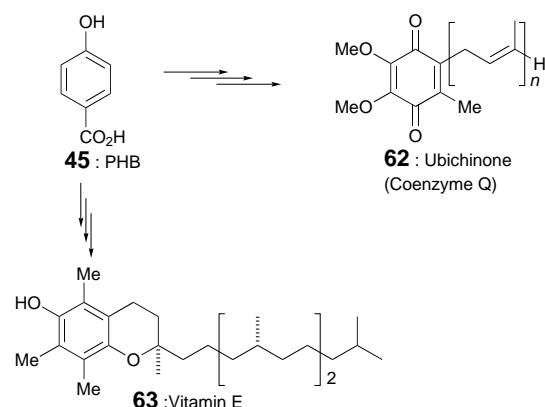


Abbildung 8. 4-Hydroxybenzoësäure (PHB) **45** als vielseitige biosynthetische Zwischenstufe.

4.1. Die Chemie von Naphthazarin

Naphthazarin (üblicherweise dargestellt als 5,8-Dihydroxy-1,4-naphthochinon **64a**; Abbildung 9) wurde in der Vergangenheit als ziemlich kostspieliger purpurfarbener Farbstoff verwendet. Als natürliche Quelle dienen die Rinde von

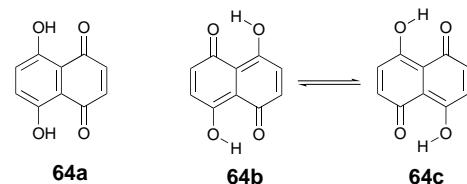
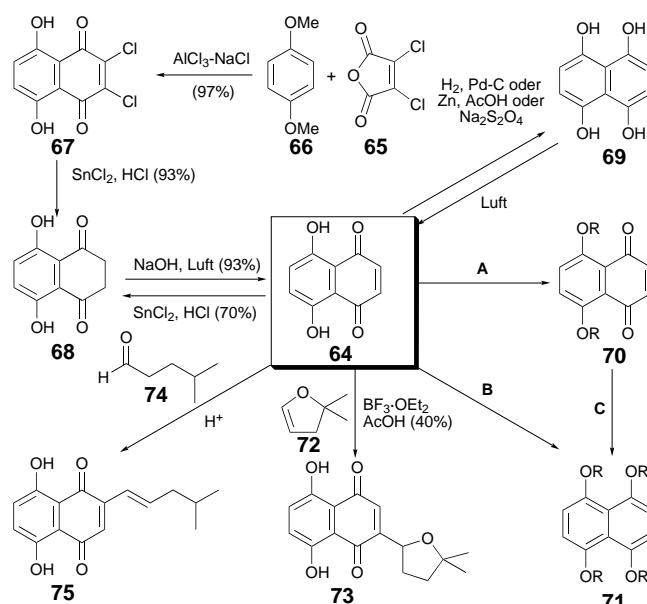


Abbildung 9. Strukturformeln für Naphthazarin **64**.

Lomatia obliqua^[130] und die Schalen der Walnußart *Juglans mandschurica maxim* var. Sieboldiana Makino.^[131] Die Verbindung kann durch direktes Erhitzen von 1,5-Dinitronaphthalin mit Schwefel in rauchender Schwefelsäure^[132] oder durch zweifache Friedel-Crafts-Acylierung von Hydrochinon^[133] oder 1,4-Dimethoxybenzol **66**^[134] mit Maleinsäureanhydrid in $\text{AlCl}_3\text{-NaCl}$ -Gemischen hergestellt werden. Bei beiden Verfahren sind die Ausbeuten im allgemeinen niedrig. Um größere Mengen an Naphthazarin für den Laborgebrauch herzustellen, wird heute meist ein indirektes, dreistufiges Verfahren unter Verwendung von Dichlormaleinsäureanhydrid genutzt (Schema 2; Tabelle 2).^[135]

Die symmetrische Struktur von Naphthazarin **64** war Gegenstand einiger Diskussionen.^[136] Vom präparativen Standpunkt aus ist die rasch erfolgende Tautomerisierung ein wichtiger Aspekt, da es dadurch zu einer zentrosymmetrischen Struktur von **64** kommt. Für eine solche Struktur spricht auch das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum, das nur ein Signal bei $\delta = 7.13$ aufweist, etwa in der Mitte des Erwartungsbereiches für aromatische ($\delta = \text{ca. } 7.25$) und chinoide Protonen ($\delta = \text{ca. } 6.95$).^[137] Genauer betrachtet müßte die Umwandlung der verschiedenen Naphthazarinstrukturen ineinander als ein Tunnelprozeß beschrieben werden, da die Signale für aromatische und chinoide Protonen nicht unterhalb einer Ko-



Schema 2. Synthesen und Reaktionen von Naphthazarin **64**.

Tabelle 2. Reaktionsbedingungen für die Wege **A – C** in Schema 2.

R	A	B	C
Me	$\text{MeOTs, K}_2\text{CO}_3$ (44 %) ^[147–148]	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4, \text{NaOH}$ MeI (44 %) ^[149] oder 1) $\text{H}_2, \text{Pd-C, DMF}$ 2) $\text{NaH, Me}_2\text{SO}_4, \text{DMF}$ (72 %) ^[150]	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4, \text{NaOH}$ MeI (48 %) ^[149]
Ac	$\text{Ac}_2\text{O, NaOAc}$ ^[133]	$\text{Ac}_2\text{O, NaOAc, Zn}$ ^[133]	$\text{Ac}_2\text{O, NaOAc}$ Zn ^[133]
TMS	MTMSTFA (100 %) ^[151a]	MTMSTFA, NH_4I (100 %) ^[151b]	–
TBS	MTBSTFA (94 %) ^[152]	MTBSTFA, NH_4I (89 %) ^[152]	–

lesenztemperatur aufspalten. Im übrigen sind die spektroskopischen Eigenschaften wie auch die intensiv purpurfarbenen Lösungen von **64** eher mit einer 1,5-chinoiden Struktur wie in **64b,c** (Abbildung 9) im Einklang als mit der üblicherweise angegebenen 1,4-chinoiden Struktur **64a**.^[138]

Kristallines Naphthazarin **64** wird als tief braunroter Feststoff mit einem grüngoldenen Schimmer oder als tiefgrüner Feststoff mit metallischem Glanz beschrieben.^[139] Es löst sich gut in organischen Lösemitteln wie Benzol oder Dichlormethan und ergibt blutrote Lösungen. Werden diese Lösungen mit konzentrierter Alkalilauge versetzt, kann das Chinon in Form seines kornblumenblauen Dianions in die wässrige Phase überführt werden. Wegen der unterschiedlichen Farben von Lösungen des protonierten und des deprotonierten Naphthazarins läßt sich **64** als pH-Indikator verwenden.^[139] Wird die blaue Lösung unmittelbar nach der Extraktion angesäuert, kann Naphthazarin unverändert zurückgewonnen werden. Ist die Lösung jedoch längere Zeit Luftsauerstoff ausgesetzt, wird der aromatische Ring zum Naphthopurpurin (2,5,8-Trihydroxy-1,4-naphthochinon) oxidiert.^[132] Mit $\text{Pb}(\text{OAc})_4$,^[133] oder noch effektiver mit Phenyliodoniumbis(trifluoracetat),^[140] läßt sich Naphthazarin **64** zum Naphtho-dichinon **124** oxidieren (Schema 12, Abschnitt 4.3.3). Das sehr

reaktive Dichinon **124** wurde zur Herstellung von Käfigverbindungen^[140] und in einer Synthese von Cycloshikonin^[141] eingesetzt.

Die Reduktion von Naphthazarin **64** kann mit einer Vielzahl von Reagentien erreicht werden. Sowohl die katalytische Hydrierung als auch die Umsetzung mit Natriumdiethionit und Zink führen zum sehr luftempfindlichen 1,4,5,8-Tetrahydroxynaphthalin **69**.^[139] Vor allem alkalische Lösungen von **69** lassen sich bei Zutritt von Luft sehr rasch zum Naphthazarinidion oxidieren.^[135] Wird Naphthazarin **64** mit Zinn(II)-chlorid in Salzsäure reduziert, so wird das luftstabile, kristalline Diketo-Tautomer **68** erhalten.^[142, 143] Eine Reduktion halogenierter Naphthazarine verläuft unter Dehalogenierung ebenfalls zu **68**. Dieses Reaktionsverhalten ließ sich in einer effizienten, in großem Maßstab durchführbaren, dreistufigen Synthese von Naphthazarin nutzen: Die Friedel-Crafts-Acylierung von 1,4-Dimethoxybenzol **66** mit Dichlormaleinsäureanhydrid **65** verläuft im Unterschied zur Reaktion mit Maleinsäureanhydrid in sehr guten Ausbeuten.^[144] Die Reduktion des so erhaltenen 2,3-Dichlornaphthazarins **67** mit Zinn(II)-chlorid^[142] und die anschließende Luftoxidation einer alkalischen Lösung des Leukonaphthazarins **68** liefert **64** in sehr guter Gesamtausbeute.^[135] Einige Methoden für zweifaches und für reduktives, vierfaches Schützen von Naphthazarin **64** sind in Schema 2 zusammengefaßt. Eine Veretherung der phenolischen Hydroxygruppen ist schwierig, vermutlich wegen der großen Stabilität des Naphthazarin-Dianions.

Naphthazarin **64** reagiert mit nur wenigen Elektrophilen, was sich damit erklären läßt, daß **64** leicht Lewis-Säuren bindet. Zufriedenstellende Ausbeuten an Alkylierungsprodukten werden mit Oxoniumionen aus cyclischen Enolethern erzielt, wie die Synthese von Cycloshikonin **73** belegt (Schema 2).^[145] Im Zusammenhang mit einer erfolglosen Shikoninsynthese beschrieb Brockmann, daß Kondensationen von Aldehyden mit Naphthazarin unter sauren Bedingungen zu komplexen Produktgemischen führen, in denen unter anderem auch Alkenderivate wie **75** vorhanden sind (Schema 2).^[1]

Die benachbarten Sauerstoffatome der Oxo- und der Hydroxygruppe machen die Naphthazarine zu idealen Substraten für die Bildung von Metallchelatkomplexen.^[136, 146] Komplexe dieser Art sind ausführlich im Hinblick auf Eigenschaften wie die magnetischen Austauschwechselwirkungen zwischen paramagnetischen Ionen untersucht worden (siehe auch Abschnitt 5.2).^[136, 146]

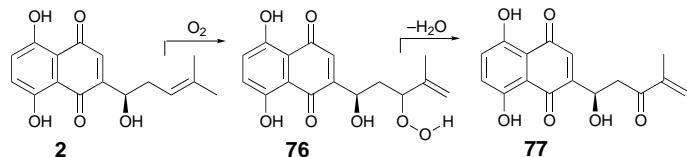
Kontrollierte nucleophile Additionen an Naphthazarin **64** sind bislang nicht gelungen. Im allgemeinen entstehen dabei komplexe Gemische, die unter anderem 1,2- und 1,4-Additionsprodukte enthalten.^[153] Eine der wenigen nützlichen Verbindungen, die aus einer derartigen Reaktion erhalten wurde, ist die Bisulfit-Additionsverbindung Alizarin-schwarz S, die früher als Druckfarbe verwendet wurde.^[142] 1996 wurde über ein effizientes Verfahren der formalen 1,4-Addition über die Leukoform des Bromderivats von Naphthazarin berichtet.^[153] Die nützlichsten und erfolgreichsten Umsetzungen mit Naphthazarin **64** sind seine Cycloadditionen. Vor allem Diels-Alder-Reaktionen mit Naphthazarin sind vielfach zum Aufbau von Anthracyclonon-Antibiotika

verwendet worden. Dieser Aspekt der Chemie des Naphthazarins wurde ausführlich erörtert,^[154] so daß an dieser Stelle auf eine Diskussion verzichtet werden kann.

4.2. Reaktivität von Alkannin und Shikonin

Die Chemie von Alkannin **1** und Shikonin **2** hat viele Gemeinsamkeiten mit der von Naphthazarin **64**. Da das Chinongrundgerüst mit einer Elektronendonorgruppe substituiert ist, liegt hauptsächlich das in Abbildung 1 gezeigte Tautomer vor.^[137] Die Hydroxy-substituierten Seitenketten verleihen **1**, **2** und ihren Derivaten interessante Eigenschaften und machen diese Verbindungen auch wesentlich empfindlicher als Naphthazarin **64**.

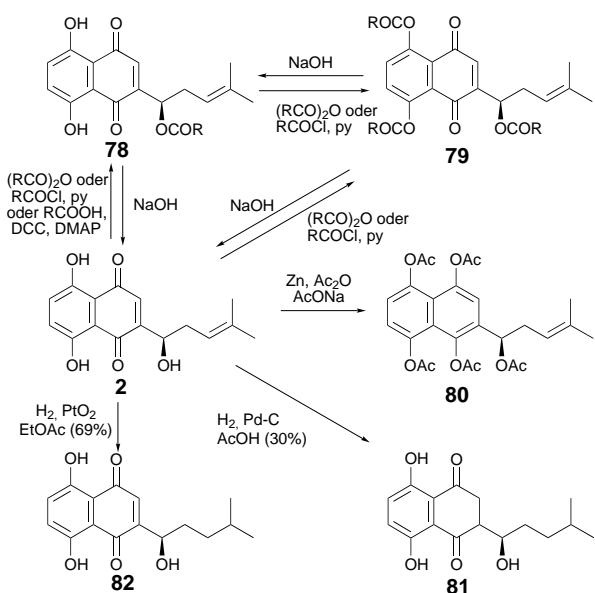
Unter sauren Bedingungen (in Gegenwart von Brønsted- oder Lewis-Säuren) cyclisiert die Seitenkette leicht zum Tetrahydrofuranisomer Cycloshikonin **73**.^[1, 2, 155, 156] Werden die Chinone **1** und **2** Luft und Licht ausgesetzt, so werden sie auch rasch photooxidiert. Vom Photolyse-Hauptprodukt **77** wird angenommen, daß es sich über den in Schema 3 dargestellten Mechanismus bildet. Polymerisationen von **1** und **2** werden durch die Einwirkung von Säuren, Basen, Wärme oder Licht induziert.^[158, 159] Unter stark sauren Bedingungen können **1** und **2** auch racemisieren.^[1]



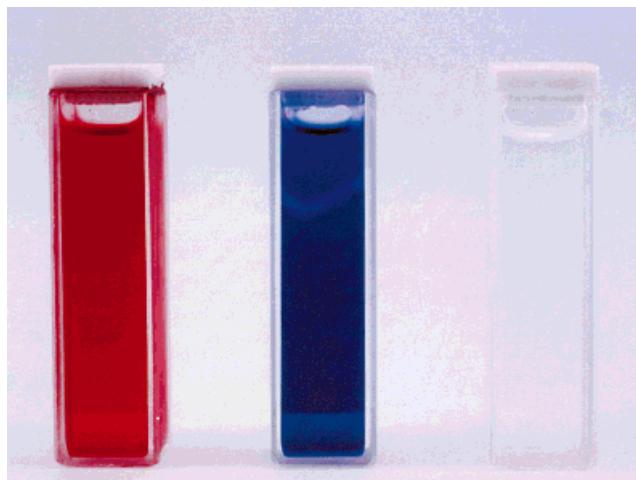
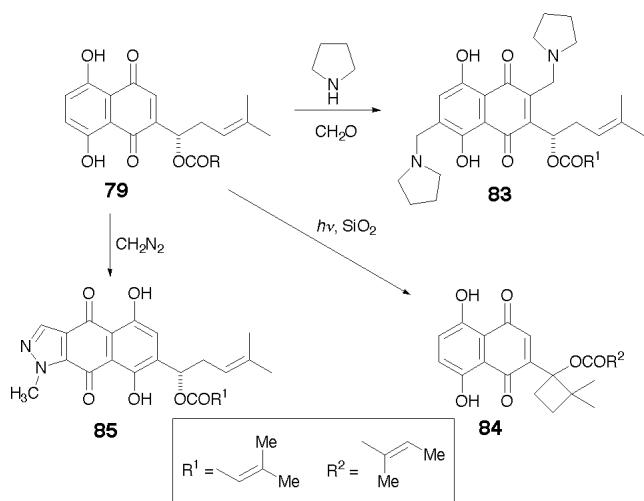
Schema 3. Photooxidation von Shikonin **2**.^[157]

Die aliphatische Hydroxygruppe von Shikonin läßt sich bevorzugt vor den phenolischen Hydroxygruppen selektiv durch übliche Veresterungsmethoden acylieren.^[160] Umgekehrt können die Acylshikoninderivate **78** auch durch die selektive Hydrolyse ausgehend vom triacetylierten Shikonin **79** erhalten werden (Schema 4).^[161] Die übrigen Schützungs- und Entschützungsreaktionen entsprechen denen bei Naphthazarin **64**. Die Palladium-katalysierte Hydrierung von **2** führt zur Reduktion sowohl der Chinon- als auch der Alken-Substruktur zu **81**, wogegen PtO₂ als Katalysator eine selektive Alken-Reduktion zum Dihydroshikonin **82** ermöglicht.^[156a] Die Chinon-Einheit läßt sich selektiv mit Zn oder Na₂S₂O₄ reduzieren,^[139] wodurch ein extrem luftempfindliches Tetrahydroxynaphthalin entsteht, das als Pentaacetyl-derivat **80** abgefangen werden konnte.^[162] Wie bei Naphthazarin **64** gibt es bei **1** und **2** verschiedene Farben der Säure- und Basenform (Abbildung 10).

Die einzigen Beispiele für Ringfunktionalisierungen von **1**, **2** und ihren Derivaten wurden von Shuka und Mitarbeitern beschrieben. Sie berichteten über eine zweifache Mannich-artige Addition zu **83** sowie über eine Reaktion mit Diazomethan, die über eine Reaktionssequenz aus Cycloaddition und N-Methylierung zu **85** führt (Schema 5).^[163] Bei der Isolierung einiger Alkanninester wurde eine interessante



Schema 4. Ausgewählte Reaktionen von Shikonin 2.

Abbildung 10. Lösungen von Alkannin 1 in CH_2Cl_2 (rot) und in 1N wässriger Natronlauge (kornblumenblau) sowie eine Lösung des Pentaacetyl-derivats 80 in CH_2Cl_2 (farblos, kaum wahrnehmbar).Schema 5. Reaktionen der Alkanninester 79.^[87, 163]

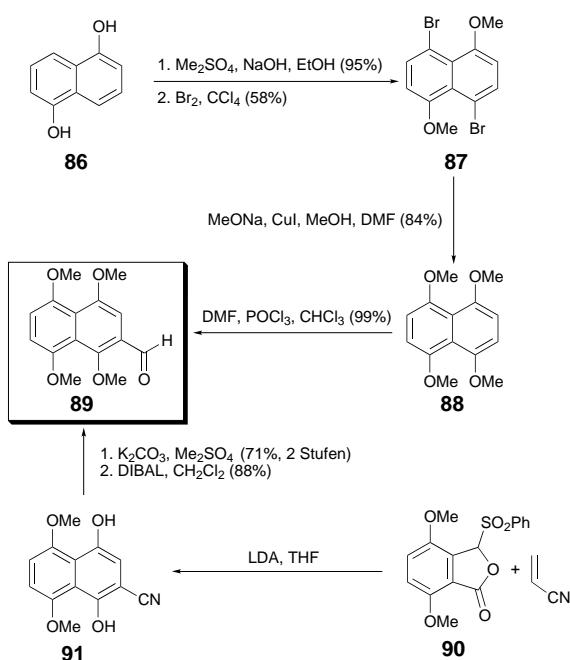
Umlagerung zum Cyclobutanderivat **84** beobachtet.^[87] Zahlreiche Untersuchungsmethoden wurden zur Analyse von **1**, **2** und ihren Derivaten angewendet: An chromatographischen Methoden kamen die Dünnschichtchromatographie,^[87, 164] die Densitometrie,^[165] die Gelpermeationschromatographie^[159] und die HPLC^[27, 42, 43, 49, 50, 166] zum Einsatz. Spektroskopische Untersuchungsmethoden umfaßen UV/Vis-,^[33, 52, 53, 77, 166c, 167, 168] IR-,^[44, 50, 52, 53, 77, 167] $^1\text{H-NMR}$ -^[33, 44, 50, 77, 167] und $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektroskopie^[169a, 170] sowie Massenspektrometrie,^[38, 40, 44, 89, 166c, 171a] Circulardichroismus(CD)-Spektroskopie,^[26a, 166f, 170, 172, 173] und Atomabsorptionsspektroskopie.^[174] Quantitative und qualitative Bestimmungen von **1**, **2** und ihren Derivaten wurden durch Polarographie,^[175] Voltammetrie,^[176] Differentialpulsvoltammetrie^[177] und sogar mit einer photoakustischen Methode zur Messung der transdermalen Absorption vorgenommen.^[178]

4.3. Die Totalsynthesen von Alkannin und Shikonin

4.3.1. Einleitung

Zur Entwicklung einer erfolgreichen und effizienten Synthese von Alkannin und/oder Shikonin müssen mehrere Probleme bewältigt werden. Wie bereits erwähnt, sind die Naturstoffe empfindlich gegenüber Brønsted- und Lewis-Säuren sowie Licht und Sauerstoff. Eine weitere Hürde besteht in der ausgeprägten Affinität der Naphthazarine zu Kieselgel und Aluminiumoxid, so daß eine Reinigung mit chromatographischen Methoden erschwert ist. Es ist offensichtlich, daß der übliche Zugang zu substituierten Naphthazarinen über die Friedel-Crafts-Acylierung von Hydrochinonen mit Maleinsäureanhydridderivaten (Abschnitt 4.1) hier nicht zum Erfolg führen kann. In einer idealen Synthese von **1** und **2** bedürfte es keines Schutzes des Naphthazarinsystems, doch dies ist bis heute nicht erreicht worden. Die vielleicht größte Herausforderung dieses Syntheseproblems besteht in der Entwicklung einer wirksamen Schutzgruppenmethode für das Naphthochinongrundgerüst. Die große Empfindlichkeit der Naturstoffe gegenüber einer Vielzahl von Reagentien und Reaktionsbedingungen über Säuren, Licht und Sauerstoff hinaus (zum Beispiel gegenüber Reduktionsmitteln und Nucleophilen) schränkt die zur Verfügung stehenden Möglichkeiten im abschließenden Entschützungsschritt der Synthese drastisch ein.

Die meisten erfolgreichen Synthesen von **1** und **2** verlaufen über 1,4,5,8-Tetramethoxynaphthalin **88** und seine Derivate als geschützte Form von Naphthazarin **64** (Schema 6). Obwohl **88** direkt aus Naphthazarin **64** durch reduktive Methylierung hergestellt werden kann (Schema 2), wurde von Terada und Mitarbeitern ein ökonomischerer Zugang zu **88** entwickelt, der auf die Verwendung des kostbaren **64** verzichtet.^[149] Das wohlfeile 1,5-Dihydroxynaphthalin **86** (Schema 6) wurde zunächst O-methyliert, anschließend bromiert und in einer Kupfer(I)-vermittelten Methoxylierung zu **88** umgesetzt.^[149] Dieses reagiert in annähernd quantitativer Ausbeute in einer Vilsmeier-Formylierung zu **89**.^[149] Ein alternativer Zugang zu **89** wurde kürzlich von Couladouros et al. erarbeitet (Schema 6).^[179] Dieses Verfahren beruht auf

Schema 6. Zwei Synthesen des Schlüsselintermediats **89**.^[149, 179]

einer Anellierung des aus **90** erhaltenen Phthalidion mit Acrylnitril zu **91**.^[180] Die nachfolgende O-Methylierung und die Reduktion mit DIBAL lieferten dann **89**. Diese Methode ist nicht nur wegen der hohen Gesamtausbeute bemerkenswert, sie eröffnet auch die Möglichkeit, das Hydrochinon **91** zum Aufbau eines Naphthalinderivats mit zueinander orthogonalen Schutzgruppen an den beiden Ringen zu verwenden. Dies sollte die Effizienz der nachfolgenden Entschützung zu einem Naphthazarinderivat erhöhen (siehe unten).

