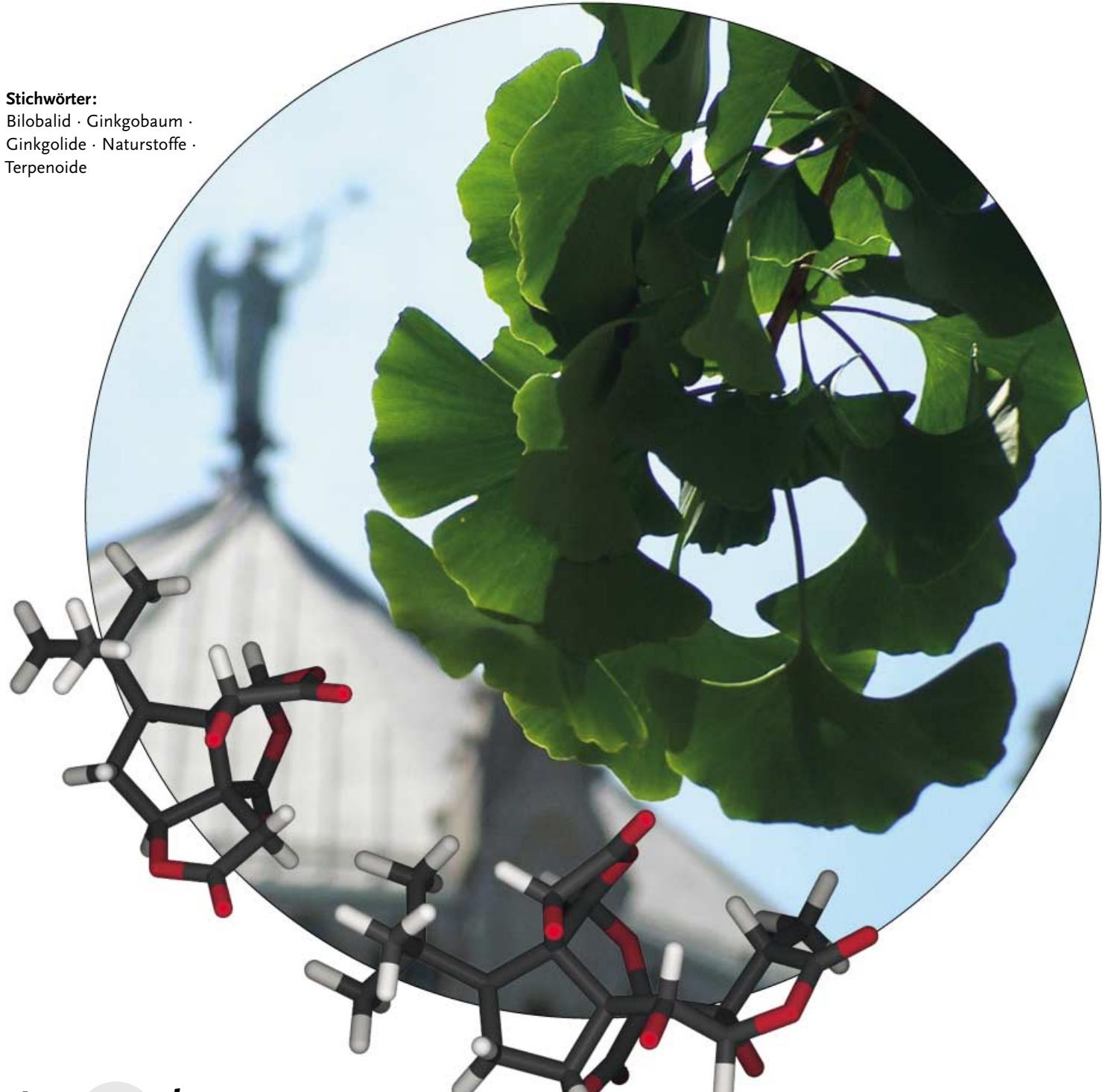


Chemie und Biologie von Terpentrilactonen aus *Ginkgo biloba*

Kristian Strømgaard* und Koji Nakanishi*

Stichwörter:

Bilobalid · Ginkgobaum ·
Ginkgolide · Naturstoffe ·
Terpenoide



Ginkgo biloba – der Ginkgobaum – ist die älteste lebende Baumart der Welt. Ginkgo-Präparate sind ein wichtiger Bestandteil in der traditionellen chinesischen Medizin, und in den letzten Jahren haben die Blattextrakte als Phytopräparat in Europa und als Nahrungsergänzungsmittel weltweit breiten Absatz gefunden. Zu den postulierten Wirkungen des Ginkgo-biloba-Extrakts gehören die Verbesserung der Gedächtnisleistung, die Steigerung der Blutzirkulation und eine Verzögerung der Alzheimer-Demenz. Was den Extrakt so einzigartig macht, sind die Terpentrilactone – Ginkgolide und Bilobalid –, die als strukturell komplexe Moleküle attraktive Zielstrukturen für Totalsynthesen waren. Es wird angenommen, dass Terpentrilactone für die neuroregulatorischen Eigenschaften der Ginkgo-biloba-Extrakte mit ausschlaggebend sind. Eine Reihe biologischer Wirkungen der in den letzten Jahren entdeckten Terpentrilactone macht diese zu aussichtsreichen pharmakologischen Substanzen.

1. Einleitung

Seit ihrer Entdeckung im Jahre 1932 in *Ginkgo biloba* haben die Ginkgolide und das Bilobalid – zusammenfassend als Terpentrilactone (TTLs) bezeichnet – ein intensives Interesse gefunden, das sich in einer umfassenden Literatur zu *G. biloba*,^[1,2] *G. biloba*-Extrakten^[3] und TTLs^[4] widerspiegelt. Einschneidende Resultate waren die Strukturaufklärung Ende der 60er Jahre und die Entdeckung (1985), dass TTLs den Rezeptor des blutplättchenaktivierenden Faktors (PAFR; platelet-activating factor receptor) antagonieren. Die Chemie und Pharmakologie der Ginkgolide wurde in zwei Übersichtsartikeln beschrieben,^[5,6] von denen der jüngere 1991 erschienen ist, sodass wir uns hier in erster Linie auf seitherige Entwicklungen konzentrieren. Dazu gehören die Entdeckung eines allgemeinen Biosyntheseweges, der aus biosynthetischen Untersuchungen von Ginkgoliden abgeleitet wurde, Totalsynthesen, faszinierende chemische Reaktivitäten und Struktur-Aktivitäts-Beziehungen bei der Antagonisierung des PAFR. Hinzu kommen neueste Befunde, wonach Ginkgolide die β -Amyloid-Bildung unterbinden, sowie die Entdeckung eines neuen Targets für Ginkgolide.

1.1. Der Ginkgobaum

Charakteristische Merkmale des Ginkgobaums (*Ginkgo biloba* L.; aus dem Japanischen *ginkyo*, was „silberne Aprikose“ bedeutet) sind die fächerförmigen Blätter und die fleischigen, gelben, faulig riechenden Samen, die einen silbrigen genießbaren Kern enthalten (Abbildung 1). Der Ginkgobaum ist die einzige überlebende Art der *Ginkgoaceae* – einer Familie von Bäumen, die in der Jurazeit vor 170 Millionen Jahren auftauchte – und damit ein „lebendes Fossil“. Die dokumentierten Fossilfunde wiesen lange Zeit eine Lücke von 100 Millionen Jahren zwischen der altägyptischen und der neuzeitlichen Spezies auf, ein jüngster paläontologischer Fund eines über 121 Millionen Jahre alten Fossils hat jedoch gezeigt, dass sich der Baum seit den

Aus dem Inhalt

| | |
|--------------------------------------|------|
| 1. Einleitung | 1671 |
| 2. Isolierung und Strukturaufklärung | 1673 |
| 3. Biosynthese | 1676 |
| 4. Synthesestudien | 1677 |
| 5. Pharmakologische Wirkungen | 1681 |
| 6. Zusammenfassung und Ausblick | 1685 |

Tagen der Dinosaurier kaum verändert hat.^[7] Der Ginkgobaum unterscheidet sich von allen anderen lebenden Pflanzen und wird taxonomisch meist einer eigenen Gattung zuge-



Abbildung 1. Ein Exemplar von *Ginkgo biloba* nahe der Riverside Church in New York.

[*] Prof. K. Strømgaard
Department of Medicinal Chemistry
The Danish University of Pharmaceutical Sciences
Universitetsparken 2, 2100 Copenhagen (Dänemark)
Fax: (+45) 3530-6040
E-mail: krst@dfuni.dk

Prof. K. Nakanishi
Department of Chemistry
Columbia University
3000 Broadway, New York, NY 10027 (USA)
Fax: (+1) 212-932-8273
E-mail: kn5@columbia.edu

ordnet (Ginkgophyta). Man nimmt an, dass *G. biloba* die älteste lebende Baumspezies ist^[8] und ein Alter von über eintausend Jahren erreichen kann.^[9] In neueren Untersuchungen wurde dieses „lebende Fossil“ zur Bestimmung von prähistorischen CO₂-Gehalten genutzt.^[10,11]

G. biloba ist diözisch (zweihäusig), d.h., es treten rein männliche oder rein weibliche Blüten auf unterschiedlichen Baumexemplaren auf, wobei sich die Geschlechtsmerkmale erst im Alter von etwa 30 Jahren feststellen lassen. Ginkgobäume können auf eine Höhe von über 35 Metern bei einem Umfang des Hauptstammes von bis zu 10 Metern anwachsen. Der Baum behauptet sich auch unter widrigen Umweltbedingungen und ist außerordentlich widerstandsfähig gegen Pilz- und Insektenbefall. Vor mehr als 100 Jahren berichtete der japanische Botaniker Sakugoro Hirase über die Entdeckung der frei beweglichen Spermatozoiden von *G. biloba*, was ein entscheidendes evolutionäres Bindeglied zwischen den Lebenszyklen niederer und höherer Pflanzen lieferte.

G. biloba wurde überall in China und Korea angepflanzt und vor ca. 800 Jahren in Japan eingeführt, danach folgten Europa um 1730 und Nordamerika im Jahre 1784. Der deutsche Arzt und Botaniker Engelbert Kämpfer verwendete 1712 als erster den Namen „Ginkgo“, Linnaeus führte 1771 die taxonomische Bezeichnung *Ginkgo biloba* ein; „biloba“ bedeutet „zweilappig“ und bezieht sich auf die fächerförmigen, in der Mitte geteilten Blätter (Abbildung 2). Die Gestalt der Blätter inspirierte gar Johann Wolfgang von Goethe (1749–1832) zu dem Gedicht „Ginkgo Biloba“ an Marianne von Willemer.^[12] Das junge Ginkgoblatt symbolisiert Goethes Leitmotiv vom Individuum und Paar als nicht zu unterscheidendes Wesen.

Die frühesten Aufzeichnungen über die medizinische Verwendung von *G. biloba* gehen auf ein Buch von Liu Wen-Tai aus dem Jahre 1505 zurück.^[13] In *Chinese Materia Medica* von Pen Tsao Ching (1578) ist beschrieben, dass alternde Mitglieder des königlichen Hofes mit *G. biloba* gegen Senilität behandelt wurden. Während heute hauptsächlich Blattzubereitungen von *G. biloba* angewendet werden, befassen sich diese alten chinesischen Quellen fast ausschließlich mit der Frucht. Die Ginkgonuss (Abbildung 2) ist gegrillt oder gekocht eine Zutat der japanischen und chinesischen Küche. Es ist jedoch Vorsicht geboten, da der übermäßige Verzehr der Nüsse Vergiftungsscheinungen hervorrufen kann. Ursache ist vermutlich ihr Gehalt an 4-O-



Abbildung 2. Blätter und Nüsse von *Ginkgo biloba*.

Methylpyridoxin, einem krampfauslösenden Wirkstoff, der die γ -Aminobuttersäure(GABA)-Synthese inhibiert.^[14,15]

1.2. Der *Ginkgo-biloba*-Extrakt

Blattzubereitungen aus *G. biloba* wurden in der westlichen Welt um 1965 durch die deutsche Firma Dr. Willmar Schwabe^[13] unter dem Handelsnamen Tebonin eingeführt. Schwabe entwickelte später in Zusammenarbeit mit der französischen Firma Beaufour-Ipsen einen als EGb761 bezeichneten standardisierten *G.-biloba*-Extrakt,^[16] der unter Handelsnamen wie Tanakan, Rökan und Tebonin forte vertrieben wird. Seither ist eine Fülle von *G.-biloba*-Produkten auf dem Markt erschienen, und *G. biloba*-Extrakte gehören mittlerweile zu den meistverkauften pflanzlichen Präparaten weltweit. 1998 wurden in den USA etwa 4 Milliarden Dollar für pflanzliche Arzneimittel ausgegeben, mit *G. biloba* an erster Stelle. Heute werden über 50



Kristian Strømgaard, geboren 1970 in Roskilde, Dänemark, erlangte den MSc in Chemie 1996 am University College London unter der Anleitung von C. R. Ganellin. Mit einer Arbeit über Festphasensynthese und mechanistische Untersuchungen von Liganden für Glutamat- und nicotinische Acetylcholin-Rezeptoren promovierte er 1999 an der Danish University of Pharmaceutical Sciences. 2001 wechselte er in die Arbeitsgruppe von Koji Nakanishi an der Columbia University und beschäftigte sich dort mit Wechselwirkungen der Terpenrilactone aus *Ginkgo biloba* mit Targets im Gehirn. Zurzeit ist er Dozent an der Danish University of Pharmaceutical Sciences.



Koji Nakanishi, geboren 1925 in Hongkong, erlangte den BSc an der Nagoya Imperial University unter der Anleitung von F. Egami und Y. Hirata. Nach dem Hauptstudium, unter anderem bei L. F. Fieser in Harvard, promovierte er 1954 an der Nagoya University. 1958 wurde er Professor an der Tokyo Kyoiku University und später an der Tohoku University, Sendai. 1969 wechselte er an die Columbia University, wo er gegenwärtig Centennial Professor of Chemistry ist. Nach der Bestimmung der Ginkgolidstrukturen 1967 beschäftigte er sich vornehmlich mit der Untersuchung ihrer Wirkungsmechanismen.