Die Methoden zur Freisetzung von Naphthazarin aus Tetramethoxynaphthalinderivaten sind intensiv von Tanoue und Terada untersucht worden.^[181] Sie fanden heraus, daß Bortribromid, ein Standardreagens zur Spaltung aromatischer Ether, in 68 % Ausbeute Tetramethoxynaphthalin **88** in Naphthazarin **64** überführt, nach Luftoxidation des zunächst gebildeten Tetrahydroxynaphthalins.^[149] Dieses Verfahren läßt sich jedoch nicht auf 2-substituierte Derivate von **64** anwenden, da dabei polymeres Material entsteht. Für die Synthese dieser Verbindungen wurde daher ein zweistufiges Verfahren entwickelt (Schema 7, Tabelle 3). Die Oxidation 2-substituierter Tetramethoxynaphthaline **92** mit Cerammoniumnitrat (CAN) liefert zwei Regioisomere, wobei die Selektivität von der Art des Substituenten in Position 2 abhängt (Schema 7). Bei elektronenschiebenden Gruppen wie Hydroxyalkylgruppen (**b–g**) wird bevorzugt der höher substituierte Ring oxidiert, wogegen elektronenziehende Substituenten wie Acetyl oder Formyl (**h, i**) hauptsächlich zum Regioisomer **94** führen. Im ersten Fall ist die Regioselektivität im allgemeinen niedrig. Dimethoxychinone wie **93** lassen sich, wenn auch nur in geringen Ausbeuten, durch die Einwirkung von AgO/HNO_3 demethylieren. Die regiospezifischen Chinone **94** reagieren unter diesen Bedingungen nicht. Zu ihrer Demethylierung muß auf AlCl_3 zurückgegriffen werden, dessen Einsatz mit einer Synthese von **1** und **2** nicht vereinbar wäre. Zwischen **95** und **96** findet eine rasche Tautomerisierung statt, wobei das Gleichgewicht zugunsten von **95** verschoben ist, wenn R elektronenschiebend ist. Umgekehrt liegt hauptsächlich **96** vor, wenn R elektronenziehend ist.^[137] Tetramethoxynaphthaline waren, obwohl bei weitem nicht ideal, bis vor kurzem die einzigen geschützten Derivate der Naphthazarine, die zur Synthese von **1** und **2** eingesetzt werden konnten.

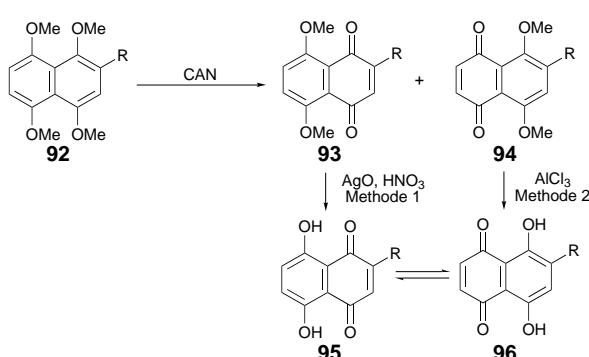
Tabelle 3. Ausbeuten der in Schema 7 gezeigten Reaktionen.

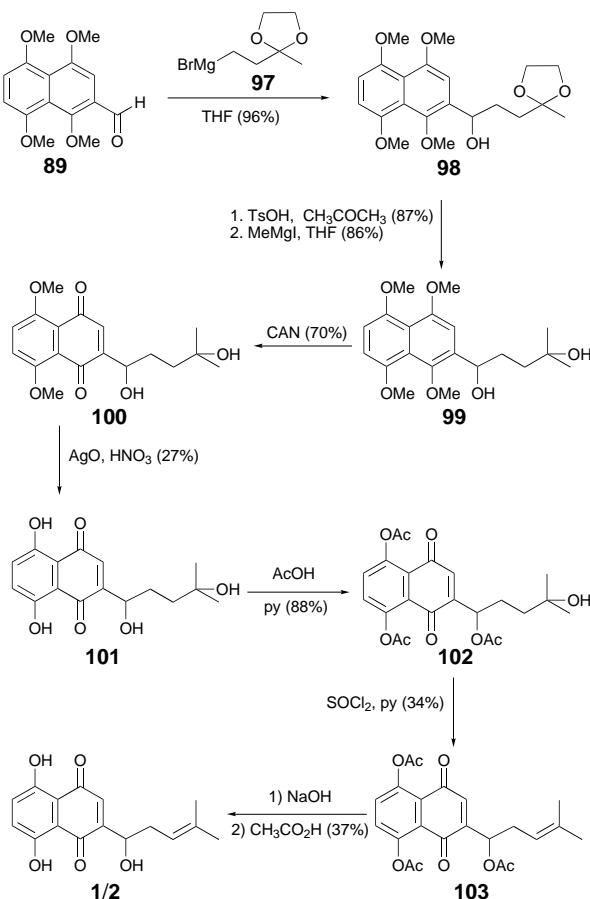
R	CAN-Oxidation		Demethylierung	
	93 [%]	94 [%]	Methode	Ausb. [%]
a H	70	–	–	–
b CH_2OH	75	13	1	53
c $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$	61	13	1	52
d $\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	42	16	1	22
e $\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	52	17	1	22
f $\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_2)_3\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{OH}$	70	15	1	28
g $\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_2)_3\text{COCH}_3$	33	33	1	27
h COCH_3	3	77	2	71
i CHO	0	85	2	43

niumnitrat (CAN) liefert zwei Regioisomere, wobei die Selektivität von der Art des Substituenten in Position 2 abhängt (Schema 7). Bei elektronenschiebenden Gruppen wie Hydroxyalkylgruppen (**b–g**) wird bevorzugt der höher substituierte Ring oxidiert, wogegen elektronenziehende Substituenten wie Acetyl oder Formyl (**h, i**) hauptsächlich zum Regioisomer **94** führen. Im ersten Fall ist die Regioselektivität im allgemeinen niedrig. Dimethoxychinone wie **93** lassen sich, wenn auch nur in geringen Ausbeuten, durch die Einwirkung von AgO/HNO_3 demethylieren. Die regiospezifischen Chinone **94** reagieren unter diesen Bedingungen nicht. Zu ihrer Demethylierung muß auf AlCl_3 zurückgegriffen werden, dessen Einsatz mit einer Synthese von **1** und **2** nicht vereinbar wäre. Zwischen **95** und **96** findet eine rasche Tautomerisierung statt, wobei das Gleichgewicht zugunsten von **95** verschoben ist, wenn R elektronenschiebend ist. Umgekehrt liegt hauptsächlich **96** vor, wenn R elektronenziehend ist.^[137] Tetramethoxynaphthaline waren, obwohl bei weitem nicht ideal, bis vor kurzem die einzigen geschützten Derivate der Naphthazarine, die zur Synthese von **1** und **2** eingesetzt werden konnten.

4.3.2. Synthesen von Shikalkin **1/2**

Nach der erfolgreichen Entwicklung einer Methode zur Umwandlung der Tetramethoxynaphthaline in die Naphthazarine waren Terada und Mitarbeiter die ersten, denen 1983 eine Synthese von Shikalkin **1/2** gelang (Schema 8).^[182] Die Addition des Grignard-Reagens **97** an den Aldehyd **89** liefert in guten Ausbeuten das Dioxolan **98**. Die Hydrolyse des Ketals und die anschließende Reaktion mit Methylmagnesiumiodid führen zum Diol **99**. An dieser Stelle entschlossen sich die Autoren dazu, das Naphthochinon mit der oben beschriebenen Zweistufensequenz (1. CAN, 2. AgO/HNO_3) aus seiner geschützten Form freizusetzen. In diesem Fall führt die CAN-Oxidation in zufriedenstellend hoher Selektivität und in tolerierbarer Ausbeute zum gewünschten Isomer **100**. Die AgO/HNO_3 -Demethylierung dagegen liefert wie üblich in nur geringer Ausbeute das Naphthochinon **101**. Durch Umsetzung von **101** mit Acetanhydrid wird selektiv das Triacetat **102** gebildet. Dies ermöglicht eine selektive Eliminierung mit Thionylchlorid und Pyridin zu **103**, wobei sich die niedrige Ausbeute durch die Entstehung beträchtlicher Mengen des terminalen Alken-Regioisomers erklären läßt. Die Synthese wird durch die alkalische Hydrolyse der Acetatgruppen zu Shikalkin **1/2** abgeschlossen. Die Arbeitsgruppe um Terada

Schema 7. Entschützung von Tetramethoxynaphthalinderivaten **92**.^[181]

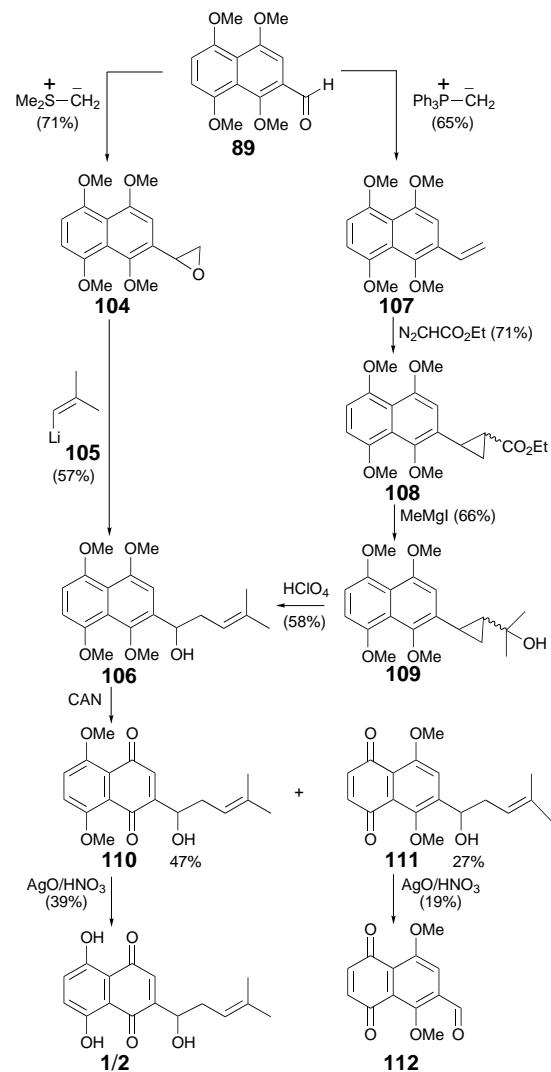


Schema 8. Die erste Synthese von Shikalkin **1/2** von Terada und Mitarbeitern.^[149, 182]

nutzte die beschriebene Synthese auch zur Herstellung von Shikoninisomeren.^[183]

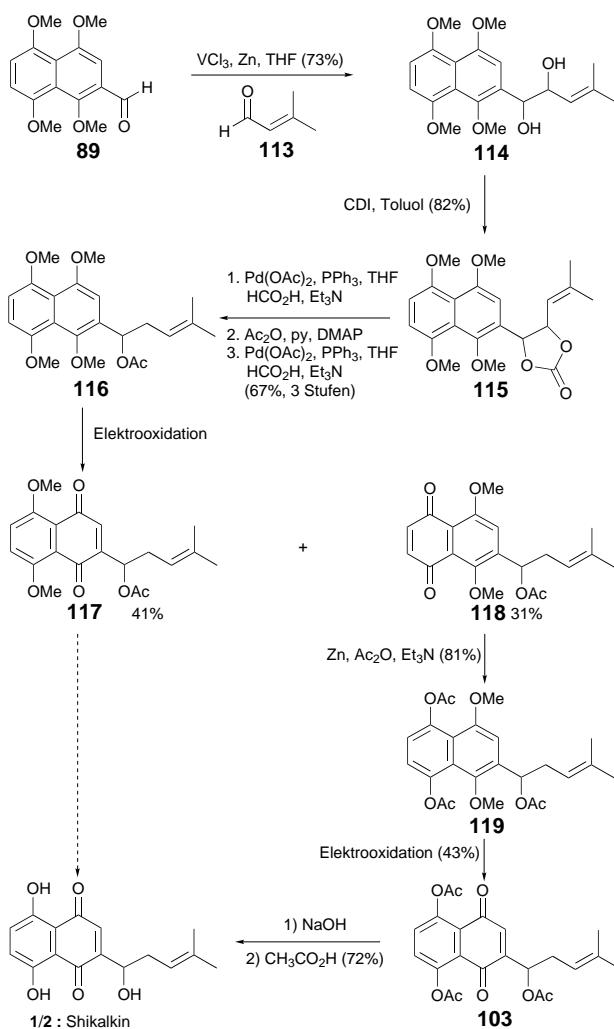
Chemiker aus Rußland haben über zwei Zugänge zu **1/2** ausgehend von **89** berichtet (Schema 9). Die Umsetzung des Aldehyds **89** zum Epoxid **104** gelang in guten Ausbeuten mit dem Schwefelylid-Verfahren.^[184] Das Epoxid wurde durch Reaktion mit der Organolithiumverbindung **105** zu **106** geöffnet. Diese Verbindung ist auch eine Zwischenstufe des zweiten von dieser Arbeitsgruppe entwickelten Verfahrens, in dem **106** aus **89** über eine Wittig-Olefinierung mit nachfolgender Cyclopropanierung und zweifacher Grignard-Addition zum Schlüsselintermediat **109** hergestellt wird.^[185] Die Umwandlung von **109** in **106** erfolgt durch eine bemerkenswerte säurekatalysierte Umlagerung. Die über diese beiden Routen zugängliche Verbindung **106** wurde durch die beschriebene Zweistufensequenz in **1/2** überführt. In diesem Fall war die CAN-Oxidation von nur vernachlässigbarer Regioselektivität, und die sich anschließende Demethylierung verlief auch hier in nur niedriger Ausbeute. Versuche, das unerwünschte Regioisomer **111** mit AgO/HNO₃ in **1/2** zu überführen, führten überraschenderweise zum Aldehyd **112**.

1995 berichteten Torii und Mitarbeiter über eine Synthese von **1/2**, die ebenfalls vom Aldehyd **89** ausgeht (Schema 10).^[186] Zunächst wird **89** in einer durch niedervalentes Vanadium vermittelten McMurry-artigen Kupplung^[187] mit dem ungesättigten Aldehyd **113** umgesetzt. Nach der Um-



Schema 9. Weitere Shikalkin-Synthesen ausgehend von **89**.^[184, 185]

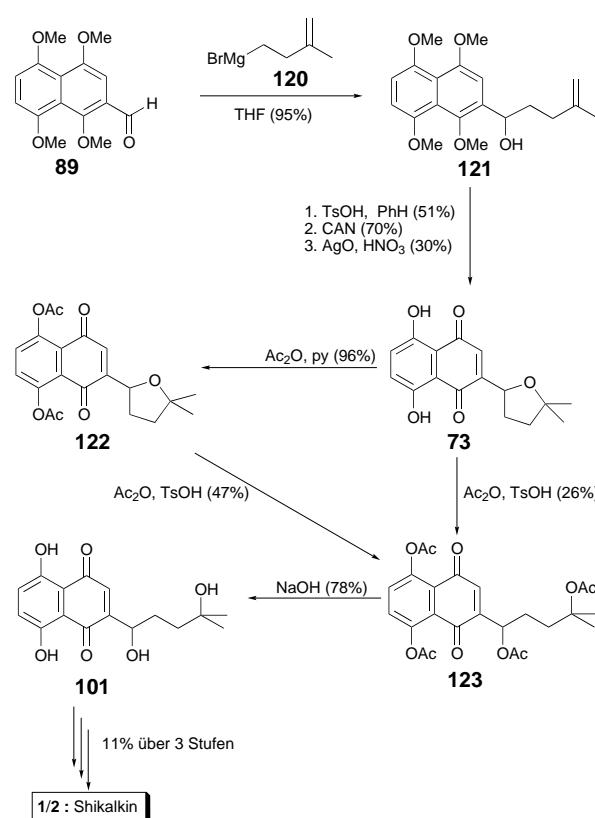
wandlung der Diole **114** in die cyclischen Carbonate **115** (vermutlich ein Diastereomerengemisch) ist der Weg frei für eine Palladium-katalysierte allylische Reduktion. Leider liefert diese Reaktion beträchtliche Mengen eines regioisomeren Alkens (ca. 28 %), und so war eine recht aufwendige Reaktionssequenz nötig, um das Acetat **116** in reiner Form zu isolieren. Der Arbeitsgruppe um Torii gelang die Entwicklung einer neuen Methode zur Entschützung des Tetramethoxynaphthalingerüstes über eine anodische Oxidation. Trotz umfangreichen Experimentierens ließ sich jedoch die Regioselektivität der ersten oxidativen Demethylierung nicht verbessern. Leider war das gewünschte Isomer **118** (das für eine Demethylierung mit AgO/HNO₃ ungeeignet ist) sogar das in niedrigeren Ausbeuten anfallende Produkt. Um die zweite Demethylierung zu erreichen, wurde daher eine reduktive Acylierung zu **119** notwendig, bei dem die selektive Oxidation des methoxylierten Ringsystems dann durch eine zweite anodische Oxidation gelingt. Durch die alkalische Hydrolyse von **103** wird die Synthese von **1/2** abgeschlossen. Offensichtlich wurde nicht versucht, das unerwünschte Regioisomer **117** zu demethylieren, obwohl eine Umwandlung zu Acetylshikonin **15** und somit zu **1/2** durch die Einwirkung von AgO/



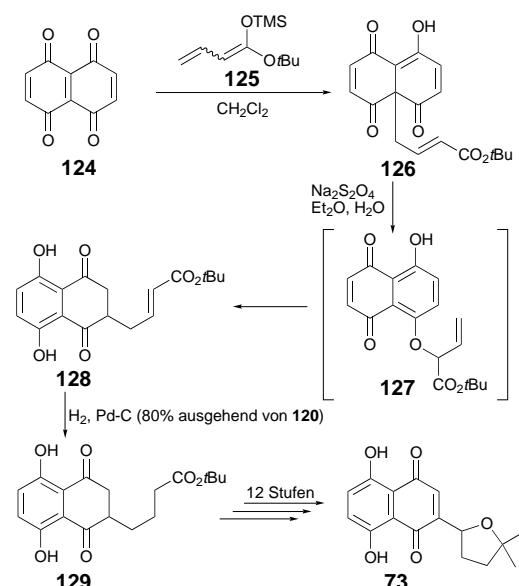
HNO₃ möglich sein sollte. Die Methode der anodischen Oxidation ist somit komplementär zur zuvor beschriebenen Zweistufensequenz der Demethylierung.^[181]

4.3.3. Synthesen über Cycloshikonin

Terada und Mitarbeiter berichteten, daß auch Cycloshikonin **73** in Shikalkin **1/2** überführt werden kann (Schema 11).^[188] Eine Synthese von **73** ist daher formal auch eine Synthese von **1/2**. Der Schlüsselschritt ist dabei die Öffnung des Tetrahydrofuranrings mit *p*-Toluolsulfonsäure in Gegenwart von Acetanhydrid zu **123**, wobei **73** selbst oder noch besser das Diacetat **122** als Ausgangsverbindung dient. Die alkalische Hydrolyse von **123** führt zu **101**, das bereits als Zwischenstufe in einer früheren Shikalkin-Synthese dieser Arbeitsgruppe verwendet wurde.^[149, 182] Die ursprünglich auch von diesem Team entwickelte Synthese von Cycloshikonin **73**, deren Schlüsselschritte die Addition des Grignard-Reagens **120** und der säurekatalysierte Ringschluß sind,^[188] ist mittlerweile durch eine direkte Synthese von **73** aus Naphthazarin **64** (Abschnitt 4.1, Schema 2)^[145] verbessert worden.



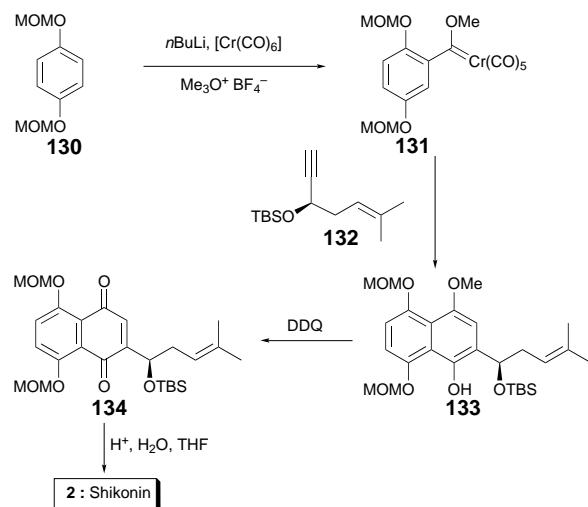
Ein interessanter, wenngleich ziemlich langwieriger Weg zu Cycloshikonin **73** wurde von Aso und Kanematsu vorgestellt (Schema 12).^[141] Die γ -Addition des Silylketenacetals **125** an das reaktive Naphthodichinon **124** führt zu **126**, das durch zwei nacheinander ablaufende sigmatrope [3,3]-Umlagerungen und anschließende Hydrogenolyse das Leukonaphthazarin **129** in 80% Gesamtausbeute liefert. Aus dieser Verbin-



dung konnte Cycloshikonin **73** in einer eher ineffizienten, zwölfstufigen, linearen Synthesesequenz erhalten werden. Obwohl die beschriebene Route daher keinen praktikablen Zugang zu Shikonin **1** und Cycloshikonin **73** eröffnet, könnte sie zur Herstellung analoger Verbindungen von Nutzen sein.