Millionen Ginkgobäume vornehmlich in China, Frankreich und South Carolina angebaut, die pro Jahr ungefähr 8000 Tonnen getrocknete Blätter ergeben.^[17]

Der *G.-biloba*-Extrakt EGb761 wird durch Extraktion der getrockneten grünen Blätter mit einer Aceton-Wasser-Mischung gewonnen und ist auf einen Gehalt von 6% TTLs (3.1% Ginkgolide und 2.9% Bilobalid) und 24% Flavonoide standardisiert.^[13] Bei den Flavonoiden handelt es sich fast ausschließlich um Flavonol-*O*-glycoside, eine Kombination der phenolischen Aglycone Quercetin, Kaempferol oder Isorhamnetin mit Glucose, Rhamnose oder beiden an unterschiedlichen Positionen der Flavonoleinheit. Die Bioverfügbarkeit der Flavonoiden im *G.-biloba*-Extrakt ist nicht geklärt, es wird aber allgemein angenommen, dass Flavonoiden nicht die Blut-Hirn-Schranke (BHS) passieren oder zumindest nicht in ausreichenden Mengen vorhanden sind, um eine physiologische Wirkung auf das Zentralnervensystem auszuüben. Andererseits lag die Bioverfügbarkeit der Ginkgolide und des Bilobalids nach einer 80-mg-Dosis EGb761 bei 70–80% bei Halbwertszeiten von 3–5 h.^[18] EGb761 enthält noch mehrere weitere Komponenten, darunter Proanthocyanidine (Prodelphinidine) und organische Säuren. Ihr Gehalt an Ginkgolsäuren (Anarcardinsäuren) ist wegen der allergenen Eigenschaften dieser Verbindungen auf 5 ppm begrenzt.^[13]

EGb761 ist nach wie vor der gebräuchlichste Extrakt bei Untersuchungen der pharmakologischen Effekte von *G. biloba*, und in mehreren neueren Übersichten wurde seine Wirkung im Zentralnervensystem beschrieben.^[18–22] Zu den neuroregulatorischen Effekten von EGb761 zählen die Verbesserung der Wahrnehmung, antioxidative Wirkungen, erhöhte zerebrale Durchblutung und Zirkulation, Modifikation der Neurotransmission und Schutz vor Apoptose.^[18] In Deutschland wird der *G.-biloba*-Extrakt zur Behandlung von Fehlfunktionen im Zusammenhang mit organischen Psychosyndromen (organic brain syndrome) mit den Hauptsymptomen Gedächtnisschwäche, Konzentrationsstörungen, depressiver seelischer Zustand, Schwindel, Tinnitus und Kopfschmerz eingesetzt.^[23] EGb761 gehört in Deutschland und Frankreich zu den am häufigsten verschriebenen Medikamenten zur Behandlung von Demenz-Symptomen.^[24]

Am intensivsten wurde eine mögliche Anwendung zur Behandlung der Alzheimer-Krankheit (AD) untersucht.^[25–27] In zwei Schlüsselstudien wurden insgesamt 549 AD-Patienten hinsichtlich der Wirkung von EGb761 evaluiert.^[28,29] In beiden Studien verlangsamte EGb761 die Entwicklung kognitiver Symptome bei Demenz, und die Regression wurde hinsichtlich bestimmter Kenndaten um 7.8 Monate verzögert, was der Wirkung der gegenwärtig verfügbaren AD-Therapeutika Aricept (Donepezil, 9.5 Monate) und Exelon (Rivastigmin, 5.5 Monate), beides Acetylcholinesterase-Inhibitoren, entspricht. In einer neueren Studie zeigte EGb761 eine gute Wirkung bei sehr leichter bis leichter kognitiver Beeinträchtigung, weniger aber bei schwerer Demenz, was darauf hindeutet, dass EGb761 vor allem stabilisierend wirkt und den Ausbruch von Symptomen verzögert.^[30] Es wurden mehr als 40 weitere klinische Studien mit Extrakt aus *G. biloba* durchgeführt,^[31–37] und in praktisch allen Fällen wurde über positive Wirkungen bei unterschiedlichen Aspekten von zerebraler Insuffizienz

berichtet, wenngleich mit unterschiedlichem Grad an Wirksamkeit. Die beobachteten klinischen Wirkungen könnten durch neuere Befunde erklärt werden, wonach EGb761 die β -Amyloid-Aggregation, die sehr wahrscheinlich an der Entstehung von AD beteiligt ist,^[41] inhibiert.^[38–40] Eine weitere Studie befasste sich mit der Wirkung von EGb761 auf die Modulation der Gen-Expression im Cortex und im Hippocampus der Maus. Es stellte sich heraus, dass unter anderem Gene beeinflusst werden, die vermutlich für die Entwicklung von AD eine Rolle spielen.^[42,43]

Tests an gesunden Erwachsenen belegten eine günstige Wirkung des *G.-biloba*-Extrakts auf das Kurzzeitgedächtnis,^[44] drei weitere Studien führten zu ähnlichen Ergebnissen.^[45–47] Hingegen zeigte sich in einer neueren Testreihe mit gesunden Probanden, dass eine sechswöchige Behandlung mit 120 mg EGb761 pro Tag die Leistungsfähigkeit des Gedächtnisses oder verwandter kognitiver Funktionen nicht steigert.^[48] Dies war auch das Ergebnis einer früheren Studie, in der Patienten 30 Tage mit EGb761 behandelt wurden.^[49] Demgegenüber zeigte eine Vorstudie mit 23 Multiple-Sklerose(MS)-Patienten, dass EGb761 kognitive und funktionelle Fähigkeiten bei MS verbessert.^[50] EGb761 in einer Dosis von 240 mg pro Tag wirkte sich in drei Monaten günstig auf Aufmerksamkeit und Gedächtnis bei Patienten mit leichter MS aus.

EGb761 könnte somit zur Linderung von AD-Symptomen dienen, obwohl die beschriebenen Wirkungen oft nur geringfügig sind. In Anbetracht der mangelnden Behandlungsmöglichkeiten gegen AD^[41,51] könnte sich EGb761 als eine nützliche Alternative zu den gegenwärtig verfügbaren Methoden erweisen. Allerdings ist die Wirkung von EGb761 hinsichtlich einer Verbesserung der Gedächtnisfunktion bei gesunden Personen trotz der zahlreichen Studien nach wie vor umstritten und nicht zweifelsfrei belegt. Es existieren mehrere Vorschläge, wonach z. B. die durch EGb761 bewirkten Veränderungen der Gehirnfunktion mit einer Prävention der altersbedingten Abnahme der Serotoninbindung^[52] oder der α_2 -adrenergen Rezeptorendichte^[53] in zerebralen Membranen zusammenhängen könnten, jedoch sind diese Studien nicht hinreichend bestätigt.

Die molekularen Grundlagen der Wirkung von EGb761 auf das Zentralnervensystem sind vor allem deshalb schlecht verstanden, weil kaum bekannt ist, welche Komponenten überhaupt wirksam sind. Die Hauptkomponenten des Extrakts sind Flavonoide und Terpentrilactone; die Flavonoide passieren die Blut-Hirn-Schranke vermutlich nicht, ob Terpentrilactone hierzu in der Lage sind, ist unbekannt. Aufgrund ihres lipophilen Charakters wird jedoch allgemein angenommen, dass TTLs die Blut-Hirn-Schranke überwinden können, weshalb es scheint, dass sie teilweise für die Wirkung von *G.-biloba*-Extrakten auf das Zentralnervensystem ausschlaggebend sind.

2. Isolierung und Strukturaufklärung

2.1. Strukturaufklärung

Eine große Zahl von Naturstoffen, darunter Flavonoide und Ginkgolsäuren, ist in *G. biloba* identifiziert worden.

Ausschließlich im Ginkgobaum vorkommende Naturstoffe sind die Terpentrilactone (Ginkgolide und Bilobalid).^[54] Ginkgolide sind Diterpene mit einem Käfiggerüst aus sechs fünfgliedrigen Ringen: einem carbobicyclischen Spiro[4.4]-nonanringssystem, drei Lactonringen und einem Tetrahydrofuranring (Abbildung 3). Weiterhin enthalten sie eine unge-

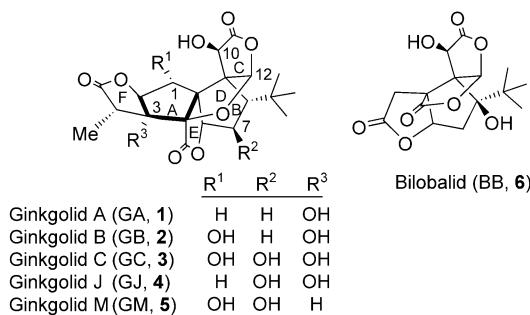


Abbildung 3. Strukturen der fünf Ginkgolide und des Bilobalids.

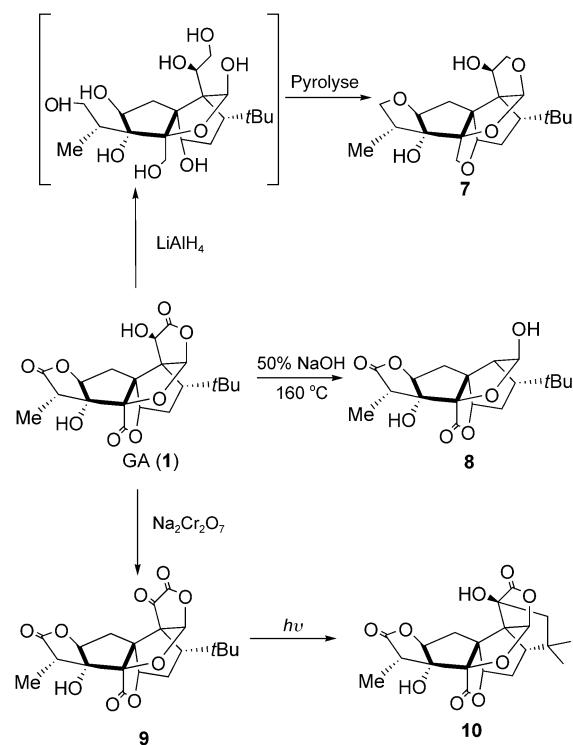
wöhnliche *tert*-Butylgruppe. Die Ginkgolide unterscheiden sich lediglich in der Zahl und Position ihrer Hydroxygruppen. Sie wurden erstmals 1932 aus der Wurzelrinde von *G. biloba* durch Furukawa isoliert.^[55] Maruyama et al. gelang 1967 die Isolierung der Ginkgolide A (GA, 1), B (GB, 2), C (GC, 3) und M (GM, 5) aus der Wurzelrinde und die Aufklärung ihrer einzigartigen Strukturen (Abbildung 3).^[56–61] Unabhängig davon bestimmten Okabe et al. die Strukturen von GA (1), GB (2) und GC (3) aus Blättern von *G. biloba* durch Röntgenstrukturanalyse.^[62,63] Ein weiteres Ginkgolid, Ginkgolid J (GJ, 4), wurde 1987 aus *G. biloba*-Blättern isoliert.^[64] Interessanterweise scheint GJ (4) ausschließlich in Blättern und GM (5) ausschließlich in der Wurzelrinde vorzukommen.

Die Studien, die zu den Strukturen von GA (1), GB (2), GC (3) und GM (5) führten, sind bereits an anderer Stelle ausführlich beschrieben worden,^[65,66] einige Ergebnisse verdienen aber besondere Beachtung. Die Strukturuntersuchungen durch Maruyama et al. wurden erst dadurch ermöglicht, dass über die Stadt Sendai (Japan) 1964 ein Taifun hinwegfegte, woraufhin die Erlaubnis erteilt wurde, die Wurzelrinde (100 kg) von fünf entwurzelten Bäumen zu verwenden. Nach Extraktion, Chromatographie und mehreren fraktionierenden Umkristallisationen wurden daraus jeweils 10 g GA (1) und GB (2), 20 g GC (3) und 200 mg GM (5) erhalten (Abbildung 4).^[56] Die Reinigung der Ginkgolide wurde durch ihre bemerkenswerte Neigung zur Polymorphie und zur Bildung von Mischkristallen behindert. Zufriedenstellende Ergebnisse wurden erst nach zehn bis fünfzehn fraktionierenden Kristallisationen erreicht, wobei die Reinheit NMR-spektroskopisch oder anhand der optischen Drehung überprüft wurde. Die komplexen Strukturen (Abbildung 3) wurden mithilfe chemischer Reaktionen und spektroskopischer Studien an den nativen TTLs und etwa 70 Derivaten aufgeklärt.^[56–61]

Eine Schlüsselrolle bei den Strukturuntersuchungen spielte der „Triether“ 7 (eigentlich ein Tetraether, Schema 1), der durch Reduktion und Pyrolyse von GA (1) entsteht. Bei dieser Transformation werden die Carbonyl-



Abbildung 4. Polymorphe Kristalle von Ginkgolid C, erhalten durch fraktionierende Umkristallisationen (Zentimeterskala).