4.3.4. Asymmetrische Synthesen

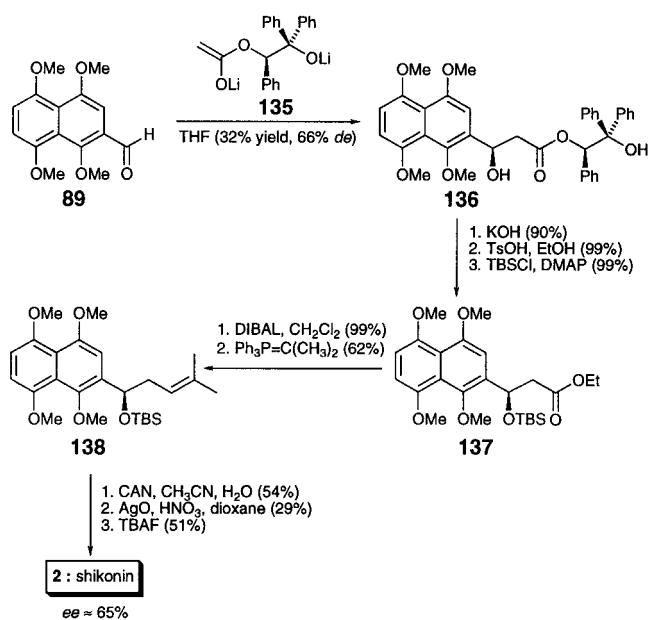
Die erste asymmetrische Synthese von **2** ist in einer Patentschrift dokumentiert^[189] und ist eine elegante Anwendung der Dötz-Anellierungsreaktion (Schema 13).^[190] Das MOM-geschützte Hydrochinon **130** wurde in üblicher Weise



Schema 13. Stereoselektive Synthese von Shikonin **2** mit der Dötz-Anellierung als Schlüsselschritt.^[189]

nach *ortho*-Lithiierung zum Chromcarbenkomplex **131** umgesetzt. Dessen Thermolyse mit dem enantiomerenreinen Alkin **132** liefert das geschützte Naphthazarin **133**. Die Phenolgruppe von **133** gestattet die selektive Oxidation des höher funktionalisierten Rings der Naphthalineinheit zum Chinon **134**, aus dem anschließend durch saure Hydrolyse Shikonin **2** erhalten werden konnte. Leider machen die Autoren keine Angaben zur Ausbeute dieser Synthese, so daß deren Effizienz nicht eingeschätzt werden kann. Es ist jedoch zu beachten, daß die veröffentlichte Herstellung des Alkins **132** eine lineare fünfstufige Synthese aus kommerziell erhältlichen Ausgangsverbindungen ist, in der die korrekte Konfiguration durch eine asymmetrische Epoxidierung nach Sharpless erzeugt wird.^[191]

Die von Braun und Bauer beschriebene asymmetrische Synthese von **1** und **2** beruht auf einer enantioselektiven Aldoladdition an den Aldehyd **89**^[192] unter Verwendung des von ihnen entwickelten chiralen Acetatenoläquivalents **135**, das aus (*R*)- bzw. (*S*)-(2-Hydroxy-1,2,2-triphenylethyl)acetat gebildet wird (Schema 14).^[193] Obwohl sich Reaktionen mit diesem Reagens in der Regel unter hoher Stereokontrolle durchführen lassen, war die Selektivität hier eher mäßig (ca. 5:1 nach der Reinigung). Der Ursprung der asymmetrischen Induktion bei Reaktionen mit diesem Reagens wird üblicherweise mit einem frühen Übergangszustand erklärt, doch

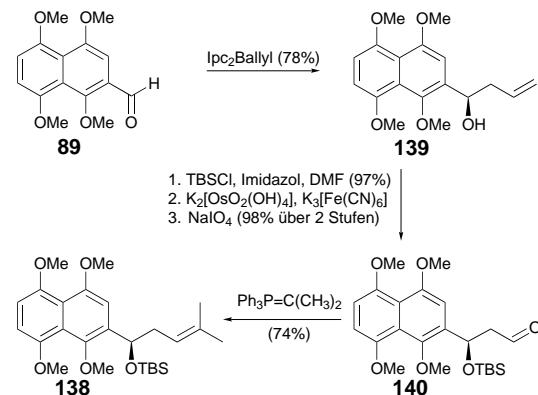


Schema 14. Synthese von Shikonin **2** mit einer asymmetrischen Aldolreaktion als Schlüsselschritt nach Braun und Bauer.^[192]

kann der Elektronenreichtum eines Substrates wie **89** dem entgegenstehen und zu einer niedrigen Selektivität führen. Die Umwandlung des zunächst gebildeten Aldolproduktes **136** in **138** gelang unter Standardbedingungen. Die Autoren hielten es für angebracht, die aliphatische Hydroxygruppe zu schützen, um die Effizienz der abschließenden Entschützungsschritte zu erhöhen. Es konnten bei der Demethylierungssequenz jedoch keine höheren Ausbeuten erzielt werden. Durch CD-Messungen wurde für das so hergestellte Shikonin **2** ein Enantiomerenüberschuß von ca. 65 % bestimmt.

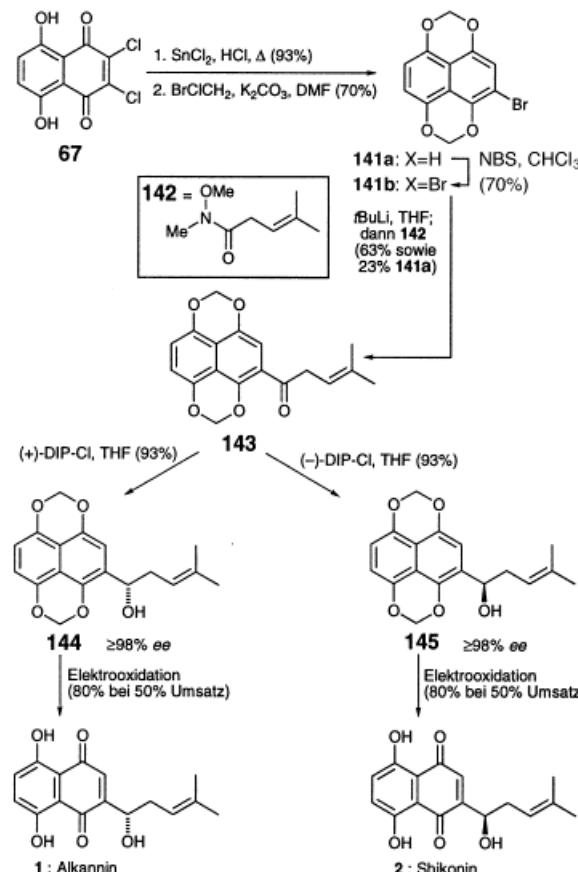
Couladouros und Mitarbeitern^[179] gelang vor kurzem durch eine asymmetrische Allylierung mit Allyldiisopinocampheylboran die Synthese der Alkanninvorstufe **138** (Schema 15).^[194] Ausgehend vom Alkohol **139**, der in 82 % ee (bezogen auf 80 % ee des chiralen Reagens) hergestellt wurde, gelang so der Aufbau der Seitenkette nach Schutz der Hydroxygruppe in einer Dreistufensynthese mit hoher Gesamtausbeute.

Kürzlich berichtete die Arbeitsgruppe von Nicolaou über eine sehr effiziente Totalsynthese sowohl von Alkannin **1** als



Schema 15. Verbesserte Methode für die Herstellung von **138** durch asymmetrische Allylierung (Couladouros und Mitarbeiter).^[179]

auch von Shikonin **2** (Schema 16).^[195] Bei der Entwicklung dieser Synthesestrategie standen drei Überlegungen im Vordergrund: 1) Es sollten kommerziell erhältliche Ausgangsverbindungen zum Aufbau des Naphthazarinringgrundgerüsts verwendet werden. 2) Aus einer im späten Stadium der Synthese hergestellten, gemeinsamen Zwischenstufe sollten



Schema 16. Stereokontrollierte Totalsynthese von Alkannin **1** und Shikonin **2** nach Nicolaou et al.^[195]

sich sowohl Alkannin **1** als auch Shikonin **2** in hohen Enantiomerenüberschüssen herstellen lassen. 3) Es sollte eine neue Schutzgruppe für das Naphthazarinsystem entwickelt werden, die sich am Ende in einem Schritt unter milden Bedingungen entfernen lassen sollte.

Die erste Bedingung wurde durch die Verwendung von käuflichem 2,3-Dichlornaphthazarin **67** als Ausgangsmaterial erfüllt (Abschnitt 4.1).^[144] Es wurde vermutet, daß das Keton **143** eine ideale Vorstufe für beide enantiomeren Verbindungsreihen ist, da Arylalkylketone dieser Art sich im allgemeinen hervorragend als Substrate für viele enantioselektive Reduktionsmittel eignen.^[196] Ferner konnte man davon ausgehen, daß Bismethylenacetale vom Typ **A** (Abbildung 11) der Schlüssel zur Lösung der Probleme bei der Schutzgruppenabspaltung sein könnten. Zwar würde eine Oxidation zu den regiosomeren Verbindungen **B** und **C** führen, doch die spontane Eliminierung von Formaldehyd sollte die beiden Naphthazarinderivate **D** und **E** liefern. Diese wiederum sollten rasch tautomerisieren, und zwar wegen des

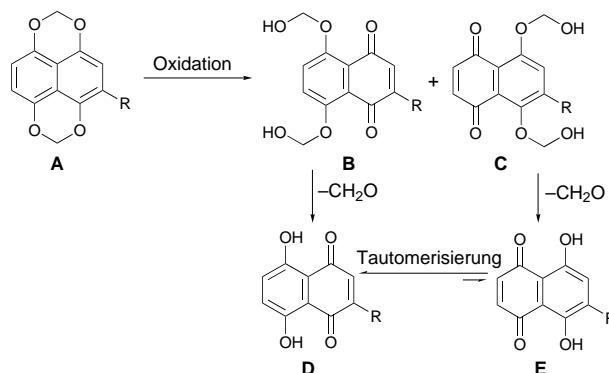


Abbildung 11. Vorausgesagte Entschützung von Bismethylenacetalderivaten und die bevorzugte Bildung des Naphthazarinisomers **D** (Nicolaou und Hepworth).^[195]

elektronenschiebenden Effekts der Alkylgruppen zugunsten der gewünschten Form **D**^[13]

Diese Pläne konnten in einer kurzen und sehr effizienten Synthese realisiert werden: Das bromierte Bismethylenacetal **141b** wurde ausgehend von 2,3-Dichlornaphthazarin **67** durch Reduktion mit Zinn(II)-chlorid,^[142] O-Alkylierung mit Bromchlormethan^[197] und anschließende Bromierung mit NBS erhalten. Der Halogen-Metall-Austausch mit *t*BuLi und die Umsetzung mit dem Weinreb-Amid **142** führten zum Keton **143**. Die Reduktion von **143** mit jeweils einem Enantiomer von DIP-Cl^[198] lieferte in hohen Ausbeuten und mit exzellenten Enantiomerenüberschüssen die enantiomeren Alkohole **144** und **145**. Die Methylenacetal-Schutzgruppen ließen sich durch anodische Oxidation abspalten. Blieb der Umsatz unter 50%, so betrug die Ausbeute an Shikonin bzw. Alkannin ca. 80%. Ansonsten erforderte die Oxidation keinen anspruchsvollen elektrochemischen Versuchsaufbau: Es wurden eine konstante Zellspannung von 3 V und preiswerte Graphitelektroden verwendet.^[199] Diese Route könnte daher auch als Grundlage einer kommerziellen Synthese von **1** und **2** dienen.

5. Die biologische Aktivität von Alkannin, Shikonin und ihren Derivaten

Biologische Untersuchungen in den vergangenen 25 Jahren haben ergeben, daß viele der in historischen Texten erwähnten medizinischen Eigenschaften von *AT* und *LE* tatsächlich eine fundierte wissenschaftliche Basis haben und daß die aktiven Bestandteile der Pflanzen die Verbindungen **1**, **2** sowie deren Derivate sind. In diesem Abschnitt werden ihre biologischen Hauptwirkungsweisen diskutiert, d. h. die Wundheilung, die Antitumorwirkung sowie die antimikrobiellen und antithrombotischen Eigenschaften. Verweise auf biologische Eigenschaften, die hier nicht erörtert werden, finden sich in Tabelle 1.

5.1. Wundheilung und entzündungshemmende Wirkung

Wie bereits in der Einleitung ausgeführt, werden *AT*- und *LE*-Wurzeln bereits seit dem Altertum zur Behandlung von Wunden verwendet. Doch erst 1976 konnte die medizinische

Wirksamkeit auch experimentell bestätigt und die aktiven Inhaltstoffe durch Papageorgiou identifiziert werden.^[200] AT-Pflanzen wurden in verschiedenen Gegenden gesammelt und ihre Wurzeln extrahiert.^[159] Der so erhaltene Mutterextrakt aus Hexan wurde nach weiterer Extraktion und chromatographischer Aufbereitung in Wachse,^[201] fluoreszierende Verbindungen, natürliche Polymere^[159] und Pigmente^[2] unterteilt. Diese Fraktionen wurden für die örtliche Anwendung bei künstlich hervorgerufenen Hautgeschwüren von Versuchstieren (z.B. Ratten, Katzen und Hunden) getestet. Einzig die Pigmentfraktion zeigte dabei eine hervorragende Wundheilungswirkung, während die anderen Fraktionen völlig unwirksam waren. Durch chemische Analyse der Pigmente konnten die folgenden Alkanninester identifiziert werden: β,β -Dimethylacrylat **9**,^[159] Angelat **11**,^[202] Isovalerat **7**^[202] und das β -Acetoxyisovalerat **13**.^[203] Interessanterweise ist freies Alkannin **1** während der Isolierung nicht detektiert worden.^[204]

Auf der Grundlage der Ergebnisse dieser Tierversuche wurde eine Salbe mit Alkanninestern aus AT-Wurzeln entwickelt und patentiert (HISTOPLASTIN RED, später HELIDERM).^[47, 205] Diese Zubereitung wurde in klinischen Untersuchungen an Patienten mit indolenten Geschwüren im unteren Beinbereich, bei denen alle vorausgegangenen Behandlungsmethoden erfolglos geblieben waren, durch tägliches Auftragen an den Rändern der Geschwüre getestet.^[206] Die Erfolge waren spektakulär (Abbildung 12): Nach drei bis



Abbildung 12. Ein indolentes Geschwür vor (rechts) und nach (links) vierwöchiger Behandlung mit HISTOPLASTIN RED. Die Patientin war eine 62jährige Frau, deren Geschwür am rechten Bein zehn Jahre lang nicht auf Behandlungen angesprochen hatte.

vier Wochen wurde ein starkes Wachstum des Granulationsgewebes beobachtet, und innerhalb von fünf bis sechs Wochen heilte das Geschwür vollständig ab oder hatte zumindest beträchtlich in seinem Ausmaß abgenommen. Die Erfolgsquote lag bei 80%, ohne daß während irgendeiner Phase der Behandlung eine Entzündung der Haut beobachtet worden wäre. Die Wirksamkeit dieser Salbe wurde auch bei der Behandlung von Verbrennungen untersucht, wobei sie sich gegenüber Medikamenten wie Betadin und Fucidin als deutlich überlegen erwies.^[207] Sie wurde ebenso erfolgreich zur Therapie von Lepra-Geschwüren, Druckgeschwüren,

traumatischen Geschwüren^[208] und Analfissuren^[209] eingesetzt.

In Japan sind Tierversuche zur Beurteilung der Wirksamkeit von Shikonin **2** und seinen Derivaten bei verschiedenen Wundheilungsprozessen durchgeführt worden. 1977 berichtete Hayashi über die Ergebnisse umfangreicher Tests an Ratten mit Shikonin **2**, Acetylshikonin **15**, dem japanischen Hausmittel Shiunko und den Ether-Rohextrakten von „Shikon“, der LE-Wurzel.^[210] Jede dieser Zubereitungen bewirkte ein erhöhtes Wachstum des durch Baumwollpflropfen induzierten Granulationsgewebes. Bei örtlicher Anwendung zeigten die untersuchten Wirkstoffe auch entzündungshemmende Eigenschaften gegenüber akuten Ödemen, die auf verschiedene Weise, unter anderem durch Histamin, Serotonin, Hitze und UV-Strahlung, hervorgerufen wurden, und beschleunigten die Wundheilung. Schwach antipyretische und analgetische Effekte wurden ebenfalls beobachtet. Hayashi schloß daraus, daß die Wirkstoffe sich zur Behandlung von Hautverletzungen eignen.

Ozaki und Mitarbeiter verglichen „Shikon“, „Koushikon“ (beides sind LE-Wurzeln mit Shikonin und seinen Estern als Hauptkomponenten) und „Nanshikon“ (die Wurzel von *Macrotomia euchroma* PAULS, bestehend hauptsächlich aus Alkanninestern). Sie stellten fest, daß das Wachstum des Granulationsgewebes, das durch die Etherextrakte dieser Wurzeln stimuliert wird, gut mit dem gesamten Naphthochinon-Pigment-Inhalt korreliert. Die Wirksamkeit schien dabei weder mit der Konfiguration der Seitenkette noch mit der Art der aliphatischen Estergruppe zusammenzuhängen.^[211] In einer unabhängigen Vergleichsstudie über die entzündungshemmenden Eigenschaften von Alkannin **1** und Shikonin **2** wurde ebenfalls der Schluß gezogen, daß die absolute Konfiguration nur einen geringen Einfluß auf die biologische Wirksamkeit hat.^[212]

Seto und Mitarbeiter haben die Wirkung von Shikonin und seinen Derivaten in Reinsubstanz im Hinblick auf verschiedene Aspekte der Wundheilung, darunter der Entzündungshemmung, untersucht.^[162] Hinsichtlich der beschleunigten Bildung von Granulationsgewebe erwies sich Shikonin **2** als wirksamer als Acetylshikonin **15**, aber ebenso aktiv war das Pentaacetyllderivat MDS-004 **80** (Abbildung 13). Darüber

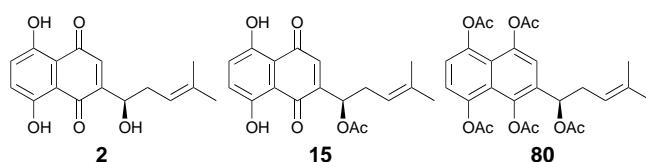


Abbildung 13. Shikonin **2**, Acetylshikonin **15** und MDS-004 **80** unterscheiden sich in ihrer pharmazeutischen Wirkung.

hinaus, und im Gegensatz zu **2** und **15**, wirkte MDS-004 **80** bei topischer Anwendung stark hemmend bei Allergien, die durch Oxazolon und Dinitrofluorbenzol hervorgerufen wurden. Außerdem hat **80** einen wichtigen Marketingvorteil, da es im Unterschied zu den Pigmentwirkstoffen farblos ist. Auch erwies sich **80** anders als **2** und **15** als oral wirksam gegen Hinterpfotenödeme, induziert durch irlandisches Moos, und hat einen positiven Einfluß auf Essigsäure-induzierte Magen-

geschwüre. Diese Modellstudien belegen somit, daß MDS-004 **80** bessere pharmakologische Eigenschaften als Shikonin **2** aufweist. Interessanterweise und im Widerspruch zu den Arbeiten von Hayashi^[201] konnte bei keinem der untersuchten Derivate eine heilende Wirkung bei Schnittwunden oder anderen offenen Verletzungen nachgewiesen werden. Auch wurden bislang keine Berichte zu klinischen Studien über MDS-004 **80** oder Shikonin **2** veröffentlicht.

Untersuchungen zur entzündungshemmenden Wirkung von Extraktten der Pflanze *Arnebia euchroma* (Alkannin-ester)^[213] und insbesondere von β,β -Dimethylacrylalkannin **9**^[214] führten zu ähnlichen Ergebnissen.^[162, 210, 212] Vor kurzem wurde gezeigt, daß Shikonin die Biosynthese von Leukotrienen B₄ und 5-Hydroxyeicosanitetasäure inhibiert. Die Autoren vermuten, daß diesen Verbindungen eine wichtige Funktion beim Mechanismus der entzündungshemmenden Wirkung zukommt.^[215]

In den vergangenen Jahren sind beim Verständnis der Biochemie von Wundheil- und Gewebereparaturprozessen, die eine komplexe Balance von Abbau- und Regenerationsvorgängen sind, bedeutende Fortschritte erzielt worden.^[216] Obwohl die Wirksamkeit von Alkannin- und Shikoninderivaten *in vivo* nachgewiesen werden konnte, ist ihr Wirkungsmechanismus bislang noch völlig ungeklärt.

5.2. Antitumoreigenschaften

LE-Wurzelextrakte werden nicht nur wegen ihrer oben beschriebenen Wundheilungseigenschaften, sondern in der chinesischen Volksmedizin seit vielen Jahren auch als Mittel gegen Krebs eingesetzt.^[217] Dieses Anwendungsgebiet findet jedoch in den Arzneibüchern chinesischer Medizin^[18] keine Erwähnung und ist somit vermutlich weniger verbreitet als andere Anwendungen. Während verschiedene *Anchusa*-Arten bereits seit dem 12. Jahrhundert^[218] in der Krebstherapie verwendet werden, kam *AT* dabei wohl nicht zum Einsatz. Trotzdem sind **1**, **2** und einige ihrer Derivate in den letzten 25 Jahren als potentielle Kandidaten für die Therapie verschiedener Krebsarten untersucht worden.

Die in den Industrienerationen zunehmende Gefahr durch Krebs, der mittlerweile nach kardiovaskulären Krankheiten die zweithäufigste Todesursache ist, hat in den vergangenen Jahren zu einem sprunghaften Anstieg der Forschung auf diesem Gebiet geführt. In großen Screening-Programmen des National Cancer Institute in den USA wurde die Chinoneinheit als Pharmakophor mit cytotoxischer Aktivität identifiziert.^[219] Von den über 1500 Chinonen, die in einer Studie von 1974 getestet wurden, zeigten über 10% eine signifikante Aktivität gegen mindestens eine der folgenden Zelllinien: Leukämie L1210, Walker-Carcinosarkom 256 (W256), Adenocarcinom 755, Sarkom 180, Lewis-Lungencarcinom; alle zeigten In-vivo- (Maus oder Ratte) und In-vitro-Cytotoxizität gegenüber KB-Zellkulturen. Unter den getesteten aktiven Chinonen waren Alkannin **1**, sein Acetat **5**, sein Isobutyrat **6** und sein β,β -Dimethylacrylat **9**, und alle wirkten *in vitro* cytotoxisch gegen KB-Zellen.^[219] Bereits früher wurde bei den aus Wurzeln von *Arnebia nobilis* isolierten Alkanninderivaten **1**, **5**, **9** und **28** (Tabelle 1) eine Aktivität gegen W256 in

Ratten und gegen P388 (lymphatische Leukämie) in Mäusen nachgewiesen.^[163, 220] Die synthetischen Verbindungen **83** und **85** (Schema 5) waren ähnlich aktiv.