Schema 1. Zur Strukturaufklärung von GA (1) ausgeführte Transformationen, die die bemerkenswerte Stabilität des Ginkgolidgerüstes verdeutlichen.

gruppen der drei Lactoneinheiten selektiv reduziert, wobei das Ginkgolidgerüst unversehrt bleibt.^[57] Die NMR-Spektren der Ginkgolide zeigten wegen der interferierenden quartären und Carbonyl-Kohlenstoffatome keine Konnektivität in den Protonensystemen; in dem GA-„Triether“ 7 sind jedoch die drei Carbonylgruppen durch Methylengruppen ersetzt, sodass eingehende Doppel- und Dreifachentkopplungsexperimente möglich waren. Die Zuordnungen wurden durch Reduktion von GA (1) mit LiAlD₄ anstelle von LiAlH₄ bestätigt. Die Untersuchungen führten auch zu einem damals unbekannten Befund, der heute als Kern-Overhauser-Effekt (NOE) verstanden wird. Eine Bestrahlung mit der Frequenz des *tert*-Butyl-Singulets führte zu einer höheren

Intensität einiger Protonensignale, was an den aus der Elektronenspinresonanz (EPR) bekannten Overhauser-Effekt erinnert.^[60,67] Noch während diese Studien im Gange waren, beschrieben Anet und Bourn die erste Beobachtung eines NOE.^[68]

Die einzigartige Stabilität des Ginkgolidgerüstes zeigte sich, als GA (**1**) den Bedingungen einer Alkalischmelze (50% NaOH, 160 °C, 30 min) ausgesetzt wurde, wobei unter Verlust zweier Kohlenstoffatome (als Oxalsäure) das Halbacetal Bisnor-GA (**8**) entstand. Einen weiteren Beleg für die hohe Stabilität lieferte die Umsetzung einer eisgekühlten Lösung von GA (**1**) mit Natriumdichromat in konzentrierter Schwefelsäure, die lediglich unter Oxidation des Hydroxylactons zum Oxolacton **9** verlief. Diese Verbindung gab zu einiger Verwirrung Anlass: Das ¹H-NMR-Spektrum von **9** enthielt das bekannte *tert*-Butyl-Singulett, im UV- oder CD-Spektrum wurden jedoch keine Signale eines α -Ketolactons beobachtet. Die Elektronenspektren waren jedoch an einer Probe gemessen worden, die eine zeitlang gestanden hatte, womit sich herausstellte, dass eine unerwartete Photocyclisierung von **9** zum Photodehydro-GA **10** eingetreten war (Schema 1). Gleichermassen ergab eine erneute ¹H-NMR-Messung, dass nun die *tert*-Butylgruppe durch eine geminale Dimethylgruppe ersetzt war.^[69,70]

Die absolute Konfiguration der Ginkgolide wurde von Maruyama et al. durch Anwendung der Oktantenregel auf 7-Oxo-GC-10-monomethylether und ein weiteres Keto-Derivat bestimmt.^[59] Okabe et al. setzten GA (**1**) mit *p*-Brombenzoylbromid zum 3-Mono-*p*-brombenzoat um und führten eine Kristallstrukturanalyse der erhaltenen prismatischen Kristalle durch.^[63] Anfänglich bestand eine Unstimmigkeit zwischen den veröffentlichten Strukturen von GB (**2**) und GC (**3**) bezüglich der Konfiguration der Hydroxygruppe in 1-Position. Laut Maruyama et al. war die Hydroxygruppe α -konfiguriert,^[59] laut Okabe et al. β -konfiguriert.^[62] Detaillierte NMR-Untersuchungen^[71] und Röntgenkristallstrukturen^[72,73] von GB (**2**) und GC (**3**) bestätigten die α -Konfiguration von 1-OH. Spätere Röntgenstrukturanalysen von GA (**1**), GB (**2**) und GC (**3**) zeigten, dass die Gesamtstrukturen dieser Moleküle bemerkenswert ähnlich sind. Konformativ unterscheidet sich GA (**1**) von GB (**2**) und GC (**3**) wegen der intramolekularen Wasserstoffbrücken in GB und GC, die hauptsächlich zwischen 1-OH und 10-OH, aber auch zwischen 1-OH und 3-OH auftreten.^[72,73] Neuere Röntgenstrukturanalysen (bei 120 K) von GA (**1**), GC (**3**) und GJ (**4**)^[74] decken sich mit den früheren Befunden zur Struktur der Ginkgolide.^[72,73]

Eine mit den Ginkgoliden verwandte Verbindung mit der empirischen Formel C₁₅H₁₈O₈ wurde von Major aus den Blättern von *G. biloba* isoliert.^[8] Weinges und Bähr berichteten später über die gleiche Verbindung (die sie als Bilabolid (BB, **6**, Abbildung 3) bezeichneten), wobei sie die für Ginkgolide charakteristische *tert*-Butylgruppe sowie eine sekundäre und eine tertiäre Hydroxygruppe identifizierten.^[75] Die Strukturaufklärung gelang 1971 und zeigte, dass Bilabolid ebenso wie die Ginkgolide drei Lactoneinheiten und eine *tert*-Butylgruppe enthält, im Unterschied zu diesen jedoch nur einen Carbocyclus aufweist.^[76,77] Bilabolid ist das am meisten vorhandene TTL im Extrakt EGb761. Weinges et al. lösten

1987 die Röntgenkristallstruktur von BB (**6**), die in Verbindung mit CD-Untersuchungen zur Bestätigung der Konfiguration der Hydroxygruppen diente.^[78]

2.2. Isolierung und Quantifizierung

In den ersten Arbeiten zur Isolierung und Strukturaufklärung der TTLs waren mehrere Extraktionen der Wurzelrinde oder der Blätter, gefolgt von einer chromatographischen Aufarbeitung und zehn- bis fünfzehnmaliger fraktionierender Umkristallisation erforderlich, um die einzelnen TTLs in reiner Form zu gewinnen. Seither wurde ein beträchtlicher Aufwand betrieben, um die Isolierung und Quantifizierung der TTLs zu vereinfachen. Diese Arbeiten wurden durch van Beek zusammengefasst.^[79,80]

Die erste Stufe zur Gewinnung reiner TTLs ist die Extraktion aus Blättern. In den meisten Fällen wurden wasserhaltige Lösungsmittelsysteme wie Wasser-Aceton und Wasser-Methanol verwendet. Unpolare Bestandteile werden ausgeschlossen, während sich sämtliche TTLs, einschließlich des gering wasserlöslichen GB (**2**), anreichern. Da BB (**6**) in Lösungen mit pH > 7 instabil ist, sind basische Extraktionen möglichst zu vermeiden.^[80] Vor kurzem wurde ein verbessertes Extraktionsverfahren entwickelt, das auf der Stabilität der TTLs gegen eine Vielzahl von Bedingungen wie Oxidation und Wärme beruht.^[81] Hierbei werden die Blätter 1 h in siedendem verdünntem Wasserstoffperoxid behandelt und anschließend mit Ethylacetat extrahiert. Man erhält ein cremefarbenes Pulver mit einem TTL-Gehalt von 60–70%.^[81] Das Wasserstoffperoxid entfernt Bestandteile, die zu Emulsionen in den Extraktionsschritten führen, wodurch sich die Gesamtprozedur erheblich verkürzt.

Die Trennung der TTL-Rohmischung in die einzelnen Ginkgolide und Bilabolid ist eine Herausforderung. Während Bilabolid noch relativ leicht von den Ginkgoliden getrennt werden kann, ist die Trennung der unterschiedlichen Ginkgolide alles andere als trivial. Die Ginkgolide unterscheiden sich nur in ein oder zwei Hydroxygruppen, die noch dazu in einigen Fällen (z. B. OH-1 und OH-10) untereinander Wasserstoffbrücken bilden (Abbildung 3), sodass sie die Gesamtpolarität der Moleküle kaum beeinflussen. Van Beek und Lelyveld beschrieben eine vereinfachte Prozedur, die auf einem Aufbrechen der Wasserstoffbrücken durch ein mit Natriumacetat imprägniertes Silicagel basiert. Die Methode wurde mit der präparativen Mitteldruck-Flüssigchromatographie (MPLC)^[82] und der TLC-Detektion der TTLs kombiniert.^[83] Ein weiteres Problem im Reinigungsschritt ist die Labilität von BB (**6**), das sich auf Aluminiumoxidsäulen zersetzt.^[84] Zur Quantifizierung der TTLs in unterschiedlichen Zubereitungen wurde die ¹H-NMR-Spektroskopie eingesetzt.^[85] Da die H-12-Signale der TTLs^[86] deutlich und gut getrennt erscheinen, lassen sich die Signalintensitäten integrieren und mit denen von Maleinsäure (MA) vergleichen (Abbildung 5).^[87] Dies ist die beste Methode zur Bestimmung sowohl des relativen Gehalts von Ginkgoliden in einer Mischung als auch der Reinheit isolierter Ginkgolide.

Da den Ginkgoliden charakteristische Chromophorgruppen fehlen, ist eine UV-Detektion ungeeignet. Herangezogen

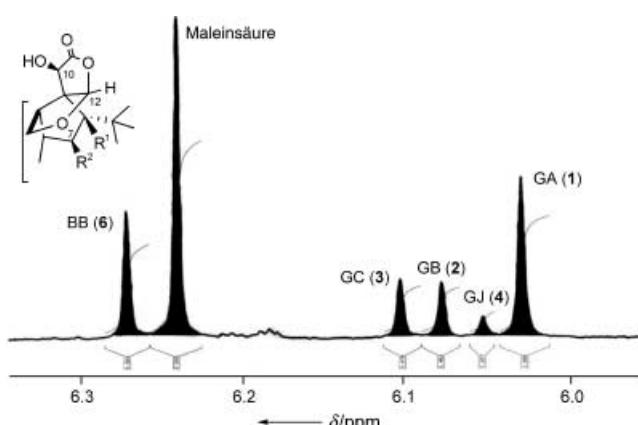


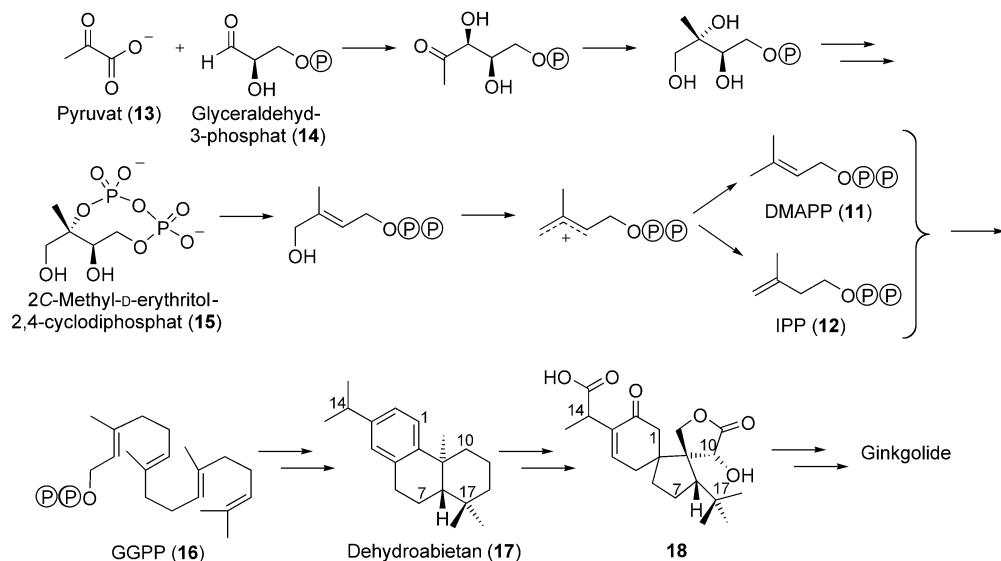
Abbildung 5. Die quantitative ^1H -NMR-Spektroskopie ist eine leistungsfähige und einfache Methode zur Bestimmung der TTL-Gehalte in einer Mischung.

wurden andere Detektionsmethoden wie Brechungsindex-(RID), Verdampfungs-Lichtstreuendetektion (ELSD) und Massenspektrometrie. In der ersten Publikation zur Trennung und Quantifizierung der TTLs wurde jedoch die herkömmliche HPLC-UV-Detektion eingesetzt.^[88] Später wurde die RI-Detektion erfolgreich angewendet.^[89,90] Die UV-Detektion^[91] wird wegen ihrer höheren Empfindlichkeit zwar gelegentlich bevorzugt, die Selektivität von RID ist aber deutlich besser.^[79] Mehrere neuere Veröffentlichungen beschreiben den Einsatz von LC-MS zur Trennung und Quantifizierung von TTLs in *G.-biloba*-Extrakten und im Plasma nach Einnahme von *G.-biloba*-Extrakt. Als MS-Methoden wurden Elektrospray-Ionisation (ESI)^[92] und chemische Ionisation bei Atmosphärendruck (APCI) eingesetzt.^[93,94] Bei neueren Analysen kommerzieller *G.-biloba*-Produkte mit LC-MS(ESI) wurden große Schwankungen in der Zusammensetzung und Konzentration der TTLs festgestellt.^[95] ELSD wurde als Alternative zu MS zur Quantifizierung von TTLs in *G.-biloba*-Extrakten angewendet.^[96,97]

3. Biosynthese

Wegen ihres komplexen Aufbaus war zunächst nicht unmittelbar zu erkennen, zu welcher strukturellen Kategorie die Ginkgolide gehören. Biosynthesestudien mit $[2-^{14}\text{C}]$ -Acetat und D,L-[$2-^{14}\text{C}$]-Mevalonat schienen auf den insgesamt terpenoiden Ursprung der Ginkgolide und die Beteiligung der verbreiteten Vorstufen Dimethylallylpyrophosphat (DMAPP, **11**) und Isopentenylpyrophosphat (IPP, **12**) hinzudeuten.^[98] Bis vor kurzem wurde angenommen, dass die Biosynthese von DMAPP und IPP über die konventionelle Mevalonat-Route verläuft. Hierbei reagieren drei Moleküle Acetyl-Coenzym A und werden zu Mevalonsäure reduziert, die anschließend phosphoryliert wird und unter Eliminierung von Phosphat und CO_2 DMAPP und IPP ergibt. In neueren Studien zur Terpen-Biosynthese wurde jedoch überraschend die Existenz einer Nicht-Mevalonat-Route nachgewiesen. Die zuvor durch Nakanishi und Habaguchi^[98] entdeckte Mevalonat-Route stellte sich als eine Nebenroute der Ginkgolid-Biosynthese heraus.

Nach der Nicht-Mevalonat- oder Desoxyxylolosephosphat-Route, die von Rohmer in ^{13}C -NMR-spektroskopischen Studien entdeckt wurde,^[99] reagiert Pyruvat (**13**) und Glyceraldehyd-3-phosphat (**14**) zu 2C-Methyl-d-erythritol-2,4-cyclodiphosphat (**15**) und schließlich zu DMAPP (**11**) und IPP (**12**) (Schema 2).^[100,101] Unabhängig hiervon untersuchten Arigoni und Schwarz^[102] die Biosynthese der Ginkgolide an einem *G.-biloba*-Embryosystem mit ^{13}C -markierter Glucose und zeigten dabei ebenfalls, dass Ginkgolide über die Nicht-Mevalonat-Route biosynthetisiert werden. Diese umfassenden Biosynthesestudien führten zur Entdeckung einer neuartigen metabolischen Route für Ginkgolide, die weit verbreitet sein könnte. Zunächst reagieren IPP und DMAPP zur universellen Diterpen-Vorstufe Geranylgeranylpyrophosphat (GGPP, **16**), die in die tricyclische Zwischenstufe Levopimariadien umgewandelt wird. Diese führt zum Dehydroabietan (**17**), das von den Plastiden in das Cytoplasma transportiert wird. Dehydroabietan wird durch eine komplexe Folge von



Schema 2. Nicht-Mevalonat-Route der Biosynthese von Ginkgoliden. $\textcircled{P} = \text{PO}_3^{2-}$.

Reaktionen, einschließlich mehrerer Oxidationsstufen, wahrscheinlich über **18** als Zwischenstufe in die Ginkgolide umgewandelt (Schema 2).^[102]

In einer weiteren Studie wurde ¹⁴C-markiertes CO₂ in Ginkgolide und Bilobalid inkorporiert, wobei die zeitliche Abfolge der Markierung eine In-situ-Biotransformation von GA (**1**) zu GC (**3**) anzeigen. Aus ähnlichen Studien wurde auf Dehydroabietan (**17**, Schema 2) als biosynthetische Vorstufe der TTLs geschlossen.^[103,104] Markierungsexperimente mit [¹⁴C]Glucose belegten, dass alle biosynthetischen Schritte zu Ginkgoliden in den Wurzeln stattfinden und die Produkte dann in die Blätter überführt werden.^[103] In einer anderen Studie hingegen korrelierten Carrier et al. den Einbau von [¹⁴C]IPP in Farnesylypyrophosphat (FPP) und GGPP (**16**) mit dem Vorkommen der TTLs. Hieraus wurde abgeleitet, dass Ginkgolide in den der Luft ausgesetzten Teilen der Pflanze synthetisiert werden.^[105]

Vor kurzem wurde eine cDNA isoliert und charakterisiert, die für *G. biloba*-Levopimaradien-Synthase, eine an der Ginkgolid-Biosynthese beteiligte Diterpensynthase, codiert.^[106] *G. biloba*-Levopimaradien-Synthase vermittelt eine mehrstufige Reaktionsfolge, die GGPP (**16**) in Levopimaradien umwandelt.^[106] Levopimaradien ist ein Doppelbindungs isomer von Abietadien, das aus Sämlingen von *G. biloba* isoliert wurde.^[104] Die Klonierung und Isolierung dieses Enzyms in Verbindung mit der Klonierung anderer Biosynthesegene könnte einen Zugang für die Gewinnung von Ginkgoliden in größerem Maßstab eröffnen.

4. Synthesestudien

Seit der Aufklärung ihrer komplexen Strukturen im Jahr 1967 haben TTLs ein großes Interesse als Zielstrukturen für Totalsynthesen auf sich gezogen. Maßgebliche Arbeiten auf diesem Gebiet gehen auf Corey zurück (Abbildung 6). Das Ginkgolidgerüst ist aus sechs hoch oxidierten Ringen aufgebaut, die zehn bis zwölf stereogene Zentren sowie eine einzigartige *tert*-Butylgruppe enthalten, was die Ginkgolide zu einer echten Herausforderung für die Totalsynthese macht. Nachdem man entdeckt hatte, dass GB (**2**) ein potenter Antagonist des PAF-Rezeptors ist, wurde eine große Zahl von Ginkgolid-Derivaten hinsichtlich ihrer Struktur-Aktivitäts-Beziehungen (SARs) untersucht. Außerdem wurden zahlreiche Synthesen von radioaktiv markierten, acetylierten und glycosylierten Ginkgoliden sowie von Ginkgoliden mit umgelagertem Gerüst beschrieben. Die pK_a-Werte der Ginkgolide wurden in NMR-Titrationsmessungen bestimmt.

4.1. Totalsynthesen

4.1.1. Bilobalid

1984 berichteten Corey und Kang über erste Erfolge auf dem Weg zur Totalsynthese von Bilobalid (BB, **6**, Abbildung 3). Grundlage hierfür war ein allgemeines Verfahren zur Synthese von polycyclischen γ -Lactonen,^[107] das anhand der Synthese des Dilactons **23** (Schema 3),^[107] ausgehend von der Ketosäure **19**, illustriert ist. Über die Totalsynthese des

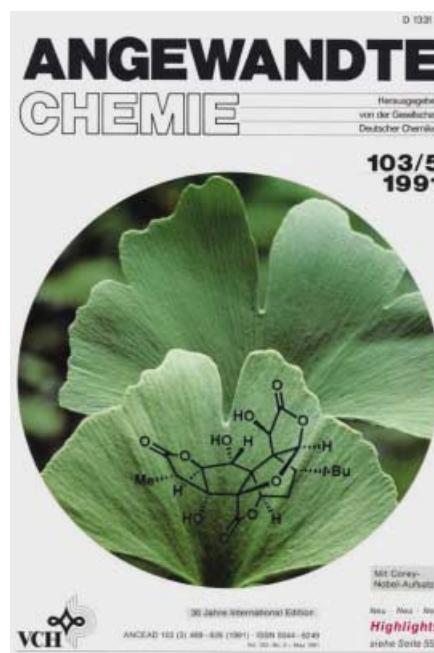
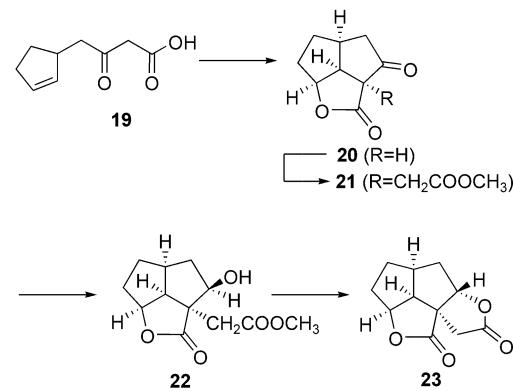
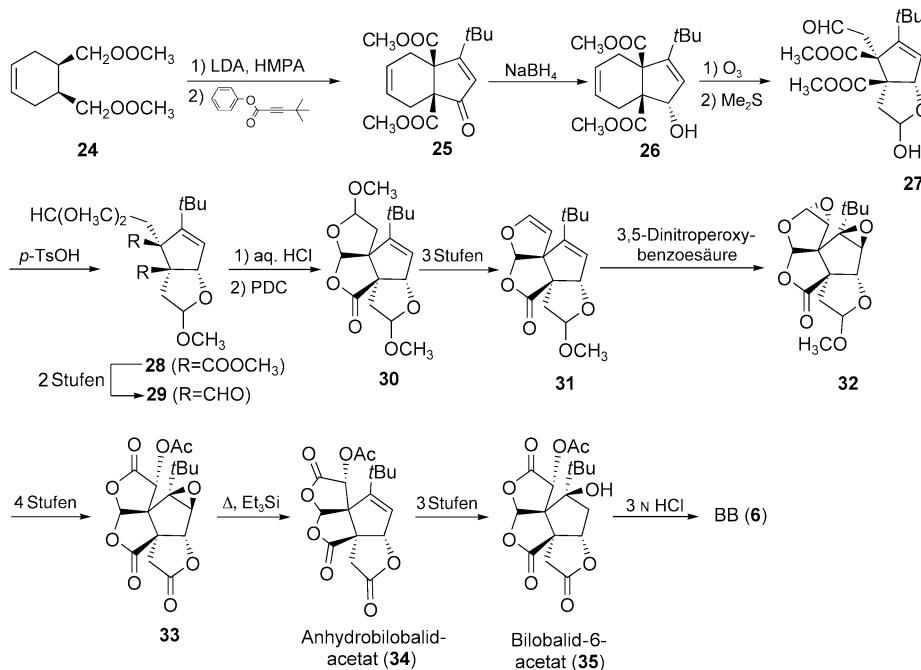


Abbildung 6. Blätter von *Ginkgo biloba* auf dem Titelbild der *Angewandten Chemie* (Heft 5/1991) mit E. J. Coreys Nobelvortrag.



Schema 3. Eine allgemeine Methode zur Synthese von polycyclischen γ -Lactonen.

Bilobalids berichteten Corey und Su dann 1987.^[108] Zur Synthese des bicyclischen Ketons **25**, das sämtliche Kohlenstoffatome des Bilobalids enthält, wurde der Diester **24** durch Umsetzung mit Lithiumdiisopropylamid (LDA) und Hexamethylphosphorsäuretriamid (HMPA) in das Dianion überführt und mit Phenyl-3-*tert*-butylpropiolat in einer eigens entwickelten Anellierungsreaktion umgesetzt (Schema 4).^[109] Die Reduktion von **25** mit Natriumborhydrid ergab **26**, das durch Ozonolyse und Reduktion in das Lactol **27** überführt wurde. Daraus wurde nach Umsetzung mit *p*-Toluolsulfonsäure (*p*-TsOH) **28** erhalten, das durch Reduktion mit Lithiumaluminiumborhydrid und nachfolgende Swern-Oxidation in zwei Stufen den Dialdehyd **29** ergab. Die Behandlung von **29** mit verdünnter Salzsäure führte zu epimeren Lactolen, die nach Oxidation mit Pyridiniumdichromat (PDC) den Tetracyclus **30** ergaben. Die Einwirkung von wässrigem Kaliumhydroxid, THF und Ethanol auf **30** führte



Schema 4. Totalsynthese von Bilobalid nach Corey et al.

zu einem bemerkenswert selektiven Austausch der Methoxygruppe gegen eine Hydroxygruppe, und die folgende Chlorierung und Eliminierung ergab **31**. Die beiden Doppelbindungen in **31** wurden mit Peroxy-3,5-dinitrobenzoic acid stereoselektiv epoxidiert, und das so erhaltene **32** wurde durch eine Reaktionsfolge aus selektiver Hydroxylierung, Acetylierung, Oxidationen und Hydrolyse in das Trilacton **33** umgewandelt (Schema 4). Desacetylierung und Hydrogenolyse der Epoxidgruppe in **33** führt formal zu Bilobalid (**6**), diese Umsetzung ist aber nicht auf direktem Wege möglich. Vielmehr wurde **33** zu dem bereits vorher beschriebenen Anhydribilobalidacetat **34** desoxygiert.^[76] Die Dihydroxylierung von **34** mit Osmiumtetroxid, gefolgt von der Desoxygierung der 2-OH-Gruppe ergab Bilobalid-6-acetat (**35**), das nach Einwirkung von 3 N HCl in Bilobalid (**6**) überging. Auf diese Weise wurde Bilobalid (**6**) ausgehend von

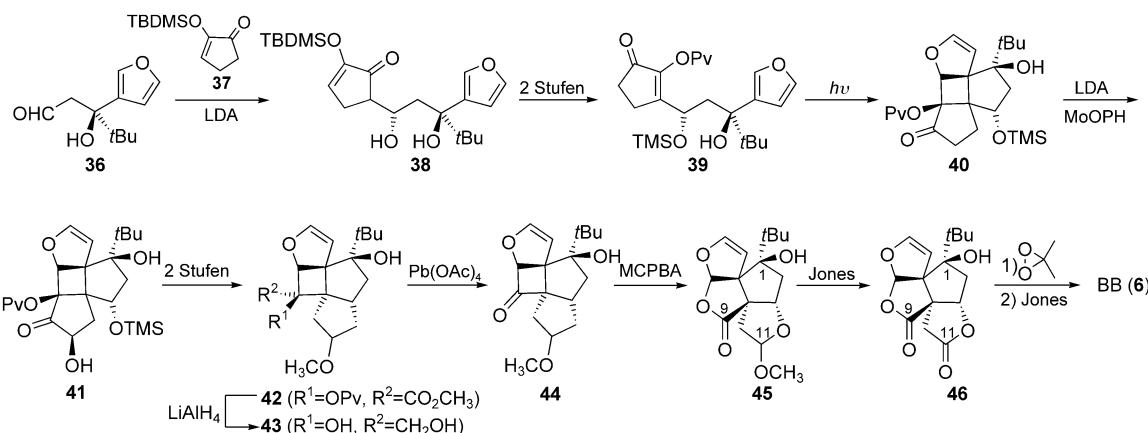
24 in 23 Stufen synthetisiert (Schema 4). Ein nachfolgend entwickelter stereoselektiver Syntheseweg zu Bilobalid (**6**) verwendete (+)-Menthol als chirales Auxiliar in einem zu **24** ähnlichen Enon.^[110]

Crimmins et al. beschrieben eine alternative Totalsynthese von Bilobalid (**6**), wobei zwei leicht unterschiedliche Routen eingeschlagen wurden.^[111,112] Der erste Ansatz basierte auf der 19-stufigen Synthese von **32**, einer Zwischenstufe der Corey-Synthese (Schema 4), ausgehend von 3-Furaldehyd unter Anwendung der Sharpless-Epoxidierung, einer stereoselektiven intermolekularen [2+2]-Reaktion und einer regioselektiven Baeyer-Villiger-Oxidation als Schlüsseltransformationen. Im zweiten Ansatz wurde die Totalsynthese von Bilobalid (**6**) in 17 Stufen abgeschlossen (Schema 5). In vier Stufen wurde 3-Furaldehyd in den Aldehyd **36** umgewandelt, der in einer stereoselektiven Aldolkondensation mit dem Enolether **37** zum Enon **38** reagierte. Das Enolpivaloat **39** wurde mit einer intramolekularen stereoselektiven [2+2]-Photocycloaddition in **40** überführt, das nach Hydroxylierung **41** lieferte. Die Spaltung des Cyclopantanrings und Bildung des Acetals **42** verliefen mit 85 % Ausbeute. Nach Reduktion der Estergruppen wurde das gebildete **43** zum Cyclobutanon **44** oxidiert. Die Umsetzung von **44** mit meta-Chlorperbenzoic acid (MCPBA) führte in einer regioselektiven Baeyer-Villiger-Oxidation zu **45**, das das Grundgerüst des Bilobalids (**6**) enthält. Die Totalsynthese wurde durch Oxidation mit dem Jones-Reagens zum Dilacton **46** (Schema 5), gefolgt von zwei weiteren Oxidationsstufen mit Dimethyldioxiran und Jones-Reagens abgeschlossen.