Ähnliche Ergebnisse wurden von Sankawa et al.^[156] erhalten: Shikonin **2** und eine Reihe einfacher Derivate konnten das Tumorwachstum bei einer Dosis von 5–10 mg kg⁻¹ Tag⁻¹ vollständig unterdrücken. Dabei war Shikonin **2** in höheren Dosen akut toxisch (siehe Abschnitt 5.5), in niedrigeren hingegen war es inaktiv. Auf der anderen Seite ergaben jüngere Studien, daß Alkannin **1** und Shikonin **2** zwar in Konzentrationen von 100 μ g mL⁻¹–10 ng mL⁻¹ cytotoxisch sind, bei sehr niedrigen Konzentrationen (10 ng mL⁻¹–10 fg mL⁻¹) dagegen immunstimulierend auf menschliche Granulocyten und Lymphocyten wirken.^[221]

Die chemoprophylaktischen Eigenschaften von Alkannin- und Shikoninderivaten wurden auch von anderen Arbeitsgruppen untersucht. Die Chemoprophylaxe beruht auf dem Prinzip, daß nichtcarcinogene, synthetische oder natürliche Substanzen den Prozeß der Carcinogenese inhibieren können. Die mutagene Wirkung von Pikrolonsäure, Benzo[a]pyren^[222] und 4-Nitrochinolin-1-oxid^[223] auf das Bakterium *Salmonella typhimurium* TA98 konnte durch Extrakte der *LE*-Wurzeln *in vitro* inhibiert werden. Shikonin **2** hemmt auch die frühe Antigenaktivierung des Epstein-Barr-Virus durch 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetat (TPA) in Raji-Zellen.^[224] Bei den verwendeten Konzentrationen wurde jedoch eine signifikant hohe Cytotoxizität festgestellt. Eine chemoprophylaktische Wirkung wurde auch *in vivo* beobachtet, denn Shikonin **2** verringert in Ratten das Vorkommen von durch Azoxymethan hervorgerufenen Darmtumoren.^[225]

Platinkomplexe der Naphthazarine, auch solche von **1**, **2** und einigen ihrer Derivate, haben eine ähnlich hohe Antitumoralaktivität wie Cisplatin, sind aber weniger nephrotoxisch.^[226] Kupferkomplexe von Shikonin **2** sind als DNA-spaltende Verbindungen patentiert worden.^[227]

Mehrere Arbeitsgruppen haben die biologischen Mechanismen der Cytotoxizität von **1**, **2** und ihren Derivaten untersucht. Dabei stellte sich heraus, daß mehrere Möglichkeiten zur Unterbrechung zellulärer Prozesse durch Chinone existieren.^[228] Einer der am häufigsten vorgeschlagenen Mechanismen der Chinon-Cytotoxizität ist der „oxidative Stress“, der auf der Eigenschaft der Chinone beruht, in zelluläre Redoxkreisläufe einzugreifen. So können Chinone, katalysiert durch Enzyme wie NADPH-Cytochrom-P450-Reduktase, in einer Ein-Elektronen-Reduktion zum Semichinon-Radikal reduziert werden.^[228] Von diesem Radikal wird vermutet, daß es einen Redoxzyklus initiiert, da es in Gegenwart von Sauerstoff unter Bildung des Superoxid-Radikalions leicht autoxidiert. In einer Kettenreaktion, die vom Superoxid-Radikal anion oder vom Semichinon-Radikal eingeleitet wird, könnte dann die Bildung freier Radikale aus einer Kettenreaktion zu Zellschädigungen führen, die zur Cytotoxizität beitragen. Es ist auch vorgeschlagen worden, daß die beobachtete Cytotoxizität der Chinone zumindest teilweise mit ihren Reaktionen als Elektrophile mit zellulären Nucleophilen erklärt werden kann.^[228] Der vielleicht interessanteste Ansatz zur Erklärung der Cytotoxizität der Chinone, zumindest vom chemischen Standpunkt aus betrachtet, ist der der bioreduktiven Alkylierung.^[229] Nach diesem Modell

bewirkt die In-vivo-Reduktion eines Moleküls die Eliminierung einer geeignet positionierten Abgangsgruppe und erzeugt dadurch ein hochpotentes Alkylierungsmittel. Dieses Elektrophil kann dann zelluläre Nucleophile wie Glutathion oder DNA abfangen und so schließlich zum Zelltod führen. Dieser Prozeß, in Abbildung 14 für **1**, **2** und einige Derivate davon dargestellt, ist gut etabliert und vielleicht vom natürlich vorkommenden Antitumorwirkstoff Mitomycin C am ehesten bekannt.^[230] Moore war der erste, der vorschlug, daß auch **1**, **2** und ihre Derivate nach diesem Mechanismus wirken könnten, doch wurde diese Hypothese nicht mit Beweisen untermauert.^[229]

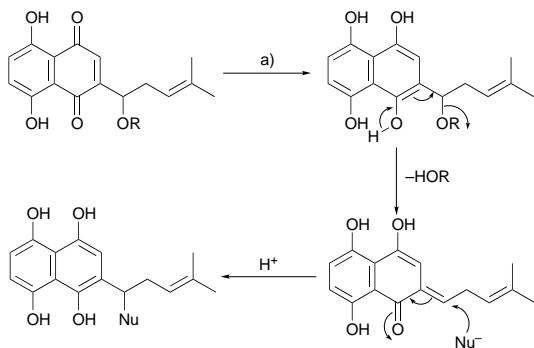
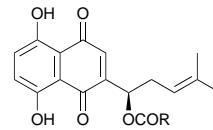


Abbildung 14. Ein möglicher bioreduktiver Alkylierungsmechanismus von Alkannin **1** und Shikonin **2** nach Moore.^[229] a) Reduktion. Nu = Nucleophil.

Die Inhibierung von Enzymen, die für den Zellmetabolismus oder für die Zellfortpflanzung essentiell sind, ist ein weiterer möglicher Mechanismus für die toxische Wirkung von Chinonen auf Zellen. Es wurde gezeigt, daß Shikonin **2** und einige Derivate in vitro stark mit DNA-Topoisomerasen wechselwirken können.^[160, 231] Diese Enzyme kontrollieren den topologischen Zustand der DNA durch konzertiertes Trennen und erneutes Verbinden der DNA-Stränge.^[232] Da die Topoisomerasen an vielen wichtigen Prozessen wie der DNA-Replikation, der Transkription und der Rekombination beteiligt sind, sind sie ein interessantes Ziel für die Chemotherapie. Eine Reihe von Shikoninestern sind hinsichtlich einer inhibierenden Wirkung auf Topoisomerase I untersucht worden.^[160] Der Wirkungsmechanismus des bekannten Antitumorwirkstoffs Camptothecin beruht auf der Hemmung dieses Enzyms. Eine Auswahl typischer Derivate ist in Tabelle 4 zusammengestellt. Aus diesen Daten geht hervor, daß einige der untersuchten Verbindungen in vivo potentere Inhibitoren sind als Camptothecin. Im allgemeinen sind kurzkettige Ester (C_2 – C_6) aktiver als langkettige. In dieser Studie wird auch über die selektive Inhibierung der Topoisomerase I bei unverändert aktiver Topoisomerase II (aus Hella-Zellen) berichtet.^[233] In einer anderen Untersuchung stellte sich jedoch heraus, daß Shikonin **2** durch Bildung eines spaltbaren Komplexes eine durch Topoisomerase II vermittelte DNA-Spaltung bewirkt.^[231] Die Autoren konnten durch Verwendung eines DNA-Entfaltungs-Assays zeigen, daß Shikonin nicht in die DNA intercaliert. Das Ergebnis dieser Arbeiten legt nahe, daß die cytotoxische Aktivität von **1**, **2**

Tabelle 4. Inhibition der Topoisomerase I durch Shikoninester.^[161]



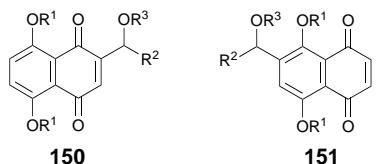
Vbdg.	R	IC ₅₀ [μM]
15	CH ₃	45 ± 3
146	CH ₂ =CHCH ₂	40 ± 3
147	CH ₃ (CH ₂) ₂	144 ± 10
148	CH ₃ (CH ₂) ₄	207 ± 15
149	CH ₃ (CH ₂) ₆	> 625
Shikonin 2	—	208 ± 10
Camptothecin	—	127 ± 9

und ihren Derivaten zumindest teilweise auf ihren Wechselwirkungen mit diesen Enzymen beruht.

Ahn und Mitarbeiter führten eine detailliertere Studie zur Aufklärung des Mechanismus der Cytotoxizität von **1**, **2** und ihren Derivaten durch.^[234] Sie stellten außerdem eine Reihe von analogen Verbindungen her, um Struktur-Wirkungs-Beziehungen zu untersuchen und um darauf aufbauend aktivere Derivate zu synthetisieren. Diese racemischen Analoga wurden nach einer „modifizierten Terada-Methode“ hergestellt.^[149, 153]

Um herauszufinden, ob eine elektrophile Arylierung bei der Wirkungsweise dieser Moleküle eine Rolle spielt, haben Ahn und Mitarbeiter 5,8-Dimethoxy-1,4-naphthochinon(DMQ)-Derivate synthetisiert und deren biologische Daten mit denen der Naphthazarine verglichen. Die Autoren waren dabei von der Überlegung ausgegangen, daß eine solche strukturelle Modifizierung zu einer erhöhten Elektrophilie der Chinoneinheit führen sollte (da die rasche Tautomerisierung wie in den Naphthazarinen unterbunden ist).^[137] Auf der anderen Seite sollte die Neigung der Naphthochinone zur Ein-Elektronen-Reduktion erniedrigt sein, da bei dem durch Reduktion der Naphthazarine entstehenden Semichinon ausgeprägtere Delokalisierung zu erwarten sein sollte als beim entsprechenden Radikal eines DMNQ-Derivats. Die Fähigkeit der Verbindungen, mit zellulären Nucleophilen zu reagieren, wurde durch Inkubation der Chinone mit Glutathion geprüft. Wie die Autoren vermuteten, ergab sich dabei die Reihenfolge 6-substituierte DMNQs > 2-substituierte DMNQs > Naphthazarine. Wurde dagegen die Cytotoxizität der 2-substituierten Naphthazarine **150a-c** mit der der DMNQ-Derivate **150d-f** gegenüber L1210-Zellen verglichen, zeigte sich, daß letztere drei- bis zehnmal weniger aktiv waren (Tabelle 5). Aus diesen Ergebnissen schließen die Autoren, daß Redoxkreisläufe bei der Cytotoxizität 2-substituierter Naphthazarine eine entscheidende Rolle spielen.

Untersuchungen zum Zellschutz ergaben, daß Tocopherol, ein Antioxidans, das dazu genutzt wird, in Redoxkreisläufen entstehende Radikale abzufangen, die Cytotoxizität von Shikonin **2** um 25% vermindert. Aurintricarbonsäure (ATA), ein Inhibitor von Endonukleasen, hat in einer Konzentration von 1 μ M eine Schutzwirkung von 50% (Tabelle 6).^[235] Die Kombination von ATA und Tocopherol führt zu einer Schutzwirkung von 80%. Diese Ergebnisse deuten

Tabelle 5. Cytotoxizität und In-vivo-Aktivität von Shikoninanalogen.^[234–238]

Vbdg.	R ¹	R ²	R ³	ED ₅₀ [$\mu\text{g mL}^{-1}$] ^[a]	T/C [%] ^[b]
2	H	3-Methyl-but-2-enyl	H	0.02	92.5
150a	H	Bu	H	0.03	–
150b	H	Pentyl	H	0.04	–
150c	H	i-Pentenyl	H	0.05	–
150d	Me	Bu	H	0.41	–
150e	Me	Pentyl	H	0.37	–
150f	Me	i-Pentenyl	H	0.15	–
150g	Me	Bu	Ac	0.07	–
150h	Me	Pentyl	Ac	0.06	–
150i	Me	i-Pentenyl	Ac	0.05	–
150j	H	Pentyl	Ac	–	255
150k	H	Nonyl	Ac	–	197
151a	Me	Bu	H	0.05	141
151b	Me	Pentyl	H	0.06	110
151c	Me	i-Pentenyl	H	1.10	–
151d	Me	Me	Ac	0.09	–
151e	Me	Bu	Ac	0.03	–
151f	Me	i-Pentenyl	COPr	0.03	–
151g	Me	i-Pentenyl	Ac	0.02	148
151h	Me	i-Pentenyl	COPr	0.03	198
151i	Me	i-Pentenyl	COPentyl	0.03	217
151j	Me	i-Pentenyl	COHeptyl	0.10	205

[a] Die Cytotoxizität wurde in vitro gegenüber L1210-Tumorzellen bestimmt. [b] Erhöhung der Lebensdauer bei Mäusen mit S-180-Zellen im Vergleich zu einer Kontrollgruppe (Dosis 10 mg kg^{–1} Tag^{–1}).

Tabelle 6. Schutzwirkung vor der durch Shikonin verursachten Cytotoxizität.^[235]

schützende Verbindung	Konzentration ^[a]	Schutzwirkung [%]
Tocopherol	0.3 mM	25 ± 0.23
ATA	1 μM	50 ± 0.81
Tocopherol und ATA	keine Angabe	80

[a] Konzentration der schützenden Verbindung. Die Shikoninkonzentration betrug durchgehend 60 nM.

darauf hin, daß die cytotoxische Wirkung Shikonin-artiger Verbindungen zumindest auf zwei unterschiedlichen Mechanismen beruht.

Aus Tabelle 5 lassen sich noch weitere Trends zur Cytotoxizität entnehmen. Die Acetylierung der 2-substituierten DMNQ-Derivate **150d–f** liefert die Verbindungen **150g–i**, die eine etwa dreimal höhere Aktivität aufweisen. Die 6-substituierten DMNQ-Derivate **151a–c** haben Cytotoxizitäten, die ähnlich hoch sind wie die der entsprechenden Naphthazarinderivate **150a–c** (Tabelle 5). Durch Variation von R¹ und R³ konnte eine Reihe 6-substituierter DMNQ-Analoga untersucht werden. Keine dieser Verbindungen war in vivo signifikant potenter als **2** oder andere der untersuchten Substanzen.

Viele der Analoga wurden in vivo an Mäusen mit S-180-Zellen getestet. Dabei wurde eine Dosis von 10 mg kg^{–1} Tag^{–1}

verabreicht und die verlängerte Lebensdauer relativ zu der in einer Kontrollgruppe bestimmt. Die Ergebnisse, die in Tabelle 5 aufgeführt sind, können mit Resultaten von In-vitro-Untersuchungen und denen aus einer älteren Studie^[156a] an Shikonin **2** mit identischer Dosis verglichen werden. Es ergibt sich keine Korrelation zwischen der In-vivo-Cytotoxizität und der Verlängerung der Lebensdauer. Dennoch haben die untersuchten Analoga, die kürzlich auch patentiert worden sind,^[236] bessere Antitumoreigenschaften als Shikonin. Die Autoren kamen zu dem Schluß, daß die Bindung dieser Substanzen an Endonucleasen wie die Topoisomerase I der plausibelste Wirkungsmechanismus ist, der in vivo zu Antitumoreigenschaften führt. Sie schlagen vor, daß strukturelle Modifikationen, die die selektive Bindung an Endonucleasen fördern und gleichzeitig die nichtselektive Bindung an zelluläre Nucleophile und die Teilnahme an Redoxkreisläufen vermindern, die vielversprechendste Strategie für zukünftige Entwicklungen seien.

Um dies zu erreichen, sollte die Konfiguration nicht länger ignoriert werden. Vor kurzem erschienene Berichte aus demselben Arbeitskreis haben sich dieser Problematik gewidmet. In ihnen werden Untersuchungen über die Antitumoreigenschaften von Arylacetylestern von Shikonin diskutiert.^[237, 238] Die Cytotoxizität von 17 Analoga gegenüber A549-, L1210- und K562-Krebszellen wurde in vitro ermittelt. Die Analoga waren gegen die Tumorzelllinie A549 sehr viel weniger aktiv als gegen die Leukämiezellen L1210 und K562. Die Cytotoxizität dieser Analoga gegen A549 korreliert jedoch mit ihren Antizelladhäsionseigenschaften,^[238] was die Autoren als Hinweis auf den Wirkungsmechanismus dieser Verbindungen deuten. Das 4-(N,N-Dimethylamino)phenylacetylderivat von Shikonin **2**, das zur Erhöhung der Wasserlöslichkeit synthetisiert wurde, war mit einem T/C-Wert von 192 % eine der aktivsten Substanzen. Obwohl weiterhin aktiv auf diesem Gebiet geforscht werden wird, bleibt abzuwarten, ob diese Arbeiten zu einem klinisch verwertbaren Wirkstoff gegen Krebs führen werden.

5.3. Antimikrobielle Eigenschaften

In den vergangenen 30 Jahren ist die antimikrobielle Wirkung von **1**, **2** und ihren Derivaten von mehreren Arbeitsgruppen untersucht worden. Bei Rohzubereitungen des Pflanzenmaterials mit diesen Inhalten wurde zunächst eine anibakterielle und eine antimykotische Wirkung nachgewiesen.^[239] Diese Untersuchungen reichten jedoch nicht aus, um **1**, **2** und ihre Derivate als die aktiven Inhaltsstoffe zu identifizieren, und so wurden an den Pflanzen *LE*,^[82, 240] *AT*^[164, 241] und *Arnebia nobilis*,^[171] den natürlichen Quellen dieser Verbindungen, systematische Studien durchgeführt, um die antimikrobielle Wirkung dieser Substanzen eindeutig nachzuweisen. Extrakte von Pigment-produzierenden Kalluskulturen von *LE* waren antibakteriell genauso aktiv wie die Pflanzenwurzeln selbst.^[242]

In den meisten Fällen waren **1**, **2** und ihre Derivate gegen Gram-positive Bakterien wie *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* und *Bacillus subtilis* wirksam, wobei die minimale Inhibierungskonzentration (MIC) zwischen 0.3 und

6.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ lag.^[231, 240c,b, 241a,b, 243] Die Verbindungen erwiesen sich jedoch als inaktiv gegenüber Gram-negativen Bakterienstämmen wie *Escherichia coli* und *Pseudomonas aeruginosa*.^[231, 240a,b, 241b] Pflanzenextrakte, die **1**, **2** und Derivate davon enthielten, zeigten darüber hinaus Aktivität gegen verschiedene Spezies von Milchsäurebakterien.^[244]

Obwohl es einige frühe Berichte über die bakteriostatische Wirkung von **1**, **2** und ihren Derivaten gibt,^[245] belegt eine kürzlich erschienene Studie, daß diese Wirkung tatsächlich bakterizid ist.^[246] In derselben Untersuchung wird auch nachgewiesen, daß die Verbindungen selektiv gegen Methicillin-resistente und Methicillin-empfindliche *Staphylococcus aureus*-Stämme (MRSA bzw. MSSA) wirksam sind. Wegen seiner geringen Toxizität wurde Shikonin **2** daraufhin als nützliches Therapeutikum gegen MRSA vorgeschlagen.

Hinsichtlich der antimykotischen Wirkungen von **1**, **2** und ihren Derivaten besteht in der Literatur weniger Übereinstimmung. Honda und Mitarbeiter haben gezeigt, daß Shikonin **2** und Desoxyshikonin **32** aus den Extrakten von *LE*-Zellkulturen signifikante antidermatophytische Eigenschaften gegen folgende fünf untersuchte Pilzarten aufweisen: *Saccharomyces sake*, *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. Tonsulans* var. *sulfureum*, *Microsporum gypseum* und *Epidermophyton fluccosum* ($\text{MIC} < 25 \mu\text{g mL}^{-1}$).^[247] Die Wirkungsweise dieser Verbindungen war dabei eher fungistatisch als fungizid; Desoxyshikonin **32** war generell aktiver. Eine Salbe auf der Grundlage von **32** als aktivem Wirkstoff zur Behandlung von Fußpilz ist patentiert worden.^[248] Andere antimikrobielle Zubereitungen mit Shikonin als Wirkstoff sind ebenfalls patentiert worden.^[249] Shikonin **2** und Desoxyshikonin **32** erwiesen sich jedoch als inaktiv ($\text{MIC} > 200 \mu\text{g mL}^{-1}$) gegen eine Reihe anderer Pilzarten, darunter *Candida albicans*.^[247] Auch andere Arbeitsgruppen stimmen darin überein, daß **1**, **2** und ihre Derivate keine Wirkung auf *Candida albicans* haben,^[231, 243, 247] obwohl einige Untersuchungen zu gegenteiligen Ergebnissen gekommen sind.^[171a, 239, 241a] So wurde der Ethanolrohextrakt von *Arnebia nobilis* an Meerschweinchen getestet, die mit *Candida albicans* infiziert worden waren.^[250] Bei örtlicher Anwendung zweimal täglich mit 0.1 mL einer 5proz. Polyethylenglykollösung war die Infektion innerhalb von 6 Tagen geheilt.

Von Shikonin ist in vitro auch eine antimöbische Wirkung gegen *Entamoeba histolytica* dokumentiert, doch ist der therapeutische Effekt gering, wenn **2** an Ratten mit intestinaler Amöbiasis oral verabreicht wird.^[251] Eine Wirkung von Shikonin gegen Larven von *Aedes aegypti* konnte ebenfalls nachgewiesen werden.^[252]

Papageorgiou und Mitarbeiter untersuchten die Struktur-Wirkungs-Beziehungen der antimikrobiellen Eigenschaften von Inhaltstoffen von *AT*^[241b] und kamen zu folgenden Schlüssen: 1) Der antibakterielle Effekt des Hexanextraktes ist auf das Naphthochinon-Pigment zurückzuführen, wobei das Naphthazarinsystem für eine Wirkung absolut notwendig ist. 2) Die Alkylierung der Phenolgruppen führt zu vollständigem Verlust der Aktivität. 3) Eine Polymerisation führt zu vollständigem Verlust der Aktivität. 4) Da **1**, **2** und ihre Ester alle aktiv sind, ist es möglich, daß die aliphatische Seitenkette dazu dient, das Naphthazarin an den Wirkort heranzuführen. Es wurde daher vorgeschlagen, daß ein

Screening verschiedener Esterderivate zu Produkten mit höherer Aktivität führen könnte. Dieses Ziel ist aber noch nicht erreicht.

5.4. Antithrombotische Eigenschaften

Beim Menschen kann die Bildung eines Thrombus die Blutversorgung von Geweben oder Organen unterbrechen und zu peripherer, cerebraler oder koronarer Ischämie führen. Eine Thromboembolie kann fatal sein und ist eine häufige Todesursache. Die Aggregation von Blutplättchen wird als der pathogene Hauptmechanismus angesehen, der zu arterieller Thrombose führt. *Arnebia euchroma* ist eines der vasoaktiv-antithrombotisch wirkenden Kräuter der chinesischen Volksheilkunde. Vor kurzem wurden vier Substanzen aus den Rohextrakten isoliert, die eine durch Kollagen induzierte Plättchenaggregation unterdrücken. Die Strukturen wurden Shikonin **2**, Acetylshikonin **15**, β,β -Dimethylacrylshikonin **21** und Teracrylshikonin **22** zugeordnet,^[253] doch bleiben Zweifel an dieser Zuordnung, da auch Alkannin-derivate (**1**, **5**, **9**, **10**) aus demselben Material isoliert wurden (siehe Tabelle 1, Anmerkung 2).^[42, 44] Die Ergebnisse der In-vitro-Tests sind in Tabelle 7 zusammengestellt. Acetylshiko-

Tabelle 7. Inhibition der Kollagen-induzierten Blutplättchenaggregation durch Alkannin **1** und seine Ester.^[253]

Verbindung	Aggregation [%] ^[a]	$\text{IC}_{50} [\mu\text{g mL}^{-1}]$
Kontrolle	89.0 ± 0.3	–
β,β -Dimethylacrylshikonin 21	21.0 ± 18.1	4.2
Teracrylshikonin 22	0	2.8
Acetylshikonin 15	0	2.1
Shikonin 2	67.5 ± 4.9	10.7

[a] Bei einer Substratkonzentration von $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ bestimmt.

nin **15** inhibiert auch die durch Arachidonsäure hervorgerufene Blutplättchenaggregation. Es wird vermutet, daß die Wirkung von **15** auf der Unterdrückung des Phosphoinositid-Abbaus beruht.^[253b]

5.5. Toxizität, Pharmakokinetik und andere pharmakologische Aspekte

In-vitro- und In-vivo-Wirkungen sind nicht die einzigen Faktoren, die berücksichtigt werden müssen, wenn aus **1**, **2** und/oder ihren Derivaten therapeutisch nutzbare Medikamente zubereitet werden sollen. Andere Aspekte wie Toxizität, Metabolismus und Formulierung sind mindestens genauso wichtig.

In Fütterungsexperimenten an Ratten wurde für oral verabreichtes Alkannin **1** eine niedrige Toxizität festgestellt;^[254] Der LD_{50} -Wert betrug 3 g kg^{-1} bei Mäusen und $> 1 \text{ g kg}^{-1}$ bei Ratten. Wurde **1** über 15 Wochen an Mäuse verfüttert (1% der Gesamtnahrungsmenge, durchschnittliche Gesamtaufnahme 3.38 g), ergab sich kein Hinweis auf toxische Wirkungen. Die Autopsien ergaben, daß die Tiere keine

Heinz-Körper hatten und die Morphologie der lebensnotwendigen Organe unverändert war. Alkannin wurde mit dem Urin ausgeschieden und nicht im Bauchfettgewebe angereichert. Ähnliche Ergebnisse ergaben sich aus Untersuchungen mit Shikonin **2** und Acetylshikonin **15**.^[210] Bei der intraperitonealen Verabreichung bei Mäusen erwiesen sich **2** und seine Derivate als sehr viel toxischer. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 zusammengefaßt.