Leider ist die Totalsynthese von Bilobalid (**6**) in 17 Stufen nicht detailliert beschrieben. Ein weiterer Ansatz basiert auf der Totalsynthese von Bilobalid (**6**) in 19 Stufen, die von der Totalsynthese von Bilobalid (**6**) in 23 Stufen abweicht. In diesem Ansatz wird 3-Furaldehyd in den Aldehyd **36** umgewandelt, der in einer stereoselektiven Aldolkondensation mit dem Enolether **37** zum Enon **38** reagierte. Das Enolpivaloat **39** wurde mit einer intramolekularen stereoselektiven [2+2]-Photocycloaddition in **40** überführt, das nach Hydroxylierung **41** lieferte. Die Spaltung des Cyclopantanrings und Bildung des Acetals **42** verliefen mit 85 % Ausbeute. Nach Reduktion der Estergruppen wurde das gebildete **43** zum Cyclobutanon **44** oxidiert. Die Umsetzung von **44** mit meta-Chlorperbenzoic acid (MCPBA) führte in einer regioselektiven Baeyer-Villiger-Oxidation zu **45**, das das Grundgerüst des Bilobalids (**6**) enthält. Die Totalsynthese wurde durch Oxidation mit dem Jones-Reagens zum Dilacton **46** (Schema 5), gefolgt von zwei weiteren Oxidationsstufen mit Dimethyldioxiran und Jones-Reagens abgeschlossen.

4.1.2. Ginkgolide

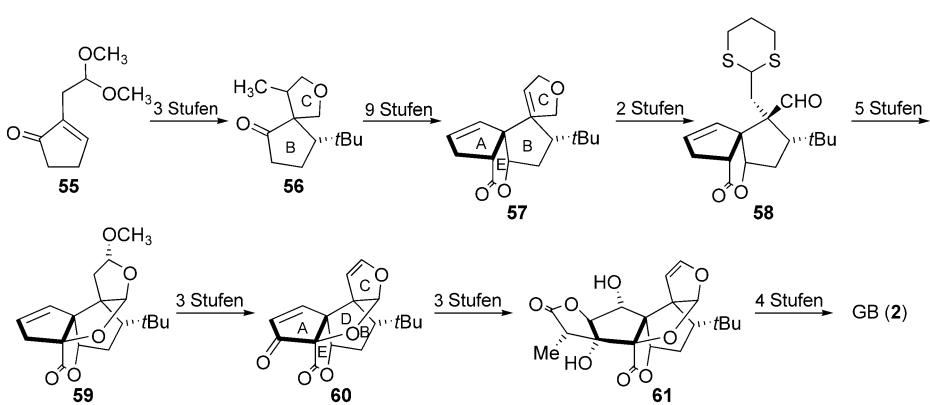
Den ersten Versuch einer Totalsynthese von Ginkgoliden beschrieben Weinges et al.^[113] Die Autoren synthetisierten



Schema 5. Totalsynthese von Bilobalid nach Crimmins et al. Pv = Pivaloyl, TMS = Trimethylsilyl, TBDMS = *tert*-Butyldimethylsilyl, MCPBA = *meta*-Chlorperbenzoic acid.

den Tricyclus **48**, ein mit einem Tetrafurandring anelliertes spirocarbocyclisches Ringsystem, das dem ABD-Ringsystem von Ginkgoliden entspricht, dem aber die *tert*-Butylgruppe fehlt (Schema 6). Die Verbindung wurde durch Umsetzung von 6-Hydroxyspiro[4.4]nonan-1-on (**47**) in einer dreistufigen Reaktionsfolge erhalten, die eine Grignard-Reaktion, eine Reduktion und eine Cyclisierung einschloss. 1987 berichteten Vilhauer und Andersson über den Aufbau des CDE-Ringsystems (**54**, Schema 6) des Ginkgolidgerüstes.^[114] Hierzu wurde das Epoxid **49** durch Umsetzung mit Dimethylmalonat in das Lacton **50** umgewandelt, gefolgt von einer Krapcho-Decarbomethoxylierung und zwei aufeinanderfolgenden Alkylierungen mit Benzylbromid und *tert*-Butylbromacetat unter Bildung von **51**. Entschützung der Säurefunktion mit nachfolgender Lactonreduktion und Cyclisierung sowie Spaltung der Benzylschutzgruppe führten zum instabilen **52**, das durch Umsetzung mit *p*-TsOH und wässriger Säure ein Halbacetal bildete, das mit PDC zu **54** oxidiert wurde (Schema 6).^[114] In der Folge berichteten Pattenden et al. über intramolekulare radikalische Cyclisierungen zum Aufbau der spiro- und linearverknüpften Lactonringssysteme der Ginkgolide.^[115,116] Ein substituiertes Spirononangerüst, ähnlich dem der TTLs, synthetisierten später DeLuca und Magnus.^[117]

Corey et al. vervollständigten 1988 die Totalsynthesen von GA (**1**)^[118] und GB (**2**).^[119] Die klassische Totalsynthese von GB (**2**) wurde an anderer Stelle ausführlich behandelt,^[120–122] sodass wir hier nur die Schlüsselschritte herausheben (Schema 7). Das die Ringe B und C von GB (**2**, Abbildung 3) enthaltende spirocyclische Ringsystem **56** wurde aus 2-(2,2-Dimethoxyethyl)cyclopent-2-enon (**55**) durch 1,4-Addition eines *tert*-Butylcuprat-Reagens und Mukaiyama-Kondensation (Behandlung mit 1,3,5-Trioxan und Titanchlorid) aufgebaut (Schema 7), wobei die *tert*-Butyleinheit als dirigierende

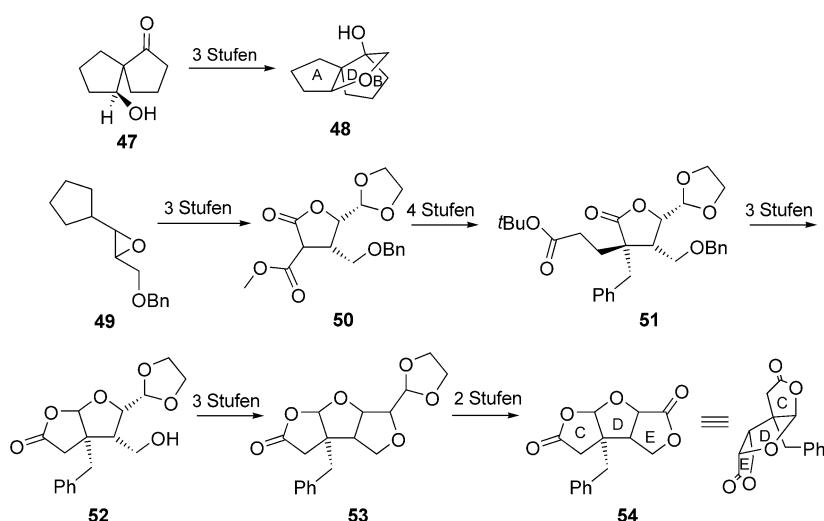


Schema 7. Schlüsselschritte der Totalsynthese von GB (2) nach Corey et al.

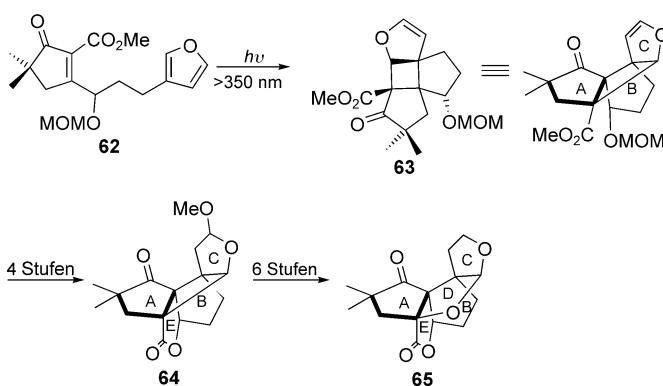
Gruppe für den Ringschluss fungierte. Eine Reaktionsfolge aus Palladium-vermittelter Sonogashira-Kupplung, intramolekularer Keten-Olefin-[2+2]-Cycloaddition und Baeyer-Villiger-Oxidation führte zur Zwischenstufe **57**, die vier der sechs Ringe von GB (**2**) enthält. Zum Aufbau des Tetrahydrofurandring (Ring D) wurde die Reaktivität des Rings C durch die Einführung einer Dithianschutzgruppe in **58** modifiziert. Die intramolekulare Veretherung zum Pentacyclus **59** gelang in fünf Schritten. Oxidation des Rings A und Eliminierung an Ring C lieferte **60**, das selektiv zu einem Epoxyketon an Ring A oxidiert wurde. Es folgten eine intermolekulare Aldolkondensation und eine Lactonisierung bei gleichzeitiger Öffnung des Oxirans zu **61**, in dem alle sechs Ringe von GB (**2**) korrekt verknüpft sind. Eine Dihydroxylierung der Doppelbindung von Ring C und Oxidation zu GB (**2**) vervollständigten die Totalsynthese (Schema 7). Ebenfalls Corey et al. schlugen eine enantioselektive Route zu GB (**2**) über ein Schlüsselintermediat vor^[123] und synthetisierten außerdem eine Reihe von Ginkgolid-Derivaten.^[124,125]

Vor kurzem gelang Crimmins et al. eine alternative Totalsynthese von GB (**2**). In einer ersten Synthesestudie von 1989 wurde zunächst das komplexe Ringgerüst der Ginkgolide in einer effizienten intramolekularen Cycloaddition aufgebaut (Schema 8).^[126] Beginnend mit dem Furanon **62**, das der in der Synthese von BB (**6**) auftretenden Zwischenstufe **39** ähnelt (Schema 5), führte eine intramolekulare Photocycloaddition ($\lambda > 350$ nm) diastereoselektiv zum Tetracyclus **63**, der zu GB (**2**) in Bezug auf die Ringe A, B und C analog ist. Nach Inversion des MOM-geschützten Alkohols und Bildung eines verbrückenden Lactons wurde der Pentacyclus **64** erhalten, der durch Ringerweiterung des Cyclobutanrings in sechs Stufen in das Tetrahydrofuran **65** überführt wurde (Schema 8). Dieses ist mit dem Intermediat **60** der Corey-Synthese vergleichbar (Schema 7), es fehlen aber entscheidende funktionelle Gruppen sowie die *tert*-Butylgruppe.^[126]

In der später abgeschlossenen Totalsynthese von GB (**2**, Schema 9) wurde die



Schema 6. Erste Studien zur Totalsynthese von Ginkgoliden.



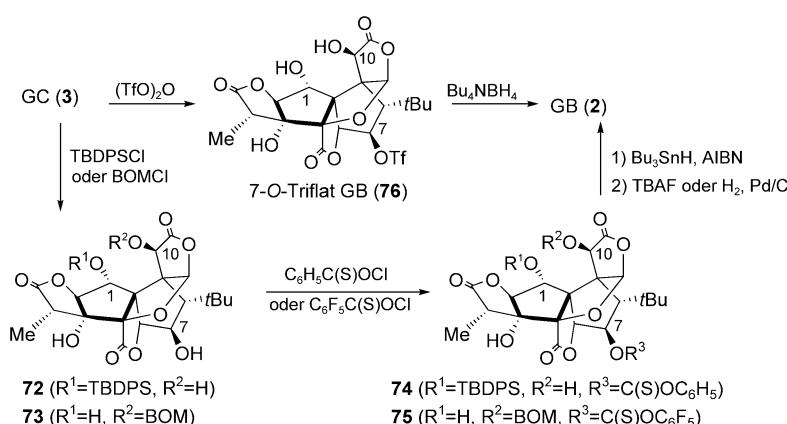
Schema 8. Für Totalsynthesestudien von Ginkgoliden entwickelte Photocycloaddition. MOM = Methoxymethyl.

Photocycloaddition schließlich erneut als ein Schlüsselschritt eingesetzt.^[127,128] Zuerst wurde **66** mithilfe eines Zink-Kupfer-Homoenolats in **67** überführt, das anschließend bei 366 nm in Hexanen bestrahlt wurde. Der Tetracyclus **68** mit zwei quartären Kohlenstoffzentren und den Ringen A, B und C von GB (**2**) wurde in hoher Ausbeute und mit ausgezeichneter Diastereoselektivität erhalten (Schema 9). Durch Hydrolyse des Triethylsilyl ethers, Mesylierung des resultierenden Alkohols und Behandlung mit Pyridinium-*p*-toluolsulfonsäure (PPTS) wurde in drei Stufen der Lactonring F erzeugt, wobei **69** in einer Gesamtausbeute von 63 % erhalten wurde. Eine Einkristall-Röntgenstrukturanalyse von **69** bestätigte die vorgeschlagene Konfiguration. In fünf Stufen wurde **69** zur Vorbereitung des THF-Ringschlusses in **70** überführt, der durch Umsetzung mit LDA und nachfolgende Einwirkung von Camphersulfonsäure (CSA) unter Bildung von **71** realisiert wurde. Der Umsetzung von **71** mit PPTS (Demethoxylierung des Ringes C) folgte eine Sharpless-Epoxidierung und die Addition von *p*-TsOH unter Bildung der bereits von Corey beschriebenen Vorstufe **61** (siehe Schema 7). Die Totalsynthese von GB (**2**) wurde in nur zwei Stufen ausgehend von **61** abgeschlossen (Schema 9).

4.2. Synthetische Modifikationen von Stammverbindungen

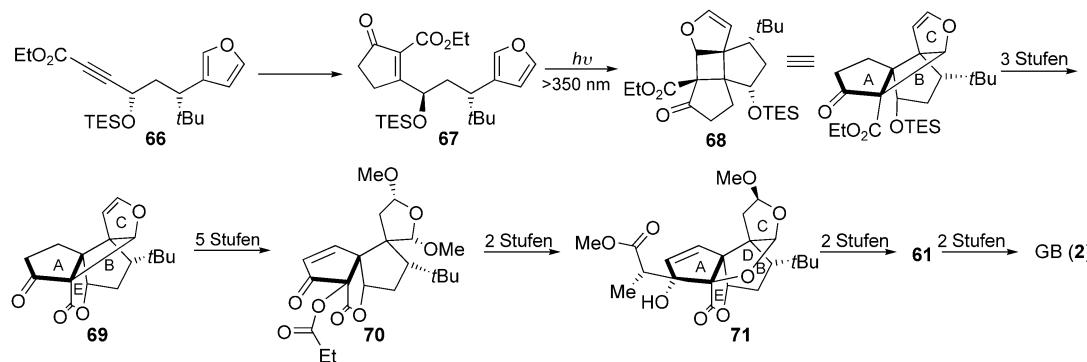
Neben den Totalsynthesestudien zu Ginkgoliden und Bilobalid aus leicht zugänglichen Ausgangsmaterialien wurden auch zahlreiche synthetische Modifikationen der Stammverbindungen hergestellt. Im Besonderen wurden mehrere Derivate für SAR-Studien mit dem PAF-Rezeptor synthetisiert (siehe Abschnitt 5.1.2).

Ein größeres Interesse bestand an der Umwandlung von GC (**3**) in GB (**2**), den wirksamsten PAFR-Antagonisten unter den Ginkgoliden; zwei Methoden sind hierzu beschrieben. Als erstes berichteten Weinges et al. über ein vierstufiges Verfahren, bei dem die 1-OH-Gruppe von GC (**3**) als *tert*-Butyldiphenylsilyl ether geschützt und das Produkt durch Reaktion mit Chlorthioameisensäure-*O*-phenylester in **74** umgewandelt wurde (Schema 10). Diese Verbindung wurde



Schema 10. Umwandlungen von GC (**3**) in GB (**2**). BOM = Benzyloxymethyl.

in einer Barton-McCombie-Alkoholdesoxygierung mit Bu_3SnH und Azobisisobutyronitril (AIBN) behandelt und nach Entfernung der Silylschutzgruppe als GB (**2**) freigesetzt.^[129] In einem ähnlichen Ansatz schützten Corey et al. die 10-OH-Gruppe in GC (**3**) als Benzyloxymethylether (**73**, Schema 10) und folgten einer ähnlichen Route zu GB (**2**).^[130] Ein sehr praktisches, zweistufiges Verfahren ist in einem Patent von Teng beschrieben,^[131] wonach GC (**3**) durch Reaktion mit Trifluoressigsäureanhydrid ausschließlich 7-*O*-

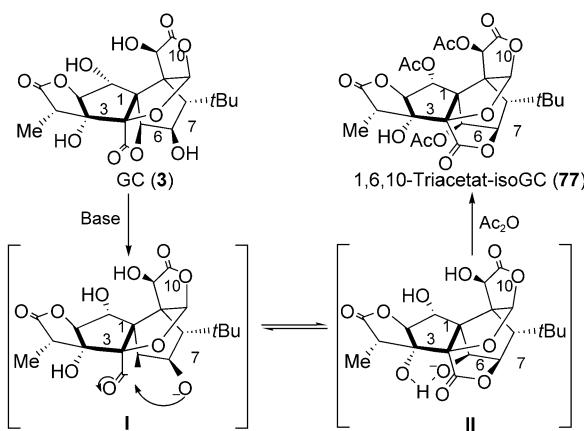


Schema 9. Totalsynthese von GB (**2**) nach Crimmins et al. TES = Triethylsilyl.

Triflat-GC (**76**) liefert, das sich mit Bu_4NBH_4 zu GB (**2**) reduzieren lässt (Schema 10).

Bemerkenswert ist die unterschiedliche Reaktivität der 1-, 7- und 10-OH-Gruppe der Ginkgolide: Eine sperrige Silylgruppe reagiert bevorzugt an der 1-OH-Gruppe, während Benzylreagentien an der 10-OH-Gruppe angreifen und Triflatanhdydrid ausschließlich an der 7-OH-Gruppe reagiert. In ähnlicher Weise zeigte sich kürzlich, dass die im Allgemeinen an der 10-OH-Gruppe stattfindende Acetylierung unter stark sauren Bedingungen an der 7-OH-Gruppe von GC (**3**) abläuft.^[132] Im Allgemeinen sind die 1- und 10-OH-Gruppen am reaktivsten, da sie untereinander Wasserstoffbrücken bilden und relativ leicht in ein delokalisiertes Alkoxyanion übergehen.^[130,132] Die erhöhte Reaktivität der 7-OH-Gruppe gegen Schwefel-Nucleophile könnte von dem weichen Charakter des Schwefelatoms herrühren.

Während der Strukturuntersuchungen von Ginkgoliden und Bilabolid wurden mehrere Analoga hergestellt, von denen einige in Abschnitt 2.1 erwähnt sind. Beschrieben sind acetylierte Ginkgolide und Bilabolid^[76,77] sowie „Isoderivate“, die aus einer Translactonisierung des Rings E in Ginkgoliden resultieren (Abbildung 3). Vor kurzem wurde eine Röntgenkristallstruktur des Isoderivats 1,6,10-Triacetat-isoGC (**77**, Schema 11) erhalten und ein Mechanismus zur



Schema 11. Mechanismus der Translactonisierung von GC (**2**) zu 1,6,10-Triacetat-isoGC (**77**).

Bildung von Isoderivaten vorgeschlagen. Dieser umfasst die Öffnung von Ring E, die Stabilisierung der Zwischenstufe durch Bildung einer Wasserstoffbrücke zu 3-OH und ein Abfangen durch Essigsäureanhydrid (Schema 11).^[132] Eine ähnliche Translactonisierung beschrieben Weinges et al. bei der Acetylierung von BB (**6**) und der Synthese verschiedener BB-Acyl-Derivate.^[78]

Weinges et al. führten zahlreiche Synthesestudien zu Ginkgoliden und Bilabolid durch.^[133–138] Eine neuere Untersuchung beschäftigte sich mit einer Methode zur Herstellung radioaktiv markierter Analoga der Ginkgolide, in diesem Fall [¹⁴C]-GA, wobei der eigentliche Radioligand nicht synthetisiert wurde.^[139] Nach einem partiellen Abbau von GA (**1**), der schon früher beschrieben wurde,^[135,136,138] erfolgte der Einbau des Lithiumenolats von Methylpropionat, das [¹⁴C]-markiert sein kann, sowie ein nachfolgender Ringschluss zu GA (**1**).^[139]

Zur Verwendung der Ginkgolide in pharmakologischen Tests muss wegen ihrer geringen Löslichkeit in Wasser gewöhnlich eine konzentrierte Stammlösung der Verbindung in Dimethylsulfoxid (DMSO) hergestellt werden. DMSO kann in bestimmten Testsystemen Probleme bereiten,^[140] jedoch sind derartige Effekte nicht generell zu beobachten.^[141] Um die Wasserlöslichkeit der Ginkgolide zu erhöhen, synthetisierten Weber und Vasella glycosyierte Ginkgolid-Derivate.^[142,143] Durch Glycosidierung der Ginkgolide mit einem von Glycosyldien abgeleiteten Diazirin wurde eine große Zahl glycosylierter Analoga erhalten. Die intra- und intermolekularen Bindungen sowohl dieser als auch der Stammverbindungen wurden mit ¹H-NMR-Spektroskopie untersucht.^[144]

Da die Ginkgolide drei Lactonringe enthalten (die Ringe C, E und F, Abbildung 3), hängen ihre Strukturen stark vom pH-Wert des Lösungsmittels ab. Zekri et al. bestimmten die Ionisierungskonstanten von Ginkgoliden durch ¹H-NMR-spektroskopische Titrationen.^[145] Diese zeigten, dass die Öffnung der Lactonringe bei etwa pH 7 einsetzt und dass bei pH 8 die Spezies, in der ausschließlich Ring F geöffnet ist, vorherrscht (ca. 50 %), während die Spezies mit geöffnetem Ring E in geringerem Anteil vorliegt (ca. 20 %). Bei Erhöhung des pH-Wertes auf 10 werden die Ringe E und F geöffnet (Anteil ca. 90 %). Erst bei pH 13 liegt die Spezies mit allen geöffneten Lactonringen in signifikanten Anteilen vor (ca. 40 %), ca. 60 % befinden sich aber noch in der Form, in der nur die Ringe E und F geöffnet sind.

5. Pharmakologische Wirkungen

Während eine Fülle von Studien zu *G. biloba*-Extrakten existiert, wurde die Wirkung der Einzelkomponenten, insbesondere der Flavonoide und TTLs, weit weniger untersucht. Flavonoide und TTLs werden als maßgebliche Komponenten für die meisten pharmakologischen Eigenschaften der *G. biloba*-Extrakte angesehen, und es wird vermutet, dass synergistische Effekte von Bedeutung sind. In jedem Fall ist die Untersuchung der Einzelkomponenten des *G. biloba*-Extrakts unabdingbar für eine genaue Dokumentation der potenziellen therapeutischen Wirkungen von *G. biloba*. Ein Hauptaspekt betrifft die Bioverfügbarkeit der Komponenten; es wird angenommen, dass die Flavonoide eine sehr niedrige Bioverfügbarkeit haben,^[21] während die TTLs, insbesondere GA (**1**) und GB (**2**), wohl fast vollständig bioverfügbar sind.^[146–148] Dies belegt erneut, dass die TTLs bei der Einstufung von *G. biloba*-Komponenten besondere Beachtung verdienen.

5.1. Ginkgolide und der PAF-Rezeptor

1985 wurde entdeckt, dass Ginkgolide, insbesondere GB (**2**), Antagonisten des PAF-Rezeptors sind.^[149,150] Dies führte zu ausführlichen Tests von GB (BN 52021) als PAFR-Antagonist in klinischen Anwendungen,^[13] aber wie alle anderen Antagonisten des PAFR wurde GB (**2**), hauptsächlich wegen mangelnder Wirksamkeit, niemals als Medikament angemeldet.

det. Die klinischen Tests ergaben jedoch, dass GB (2) gut verträglich ist und nur geringe bis keine Nebenwirkungen hat. Gegenwärtig ist die Wechselwirkung zwischen GB (2) und dem PAFR die am intensivsten untersuchte Aktivität von TTLs.

5.1.1. PAFR-Rezeptor

Der PAFR gehört zur Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (GPCRs). Er wurde in einer Reihe von Zellen und Geweben, auch des Zentralnervensystems (ZNS), identifiziert. Im Sägerhirn wurden maximale Expressionsspiegel im Mesencephalon und im Hippocampus und niedrigere im olfaktorischen Bulbus, im frontalen Cortex und im Cerebellum festgestellt.^[151] PAF (1-*O*-Alkyl-2-acetyl-*sn*-glycero-3-phosphocholin, **78**, Abbildung 7), der native Phospholipid-

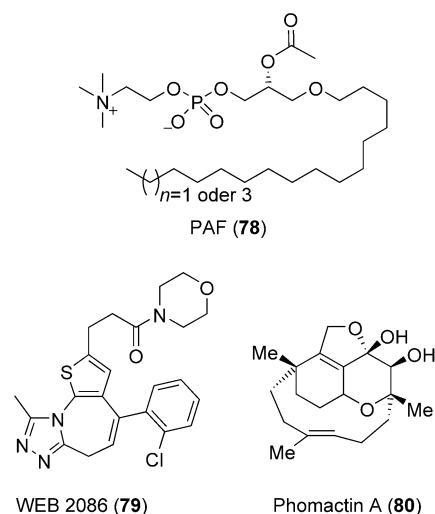


Abbildung 7. Strukturen von PAFR-Liganden.

agonist des PAFR, ist ein potenter Bioregulator, der an der Modulation verschiedener ZNS- und peripherer Prozesse beteiligt ist.^[152] PAFR-Antagonisten wurden zur Behandlung entzündlicher Erkrankungen vorgeschlagen und von mehreren pharmazeutischen Firmen als entzündungshemmende Wirkstoffe getestet. Bis heute ist zwar kein PAFR-Antagonist als Medikament angemeldet, neueste Resultate weisen aber darauf hin, dass eine Kombination von Antibiotika und PAFR-Antagonisten zur Behandlung von Atemwegs-Infektionen eingesetzt werden könnte.^[153]

PAF ist an mehreren Prozessen im ZNS beteiligt, darunter an der Modulation der Langzeitpotenzierung (LTP),^[154–157] der Erhöhung der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration^[158] und der frühen Gen-Expression.^[159–161] Es wird angenommen, dass PAF als retrograder Messenger in der LTP fungiert,^[154] allerdings wurden in PAFR-Tests an Knock-out-Mäusen unterschiedliche Befunde erhalten: Shimizu et al. zeigten, dass der PAFR in der hippocampalen CA1-Region nicht für LTP benötigt wird,^[162] während nach Chen et al. LTP in hippocampalen Neuronen geschwächt wird.^[163]

Der Mechanismus, nach dem PAFR und PAF im Zentralnervensystem wechselwirken, ist unklar.^[164] Der PAFR

wurde kürzlich als Target vorgeschlagen, um das Fortschreiten neurodegenerativer Krankheiten zu verzögern.^[165] Er ist damit eine wichtige Komponente bei der Entschlüsselung der neuroregulatorischen Wirkungen von TTLs.^[166,167]

5.1.2. SAR-Studien mit Ginkgoliden

Eine bemerkenswerte Eigenschaft der PAFR-Antagonisten ist ihre strukturelle Diversität, die von WEB2086 (**79**) und Phomactin A (**80**) (Abbildung 7) bis hin zu den Ginkgoliden reicht. Strukturell unterscheiden sich alle stark vom PAF, sind aber dennoch kompetitive Antagonisten. Bis vor kurzem konzentrierten sich die SAR-Studien auf Derivate von Ginkgolid B (GB, **2**), dem potentesten Antagonisten des PAFR. Bei diesen Untersuchungen wurden die Derivate hinsichtlich ihrer Fähigkeit evaluiert, eine PAF-induzierte Aggregation von Blutplättchen (im Kaninchen) zu verhindern.

In ersten Untersuchungen zur PAFR-Inhibierung war GB (2) mit einem IC_{50} von 0.25 μM das wirksamste TTL, GA (**1**) war etwas weniger wirksam und GC (**3**) erwies sich als sehr schwacher Antagonist (Tabelle 1).^[149] Durch Reaktion mit Diazoalkanen an C-1 oder C-10 wurden Methoxy- und

Tabelle 1: Pharmakologische Aktivität der Methoxy- und Ethoxyanaloga von GA (**1**), GB (**2**) und GC (**3**).

| Verbindung | R ¹ | R ² | R ³ | IC_{50} [μM] |
|-----------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------|------------------------------------|
| GA (1) | H | H | H | 0.74 |
| GB (2) | OH | H | H | 0.25 |
| GC (3) | OH | H | OH | 7.1 |
| 10-Me-GA | H | CH ₃ | H | 13 |
| 10-Et-GA | H | CH ₃ CH ₂ | H | 62 |
| 1-Me-GB | OCH ₃ | H | H | 0.66 |
| 10-Me-GB | OH | CH ₃ | H | 0.29 |
| 1-Et-GB | OCH ₃ CH ₂ | H | H | 1.1 |
| 10-Et-GB | OH | CH ₃ CH ₂ | H | 7.2 |
| 1-Me-GC | OCH ₃ | H | OH | 4.2 |
| 10-Me-GC | OH | CH ₃ | OH | 3.0 |
| 1-Et-GC | OCH ₃ CH ₂ | H | OH | 8.5 |
| 10-Et-GC | OH | CH ₃ CH ₂ | OH | 9.3 |

Ethoxyanaloga von GA (**1**), GB (**2**) und GC (**3**) synthetisiert, wobei säulenchromatographisch trennbare Mischungen von 1- und 10-substituierten Analoga erhalten wurden.^[168] Interessanterweise waren die 1- und 10-Methoxyanaloga von GB (**2**) äquipotent zu GB (**2**), während die entsprechenden Ethoxyanaloga weniger wirksam waren. Die 10-substituierten Analoga von GA (**1**) waren bedeutend weniger aktiv als GA (**1**), während Methyl-Analoga von GC wirksamer und Ethyl-Analoga äquipotent zu GC (**3**) waren (Tabelle 1).