Tabelle 8. Toxizität von Shikonin und seinen Estern bei Mäusen bei intraperitonealer Verabreichung.

Verbindung	LD ₅₀ [mg kg ⁻¹]
Shikonin 2	20 ± 5 ^[210b]
Acetylshikonin 15	41 ± 10 ^[210b] , 22.75 ^[213]
β,β-Dimethylacrylshikonin 21	48 ± 5 ^[214]

Darüber hinaus wurden toxische Effekte von **1**, **2** und ihren Derivaten bei In-vivo-Untersuchungen zur Antitumorwirkung beobachtet. In Tabelle 9 sind die Derivate aufgeführt, für die dies der Fall war (die Dosen wurden intraperitoneal verabreicht). Alkannin **1**^[255] und die Alkanninester **5**–**13**^[200] erwiesen sich im Ames-Test^[256] als nicht mutagen.

Tabelle 9. Toxische Dosen von **1**, **2** und ihren Derivaten bei Mäusen und Ratten.

Verbindung	toxische Dosis
Shikonin 2	10 × 5 mg kg ⁻¹ Tag ⁻¹ ^[156a]
Shikonin 2	30 mg kg ⁻¹ Tag ⁻¹ ^[156a]
Alkannin 33	30 mg kg ⁻¹ Tag ⁻¹ ^[156b]
Alkannanleukoacetat	30 mg kg ⁻¹ Tag ⁻¹ ^[156b]
Cycloalkannindiacetat	30 mg kg ⁻¹ Tag ⁻¹ ^[156b]
β,β-Dimethylacrylalkannin 9	10 mg kg ⁻¹ Tag ⁻¹ ^[220]
α-Methoxyphenylacetylshikonin	7.75 mg kg ⁻¹ Tag ⁻¹ ^[237]

Über die Ergebnisse einer pharmakokinetischen Studie mit [³H]Shikonin an Mäusen wurde berichtet.^[257] Die Absorption erfolgte sowohl nach oraler als auch nach intramuskulärer Verabreichung rasch, wobei jeweils nach etwa einer Minute Radioaktivität im Plasma nachgewiesen werden konnte. Andere Ergebnisse sind in Tabelle 10 zusammengestellt.

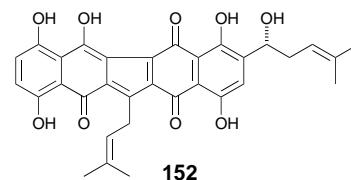
Tabelle 10. Pharmakokinetische Daten für Shikonin **2** bei Verabreichung an Mäuse.^[257]

Verabreichung	Spitzenwert im Plasma [min]	Bioverfügbarkeit [%]
oral	5.78	34.3
intramuskulär	7.62	64.7

Innerhalb von 96 h nach einer intravenösen Injektion betrug die insgesamt ausgeschiedene Radioaktivitätsmenge 40.5 % im Urin und 30.3 % im Stuhl, wovon 3.6 % bzw. 7.7 % jeweils nichtmetabolisiert vorlagen.

Als Modell zur Vorhersage der Biotransformation von Shikonin **2** im menschlichen Magen-Darm-Trakt haben Kadota und Mitarbeiter **2** mit *Bacteroides fragilis* subsp. *thetaotus* aus menschlichem Stuhl inkubiert.^[258] Zehn Metaboliten wurden nachgewiesen: fünf Monomere, darunter

Anhydroalkannin **34**, Desoxyshikonin **32** und Cycloshikonin **73**, und fünf dimere Verbindungen wie Shikometabolin A **152**.



Cheng und Mitarbeiter konnten die pharmazeutischen Eigenschaften von **1** und **2** durch die Bildung von 1:1-Einschlußkomplexen mit Hydroxypropyl-β-cyclodextrin deutlich verbessern.^[259] Die Wasserlöslichkeit wurde um das 200fache erhöht und die Geschwindigkeit des photochemischen Abbaus von 0.329 auf 0.156 h⁻¹ gesenkt. Darüber hinaus waren die Freisetzungsgeschwindigkeiten von **1** und **2** wesentlich besser und betrugen ein Zehntel des Wertes der als Kontrollprobe verwendeten Shiunko-Salbe.

6. Zusammenfassung und Ausblick

Die *AT* und *LE* bereits im Altertum zugeschriebenen medizinischen Eigenschaften konnten zumindest teilweise in den vergangenen 25 Jahren durch wissenschaftliche Experimente bestätigt werden. Diese Untersuchungen führten zur Identifizierung von Alkannin **1**, Shikonin **2** und verwandten Derivaten als den aktiven Pflanzeninhaltstoffen. Die klinische Anwendung von Präparaten mit Estererivaten von **1** aus *AT*-Extrakten zur Behandlung von Verbrennungen und Geschwüren ist die vielleicht bemerkenswerteste Entwicklung. Die Verwendung von **1**, **2** und verwandten Verbindungen in anderen therapeutischen Bereichen, besonders bei der Chemotherapie gegen Krebs, ist noch in der Entwicklung. In diesen Bereichen ist in der Zukunft mit entscheidenden Fortschritten zu rechnen.

Der hohe Wert von **2** in Japan veranlaßte Biotechnologen, die erste Produktionsanlage zu entwickeln, die mit Pflanzenzellkulturen arbeitet. Die dafür notwendige Forschung führte zu einem enormen Zuwachs an Wissen in der Biotechnologie. Darüber hinaus wurden bedeutende Einblicke in die Biosynthese dieser Naturstoffe erhalten, und auch unser allgemeines Verständnis über den Sekundärmetabolismus der Pflanzen hat enorm von diesen Arbeiten profitiert.

Die Herausforderung, die so täuschend einfach anmutenden Verbindungen zu synthetisieren, hat zahlreiche Synthesemiker weltweit über viele Jahre beschäftigt. Die Pionierarbeiten von Terada und anderen Chemikern haben eine Grundlage geschaffen, auf die die kürzlich erzielten Fortschritte bei der Synthese der Verbindungen aufbauen. Diese Entwicklungen dürften noch zu vielen weiteren Abenteuern bei der Chemie, der Biologie und den medizinischen Aspekten von Alkannin **1**, Shikonin **2** und verwandten Naphthazarinen führen.

Addendum

Seit dem Einreichen dieses Aufsatzes ist eine Reihe von Zuschriften zu verschiedenen Aspekten der Chemie und Biologie von Alkannin und Shikonin erschienen. Um die Literatur bis einschließlich zum 30. November 1998 abzudecken, sind diese am Schluß der Literaturliste angefügt und in folgende Abschnitte unterteilt: medizinische Eigenschaften,^[260] physikalische Daten und Analytik,^[261] Zellkulturen und Biosynthese,^[262] Färbeeigenschaften^[263] und verschiedene biologische Eigenschaften.^[264]

Kürzlich wurde die wundheilende Wirkung von HELIX-DERM in weiteren klinischen Studien untersucht. Diese Arbeiten wurden an der Freien Universität Berlin unter der Leitung von Prof. C. E. Orfanos durchgeführt und ergaben, daß HELIXDERM sehr gute Resultate bei der Granulation und bei der Epithelisierung erzielte.

Außerdem haben wir erfahren, daß in China weitere Forschungsarbeit zu den Antitumoreigenschaften der „Shikonin-Mischung“ geleistet wurde: Es wurden In-vitro-Experimente durchgeführt, die darauf hinwiesen, daß die Pigmentmischung gegen Magen- und Speiseröhrenkrebszellen wirksam ist.^[265] Von vielleicht noch größerer Bedeutung sind klinische Versuche, die mit der „Shikonin-Mischung“ an 19 Patienten mit Lungenkrebs im Spätstadium durchgeführt wurden. Aus dieser Studie schlossen die Autoren, die Shikonin-Mischung sei „safe and effective for later-stage cancer“.^[266] Um diese Behauptung zu überprüfen, sind sicherlich weitere Studien erforderlich.

Anhang: Liste der Abkürzungen

CDI	<i>N,N'</i> -Carbonyldiimidazol
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DDQ	2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon
DIBAL	Diisobutylaluminiumhydrid
DIP-Cl	<i>B</i> -Chlordiisopinocampheylboran
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
<i>hv</i>	Licht
Ipc	Isopinocampheyl
LDA	Lithiumdiisopropylamid
MOM	Methoxymethyl
MTBSTFA	<i>N</i> -Methyl- <i>N</i> - <i>tert</i> -butyldimethylsilylacetamid
MTMSTFA	<i>N</i> -Methyl- <i>N</i> -trimethylsilylacetamid
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid
py	Pyridin
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Trimethylsilyl
Ts	<i>p</i> -Toluolsulfonyl

V.P.P. dankt Professor A. Sagredos und Assistant Professor A. Mellidis für ihre Beiträge zu diesem Projekt. Auch Dr. Christos Verelis, Under-Secretary of Environment, Physical Planning and Public Works of Greece, möchten wir für sein

Interesse, seine wertvolle Hilfe und für die Unterstützung bei der Entwicklung von HISTOPLASTIN RED und HELIX-DERM danken. K.C.N. und D.H. bedanken sich bei Dr. Paul King, Christopher Boddy und Nicolas Winssinger für ihre Mitarbeit bei der Fertigstellung dieses Manuskripts. Wir danken K. Goto und Dr. T. Konoshima von der Kyoto Pharmaceutical University, Parke-Davis und Medpharm Scientific Publications für die Illustrationen. Diese Arbeit wurde finanziell von den National Institutes of Health (USA) und dem Skaggs Institute for Chemical Biology unterstützt.

Eingegangen am 27. November 1997,
ergänzte Fassung am 26. Februar 1998 [A261]
International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 270–300
Übersetzt von Dr. Rüdiger Faust, London

- [1] H. Brockmann, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1936**, *521*, 1–47.
- [2] a) R. H. Thomson, *Naturally Occurring Quinones*, 2. Aufl., Academic Press, New York, **1971**, S. 248–251; b) R. H. Thomson, *Naturally Occurring Quinones III, Recent Advances*, Chapman & Hall, **1987**, S. 219–223.
- [3] P. Weigle, *Ancient Dyes for Modern Weavers*, Watson-Guptil, New York, **1974**, S. 50–52.
- [4] Übersetzungen der Werke von Hippokrates ins Englische von Francis Adams finden sich im *Internet Classics Archive*. Zum Gebrauch von Alkanet siehe: <http://webatomics.com/Classics/Hippocrates/ulcers.10.10.html>.
- [5] Theophrastus, *Enquiry into Plants and Minor works on Odours and Weather Signs*, Vol. 2 (Übersetzung von A. Hort), Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, **1949**, Kap. 7.9.3, S. 113.
- [6] M. Wood, *In the Footsteps of Alexander the Great*, University of California Press, Los Angeles, **1997**, S. 143–144.
- [7] P. Dioskorides in *De Materia Medica*, Vol. IV.23 (Hrsg.: Max Wellman), Berloni Apud Weidmannos, Berlin, **1958**, S. 187–188; b) R. T. Gunther, *The Greek Herbal of Dioscorides*, Vol. IV, Hafner, New York, **1968**, S. 421.
- [8] Dieser Effekt wurde auch für Alkanet beschrieben; siehe z.B. Lit. [11a].
- [9] Plinius, *The Natural History*, Vol. 4, Book XXII, Kap. 23 (Übersetzung von J. Bostock), H. T. Riley, George Bell, London, **1890**, S. 409.
- [10] Die Verwendung zur Wundheilung ist anscheinend in alten arabischen Abhandlungen dokumentiert (siehe Lit. [220]). Siehe auch: L. Boulos, *Medicinal Plants of North Africa*, Reference Publications, Algonac, Michigan, **1983**, S. 35–37.
- [11] a) N. Culpeper, *The English Physician Enlarged*, Churchill, London, **1695**, S. 3–4; b) N. Culpeper, *Pharmacopoeia Londinensis*, Streater, London, **1672**, *Roots*, S. 1.
- [12] R. C. Wren in *Potters New Cyclopaedia of Botanical Drugs and Preparations* (Hrsg.: R. W. Wren), Health, Devon, **1975**, S. 11–12.
- [13] A. Y. Leung, S. Foster, *Encyclopedia of Common Natural Ingredients*, Wiley, New York, **1996**, S. 19–20.
- [14] a) M. Wichtl, *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals: A Handbook for Practice on a Scientific Basis* (Hrsg.: N. G. Bisset), Medpharm, Stuttgart, **1994**, S. 55–56; b) *Teedrogen und Phytopharmaika 3* (Hrsg.: M. Wichtl), Medpharm, Stuttgart, **1997**.
- [15] *The Merck Index*, 11. Aufl. (Hrsg.: S. Budavari), Merck, Rahway, NJ, **1989**, S. 43.
- [16] R. Hyatt, R. Feldman, *Chinese Herbal Medicine: Ancient Art and Modern Science*, Schocken Books, New York, **1978**, S. 17–28.
- [17] B. E. Read, *Chinese Medicinal Plants from the Pen Ts'ao Kang Mu (AD 1596)*, 3. Aufl., Peking Natural History Bulletin, Peking, **1936**, S. 38.
- [18] *A Barefoot Doctor's Manual* (Übersetzung einer chinesischen Anweisung an Mitarbeiter des chinesischen Gesundheitswesens), US Government Printing Office, Washington, DC, **1974**, S. 908; b) H.-Y. Hsu, W. G. Preacher, *Chinese Herb Medicine and Therapy*, Oriental Healing Arts Institute of USA, Los Angeles, **1982**, S. 147;

- c) *Handbook of Commonly Used Chinese Herbal Prescriptions* (Übersetzung von W. Yu-Ching), Oriental Healing Arts Institute, **1983**, S. 59; d) *The Pharmacopoeia of Japan*, Yakuji Nippo, Tokyo, **1982**, S. 1115.
- [19] Patente und Veröffentlichungen im Zusammenhang mit diesem Aspekt: a) S. Ootani, I. Takagishi (Pentel K. K.) JP-B 06336411, **1994** [Chem. Abstr. **1994**, 122, 142067p]; b) A. Hashimoto, A. Kusumi, K. Yamaguchi (Sunstar, Inc.) JP-B 04029915, **1992** [Chem. Abstr. **1992**, 116, 241988x]; c) S. Shimoyama, T. Shimoyama, (Ihara Chemical Industry Co., Ltd.) WO-B 9201022, **1992** [Chem. Abstr. **1992**, 116, 196225h]; d) T. Okuda, (Amato Pharmaceutical Products, Ltd.) JP-B 01215861, **1989** [Chem. Abstr. **1990**, 112, 185548g]; e) S. Mori, H. Otsuka, S. Kida, H. Bando (Sunstar, Inc.; Sanwa Chemical Industry Co., Ltd.) JP-B 01275520, **1989** [Chem. Abstr. **1990**, 112, 164775p]; f) M. Tsuboi, K. Matsui, Y. Ando, (Ichimura Co., Ltd.) JP-B 63083017, **1988** [Chem. Abstr. **1989**, 111, 45072b]; g) K. Hara, S. Murata, (Kao Corp.) JP-B 62270545, **1987** [Chem. Abstr. **1988**, 109, 197176k]; h) M. Tsuboi, Y. Ando, K. Matsui, (Ichimura Co., Ltd.) JP-B 62116520, **1987** [Chem. Abstr. **1988**, 108, 26820r]; i) K. Matsui, M. Tsuboi, Y. Ando, (Ichimura Co., Ltd.) JP-B 62089772, **1987** [Chem. Abstr. **1987**, 107, 204937y]; j) T. Morimoto, H. Ikeda, E. Inui, M. Hara, Y. Omura (Mitsui Petrochemical Industries, Ltd.) JP-B 62070305, **1987** [Chem. Abstr. **1987**, 107, 64658f]; k) T. Morimoto, H. Ikeda, E. Inui, M. Hara, (Mitsui Petrochemical Industries, Ltd.) JP-B 62070315, **1987** [Chem. Abstr. **1987**, 107, 46072f]; l) T. Morimoto, H. Ikeda, E. Inui, M. Hara, (Mitsui Petrochemical Industries, Ltd.; Sanwa Kagaku Kogyo K. K.) JP-B 61252298, **1986** [Chem. Abstr. **1987**, 106, 143806k]; m) T. Morimoto, H. Ikeda, E. Inui, M. Hara, (Mitsui Petrochemical Industries, Ltd.; Sanwa Kagaku Kogyo K. K.) JP-B 61252298, **1986** [Chem. Abstr. **1987**, 106, 143807m]; n) T. Morimoto, H. Ikeda, E. Inui, M. Hara, (Mitsui Petrochemical Industries, Ltd.; Sanwa Kagaku Kogyo K. K.) JP-B 61252297, **1986** [Chem. Abstr. **1987**, 106, 143805j]; o) T. Suzuki, S. Abe, (Shiseido Co., Ltd.) JP-B 61130233, **1986** [Chem. Abstr. **1986**, 105, 139645u]; p) T. Suzuki, S. Abe, (Shiseido Co., Ltd.) JP-B 61130232, **1986** [Chem. Abstr. **1986**, 105, 139644]; q) A. Yamagata, H. Tezuka, (Guerlain Kaihatsu Kenkyusho K. K.) JP-B 61118306, **1986**, 105, 120746f]; r) T. Morimoto, H. Ikeda, (Mitsui Petrochemical Industries, Ltd.) JP-B 60169413, **1985** [Chem. Abstr. **1985**, 104, 24086z]; s) Mitsui Petrochemical Industries, Ltd., JP-B 60094499, **1985** [Chem. Abstr. **1985**, 103, 106631s]; t) S. Kubo, E. Kawada (Shiseido Co., Ltd.) DE-B 3433648, **1985** [Chem. Abstr. **1985**, 103, 92640e]; u) Shiseido Co., Ltd., JP-B 600589, **1985** [Chem. Abstr. **1985**, 103, 760741]; v) Ichimaru Farukosu K. K. JP 5910507, **1984** [Chem. Abstr. **1984**, 100, 144835g]; w) K. Matsui, H. Ando, T. Endo (Ichimaru Co., Ltd.) JP-B 52094432, **1977** [Chem. Abstr. **1978**, 88, 27680a]; x) S. Kishimoto, K. Aota (Kanebo, Ltd.) JP-B 52027692, **1977** [Chem. Abstr. **1977**, 87, 189309t].
- [20] Einige Patente und andere Veröffentlichungen hierzu: a) C. Suga (Mitsui Petrochemical Industries, Ltd.) JP-B 07216249, **1995**, [Chem. Abstr. **1995**, 123, 259672]; b) C. Suga (Mitsui Petrochemical Industries, Ltd.) JP-B 06248581, **1994**, [Chem. Abstr. **1994**, 122, 33501]; c) I. Fumoto, C. Suga (Mitsui Petrochemical Industries, Ltd.) JP-B 03012458, **1991** [Chem. Abstr. **1991**, 114, 249246]; d) M. Schallies, *Prax. Naturwiss. Chem.* **1989**, 38, 31–36; e) C. Suga (Mitsui Petrochemical Industries, Ltd.) JP-B 63156741, **1988** [Chem. Abstr. **1988**, 110, 40446]; f) E. Benk, *Riechst. Aromen Körperflegem.* **1967**, 17, 3–4.
- [21] R. Winter, *A Consumer's Dictionary of Food Additives*, Crown, New York, **1984**, S. 25.
- [22] a) R. Winter, *A Consumer's Dictionary of Cosmetic Ingredients*, Crown, New York, **1984**, S. 23; b) H. Lorenz (Goldwell AG) DE-B 4201749 [Chem. Abstr. **1993**, 119, 146341].
- [23] V. P. Papageorgiou, *Planta Med.* **1980**, 38, 193–203.
- [24] R. Majima, C. Kuroda, *Acta Phytochim. (Tokyo)* **1922**, 1, 43–65.
- [25] H. Arakawa, M. Nakazaki, *Chem. Ind. (London)* **1961**, 947.
- [26] H. Fukui, M. Tsukada, H. Mizukami, M. Tabata, *Phytochemistry* **1983**, 22, 453–456.
- [27] Y. Ikeda, N. Ishida, C. Fukaya, K. Yokoyama, M. Tabata, H. Fukui, G. Honda, *Chem. Pharm. Bull.* **1991**, 39, 2351–2352.
- [28] a) J. Pelletier, *Ann. Chim. (Phys.)* **1832**, 51, 191–192; b) J. Pelletier, *Ann.* **1833**, 6, 27.
- [29] P. Bolley, R. Wydler, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1847**, 62, 141.
- [30] K. Brand, A. Lohmann, *Ber. Dtsch. Chem. Ges. B* **1935**, 68, 1487–1494.
- [31] H. Raudnitz, W. Stein, *Ber. Dtsch. Chem. Ges. B* **1935**, 68, 1479–1484.
- [32] A. C. Jain, S. K. Mathur, *Bull. Nat. Inst. Sci. India* **1965**, 28, 52–56 [Chem. Abstr. **1967**, 66, 26143m].
- [33] H. A. Khan, I. Chandrasekharan, A. Ghanim, *Phytochemistry* **1983**, 22, 614–615.
- [34] T. S. El-Afly, N. D. El-Tanbouly, N. M. Sokkar, *Egypt. J. Pharm. Sci.* **1996**, 37, 65–70 [Chem. Abstr. **1997**, 126, 328044s].
- [35] R. Chaisuksant, I. Niopas, A. Voulgaropoulos, A. S. Mellidis, V. P. Papageorgiou, *Pharmazie* **1995**, 50, 363–364.
- [36] S. A. Fedoreev, O. E. Krivoshchekova, V. A. Denisenko, P. G. Gorovoi, O. B. Maksimov, *Khim. Prir. Soedin.* **1979**, 625–630 [Chem. Abstr. **1981**, 94, 80213a].
- [37] a) N. N. Boldyrev, *Farmatsiya* **1939**, 10, 24–25; *Khim. Referate Zhur.* **1940**, 5, 108 [Chem. Abstr. **1942**, 36, 39103].
- [38] P. De Leo, A. Miceli, L. Ronzini, L. Sanasi, R. Sgarra, *Agro Food Ind. Hi-Tech* **1996**, 7, 23–25.
- [39] V. P. Papageorgiou, *Planta Med.* **1979**, 37, 259–263.
- [40] V. P. Papageorgiou, A. S. Mellidis, A. N. Assimopoulou, A. Tsaropoulos, *J. Mass Spectrom.* **1998**, 33, 89–91.
- [41] A. S. Mellidis, V. P. Papageorgiou, *J. Nat. Prod.* **1987**, 50, 618–619.
- [42] S. Fu, T. Shang, P. Xiao, *Yaoxue Xuebao* **1984**, 19, 921–925 [Chem. Abstr. **1985**, 103, 11307b].
- [43] L. Shurong, M. Lu, *Yaowu Fenxi Zazhi* **1986**, 6, 280–282 [Chem. Abstr. **1986**, 106, 50609h].
- [44] S. Fu, P. Xiao, *Zhongcaoyao* **1986**, 17, 434–437 [Chem. Abstr. **1987**, 106, 55728f].
- [45] G.-S. Liu, *Yao Hsueh Tung Pao* **1981**, 16, 14–15 [Chem. Abstr. **1981**, 95, 156425q].
- [46] N. Kirimer, B. Boazan, K. H. C. Baser, *Fitoterapia* **1995**, 66, 499–500 [Chem. Abstr. **1996**, 124, 284323j].
- [47] V. P. Papageorgiou, DE-B 2829744, **1979** [Chem. Abstr. **1979**, 91, 181441s].
- [48] M. Zhang, Y. Jin, L. Guo, Y. Cai, *Zhongcaoyao* **1989**, 20, 449–450 [Chem. Abstr. **1990**, 112, 33368k].
- [49] F. Zhu, F. Lu, G. Xiang, *Sepu* **1984**, 1, 131–133 [Chem. Abstr. **1985**, 103, 59142w].
- [50] F. Lu, Q. Xiang, F. Zhu, *Zhiwu Xuebao* **1983**, 25, 455–459 [Chem. Abstr. **1984**, 100, 99960f].
- [51] A. S. Romanova, A. I. Ban'kovskii, K. I. Boryaev, SU-B 200737, **1967** [Chem. Abstr. **1968**, 68, 62695t].
- [52] A. S. Romanova, A. I. Ban'kovskii, N. V. Tareeva, L. D. Marenova, K. I. Boryaev, *Lek. Rast.* **1969**, 15, 529–537 [Chem. Abstr. **1971**, 75, 85209w].
- [53] N. V. Tareeva, A. S. Romanova, A. I. Ban'kovskii, *Sb. Nauch. Rab., Vses. Nauch. Issled. Inst. Lek. Rast.* **1970**, 1, 175–181 [Chem. Abstr. **1972**, 76, 70042h].
- [54] L. R. Shcherbanovskii, Yu. A. Luks, *Khim. Prirod. Soedin.* **1974**, 513–514 [Chem. Abstr. **1975**, 82, 28587p].
- [55] A. S. Romanova, N. V. Tareeva, A. I. Ban'kovskii, *Khim. Prir. Soedin.* **1967**, 3, 71 [Chem. Abstr. **1967**, 67, 18548c].
- [56] J. A. Ballantine, *Phytochemistry* **1969**, 8, 1587–1590.
- [57] O. E. Krivoshchekova, S. A. Fedoreev, V. A. Denisenko, O. B. Maksimov, P. G. Gorovoi, *Khim. Prir. Soedin.* **1976**, 726–730 [Chem. Abstr. **1977**, 86, 86122b].
- [58] N. V. Tareeva, A. S. Romanova, A. I. Ban'kovskii, P. N. Kibal'chich, *Khim. Prir. Soedin.* **1966**, 2, 359–360 [Chem. Abstr. **1967**, 66, 79524t].
- [59] a) M. Kuhara, *J. Chem. Soc.* **1879**, 35, 22–25; b) M. Kuhara, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1878**, 11, 2143–2147.
- [60] C. Kuroda, *J. Tokyo Chem. Soc.* **1918**, 39, 1051–1115.
- [61] G. Bai, X.-J. Jin, *Chem. Res. Chin. Univ.* **1994**, 10, 263–265 [Chem. Abstr. **1995**, 122, 183154h].
- [62] S. Miura, *Shoyakugaku Zasshi* **1963**, 17, 45–49 [Chem. Abstr. **1965**, 61, 3065c].
- [63] A. S. Romanova, N. V. Tareeva, L. N. Pervykh, G. K. Kalashnikova, K. I. Boryaev, D. Pakalns, A. V. Patudin, *Khim. Prir. Soedin.* **1981**, 96 [Chem. Abstr. **1981**, 95, 3375y].
- [64] A. S. Romanova, A. I. Ban'kovskii, *Khim. Prir. Soedin.* **1965**, 226–227 [Chem. Abstr. **1965**, 63, 16773e].