Corey et al. untersuchten die Aktivität einer Reihe von Zwischenstufen der Totalsynthesen von GA (**1**)^[118] und GB

(2).^[119] Sie fanden heraus, dass der Lactonring F (siehe Abbildung 3) für die Aktivität nicht entscheidend und durch andere lipophile Gruppen ersetzbar ist,^[169] dagegen war die ungewöhnliche *tert*-Butylgruppe essenziell für Aktivität.^[125] Vilhauer und Anderson synthetisierten mit der Verbindung 54 (Abschnitt 4.1.2, Schema 6) das CDE-Ringsystem von Ginkgoliden und untersuchten ihre Eigenschaften als PAFR-Antagonist.^[114] Diese Einheit der Ginkgolid-Struktur erwies sich als unwirksamer PAFR-Antagonist, was wichtige Informationen über die strukturellen Anforderungen für Ginkgolide zur PAFR-Inhibierung erbrachte.

Die umfassendsten SAR-Studien zu Ginkgoliden und PAFR führten Park et al. durch, die mehr als 200 Derivate von GB (2), vornehmlich mit aromatischen Substituenten am 10-OH, synthetisierten.^[170] Diese Derivate wurden im Allgemeinen durch Behandlung von GB (2) mit einer Base und einem Benzylhalogenid synthetisiert, wobei in den meisten Fällen eine selektive Derivatisierung an der 10-OH-Gruppe erreicht wurde. Die meisten der 10-O-benzylierten Derivate waren wirksamer als GB ($IC_{50} = 0.258 \mu\text{M}$). So zeigte z. B. 10-(3,5-Dimethyl-2-pyridinyl)methoxy-GB ($IC_{50} = 0.0245 \mu\text{M}$) eine zehnfach höhere Aktivität als GB (2). Die gleiche Arbeitsgruppe untersuchte auch Eliminierungsprodukte von GB sowie 1-10-verbrückte Derivate, allerdings zeigten diese Analoga eine weitaus geringere Wirksamkeit als GB (2).^[171] Mit einem leicht modifizierten Verfahren synthetisierten Hu et al. ähnliche (und teilweise identische) Derivate wie Park et al. Wenig überraschend war, dass sich auch in diesen Studien benzylierte GB-Derivate als wirksamere Inhibitoren als GB (2) herausstellten.^[172,173] Des Weiteren synthetisierten Hu et al. unterschiedliche Abbau- und Eliminierungsprodukte von GA (1) und GB (2) sowie Amid-Derivate, denen die Ringe C und D fehlten (Abbildung 3). In allen Fällen war aber ein verringelter PAFR-Antagonismus zu beobachten.^[174,175]

Ein Ziel der SAR-Studien ist die Aufstellung eines Pharmakophormodells, das die Aktivität synthetischer Derivate erklärt und die Aktivität neuartiger Derivate voraussagt. Eine dreidimensionale quantitative SAR(3D-QSAR)-Studie^[176] für Ginkgolide und den PAFR wurde unter Anwendung der vergleichenden molekularen Feldanalyse (comparative molecular field analysis; CoMFA) mit 25 hauptsächlich von Corey et al. synthetisierten Ginkgolid-Analoga unternommen.^[118,119,169] In Übereinstimmung mit den kürzlich beschriebenen SAR-Studien sagte dieses Pharmakophormodell voraus, dass Substituenten in der 10-OH-Position von GB die Aktivität erhöhen. Eine Dichtefunktional(DFT)-Rechnung zu GB (2) bestätigte außerdem die röntgenstrukturanalytisch bestimmte Struktur im Kristall. IR-Streckschwingungsbanden wurde ebenfalls mithilfe von DFT-Rechnungen vorausgesagt.^[177]

Die Wechselwirkungen zwischen Ginkgoliden und dem PAFR auf molekularer Ebene lassen sich mit Photomarkierungstechniken aufklären. Hierzu stellten wir unlängst photoaktivierbare Derivate von GB (2) und GC (3) her.^[141] In diesen Arbeiten wurden hoch potente Analoga ermittelt, wobei Derivate mit 4-(Brommethyl)benzophenon- (81), Trifluormethylidiazirin- (82) und Tetrafluorphenylazid-Gruppen (83) in der 10-OH-Position von GB (Abbildung 8) mit K_i -

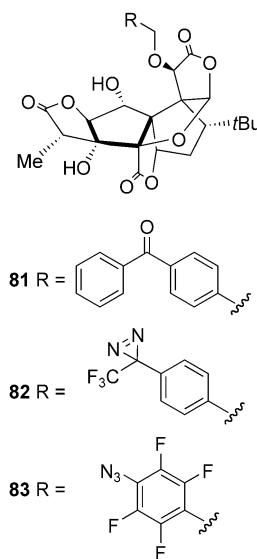


Abbildung 8. Photoaktivierbare Analoga von Ginkgoliden.

Werten von 90 bis 150 nm am aktivsten waren. Diese Derivate sind vielversprechende Substanzen zur Charakterisierung der PAFR-Ginkgolid-Wechselwirkungen. Die Untersuchung lieferte auch die erste Evaluierung der Wechselwirkungen zwischen Ginkgoliden und kloniertem PAFR mithilfe eines Radioligand-Bindungsassays. Nach einer weiteren Studie, in der die Wirkung von Acetatderivaten der Ginkgolide untersucht wurde, verringert Acetylierung generell die antagonistischen Effekte am PAFR,^[132] was darauf hindeutet, dass GB-Diazoacetate für Photomarkierungsstudien wohl ungeeignet sind. Eine der neuesten Untersuchungen beschäftigte sich mit dem Effekt einer Substitution an der 7-Position von Ginkgoliden. Anders als bei früheren Studien zeigte sich, dass durch Einführung eines Chlorsubstituenten äußerst potente Ginkgolid-Derivat erhalten werden; so war 7-Chlor-GB mit $K_i = 110 \text{ nm}$ achtmal wirksamer als GB (2).^[178]

Die große Zahl an Ginkgolid-Derivaten, die hergestellt und auf ihre Wirkung als PAFR-Antagonisten getestet wurden, führte zu einem besseren Verständnis der entscheidenden strukturellen Eigenschaften (Abbildung 9). Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um sowohl die molekulare strukturelle Wechselwirkung von TTLs mit dem PAFR als auch die potenziellen physiologischen Wirkungen auf Funktionen des Zentralnervensystems aufzuklären.

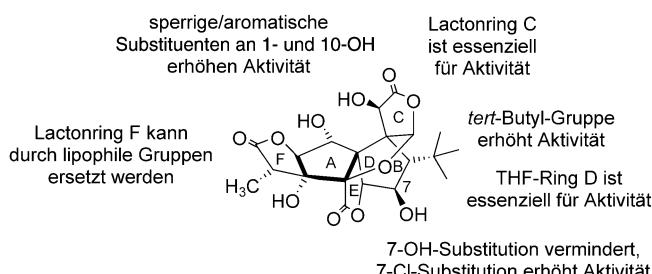


Abbildung 9. Übersicht über das Resultat der SAR-Studien zu Ginkgoliden und dem PAFR.

5.2. Ginkgolide und Glycin-Rezeptoren

Das bis vor kurzem einzige bekannte spezifische Target für Ginkgolide war der PAFR, dessen Bedeutung für die Funktion des Zentralnervensystems allerdings noch unklar ist. Erste Hinweise darauf, wie Ginkgolide im Zentralnervensystem wirken, lieferte der Befund, dass GB (2) ein potenter und selektiver Antagonist von Glycin-Rezeptoren (GlyRs) ist.^[179-181] GlyRs finden sich hauptsächlich im Rückenmark und im Hirnstamm, aber auch in höheren Gehirnbereichen wie dem Hippocampus, und sind zusammen mit den γ -Aminobuttersäure-Rezeptoren (GABA_ARs) die wichtigsten inhibierenden Rezeptoren im Zentralnervensystem.^[182,183] GlyRs und GABA_ARs sind ligandengesteuerte („ligand-gated“) Ionenkanäle, die zusammen mit dem nicotinischen Acetylcholin(nACh)- und dem Serotonin(5-HT₃)-Rezeptor eine Überordnung von Membranrezeptoren bilden, die schnelle synaptische Übertragungen im Zentralnervensystem vermitteln.^[184] GlyRs teilen einige Strukturmerkmale mit diesen Rezeptoren, einschließlich einer pentameren Anordnung von Untereinheiten, die jeweils aus vier Transmembrandomänen (M1-M4) und einer extrazellulären N-terminalen Cystein-Schleife aus 15 Aminosäureresten bestehen.^[185] In jüngster Zeit hat sich das Interesse an Liganden für GlyRs wieder verstärkt, da Modulatoren der GlyR-Funktion als Muskelrelaxantien sowie als Sedativa und Analgetika eingesetzt werden könnten.^[186]

Elektrophysiologischen Studien zufolge antagonisiert GB (2) Glycin-Rezeptoren in neocortikalen Abschnitten^[181] und hippocampalen Zellen.^[179] Die Inhibition ist nichtkompetitiv, bedarfsabhängig und wahrscheinlich spannungsabhängig, was darauf hindeutet, dass GB (2) an die zentrale Pore des Ionenkanals bindet. Ebenfalls wurde gezeigt, dass GC (3) und GM (5) fast äquipotent zu GB (2) sind, während sich GA (1) und GJ (4) als bedeutend weniger wirksam erwiesen,^[180,181] was auf eine entscheidende Rolle der in GB (2), GC (3) und GM (5) vorhandenen, aber in GA (1) und GJ (4) fehlenden 1-OH-Gruppe hindeutet. Diese Annahme bestätigten Molecular-Modeling-Studien, denen zufolge eine auffallende Strukturübereinstimmung zwischen Picrotoxinin, einem GABA_AR- und GlyR-Antagonisten, und Ginkgoliden besteht.^[181] Daher sind Ginkgolide äußerst nützlich für pharmakologische Studien der Funktion und der Eigenschaften von GlyRs. Wie in Abschnitt 5.5 beschrieben wird, könnte die Antagonisierung von inhibierenden Rezeptoren aber zu ernsthaften Folgen bei der Einnahme von *G. biloba*-Extrakt führen.

5.3. Ginkgolide und der periphere Benzodiazepin-Rezeptor (PBR)

Benzodiazepine werden als Antikonvulsiva und Anxiolytika klinisch eingesetzt. Ihre Wirkung beruht auf der Bindung an eine spezifische Benzodiazepin-Bindungsstelle auf im Zentralnervensystem befindlichen GABA_ARs. Benzodiazepine binden jedoch auch an Rezeptoren im peripheren Gewebe und in Glialzellen des Gehirns. Solche peripheren Benzodiazepin-Rezeptoren (PBRs)^[187,188] befinden sich typischerweise auf den äußeren Membranen von Mitochondrien.

Die Funktion der PBRs ist nicht völlig verstanden, es wurde aber vorgeschlagen, dass sie bei der Steroidgenese, der Zellproliferation sowie bei Stress- und Angststörungen eine Rolle spielen. Diese Annahme stützt sich auf den Befund, dass bei neurodegenerativen Störungen und nach Hirnschädigungen eine erhöhte PBR-Konzentration in spezifischen Hirnregionen vorliegt.^[187]

Aus mehreren Untersuchungen geht hervor, dass Ginkgolide, besonders GA (1) und GB (2), PBRs modulieren können. Zunächst wurde gezeigt, dass die nachlassende Fähigkeit der PBRs zur Ligandenbindung mit einer abnehmenden Protein- und der mRNA-Expression einhergeht.^[189] Dies führte zu der Annahme, dass die neuronale Schutzwirkung von GA (1) und GB (2) mit ihrem Einfluss auf die Glucocorticoid-Biosynthese zusammenhängt.^[189,190] Neueren Studien zufolge besteht die primäre Wirkung von GB (2) in der Inhibition der PBR-Expression,^[191] die durch die Bindung an einen Transkriptionsfaktor vermittelt wird. Es wurde vorgeschlagen, dass GB (2) eine Glucocorticoid-Überproduktion durch die PBR-gesteuerte Steroidgenese reguliert.^[192,193]

5.4. Verschiedene Wirkungen der Ginkgolide

Die oben beschriebenen Wechselwirkungen der Ginkgolide mit PAFRs, GlyRs und PBRs sind die am besten charakterisierten Wechselwirkungen von Ginkgoliden mit Targets im Zentralnervensystem. In zahlreichen Tests mit verschiedenen Geweben und Bedingungen wurden weitere Wirkungen von Ginkgoliden beobachtet. Keine dieser Studien ergab ein eindeutiges Target für Ginkgolide, stattdessen wurde eine Vielzahl pharmakologischer Effekte beobachtet, die mit den beschriebenen Targets in Beziehung stehen könnten oder nicht.

Mehrere Studien deuten darauf hin, dass Ginkgolide gegen unterschiedliche Beeinträchtigungen des Zentralnervensystems wirken, z.B. gegen Ischämie, zerebrovaskuläre und traumatische Hirnverletzung und Entzündungen.^[18] Es wird angenommen, dass GB (2) die post-ischämische Produktion von freien Sauerstoffradikalen einschränkt,^[194] und es ist belegt, dass GA (1) und GB (2) eine durch Glutamat induzierte Schädigung neuronaler^[195] und hippocampaler Zellen^[196] verhindert. GB (2) wurde eine schützende Wirkung gegen die Abnahme der Aktivität von hippocampalen Ca²⁺/Calmodulin-abhängiger Proteinkinase II (CaMKII) nach zerebraler Ischämie zugeschrieben.^[197] Dies ist insofern interessant, als CaMKII an der Langzeitpotenzierung beteiligt sein soll, was die neuroregulativen Effekte der Ginkgolide erklären würde.