- [65] A. S. Romanova, A. I. Ban'kovskii, N. V. Tareeva, K. I. Boryaev, I. A. Gubanov, SU-B 240933, **1969**, [Chem. Abstr. **1969**, *71*, 53591r].
- [66] M. E. Pimenova, N. V. Tareeva, *Rastit. Resur.* **1980**, *16*, 82–86 [Chem. Abstr. **1980**, *92*, 143310m].
- [67] L. R. Shcherbanovskii, *Khim Prir. Soedin.* **1972**, *8*, 666 [Biol. Abstr. **1974**, *57*, 4830].
- [68] L. R. Shcherbanovskii, *Khim Prir. Soedin.* **1972**, *8*, 238 [Biol. Abstr. **1973**, *55*, 16427].
- [69] L. R. Shcherbanovskii, *Khim Prir. Soedin.* **1971**, *4*, 517–518 [Chem. Abstr. **1972**, *54*, 51321].
- [70] A. S. Romanova, A. I. Ban'kovskii, K. I. Boryaev, N. V. Tareeva, SU-B 200735, **1967** [Chem. Abstr. **1969**, *68*, 62694s].
- [71] M. Tsuboi, Y. Ando, K. Matsui, JP-B 62116520, **1985** [Chem. Abstr. **1988**, *108*, 26820r].
- [72] L. N. Blagonravova, L. R. Shcherbanovskii, *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.* **1974**, *10*, 666–669 [Chem. Abstr. **1975**, *82*, 27824b].
- [73] A. Crespa Ayuso, L. Crespa Ayuso, ES-B 356371, **1970** [Chem. Abstr. **1970**, *73*, 44118f].
- [74] Y. Hashimoto, Y. Myama, A. Mizuchi, N. Fukazawa (Mitsui Toatsu Chemicals) JP-B 06340526 [Chem. Abstr. **1995**, *122*, 178412m].
- [75] M. Afzal, G. Al-Oriquat, *Agric. Biol. Chem.* **1986**, *50*, 1651–1652.
- [76] W. Cisowski, W. Dembska-Migas, J. Dzikowska, *Acta Pol. Pharm.* **1993**, *50*, 443–446 [Chem. Abstr. **1994**, *121*, 200860j].
- [77] S. Hisamichi, F. Yoshizaki, *Shoyakugaku Zasshi* **1982**, *36*, 154–159 [Chem. Abstr. **1982**, *97*, 178739p].
- [78] K.-H. Ai, F.-Y. Li, W. Wang, Y. Y. Wu, *Zhiwu Xuebao* **1989**, *31*, 549–553 [Chem. Abstr. **1990**, *112*, 115753w].
- [79] S. A. Fedoreyev, V. A. Denisenko, N. I. Kulesh, N. P. Krasovskaya, M. M. Kozyrenko, V. P. Bulgakov, Yu. N. Zhuravlev, *Khim. Farm. Zh.* **1993**, *27*, 33–37 [Chem. Abstr. **1994**, *120*, 240061k].
- [80] I. Morimoto, T. Kishi, S. Ikegami, Y. Hirata, *Tetrahedron Lett.* **1965**, 4737–4739.
- [81] M. Afzal, G. Al Oriquat, *Agric. Biol. Chem.* **1986**, *50*, 759–760.
- [82] K. Kyogoku, H. Terayama, Y. Tachi, T. Suzuki, M. Komatsu, *Shoyakugaku Zasshi* **1973**, *27*, 24–30 [Chem. Abstr. **1974**, *80*, 112549u].
- [83] M. Afzal, N. Muhammad, *Agric. Biol. Chem.* **1983**, *47*, 411–412.
- [84] C. W. Sung, K. S. Liu, N. W. Li, *Yao Hsueh T'ung Pao* **1980**, *15*, 3–5 [Chem. Abstr. **1981**, *94*, 71295b].
- [85] Diese Forscher fanden die Chinon-Pigmente in den oberirdischen Pflanzenteilen: N. A. Salam, T. Sarg, Y. Ibrahim, S. Khafagy, *Acta Pharm. Jugosl.* **1981**, *31*, 237–241 [Chem. Abstr. **1982**, *96*, 118993m].
- [86] I. Morimoto, Y. Hirata, *Tetrahedron Lett.* **1966**, 3677–3680.
- [87] M. Afzal, M. Tofeeq, *J. Chem. Soc. Perkin Trans I* **1976**, *15*, 1579–1582.
- [88] M. Afzal, M. Tofeeq, *J. Chem. Soc. Perkin Trans I* **1975**, *14*, 1334–1335.
- [89] P. Cong, *Yaoxue Xuebao* **1984**, *19*, 450–454 [Chem. Abstr. **1985**, *103*, 104350a].
- [90] Y. N. Shukla, J. S. Tandon, M. M. Dhar, *Indian J. Chem.* **1973**, *11*, 528–529.
- [91] a) M. Tabata, H. Mizukami, N. Hiraoka, M. Konoshima, *Phytochemistry* **1974**, *13*, 927–932; b) M. Konoshima, H. Mizukami, M. Tabata, *Shoyakugaku Zasshi* **1974**, *28*, 74 [Biol. Abstr. **1976**, *61*, 51525].
- [92] E. M. Linsmaier, F. Skoog, *Physiol. Plant* **1965**, *18*, 100–127.
- [93] M. Tabata, H. Mizukami, N. Hiraoka, M. Konoshima, *Phytochemistry* **1983**, *22*, 2451–2453.
- [94] a) Y. Fujita, Y. Hara, C. Suga, T. Morimoto, *Plant Cell Rep.* **1981**, *1*, 59–60; b) Y. Fujita, Y. Hara, T. Ogino, C. Suga, *Plant Cell Rep.* **1981**, *1*, 61–63; c) L. Heide, N. Nishioka, H. Fukui, M. Tabata, *Phytochemistry* **1989**, *28*, 1873–1877; d) H. Mizukami, M. Konoshima, M. Tabata, *Phytochemistry* **1977**, *16*, 1183–1186.
- [95] M. Tani, H. Fukui, M. Shimomura, M. Tabata, *Phytochemistry* **1992**, *31*, 2719–2723.
- [96] N. Yoshikawa, H. Fukui, M. Tabata, *Phytochemistry* **1986**, *25*, 621–622.
- [97] K. Yazaki, H. Fukui, M. Kikuma, M. Tabata, *Plant Cell Rep.* **1987**, *6*, 131–134.
- [98] Y. Fujita, N. Yoshikawa, M. Tabata, *Phytochemistry* **1984**, *23*, 301–305.
- [99] a) H. Mizukami, M. Konoshima, M. Tabata, *Phytochemistry* **1978**, *17*, 95–97; b) Y. Fujita, S. Takahashi, Y. Yamada, *Agric. Biol. Chem.* **1985**, *49*, 1755–1759; c) Y. Fujita, M. Tabata, *Plant Biol.* **1987**, *3*, 169–185 (Plant Tissue Cult.); d) Y. Fujita, S. Takahashi, Y. Yamada, *Eur. Congr. Biotechnol.*, 3. Aufl., Vol. 1, VCH, Weinheim, **1984**, S. 161–166.
- [100] Y. Fujita, Y. Hara, *Agric. Biol. Chem.* **1985**, *49*, 2071–2075.
- [101] M. E. Curtin, *Biotechnology* **1983**, *1*, 649–657.
- [102] Für Patente im Zusammenhang mit diesem Verfahren siehe: a) Y. Motoyama (Mitsui Petrochemical Industries, Ltd.) JP-B 03176454, **1991** [Chem. Abstr. **1991**, *115*, 231894d]; b) Mitsui Petrochemical Industries, Ltd. JP-B 58101687, **1983** [Chem. Abstr. **1983**, *99*, 156862n]; c) Mitsui Petrochemical Industries, Ltd., JP-B 57063082, **1982** [Chem. Abstr. **1982**, *97*, 108555b]; d) Mitsui Petrochemical Industries, Ltd., JP-B 57063081, **1982** [Chem. Abstr. **1982**, *97*, 90440y]; e) Mitsui Petrochemical Industries, EP-B 71999, **1983** [Chem. Abstr. **1983**, *98*, 196387]; f) Mitsui Petrochemical Industries, Ltd., JP-B 57039779, **1982** [Chem. Abstr. **1982**, *97*, 4700d]; g) Mitsui Petrochemical Industries, Ltd., JP-B 57039778, **1982** [Chem. Abstr. **1982**, *97*, 4699k].
- [103] a) H. N. Chang, S. J. Sim, *Biotechnol. Agric. For.* **1996**, *38*, 233–242 (Plant Protoplasts and Genetic Engineering VII); b) W. W. Su, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **1995**, *50*, 189–230; c) H. J. Chi, *Hwahak Seye* **1994**, *34*, 1063–1064 [Chem. Abstr. **1995**, *123*, 54169p]; d) O. Sahai, *Bioprocess Prod. Flavor Fragrance Color Ingredients* **1994**, 239–275; d) D. Fang, S. Hou, X. Li, *Zhongcaoyao* **1992**, *23*, 209–212 [Chem. Abstr. **1992**, *117*, 76285b]; f) Y. L. Chan, L. F. Liu, *Kexue Nongye* (Taipei) **1991**, *39*, 181–185; g) Y. Fujita, C. Suga, *Fragrance J.* **1991**, *19*, 33–36; h) Y. Fujita, *Kagaku to Kogyo* (Tokyo) **1990**, *43*, 1102–1104 [Chem. Abstr. **1990**, *113*, 170344j]; i) T. Vanek, *Chem. Listy* **1989**, *83*, 287–300 [Chem. Abstr. **1989**, *110*, 189343t]; j) H. X. Fan, W. H. Zhu, *Xaoxue Xuebao* **1988**, *23*, 716–720 [Chem. Abstr. **1989**, *110*, 91988g]; k) Y. Fujita, *Ciba Found. Symp.* **1988**, *137*, 228–238 (Appl. Plant Cell Tissue Cult.); l) V. Petiard, P. Steck, *NATO ASI Ser. Ser. A* **128** **1987**, 139–153 (Perspect. Biotechnol.); m) Y. Fujita, *Kagaku Kogyo* **1987**, *38*, 405–409 [Chem. Abstr. **1987**, *107*, 57303m]; n) Y. Fujita, C. Suga, K. Matsubara, Y. Hara, *Nippon Nogei Kagaku Kaishi* **1986**, *60*, 849–854 [Chem. Abstr. **1987**, *106*, 16951d]; o) M. Tabata, Y. Fujita in *Biotechnology in Plant Science* (Hrsg.: P. R. Day, M. Zaitlin, A. Hollaender), Academic Press, Florida, **1985**, S. 207; p) M. Tabata, *Yaoxue Tongbao* **1985**, *20*, 519–521 [Chem. Abstr. **1986**, *104*, 166825p]; q) P. Brodelius, *Hereditas* (Lund Swed.) **1985**, (Suppl. 3), 73–81; r) Y. Fujita, T. Morimoto, *Saibo Kogaku* **1985**, *4*, 405–411 [Chem. Abstr. **1985**, *103*, 140168f]; s) Y. Fujita, *Yuki Gosei Kagaku Kyokaishi* **1985**, *43*, 1003–1012 [Chem. Abstr. **1986**, *104*, 49737a]; t) P. F. Heinstein, *J. Nat. Prod.* **1985**, *48*, 1–9.
- [104] Aus *Alkanna tinctoria*: a) H. Urbanek, K. Bergier, S. Katarzyna, M. Saniewski, J. Patykowski, *Plant Cell Rep.* **1996**, *15*, 637–641; b) G. Mita, C. Gerardi, A. Miceli, R. Bollini, P. De Leo, *Plant Cell Rep.* **1994**, *13*, 406–410.
- [105] Aus *Onosma paniculatum*: a) W. Ning, T. Yu, R. Cao, *Zhiwu Shengli Xuebao* **1996**, *22*, 74–80 [Chem. Abstr. **1996**, *125*, 190281n]; b) W. Wen, R. Cao, *Nanjing Daxue Xuebao, Ziran Kexue* **1995**, *31*, 334–337 [Chem. Abstr. **1996**, *124*, 82234v]; c) W. Ning, R. Q. Cao, *3rd Met. Ions Biol. Med. Proc. Int. Symp.* (Libbey, Montrouge, France) **1994**, 473–476 [Chem. Abstr. **1995**, *122*, 286710r]; d) R. Cao, Q. Zhao, *Biochem. Eng. 2001, Proc. Asia-Pac. Biochem. Eng. Conf.* (Hrsg.: S. Furusaki, I. Endo, R. Matsuno), Springer, Tokyo, **1992**, S. 286–288 [Chem. Abstr. **1993**, *119*, 137416k]; e) L. Zhou, G. Zheng, S. Wang, *Yunnan Zhiwu Yanjiu* **1991**, *13*, 315–320 [Chem. Abstr. **1992**, *117*, 44645c]; f) L. Zhou, G. Zheng, S. Wang, F. Gan, *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa* **1991**, *3*, 34–38 [Chem. Abstr. **1991**, *115*, 252160b]; g) R. Zhu, R. Cao, M. Wang, D. Pan, Z. Du, *Zhiwu Xuebao* **1990**, *32*, 749–752 [Chem. Abstr. **1991**, *114*, 225685z].
- [106] Aus *Onosma echiodes*: S. Koul, M. Sambyal, R. K. Khajuria, S. M. Jain, *Fitoterapia* **1993**, *64*, 552–553 [Chem. Abstr. **1994**, *121*, 78272b].
- [107] Aus *Arnebia euchroma*: a) S. Chen, S. Huo, *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa* **1994**, *6*, 97–100 [Chem. Abstr. **1995**, *122*, 185416u]; b) L. V. Kozlovtseva, G. V. Zaitseva, S. E. Strogov, *Biotekhnologiya* **1994**, *3*, 24–26 [Chem. Abstr. **1994**, *121*, 228870m]; c) O. V. Zakharenkuk, *Biopolim. Kletka* **1994**, *10*, 32–37 [Chem. Abstr. **1995**, *122*, 235505v]; d) J.-W. Dong, H.-C. Ye, X. Wu, G.-F. Li, Z.-R. Wu, L.-M. Gu, J.-L. Chen, *Zhiwu Xuebao*, **1993**, *35*, 57–61 [Biol. Abstr. **1993**, *96*, 60965]; e) G. Xiang, F. Lu, F. Zhu, G. Li, H. Ye, J. Dong, X. Wu, J. Chen, *Zhiwu Xuebao* **1992**, *34*, 470–474 [Chem. Abstr. **1993**, *118*, 98068f]; f) V. N. Davydenkov, A. V. Patudin, Yu. G. Popov, S. A. Rabinovich,

- A. I. Miroshnikov, *Khim. Farm. Zh.* **1991**, 25, 53–55 [*Chem. Abstr.* **1991**, 115, 47729c]; g) H. Ye, Z. Yin, G. Li, X. Wu, J. Dong, Z. Wu, *Zhiwu Xuebao* **1991**, 33, 927–931 [*Chem. Abstr.* **1992**, 117, 23461z].
- [108] Zu seit 1990 erzielten Fortschritten siehe: a) P. Lui, Z. Wei, Z. Xu, X. Chu, R. Cao, *Zhiwu Shengli Xuebao* **1996**, 22, 243–250 [*Chem. Abstr.* **1997**, 127, 92755s]; b) W. Ning, R. Cao, *Zhiwu Xuebao* **1996**, 38, 367–374 [*Chem. Abstr.* **1997**, 126, 211065h]; c) S. Liang, J. Gao, K. Gao, S. Qi, L. Lin, *Yaowu Shengwu Jishu* **1996**, 34, 229–234 [*Chem. Abstr.* **1997**, 126, 143342u]; d) X.-M. Luo, L. Yuan, M. Zhou, P. Quyang, *Nanjing Huagong Daxue Xuebao* **1996**, 18, 12–16 [*Chem. Abstr.* **1997**, 126, 88324n]; e) V. P. Bulgakov, M. V. Khodakovskaya, M. M. Kozurenko, N. V. Labetskaya, Yu. N. Zhuravlev, *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.* **1996**, 32, 453–457 [*Chem. Abstr.* **1997**, 126, 6523q]; f) X. Luo, L. Yuan, M. Zhou, P. Ouyang, *Huaxue Gongye Yu Gongcheng (Tianjin)* **1996**, 13, 1–6 [*Chem. Abstr.* **1996**, 125, 56298v]; g) X. Luo, L. Yuan, M. Zhou, P. Ouyang, *Nanjing Huagong Xueyuan Xuebao* **1995**, 17, 60–64 [*Chem. Abstr.* **1996**, 124, 53782s]; h) L. Yuan, X. Luo, M. Zhou, P. Ouyang, *Nanjing Huangong Xueyuan Xuebao* **1995**, 17, 78–82 [*Chem. Abstr.* **1996**, 124, 53780q]; i) H. Lu, Q. Zhao, R. Cao, Z. Xia, *Zhiwu Shengli Xuebao* **1995**, 21, 111–116 [*Chem. Abstr.* **1995**, 123, 254619x]; j) X. Luo, L. Yuan, P. Ouyang, *Huaxue Fanying Gongcheng Yu Gongyi* **1995**, 11, 192–197 [*Chem. Abstr.* **1995**, 123, 196682z]; k) G. V. Zaitseva, S. E. Strogov, D. B. Travnikov, N. V. Dudnik, E. M. Fetisova, *Bioteckhnologyia* **1994**, 24–27 [*Chem. Abstr.* **1995**, 122, 131066m]; l) L. Yuan, M. Zhou, P. Ouyang, *Nanjing Huagong Xueyuan Xuebao* **1994**, 16, 16–19 [*Chem. Abstr.* **1994**, 121, 253761j]; m) W. Ning, R. Cao, *Shengwu Gongcheng Xuebao* **1994**, 10, 76–80 [*Chem. Abstr.* **1994**, 121, 155797f]; n) L. Yuan, P. Ouyang, *Nanjing Huagong Xueyuan Xuebao* **1992**, 14, 44–47 [*Chem. Abstr.* **1994**, 120, 75536j]; o) L. Yuan, P. Ouyang, *Huaxue Fanying Gongcheng Yu Gongyi* **1992**, 8, 379–384 [*Chem. Abstr.* **1994**, 120, 52716d]; p) V. Srinivasan, D. D. Y. Ryu, *Biotechnol. Bioeng.* **1993**, 42, 793–799; q) L. Yuan, P. Ouyang, *Biochem. Eng. 2001, Proc. Asia-Pac. Biochem. Eng. Conf.* (Hrsg.: S. Furusaki, I. Endo, R. Matsuno), Springer, Tokyo, **1992**, S. 258–261 [*Chem. Abstr.* **1993**, 119, 137409k]; r) H. N. Chang, S. J. Sim, *Biochem. Eng. 2001, Proc. Asia-Pac. Biochem. Eng. Conf.* (Hrsg.: S. Furusaki, I. Endo, R. Matsuno), Springer, Tokyo, **1992**, S. 237–241 [*Chem. Abstr.* **1993**, 119, 137405f]; s) W. T. Seo, Y. H. Park, T. B. Choe, *J. Microbiol. Biotechnol.* **1992**, 2, 41–45; t) S. J. Sim, H. N. Chang, *Biotechnol. Lett.* **1993**, 15, 145–150; u) D. J. Kim, H. N. Chang, *5th Proc. Eur. Congr. Biotechnol.* (Munksgaard, Kopenhagen) **1990**, 1, 124–127; v) V. Srinivasan, D. D. Y. Ryu, *Biotechnol. Bioeng.* **1992**, 40, 69–74; w) K. Shimomura, H. Sudo, H. Saga, H. Kamada, *Plant Cell Rep.* **1991**, 10, 282–285; x) Y. H. Park, T. Woen, J. R. Liu, *J. Ferment. Bioeng.* **1990**, 70, 317–321; y) D. J. Kim, H. N. Chang, *Biotechnol. Bioeng.* **1990**, 36, 460–466; z) D. J. Kim, H. N. Chang, *Biotechnol. Lett.* **1990**, 12, 443–446; aa) D. J. Kim, H. N. Chang, *Biotechnol. Lett.* **1990**, 12, 289–294.
- [109] Eine ausführlichere Übersicht: M. Tabata, *Shokubutsu Soshiki Baiyo* **1996**, 13, 117–125 [*Chem. Abstr.* **1996**, 125, 243054z].
- [110] J. Mann, *Chemical Aspects of Biosynthesis*, Oxford Chemistry Primers, No. 20 (Hrsg.: S. G. Davies), Oxford University Press, Oxford, **1994**, S. 31–52.
- [111] R. Löschler, L. Heide, *Plant Physiol.* **1994**, 106, 271–279.
- [112] a) K. Yazaki, L. Heide, M. Tabata, *Phytochemistry* **1991**, 30, 2233–2236; b) J.-P. Schnitzler, J. Madlung, A. Rose, H. U. Seitz, *Planta* **1992**, 188, 594–600; c) C. J. French, C. P. Vance, G. H. N. Towers, *Phytochemistry* **1976**, 15, 564–566.
- [113] R. E. Olsen, H. Rudney, *Vitam. Horm. (NY)* **1983**, 40, 1–43.
- [114] a) R. E. Beyer, K. Nordenbrand, L. Ernster, *Chem. Scr.* **1987**, 27, 145–153; b) G. W. Burton, K. U. Ingold, *Acc. Chem. Res.* **1986**, 19, 194–201; c) S. Kasperek in *Vitamin E: A Comprehensive Treatise, Vol. I* (Hrsg.: L. J. Machlin), Marcel Dekker, New York, **1980**, S. 7–65.
- [115] a) H. V. Schmidt, M. H. Zenk, *Tetrahedron Lett.* **1971**, 4151–4155; b) H. Inouye, S. Ueda, K. Inoue, H. Matsumura, *Phytochemistry* **1979**, 18, 1301–1308; c) T. Okamoto, K. Yazaki, M. Tabata, *Phytochemistry* **1995**, 38, 83–88.
- [116] K. Yazaki, H. Fukui, M. Tabata, *Phytochemistry* **1986**, 25, 1629–1632.
- [117] S. Gaisser, L. Heide, *Phytochemistry* **1996**, 41, 1065–1072.
- [118] K. Yazaki, H. Fukui, M. Tabata, *Chem. Pharm. Bull.* **1986**, 34, 2290–2293.
- [119] a) F. Yoshizaki, S. Hisamichi, Y. Kondo, Y. Sato, S. Nozoe, *Chem. Pharm. Bull.* **1982**, 30, 4407–4411; b) X.-S. Yao, Y. Ebizuka, H. Noguchi, F. Kiuchi, H. Seto, U. Sankawa, *Tetrahedron Lett.* **1983**, 24, 2407–2410.
- [120] H. Inouye, H. Matsumura, M. Kawasaki, K. Inoue, M. Tsukada, M. Tabata, *Phytochemistry* **1981**, 20, 1701–1705.
- [121] H. Fukui, M. Tani, M. Tabata, *Phytochemistry* **1992**, 31, 519–521.
- [122] X.-S. Yao, Y. Ebizuka, H. Noguchi, F. Kiuchi, M. Shibuya, Y. Itaka, H. Seto, U. Sankawa, *Chem. Pharm. Bull.* **1991**, 39, 2956–2961.
- [123] a) L. Heide, M. Tabata, *Phytochemistry* **1987**, 6, 1645–1650; b) L. Heide, M. Tabata, *Phytochemistry* **1987**, 6, 1651–1655; c) R. Boehm, S.-M. Li, M. Melzer, L. Heide, *Phytochemistry* **1997**, 44, 419–424.
- [124] L. Wessjohann, B. Sonntag, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 1821–1823; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 1697–1699.
- [125] M. Tabata, K. Yazaki, Y. Nishikawa, F. Yoneda, *Phytochemistry* **1993**, 32, 1439–1442.
- [126] Y. Yamaga, K. Nakanishi, H. Fukui, M. Tabata, *Phytochemistry* **1993**, 32, 633–636.
- [127] A. Bechthold, U. Berger, L. Heide, *Arch. Biochem. Biophys.* **1991**, 288, 39–47.
- [128] K. Yazaki, K. Inushima, M. Kataoka, M. Tabata, *Phytochemistry* **1995**, 38, 1127–1130.
- [129] S. Sommer, K. Severin, B. Camara, L. Heide, *Phytochemistry* **1995**, 38, 623–627.
- [130] M. Moir, R. H. Thomson, *Phytochemistry* **1973**, 12, 1351.
- [131] A. Ohta, P. M. Sivalingham, S. Lin, N. Ikekawa, N. Yaginuma, Y. Inada, *Toxicon* **1973**, 11, 235–241.
- [132] L. F. Fieser, *J. Am. Chem. Soc.* **1928**, 50, 439–465.
- [133] K. Zahn, P. Ochwat, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1928**, 462, 72–97.
- [134] H. Brockmann, K. Müller, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1939**, 540, 51–72.
- [135] J. R. Lewis, J. G. Paul, Z. *Naturforsch. B* **1977**, 32, 1473–1475.
- [136] C. A. Tsipis, M. P. Sigalas, H. V. P. Papageorgiou, M. N. Bakola-Christianopoulou, *Can. J. Chem.* **1983**, 61, 1500–1504, zit. Lit.
- [137] R. E. Moore, P. J. Scheuer, *J. Org. Chem.* **1966**, 31, 3272–3283.
- [138] S. Bratan, F. Strohbusch, *J. Mol. Struct.* **1980**, 61, 409–414.
- [139] *Elsevier's Encyclopaedia of Organic Chemistry, Series III, Vol. 12B*, (Hrsg.: F. Radt), S. 3184–3188, zit. Lit.
- [140] S. Yoshino, K. Hayakawa, K. Kanematsu, *J. Org. Chem.* **1981**, 46, 3841–3846.
- [141] M. Aso, K. Kanematsu, *Chem. Pharm. Bull.* **1993**, 41, 1549–1556.
- [142] D. B. Bruce, R. H. Thomson, *J. Chem. Soc.* **1952**, 2759–2766.
- [143] M. S. Pearson, B. J. Jensky, F. X. Greer, J. P. Hagstrom, N. M. Wells, *J. Org. Chem.* **1978**, 43, 4617–4622.
- [144] R. Huot, P. Brassard, *Can. J. Chem.* **1974**, 52, 838–842.
- [145] Y. Tanoue, A. Terada, H. Taniguchi, T. Okuma, H. Kaai, M. Anan, Y. Kakara, M. Doi, S.-I. Morishita, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1993**, 66, 3712–3715.
- [146] C. G. Pierpont, L. C. Francesconi, D. N. Hendrickson, *Inorg. Chem.* **1978**, 17, 3470–3477.
- [147] D. B. Bruce, R. H. Thomson, *J. Chem. Soc.* **1955**, 1089–1096.
- [148] T. H. Smith, H. Y. Wu, *J. Org. Chem.* **1982**, 47, 1974–1976, zit. Lit.
- [149] A. Terada, Y. Tanoue, A. Hatada, H. Sakamoto, *Bull. Soc. Chem. Jpn.* **1987**, 60, 205–213.
- [150] M. Kawasaki, F. Matsuda, S. Terashima, *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 2145–2148.
- [151] a) M. N. Bakola-Christianopoulou, V. P. Papageorgiou, K. K. Apazidou, *Phosphorous Sulfur Silicon Relat. Elem.* **1994**, 88, 53–65; b) M. N. Bakola-Christianopoulou, V. P. Papageorgiou, K. K. Apazidou, *J. Chromatogr.* **1993**, 645, 293–301.
- [152] M. N. Bakola-Christianopoulou, K. K. Apazidou, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 1850–1853.
- [153] E. A. Couladouros, Z. F. Plyta, V. P. Papageorgiou, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 3031–3033.
- [154] a) J. F. M. de Bie, R. M. Peperzak, M. J. Daenen, H. W. Scheeren, *Tetrahedron* **1993**, 49, 6463–6472, zit. Lit.; b) Y. Naruta, K. Maruyama in *The Chemistry of the Quinonoid Compounds, Vol. II* (Hrsg.: S. Patai, Z. Rapaport), Wiley, New York, **1988**, S. 277–303.
- [155] C. Coffey in *Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, IIIG*, Elsevier, Amsterdam, **1978**, S. 238.
- [156] a) U. Sankawa, Y. Ebizuka, T. Miyazaki, Y. Isomura, H. Otsuka, S. Shibata, M. Inomata, F. Fukuoka, *Chem. Pharm. Bull.* **1977**, 25,

- 2392–2395; b) U. Sankawa, H. Otsuka, Y. Kataoka, Y. Iitaka, A. Hoshi, K. Kuretani, *Chem. Pharm. Bull.* **1981**, 29, 116–122.
- [157] a) H.-W. Cheng, F.-A. Chen, H.-C. Hsu, C.-Y. Chen, *Int. J. Pharm.* **1995**, 120, 137–144; b) F.-A. Chen, H.-W. Cheng, A.-B. Wu, H.-C. Hsu, C.-Y. Chen, *Chem. Pharm. Bull.* **1996**, 44, 249–251.
- [158] L. M. Van Der Vijver, K. W. Gerritsma, *J. Chromatogr.* **1975**, 114, 443–450.
- [159] V. P. Papageorgiou, *Chem. Chron.* **1978**, 7, 45–54.
- [160] B.-Z. Ahn, K.-U. Baik, G.-R. Kweon, K. Lim, B.-D. Hwang, *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 1044–1047.
- [161] J. Otsuki, K. Otsuki, JP-B 7240788, **1972** [*Chem. Abstr.* **1973**, 78, 15906j].
- [162] Y. Seto, S. Motoyoshi, H. Nakamura, J. Imuta, T. Ishitoku, S. Isayama, *Yakugaku Zasshi* **1992**, 112, 259–271 [*Chem. Abstr.* **1992**, 117, 124158].
- [163] S. B. Katti, Y. N. Shukla, J. S. Tandon, *Indian J. Chem. Sect. B* **1979**, 18, 440–442.
- [164] V. P. Papageorgiou, D.Sc.-Arbeit, Polytechnische Hochschule Thessaloniki (Griechenland), **1976**.
- [165] V. P. Papageorgiou, M. Liakopoulou-Kyriakides, C. Papadakis, *Flavour Fragrance J.* **1985**, 1, 21–24.
- [166] a) E. Yesilada, E. Sezik, M. Aslan, A. Yesilada, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **1996**, 19, 3369–3381; b) R. Chaisuksant, Dissertation, Aristoteles-Universität Thessaloniki (Griechenland), **1994**; c) Y. Arai, T. Hanai, A. Nosaka, K. Yamaguchi, *J. Liq. Chromatogr.* **1990**, 13, 2449–2464; d) L. Snyder, J. Gajch, J. Kirkland, *Practical HPLC Method Development*, Wiley, Toronto, **1988**; e) S. Nickel, T. Carroll, *J. Chromatogr.* **1984**, 295, 521; f) M. Tsukada, H. Fukui, C. Habara, M. Tabata, *Shoyakugaku Zasshi* **1983**, 37, 299–306 [*Chem. Abstr.* **1984**, 101, 97723c]; g) L. X. Lin, J. W. Lan, Y. Han, M. F. Han, K. D. Lin, *Yaoxue Xuebao* **1995**, 30, 123–126 [*Chem. Abstr.* **1995**, 122, 248473h]; h) N. Shibayama, R. Yamaoka, M. Sato, J. Iida, *Shitsuryo Bunseki*, **1991**, 39, 123–131 [*Chem. Abstr.* **1992**, 116, 131028b].
- [167] V. P. Papageorgiou, DE-B 2829744, **1979** [*Chem. Abstr.* **1979**, 181441s].
- [168] T. Tani, Y. Sakakibara, K. Yamamoto, *Jpn. J. Appl. Phys. Suppl.* **1989**, 28–3, 239–245.
- [169] a) K. Inoue, M. Akaji, H. Inouye, *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, 33, 3993–3997; b) V. P. Papageorgiou, *Planta Med.* **1979**, 37, 185–187.
- [170] V. P. Papageorgiou, *Planta Med.* **1980**, 40, 305–307.
- [171] a) Y. N. Shukla, J. S. Tandon, D. S. Bhakuni, M. M. Dhar, *Experientia* **1969**, 25, 357–358; b) Y. N. Shukla, J. S. Tandon, D. S. Bhakuni, M. M. Dhar, *Phytochemistry* **1971**, 10, 1909–1915.
- [172] K. H. Ai, J. Jin, H. Liu, *Yaoxue Xuebao* **1993**, 28, 282–285 [*Chem. Abstr.* **1993**, 119, 82263a].
- [173] A. A. Nabiullin, S. A. Fedoreev, T. N. Deshko, *Khim. Prir. Soedin.* **1983**, 568–573 [*Chem. Abstr.* **1984**, 100, 117799s].
- [174] A. V. Kovatsis, V. P. Papageorgiou, M. Christianopoulou, *Toxicol. Aspects [9th Int. Congr. Eur. Assoc. Poison Control Cent.]* **1980**, 43–54.
- [175] W. Otaka, N. Sugiyama, K. Saito, H. Sato, *Nihon Daigaku Nojūgakubu Gijutsu Kenkyū Hokoku* **1990**, 218–223 [*Chem. Abstr.* **1991**, 114, 198810c].
- [176] R. Chaisuksant, A. Voulgaropoulos, A. S. Mellidis, V. P. Papageorgiou, *Analyst* **1993**, 118, 1346.
- [177] R. Chaisuksant, A. Voulgaropoulos, A. S. Mellidis, V. P. Papageorgiou, *Analusis* **1994**, 22, 400–403.
- [178] a) R. Takamoto, R. Namba, S. Yamamoto, T. Takamatsu, M. Matsuoka, T. Sawada, *Bunseki Kagaku* **1996**, 45, 225–238 [*Chem. Abstr.* **1996**, 124, 211615w]; b) R. Takamoto, R. Namba, M. Matsuoka, T. Sawada, *Anal. Chem.* **1992**, 64, 2661–2663; c) R. Takamoto, R. Namba, O. Nakata, T. Sawada, *Anal. Chem.* **1990**, 62, 674–677.
- [179] E. A. Couladouros, Z. F. Plyta, A. T. Strongilos, V. P. Papageorgiou, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 7263–7266.
- [180] a) F. M. Hauser, D. J. Mal, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105, 5688–5690; b) M. D. Shair, T. Y. Yoon, K. K. Mosny, T. C. Chou, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 9509–9525; c) B. L. Chenard, M. G. Dolson, A. D. Sercel, J. S. Swenton, *J. Org. Chem.* **1984**, 49, 318–325.
- [181] Y. Tanoue, A. Terada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1988**, 61, 2039–2045.
- [182] A. Terada, Y. Tanoue, A. Hatada, H. Sakamoto, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1983**, 987–988.
- [183] Y. Tanoue, A. Terada, H. Taniguchi, S.-I. Morishita, *Suisan Daigakko Kenkyū Hokoku* **1994**, 42, 157–162.
- [184] A. M. Moiseenkov, N. N. Balanava, V. L. Novikov, G. B. Elyakov, *Dokl. Akad. Nauk. SSSR* **1987**, 295, 614–617.
- [185] V. L. Novikov, N. N. Balanava, A. M. Moiseenkov, G. B. Elyakov, *Izv. Akad. Nauk. Ser. Khim.* **1992**, 1901–1910.
- [186] S. Torii, K. Akiyama, H. Yamashita, T. Inokuchi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1995**, 68, 2917–2922.
- [187] a) J. H. Freudenberger, A. W. Konradi, S. F. Pedersen, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 8014–8016; b) A. W. Konradi, S. F. Pedersen, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 1316–1323.
- [188] Y. Tanoue, A. Terada, Y. Sugyo, *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 1437–1439.
- [189] Y. Shimai, T. Koga (Pias Co., Ltd.) JP-B 63156741, **1988** [*Chem. Abstr.* **1989**, 110, 23567u].
- [190] a) K. H. Dötz, *Angew. Chem.* **1984**, 96, 573; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1984**, 23, 587–608; b) K. H. Dötz in *Organometallics in Organic Synthesis* (Hrsg.: A. de Meijere, H. Tom Dieck) Springer, Berlin, **1988**, S. 85–104; c) P. J. Harrington, *Transition Metal in Total Synthesis*, Wiley, New York, **1990**, S. 346–399; d) W. D. Wulff in *Comprehensive Organic Synthesis*, Vol. 5 (Hrsg.: B. M. Trost, I. Fleming, L. A. Paquette), Pergamon Press, New York, **1991**, S. 1065–1113.
- [191] J. S. Yadav, P. K. Deshpande, G. V. M. Sharma, *Tetrahedron* **1990**, 46, 7033–7046.
- [192] M. Braun, C. Bauer, *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 1157–1164.
- [193] a) M. Braun, R. Devant, *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 5031–5034; b) R. Devant, U. Mahler, M. Braun, *Chem. Ber.* **1988**, 121, 397–406.
- [194] a) P. K. Jadhav, K. S. Bhat, P. T. Perumal, H. C. Brown, *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 432–439; b) Y. Yamamoto, N. Asao, *Chem. Rev.* **1993**, 93, 2207–2293.
- [195] K. C. Nicolaou, D. Hepworth, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 864–866; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 839–841.
- [196] „Stereoselective Synthesis“: M. M. Midland, L. A. Morrel, *Methoden Org. Chem. (Houben-Weyl)* 4. Aufl. 1952–, VI, E21,D, Kap. 2.3.3.2, S. 4049–4066.
- [197] F. Dallacker, J. Jacobs, W. Coerver, *Z. Naturforsch. B* **1983**, 38, 1000–1007.
- [198] a) H. C. Brown, J. Chandrasekharan, P. V. Ramachandran, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 1539–1546; b) P. V. Ramachandran, A. V. Teodorovic, M. V. Rangaishenvi, H. C. Brown, *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 2379–2386; c) R. K. Dar, *Aldrichimica Acta* **1994**, 27, 43–51.
- [199] D. A. Frey, N. Wu, K. D. Moeller, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 8317–8320.
- [200] V. P. Papageorgiou, *Experientia* **1978**, 34, 1499–1501.
- [201] V. P. Papageorgiou, *Chem. Chron.* **1977**, 6, 365–374.
- [202] V. P. Papageorgiou, G. A. Digenis, *Planta Med.* **1980**, 39, 81–84.
- [203] V. P. Papageorgiou, *Planta Med.* **1977**, 31, 390–394.
- [204] Man nimmt an, daß das Isolierungsverfahren nach Brockmann^[1] zur Esterhydrolyse geführt haben kann. Siehe Tabelle 1, Anmerkung 1.
- [205] V. P. Papageorgiou, DE-B 2700448, **1978**, US-A 4282250, **1981**, [*Chem. Abstr.* **1978**, 89, 152707m].
- [206] Die klinischen Studien wurden bei Prof. A. Winkler in Hamburg durchgeführt (Heidelberg Dermatologische Klinik).
- [207] C. Michaelides, C. Striglis, P. Panayotou, I. Ioannovich, *Ann. Medit. Burns Club* **1993**, VI, 24–25.
- [208] M. Owili, Clinical Report to the Pharmaceutical Company CHROPI S.A., Kenyatta National Hospital, Nairobi, Kenya, October 17, **1986**.
- [209] G. Karkanas, N. Alexandropoulos, N. Haritopoulos, *Abstr. Pap. 45th Hellenic Natl. Conf.* (Athen, Griechenland) **1991**, S. 61.
- [210] a) M. Hayashi, *Nippon Yakurigaku Zasshi* **1977**, 73, 177–191 [*Chem. Abstr.* **1977**, 88, 44862d]; b) M. Nippon Yakurigaku Zasshi **1977**, 73, 193–203 [*Chem. Abstr.* **1977**, 88, 44863e]; c) M. Hayashi, *Nippon Yakurigaku Zasshi* **1977**, 73, 205–214 [*Chem. Abstr.* **1977**, 88, 44864f].
- [211] a) Y. Ozaki, A. Ohno, K.-I. Abe, Y. Saito, M. Satake, *Biol. Pharm. Bull.* **1993**, 16, 683–685; b) Y. Ozaki, A. Ohno, Y. Saito, M. Satake, *Biol. Pharm. Bull.* **1994**, 17, 1075–1077; c) Y. Ozaki, L. Xing, M. Satake, *Biol. Pharm. Bull.* **1996**, 19, 233–236.
- [212] S. Tanaka, M. Tajima, M. Tsukada, M. Tabata, *J. Nat. Prod.* **1986**, 49, 466–469.
- [213] Z.-B. Lin, B.-L. Chai, P. Wang, Q.-X. Guo, F.-S. Lu, G.-Q. Xiang, *Pei-ching I Hsueh Yuan Hsueh Pao* **1980**, 12, 101–106 [*Chem. Abstr.* **1980**, 93, 143008q].

- [214] Z.-B. Lin, P. Wang, Y. Ruan, Q.-X. Guo, *Acta Pharmacol. Sin.* **1980**, *1*, 60–63 [*Biol. Abstr.* **1981**, *73*, 34163].
- [215] W. J. Wang, J. Y. Bai, D. P. Lui, L. M. Xue, X. Y. Zhu, *Yaoxue Xuebao* **1994**, *29*, 161–165 [*Chem. Abstr.* **1994**, *121*, 148550s].
- [216] P. Martin, *Science* **1997**, *276*, 75–81.
- [217] F. Hübötter, *Beiträge zur Kenntnis der chinesischen sowie der tibetisch-mongolischen Pharmakologie*, Urban und Schwarzenberg, Berlin, **1913**, S. 324.
- [218] J. L. Hartwell, *Plants Used Against Cancer: A Survey*, Quarterman, Lawrence, MA, **1982**, S. 68–72.
- [219] J. S. Driscoll, G. F. Hazard, Jr., H. B. Wood, Jr., A. Goldin, *Cancer Chemother. Rep. Part 2*, **1974**, *4*(2), 1–362.
- [220] S. K. Gupta, I. S. Mathur, *Indian J. Cancer* **1972**, *9*, 50–55.
- [221] H. Wagner, B. Kreher, K. Jurcic, *Arzneim. Forsch.* **1988**, *38*, 273–275.
- [222] a) H. Lee, J.-Y. Lin, *Mutation Res.* **1988**, *204*, 229–234; b) T. Hamano, I. Yasuda, Y. Watanabe, T. Konoshima, T. Harukuni, *Kenkyu Nenpo Tokyo-toristu Eisei Kenkyusho* **1992**, *43*, 46–50 [*Chem. Abstr.* **1993**, *118*, 204762q].
- [223] A. Ohtsuka, T. Nunoshiba, K. Nakayama, R. Namiuchi, S. Saigusa, T. Sotani, H. Nishioka, *Sci. Eng. Rev. Doshisha Univ.* **1986**, *27*, 65–73.
- [224] a) T. Konoshima, M. Kozuka, J. Koyama, T. Okatani, K. Tagahara, H. Tokuda, *J. Nat. Prod.* **1989**, *52*, 987–995; b) G. J. Kapadia, V. Balasubramanian, H. Tokuda, T. Konoshima, M. Takasaki, J. Koyama, K. Tagahaya, H. Nishino, *Cancer Lett.* **1997**, *113*, 47–53.
- [225] N. Yoshimi, A. Wang, Y. Morishita, T. Tanaka, S. Sugie, K. Kawai, Y. Yamahara, H. Mori, *Jpn. J. Cancer Res.* **1992**, *83*, 1273–1278.
- [226] a) V. P. Papageorgiou, M. N. Christianopoulou, L. L. Boutis, A. Papageorgiou, C. A. Tsipis, *Inorg. Chem. Acta* **1986**, *124*, 203–206; b) A. N. Sagredos, V. P. Papageorgiou, A. S. Mellidis, EP-B 144809, **1985** [*Chem. Abstr.* **1985**, *103*, 196266d].
- [227] H. Sakurai, N. Hashimoto, JP-B 06100569, **1992** [*Chem. Abstr.* **1994**, *121*, 244290c].
- [228] M. G. Miller, A. Rodgers, G. M. Cohen, *Biochem. Pharmacol.* **1986**, *35*, 1177–1184.
- [229] H. W. Moore, *Science* **1977**, *197*, 527–531.
- [230] M. Tomasz, C. M. Mercado, J. Olson, N. Chatterjee, *Biochemistry* **1974**, *13*, 4878–4887.
- [231] N. Fujii, Y. Yamashita, Y. Arima, M. Nagashima, H. Nakano, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**, *36*, 2589–2594.
- [232] Eine Übersicht: S. J. Froelich-Ammon, N. Osheroff, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 21429–21432.
- [233] Bereits früher haben diese Autoren über die Aktivität von Acetylshikonin **15** gegenüber Topoisomerase I und II berichtet: K. R. Kweon, K. U. Baik, K. Lim, B. D. Hwang, B. Z. Ahn, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res. Annu. Meet.* **1993**, *34*, 328.
- [234] B.-Z. Ahn, D.-E. Sok, *Curr. Pharm. Des.* **1996**, *2*, 247–262, und zit. Lit.
- [235] B.-Z. Ahn, G.-Y. Song, K. U. Baik, D. E. Sok, *Korean J. Med. Chem.* **1996**, *6*, 98–109.
- [236] a) B. Z. Ahn, Y. Kim, K. U. Baik, WO-B 9703940, [*Chem. Abstr.* **1997**, *126*, 199354s]; b) B. Z. Ahn, K. U. Baik, WO-B 9502572 [*Chem. Abstr.* **1995**, *123*, 227829j].
- [237] S.-H. Kim, G.-Y. Song, G.-Z. Jin, B.-Y. Ahn, *Arch. Pharm. Res.* **1996**, *19*, 416–422.
- [238] S.-H. Kim, G.-Y. Song, D.-E. Sok, B.-Y. Ahn, *Arch. Pharm. Res.* **1997**, *20*, 155–157.
- [239] D. S. Bhakuni, M. L. Dhar, M. M. Dhar, B. N. Dhawn, B. N. Mehrotra, *Indian J. Exp. Biol.* **1969**, *7*, 250–262 [*Biol. Abstr.* **1970**, *53*, 43416].
- [240] a) Y. Tanaka, T. Odani, *Yakugaku Zasshi* **1972**, *92*, 525–530 [*Chem. Abstr.* **1972**, *92*, 97680t]; b) K. Kyogoku, H. Terayama, Y. Tachi, T. Suzuki, M. Komatsu, *Shoyakugaku Zasshi* **1973**, *27*, 31–36 [*Chem. Abstr.* **1974**, *80*, 52315c]; c) Y. Tanaka, T. Odani, T. Kanaya, *Shoyakugaku Zasshi* **1974**, *28*, 173–178 [*Chem. Abstr.* **1975**, *83*, 152418u].
- [241] a) V. P. Papageorgiou, A. S. Mellidis, A. N. Sagredos, *Chem. Chron.* **1980**, *9*, 57–63; b) V. P. Papageorgiou, A. Winkler, A. N. Sagredos, G. A. Digenis, *Planta Med.* **1979**, *35*, 56–60.
- [242] M. Tabata, H. Mizukami, S. Naoe, K. Masao, *Yakugaku Zasshi* **1975**, *95*, 1376–1379 [*Biol. Abstr.* **1976**, *62*, 18482].
- [243] M. Tabata, M. Tsukada, H. Fukui, *Planta Med.* **1982**, *44*, 234–236.
- [244] a) L. R. Shcherbanovskii, G. I. Nilov, Z. D. Rabinovich, V. A. Gorina, *Rast. Resur.* **1972**, *8*, 112–115 [*Chem. Abstr.* **1972**, *76*, 136281u]; b) L. P. Sherbanivs'kii, *Ukr. Bot. Zh.* **1971**, *28*, 504–508 [*Chem. Abstr.* **1971**, *76*, 68687d]; c) L. R. Shcherbanovskii, A. Yu. Luks, I. G. Kapelev, *Mikrobiol. Zh. (Kiev)* **1975**, *37*, 629–634 [*Chem. Abstr.* **1976**, *84*, 728c]; d) L. R. Shcherbanovskii, *Abstr. Pap. 8th Fitontsydy: Rol Biogeotsenozakh, Znach. Med. Mater. Soveshch.* (Kiev, USSR) **1979**, *S*, 121–126 [*Chem. Abstr.* **1982**, *97*, 89062v].
- [245] I. Inagaki, M. Yamazaki, A. Takahashi, K. Ooye, S. Shibata, S. Takada, *Nagoya Shiritsu Daigaku Yakugakubu Kenkyu Nempo* **1967**, *(15)*, 27–32 [*Chem. Abstr.* **1968**, *69*, 41955h].
- [246] M. Liu, T. Ohuchi, T. Ieiri, M. Ohe, S. Matsuzaki, *Dokkyo J. Med. Sci.* **1996**, *23*, 63–69.
- [247] G. Honda, F. Sakakibara, K. Yazaki, M. Tabata, *J. Nat. Prod.* **1988**, *51*, 152–154.
- [248] M. Tabata, Y. Honda, (Mitsubishi Petrochemical Co., Ltd.) JP-B 62289516, **1987** [*Chem. Abstr.* **1988**, *109*, 806m].
- [249] a) V. V. Gusev, A. A. Alekseev, E. V. Makarov, A. V. Barinov, SU-B 1829942, **1993** [*Chem. Abstr.* **1995**, *123*, 179515e]; b) V. V. Gusev, A. A. Alekseev, E. V. Makarov, A. V. Barinov, SU-B 1829944, **1993** [*Chem. Abstr.* **1995**, *123*, 179516f].
- [250] S. Wahab, R. N. Tandon, Z. Jacob, B. Chandra, O. P. Srivastava, *Indian J. Med. Res. Suppl.* **1979**, *76*, 77–82.
- [251] M. A. Rubinchik, *Abstr. Pap. Mater. Vses. Konf. Issled. Lek. Rast. Perspekt. Ikh Isol'z Proivod. Lek. Prep.* (Bittsa, USSR) **1970**, *S*, 236–237 [*Chem. Abstr.* **1975**, *83*, 671h].
- [252] a) H. M. S. Sulaiman, S. N. H. Naqvi, A. M. S. Mohammad, *Curr. Sci.* **1978**, *47*, 743–744 [*Chem. Abstr.* **1979**, *90*, 1653k]; b) S. N. H. Naqvi, H. M. S. Sulaiman, M. Afzal, A. M. S. Mohammad, *Pak. J. Zool.* **1984**, *16*, 175–180 [*Chem. Abstr.* **1986**, *104*, 2173y]; c) N. S. Gorgefs, S. N. H. Naqvi, L. J. Rashan, S. J. Zakaria, *Folia Histochem. Cytochem.* **1978**, *16*, 51–55 [*Chem. Abstr.* **1978**, *89*, 18317f].
- [253] a) Y.-S. Chang, S.-C. Kuo, S.-H. Weng, S.-C. Jan, F.-N. Ko, C.-M. Teng, *Planta Med.* **1993**, *59*, 401–404; b) F.-N. Ko, Y.-S. Lee, S.-C. Kuo, Y.-S. Chang, C.-M. Teng, *Biochem. Biophys. Acta* **1995**, *1268*, 329–334.
- [254] L. Majlathova, *Nahrung* **1971**, *15*, 505–508 [*Chem. Abstr.* **1971**, *76*, 122513].
- [255] L. Tikkanen, T. Matsushima, S. Natori, K. Yoshihira, *Mutation Res.* **1983**, *124*, 25–34.
- [256] B. N. Ames, J. McCann, E. Yamasaki, *Mutation Res.* **1975**, *31*, 347–363.
- [257] W. J. Wang, M. G. Yi, X. Y. Zhu, *Yaoxue Xuebao* **1988**, *23*, 246–251 [*Chem. Abstr.* **1988**, *109*, 47792u].
- [258] a) M. R. Meselhy, S. Kadota, K. Tsubono, A. Kusai, M. Hattori, T. Namba, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 583–586; b) M. R. Meselhy, S. Kadota, K. Tsubono, M. Hattori, T. Namba, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 3081–3098.
- [259] C. Y. Chen, F.-A. Chen, A.-B. Wu, H.-C. Hsu, J.-J. Kang, H. W. Cheng, *Int. J. Pharm.* **1996**, *141*, 171–178.
- [260] a) „Inhibition of Topoisomerase I by Naphthoquinone Derivatives“: Z. F. Plyta, T. Li, V. P. Papageorgiou, A. S. Mellidis, A. N. Assimopoulou, E. N. Pitsinos, E. A. Couladouros, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 3385–3390, b) „Evaluation of antibacterial effect of shikonin ointment against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*“: T. Sekine; K. Kojima, S. Sasaki, T. Matsumoto, T. Yamamoto, Y. Maitani, T. Nagai, S.T.P. *Pharma Sci.* **1998**, *8*, 255–259 [*Chem. Abstr.* 1998:770483];^[267] c) „Preparation and evaluation of shikonin ointment for wound healing: effectiveness in an experimental wound healing model in rats“: T. Sekine, K. Kojima, S. Ota, T. Matsumoto, T. Yamamoto, Y. Maitani, T. Nagai, S.T.P. *Pharma Sci.* **1998**, *8*, 249–253 [*Chem. Abstr.* 1998:770482];^[267] d) „Evaluation of Shikonin on granulation tissue formation compared with carrageenan“: T. Sekine, K. Kojima, T. Matsumoto, T. Yamamoto, Y. Maitani, T. Nagai, *Biol. Pharm. Bull.* **1998**, *21*, 950–952; e) „Heat-shock protein formation inhibitors containing dihydroxynaphthoquinones“: Y. Kiyosuke, S. Tsuzuki, T. Shirakami, M. Morino, C. Yoshikumi, (Kureha Chemical Industry Co.) JP 10212230, **1998** [*Chem. Abstr.* **1998**, *129*, 144853]; f) „Some phytochemicals and related compounds in vegetables as potent inhibitors of human DNA topoisomerase II“: M. Miyahara, M. Kawasaki, H. Akiyama, T. Narui, M. Toyoda, T. Okuyama, Y. Saito, *Food Factors Cancer Prev. /Int. Conf.* **1997**, 182–187 [*Chem. Abstr.* **1998**, *129*, 197664]; g) „Apoptosis inducer“: M. Nakayama, N. Ikeda, Y. Kato, *Fragrance J.* **1998**, *26*, 72–80; h) „Shikonin, an ingredient of Lithospermum

- Erythrorhizon, inhibits angiogenesis in vivo and in vitro“: T. Yuki Hisa, Y. Kimura, K. Takada, F. Suzuki, M. Takigawa, *Anticancer Res.* **1998**, *18*(2A), 783–790; i) „Haloacetylshikonin derivatives: synthesis and evaluation of antitumor activity“: X.-G. Zheng, G.-Z. Jin, G.-Y. Song, C. Hoon, B.-Z. Ahn, *Yakhak Hoechi* **1998**, *42*, 159–164 [*Chem. Abstr.* **1998**, *129*, 16007]; j) „Study of the accelerating effect of shikonin and alkannin on the proliferation of granulation tissue in rats“: Y. Ozaki, I. Sakaguchi, M. Tujimura, N. Ikeda, M. Nakayama, Y. Kato, H. Suzuki, M. Satake, *Biol. Pharm. Bull.* **1998**, *21*, 366–370; k) „Antiviral and antifungal activities of some naphthoquinones isolated from the roots of *Lithospermum erythrorhizon*“: C. Li, Y. Fukushi, J. Kawabata, S. Tahara, J. Mizutani, I. Uyeda, *Nippon Noyaku Gakkaishi* **1998**, *23*, 54–57 [*Chem. Abstr.* **1998**, *128*, 241823]; l) „Heat-shock protein 47 (HSP 47) formation inhibitors containing shikonin“: Y. Kiyosuke, S. Tsuzuki, T. Shirakami, M. Morino, C. Yoshikumi, (Kureha Chemical Industry Co.) JP 10045575, **1998** [*Chem. Abstr.* **1998**, *128*, 158908]; m) „Heat-shock protein 27 (HSP 27) formation inhibitors containing shikonin“: M. Morino, S. Tsuzuki, T. Shirakami, Y. Seiho, C. Yoshikumi, (Kureha Chemical Industry Co.) JP 10045574, **1998** [*Chem. Abstr.* **1998**, *128*, 158907] n) „Shikonin for wound treatment“: A. A. Adamyan, S. V. Dobyshev, G. V. Polikakhina, I. A. Argunovskij, P. M. Golovanova, L. R. Makarova, N. N. Tuzova, (Aktionerne Obshchestvo Zakrytogo Tipa Mognoprofilnyj Kompleks „universal“, Russia; Obshchestvo S Ogranichennoj Otvetstvennostyu Nauchno-Tekhnicheskij Tsentr „riza“): RU 2071788, **1997** [*Chem. Abstr.* **1997**, *127*, 351235]; o) „Inhibition of xanthine oxidase by hydroxylated anthraquinones and related compounds“: S.-Y. Sheu, H.-C. Chiang, *Anticancer Res.* **1997**, *17*, 3293–3297; p) „Study on baths with crude drug. III. The effect of *Ligustici chuanxiang* rhizoma extract on the percutaneous absorption of some natural compounds“: K. Sekiya, S. Kadota, K. Katayama, T. Koizumi, T. Namba, *Biol. Pharm. Bull.* **1997**, *20*, 983–987.
- [261] a) „Determination of shikonin content with thin layer chromatography-chemiluminescence“: H. Li, B. Wang, Z. Pang, *Fenxi Huaxue* **1998**, *26*, 1282 [*Chem. Abstr.* **1998**, *129*, 347370]; b) „Enantiomeric ratio of shikonin derivatives as a possible key for the determination of the origin of *Lithospermum Radix*“: J. S. Kang, B. Z. Ahn, G. Blaschke, *Arch. Pharmacal Res.* **1998**, *21*, 565–569; c) „In vitro biotransformation of shikonin by LC-MS“: H. Li, S. Luo, T. Zhou, S. Yang, *Zhongguo Yaoxue Zazhi (Beijing)* **1997**, *32*(Suppl.), 37–39 [*Chem. Abstr.* **1998**:660197];^[267] d) „Evaluation of superoxide anion radical scavenging activity of shikonin by electron spin resonance“: T. Sekine, T. Masumizu, Y. Maitani, T. Nagai, *Int. J. Pharm.* **1998**, *174*, 133–139 [*Chem. Abstr.* **1998**:655481];^[267] e) „Quantitative determination of naphthoquinones of *Arnebia densiflora* (Nordm.) Ledeb. by an improved high-performance liquid chromatographic method“: B. Bozan, K. H. C. Baser, S. Kara, *J. Chromatogr. A* **1997**, *782*(1), 133–136 [*Chem. Abstr.* **1997**, *127*, 298820].
- [262] a) „Shikonin production by hairy roots of *Lithospermum erythrorhizon* in bioreactors with in situ separation“: S. J. Sim, H. N. Chang, *Hairy Roots* (Hrsg.: P. M. Doran), Harwood, Amsterdam, **1997**, S. 219–225; b) „Changes of intracellular Ca^{2+} and cAMP during the formation of shikonin derivatives promoted by *Aspergillus oryzae* elicitor“: W. Ning, R. Cao, J. Wang, Y. Liu, X. Lu, *Zhiwu Shengli Xuebao Tongxun* **1998**, *34*, 194–196 [*Chem. Abstr.* **1998**, *129*, 328285]; c) „The effects of Ca^{2+} during the elicitation of shikonin derivatives in *Onosma paniculatum* cells“: W. Ning, J.-X. Wang, Y.-M. Liu, N. Li, R.-Q. Cao, *In Vitro Cell. Dev. Biol.: Plant* **1998**, *34*, 261–265 [*Chem. Abstr.* **1998**, *129*, 313453]; d) „Effects of fungal elicitors on the cell growth and the shikonin biosynthesis in *Arnebia euchroma* cells in suspension culture“: C.-J. Liu, S.-S. Hou, *Zhiwu Shengli Xuebao* **1998**, *24*, 6–10 [*Chem. Abstr.* **1998**, *129*, 148102]; e) „4-Hydroxybenzoate 3-geranyltransferase from *Lithospermum erythrorhizon*. Purification of a plant membrane-bound prenyltransferase“: A. Muehlenweg, M. Melzer, S.-M. Li, L. Heide, *Planta* **1998**, *205*, 407–413; f) „Shikonin: a geranyl diphosphate-derived plant hemiterpenoid formed via the mevalonate pathway“: S.-M. Li, S. Hennig, L. Heide, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2721–2724; f) „Formation and secretion of a new brown benzoquinone by hairy root cultures of *Lithospermum erythrorhizon*“: H. Fukui, A. F. M. F. Hasan, T. Ueoka, M. Kyo, *Phytochemistry* **1998**, *47*, 1037–1039; g) „Enhancement of shikonin production in cell suspension cultures of *Arnebia euchroma* emp-
- loying two-liquid-phase systems“: X. Fu, D. Lu, *Chin. J. Chem. Eng.* **1998**, *6*, 86–90 [*Chem. Abstr.* **1998**, *128*, 307562]; h) „Isolation of shikonin derivatives from organic solvent by macroporous adsorption resin“: Q. Men, D. Lu, G. Zhang, *Gaoxiao Huaxue Gongcheng Xuebao* **1998**, *12*, 23–27 [*Chem. Abstr.* **1998**, *128*, 307561]; i) „Shikonin production by cell suspension culture of *Onosma paniculatum* in turbine stirred bioreactor“: H. Zhang, W. Ning, Q. Zhao, R. Cao, Y. Che, *Nanjing Daxue Xuebao, Ziran Kexue* **1997**, *33*, 455–458 [*Chem. Abstr.* **1998**, *128*, 229385]; j) „Plant cell and tissue culture. Industrial applications“: C. Ponzone, *Chim. Ind. (Milan)* **1997**, *79*, 1217–1221; k) „Manufacture of plant secondary metabolites using coronatinases“: T. Gyoso, Y. Hara, (Mitsui Petrochemical Industries, Ltd., Japan) JP 10033190, **1998** [*Chem. Abstr.* **1998**, *128*, 139817]; l) „Regulatory role of microsomal 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase for shikonin biosynthesis in *Lithospermum erythrorhizon* cell suspension cultures“: B. M. Lange, K. Severin, A. Bechthold, L. Heide, *Planta* **1998**, *204*, 234–241; m) „Relationship between active oxygen burst and shikonin derivatives formation in cultured *Onosma paniculatum* cells induced by *Aspergillus* elicitor“: W. Ning, H. Xu, R. Cao, *Nanjing Daxue Xuebao, Ziran Kexue* **1997**, *33*, 259–264 [*Chem. Abstr.* **1998**, *128*, 137643]; n) „cDNA cloning and gene expression of phenylalanine ammonia-lyase in *Lithospermum erythrorhizon*“: K. Yazaki, M. Kataoka, G. Honda, K. Severin, L. Heide, *Biotechnol. Biochem.* **1997**, *61*, 1995–2003; o) „*Arnebia euchroma*: in vitro culture and the production of shikonin and other secondary metabolites“: O. V. Zakhlenjuk, V. A. Kunakh, *Biotechnol. Agric. For.* **1998**, *41* (*Medicinal and Aromatic Plants X*), 28–44 [*Chem. Abstr.* **1998**, *128*, 101107]; p) „Alkanna tinctoria T. (alkanets): in vitro culture and the production of alkannin and other secondary metabolites“: C. Gerardi, G. Mita, E. Grillo, G. Giovinazzo, A. Miceli, P. De Leo, *Biotechnol. Agric. For.* **1998**, *41* (*Medicinal and Aromatic Plants X*), 14–27 [*Chem. Abstr.* **1998**, *128*, 74326]; q) „Measurement of phenolic compounds and their effect on shikonin production in *Lithospermum* cultured cells“: K. Yazaki, H. Fukui, Y. Nishikawa, M. Tabata, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1997**, *61*, 1674–1678 [*Chem. Abstr.* **1998**, *128*, 1945]; r) „Induction of phytoalexin by uptake of naphthoquinones in cell cultures of petunia“: M.-J. Kim, S.-S. Kwak, *Han'guk Nonghwa Hakhoechi* **1997**, *40*, 352–356 [*Chem. Abstr.* **1997**, *127*, 245602]; s) „Biotechnology in detergents and cosmetics“: S. Ito, *Baiosaiensu to Indasutori* **1997**, *55*, 541–545 [*Chem. Abstr.* **1998**, *127*, 189671]; t) „Effects of methyl jasmonate on shikonin and dihydroechinofuran production in *Lithospermum* cell cultures“: K. Yazaki, K. Takeda, M. Tabata, *Plant Cell Physiol.* **1997**, *38*, 776–782; u) „Plant regeneration from callus cultures of *Lithospermum erythrorhizon*“: H. J. Yu, S. K. Oh, M. H. Oh, D. W. Choi, Y. M. Kwon, S. G. Kim, *Plant Cell Rep.* **1997**, *16*, 261–266; v) „4-Hydroxybenzoate prenyltransferases in cell-free extracts of *Lithospermum erythrorhizon* cell cultures“: R. Boehm, S.-M. Li, M. Melzer, L. Heide, *Phytochemistry* **1997**, *44*, 419–424.
- [263] a) „Chemical properties of shikonin from the view point of dyeing“: N. Nagashima, K. Sakata, A. Katayama, *Nippon Sanshigaku Zasshi* **1998**, *67*, 123–127 [*Chem. Abstr.* **1997**, *129*, 150067]; b) „Red colorants, their production and cosmetics containing the colorants“: M. Oinuma, S. Shimoyama, Y. Noda, (Den Material K. K.) JP 09296125 **1998** [*Chem. Abstr.* **1998**, *128*, 26758].
- [264] a) „The ability of the naphthoquinone shikonin to influence microorganisms in the rhizosphere of *Lithospermum erythrorhizon*“: L. A. Brigham, P. J. Michaels, H. E. Flores, *Curr. Top. Plant Physiol.* **1998**, *18* (*Radical Biology: Advances and Perspectives on the Function of Plant Roots*), 451–453 [*Chem. Abstr.* **1998**, *129*, 300083]; b) „Effect of substituent and ring changes in naturally occurring naphthoquinones on the feeding response of larvae of the Mexican bean beetle, *Epilachna varivestis*“: M. Weissenberg, J. Meisner, M. Klein, I. Schaeffler, M. Eliyahu, H. Schmutterer, K. R. S. Ascher, *J. Chem. Ecol.* **1997**, *23*, 3–18 [*Chem. Abstr.* **1997**, *126*, 167886].
- [265] G. Lu, J. Liao, *Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih (Chinese Journal of Modern Developments in Traditional Medicine)* **1990**, *10*, 422–5, 390.
- [266] X. P. Guo, X. Y. Zhang, S. D. Zhang, *Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih (Chinese Journal of Modern Developments in Traditional Medicine)* **1991**, *11*, 598–9, 580.
- [267] Zugriffs-Nr. für die CAPlus-Datenbank; noch nicht in *Chemical Abstracts* veröffentlicht.