Weiteren Untersuchungen zufolge reduzieren GA (1) und GB (2) die Menge der durch induzierbare NO-Synthase (iNOS) produzierten, potenziell cytotoxischen Stickoxide,^[198] ein auch mit BB (6) beobachteter Effekt. Auch cardioprotektive Wirkungen der Ginkgolide wurden nachgewiesen, wobei GA (1) am wirksamsten war.^[194,199] Um zu beweisen, dass diese Wirkung nicht mit einem PAFR-Antagonismus verbunden ist, wurde ein GC-Derivat mit einer Tolylgruppe in der 7-OH-Position synthetisiert. Dieses Derivat zeigte eine höhere cardioprotektive Aktivität als GB (2) und GC (3),

während es bei 120 μM keine Wirkung am PAFR hatte.^[200] Schließlich belegten die wenigen klinischen Studien mit GB (2) dessen Einfluss auf periphere Ereignisse, z.B. bei Gram-negativ-induziertem septischem Schock^[201] und post-transplantatorischem Nierenversagen.^[202] Wahrscheinlichste Ursache ist eine Inhibition des PAFR.

5.5. Bilobalid

Bilobalid (BB, 6) ist das am meisten vorkommende TTL im standardisierten *G.-biloba*-Extrakt EGb 761. Für BB (6) wurde kein spezifisches Target identifiziert, sodass auch keine SAR-Studien ausgeführt wurden. Da BB (6) wesentlich labiler ist als die Ginkgolide, ist seine Chemie relativ begrenzt, dementsprechend wurden bislang lediglich Acetylierungen erfolgreich ausgeführt.^[75-78] Obwohl kein spezifisches Target identifiziert wurde, deutet eine Fülle pharmakologischer Hinweise darauf hin, dass BB (6) wichtige neuroregulative Eigenschaften haben könnte.^[203]

Mehreren Studien zufolge beeinflusst BB (6) die wichtigsten Neurotransmitter im Gehirn, nämlich Glutamat und γ -Aminobuttersäure (GABA). Es wurde bewiesen, dass BB (6) eine antikonvulsive Wirkung gegen Isoniazid-, Pentylenetetrazol- und 4-*O*-Methylpyroxidin-induzierte Konvulsionen hat.^[204,205] Sehr wahrscheinlich wird dieser Effekt durch erhöhte GABA- und Glutaminsäuredcarboxylase(GAD)-Spiegel in unterschiedlichen Bereichen im Mäusehirn vermittelt.^[206,207] Außerdem induzierte BB (6) in hippocampalen Hirnschnitten der Ratte eine verstärkte Erregbarkeit und schwächte die inhibitorische Wirkung von Muscimol, einem potennten GABA_AR-Agonisten. Dies bedeutet, dass BB (6) die mit GABA verbundene Transmission reduziert,^[208] was früheren Ergebnissen derselben Arbeitsgruppe zu widersprechen scheint.

Vor kurzem wurde eindeutig nachgewiesen, dass BB (6) ein GABA_AR-Antagonist ist. In neocortikalen Abschnitten von Rattenhirnen fungierte BB (6) als schwacher ($\text{IC}_{50} = 46 \mu\text{M}$), nichtkompetitiver Antagonist,^[181] war aber potenter bei rekombinanten $\alpha_1\beta_1\gamma_2\text{L}$ -GABA_ARs und zeigte ein gewisses Maß an kompetitivem Antagonismus.^[209] Da Antagonisten von GABA_ARs bekanntermaßen Konvulsiva sind, könnte dies ein Risiko bei der Einnahme des *G.-biloba*-Extrakts mit sich bringen. Untermauert wird dies durch Studien an zwei Epilepsie-Patienten, die bei Einnahme von *G.-biloba*-Extrakt eine erhöhte Anfallhäufigkeit zeigten. Nach Stopp der Verabreichung normalisierte sich der Zustand.^[210] Diesen Ergebnissen zufolge sollten Personen mit einer niedrigen Anfallsschwelle, z.B. Epilepsiepatienten, *G.-biloba*-Extrakte mit Vorsicht anwenden.

In kortikalen Hirnschnitten der Ratte unter Hypoxie/Hypoglykämie-Bedingungen reduzierte Bilobalid signifikant die Freisetzung von Glutamat, was darauf schließen lässt, dass die neuronalen Schutzwirkungen von BB (6) durch einen verringerten Glutamat-Ausstrom und eine dementsprechend verringerte Excitotoxizität vermittelt sein könnten.^[211] Es zeigte sich auch, dass BB (6) die Kalium- und Veratridin-induzierte Freisetzung von stimulierenden Aminosäuren wie Glutaminsäure und Asparaginsäure reduzieren und die Wirk-

kung des GABA-Aufnahme-Inhibitors NO-711 blockieren könnte.^[212] Weichel et al. fanden heraus, dass BB (6) den *N*-Methyl-*D*-aspartat(NMDA)-induzierten Phospholipid-Breakdown im Rattenhippocampus inhibiert und schlugen einen dem NMDA-Rezeptor nachgeschalteten Effekt vor.^[213] Kürzlich wurde aber erkannt, dass BB (6) NMDA-induzierte Depolarisationen nicht beeinflusst, was stark darauf hinweist, dass es keine Wirkung auf den NMDA-Rezeptor ausübt.^[212] Potenzielle medizinische Anwendungen von BB (6) sind in Patenten niedergelegt. Dazu gehören der Einsatz von BB (6) zum Schutz von Neuronen gegen Ischämie,^[214] als Antikonvulsivum^[215] und zur Behandlung von Stress- und Angstzuständen.^[216]

Zwei weitere Targets für BB (6) sind Phospholipase A₂ (PLA₂) und die mitochondriale Atmung. BB (6) inhibiert die Gehirn-PLA₂-Aktivität und den hypoxieinduzierten Anstieg des Cholin-Einstroms^[213,217,218] und schützt außerdem vor hypoxieinduzierter PLA₂-Aktivierung.^[219,220] Eine weitere Untersuchung wies auf eine neuronale Schutzwirkung durch die Verkleinerung des Infarktbereichs im Gehirn nach einer Ischämie hin.^[221] Eine Reihe von Studien deckte auf, dass BB (6) insbesondere unter ischämischen Bedingungen an der mitochondrialen Atmung beteiligt ist.^[222] Ebenso wurde gezeigt, dass BB (6) den Glucose-Transport unter normoxischen, aber nicht unter hypoxischen Bedingungen erhöht, dass es die Atmungsregulation von Mitochondrien steigert und durch Verstärkung der Atmungseffizienz einen ATP-Schwund verhindert.^[223] Schließlich gibt es Hinweise, dass der Einfluss von EGb 761 auf die β -Amyloid-Aggregation und der mögliche Schutz gegen AD zumindest zum Teil durch BB (6) vermittelt ist.^[39] Um dies zu bestätigen, sind jedoch weitere Untersuchungen notwendig.

6. Zusammenfassung und Ausblick

Die Bilobalid- und Ginkgolid-Strukturen sind seit etwa 35 Jahren bekannt und waren seitdem Gegenstand einer Vielzahl chemischer und biologischer Studien. Die Totalsynthesen dieser komplexen Naturstoffe zählen zu den größten Leistungen in der Naturstoffsynthese. Eine erste signifikante biologische Aktivität der Ginkgolide wurde 1985 entdeckt, als nachgewiesen wurde, dass sie potente Antagonisten des PAF-Rezeptors sind. Ginkgolide und Bilobalid wurden in vielen pharmakologischen Tests charakterisiert. Besonders wichtig sind neuere Befunde einer antagonisierenden Wirkung gegen inhibierende Rezeptoren im Gehirn.

In den letzten Jahren hat die Literatur über *G. biloba* im Allgemeinen und zu Terpentrilactonen im Besonderen rasant an Umfang gewonnen. Sicher werden neue biologische Targets entdeckt und schon bekannte Targets noch gründlicher erforscht werden. Ziel ist ein tieferes Verständnis der Ligand-Rezeptor-Wechselwirkungen auf der Ebene molekularer Strukturen, wodurch neue Einblick in die Wirkungen der einzigartigen Komponenten dieser ältesten lebenden Pflanze möglich werden.

Wir danken Professor Teris A. van Beek (Wageningen), Sonja Krane (Columbia) und Stine B. Vogensen (Kopenhagen) für

ihre Anmerkungen und Vorschläge zum Manuskript. Unser Dank gilt einem Gutachter und Professor David E. Cane (Providence) für kritische Anmerkungen zum Abschnitt über die Ginkgolid-Biosynthese. Wir danken Professor Rasmus P. Clausen (Kopenhagen), Stanislav Jaracz und Dr. Michele Benedetti (Columbia) für ihre Beiträge zum Bildmaterial. Wir danken den National Institutes of Health (Grant MH 68817) für finanzielle Unterstützung (K.N.) sowie der Firma Memory Pharmaceuticals Corp. K.S. dankt der Alfred Benzon Foundation für ein Postdoc-Stipendium.

Eingegangen am 15. April 2003 [A601]
Übersetzt von Dr. Klaus Rabe, Kiel

- [1] *Med. Aromat. Plants Ind. Profiles* **2000**, 12, 548.
- [2] *Ginkgo Biloba—A Global Treasure* (Hrsg.: T. Hori, R. W. Ridge, W. Tulecke, P. Del Tredici, J. Trémouillaux-Guiller, H. Hobe), Springer, Tokio, **1997**, S. 427.
- [3] F. V. DeFeudis, *Ginkgo Biloba Extract (EGb 761): From Chemistry to the Clinic*, Ullstein Medical, Wiesbaden, **1998**, S. 401.
- [4] *Ginkgolides. Chemistry, Biology, Pharmacology, and Clinical Perspectives* (Hrsg.: P. Braquet), Prous, Barcelona, **1988**, S. 794.
- [5] P. Braquet, A. Esanu, E. Buisine, D. Hosford, C. Broquet, M. Koltai, *Med. Res. Rev.* **1991**, 11, 295.
- [6] P. Braquet, *Drugs Future* **1987**, 12, 643.
- [7] Z. Zhou, S. Zheng, *Nature* **2003**, 423, 821.
- [8] R. T. Major, *Science* **1967**, 157, 1270.
- [9] B. P. Jacobs, W. S. Browner, *Am. J. Med.* **2000**, 108, 341.
- [10] D. L. Royer, S. L. Wing, D. J. Beerling, D. W. Jolley, P. L. Koch, L. J. Hickey, R. A. Berner, *Science* **2001**, 292, 2310.
- [11] G. J. Retallack, *Nature* **2001**, 411, 287.
- [12] J. W. Goethe, *West-östlicher Divan*, Tübingen, **1819**.
- [13] K. Drieu, H. Jaggy, *Med. Aromat. Plants Ind. Profiles* **2000**, 12, 267.
- [14] K. Wada, *Med. Aromat. Plants Ind. Profiles* **2000**, 12, 453.
- [15] Y. Kajiyama, K. Fujii, H. Takeuchi, Y. Manabe, *Pediatrics* **2002**, 109, 325.
- [16] D. J. McKenna, K. Jones, K. Hughes, *Altern. Ther. Health Med.* **2001**, 7, 70.
- [17] W. Schmid, *Nature* **1997**, 386, 755.
- [18] K. MacLennan, C. L. Darlington, P. F. Smith, *Prog. Neurobiol.* **2002**, 67, 235.
- [19] C. L. Darlington, P. F. Smith, K. MacLennan, *Med. Aromat. Plants Ind. Profiles* **2000**, 12, 331.
- [20] G. Di Renzo, *Fitoterapia* **2000**, 71, S43.
- [21] F. V. DeFeudis, K. Drieu, *Curr. Drug Targets* **2000**, 1, 25.
- [22] Y. Luo, *J. Alzheimer's Dis.* **2001**, 3, 401.
- [23] M. Blumenthal, W. R. Busse, A. Goldberg, J. Gruenwald, T. Hall, S. Klein, C. Riggins, R. S. Rister, *The Complete German Commission E Monographs: Therapeutic Guide to Herbal Medicines*, American Botanical Council, Austin, **1998**, S. 136.
- [24] T. Itil, D. Martorano, *Psychopharmacol. Bull.* **1995**, 31, 147.
- [25] M. Zimmermann, F. Colciaghi, F. Cattabeni, M. Di Luca, *Cell. Mol. Biol.* **2002**, 48, 613.
- [26] C. Cohen-Salmon, P. Venault, B. Martin, M. J. Raffalli-Sebille, M. Barkats, F. Clostre, M. C. Pardon, Y. Christen, G. Chapoultier, *J. Physiol.* **1997**, 91, 291.
- [27] D. M. Warburton, *Br. J. Clin. Pharmacol.* **1993**, 36, 137.
- [28] S. Kanowski, W. M. Hermann, K. Stephan, W. Wierich, R. Horr, *Pharmacopsychiatry* **1996**, 29, 47.
- [29] P. L. Le Bars, M. M. Katz, N. Berman, T. M. Itil, A. M. Freedman, A. F. Schatzberg, *JAMA J. Am. Med. Assoc.* **1997**, 278, 1327.
- [30] P. L. Le Bars, F. M. Velasco, J. M. Ferguson, E. C. Dessain, M. Kieser, R. Hoerr, *Pharmacopsychiatry* **2002**, 45, 19.
- [31] B. J. Diamond, S. C. Shiflett, N. Feiwell, R. J. Mathies, O. Noskin, J. A. Richards, N. E. Schoenberger, *Arch. Phys. Med. Rehabil.* **2000**, 81, 668.
- [32] J. Kleijnen, P. Knipschild, *Lancet* **1992**, 340, 1136.
- [33] J. Kleijnen, P. Knipschild, *Br. J. Clin. Pharmacol.* **1992**, 34, 352.
- [34] S. Logani, M. C. Chen, T. Tran, T. Le, R. B. Raffa, *Life Sci.* **2000**, 67, 1389.
- [35] B. S. Oken, D. M. Storzbach, J. A. Kaye, *Arch. Neurol.* **1998**, 55, 1409.
- [36] B. Søholm, *Adv. Ther.* **1998**, 15, 54.
- [37] M. C. J. M. van Dongen, E. van Rossum, P. Knipschild, *Med. Aromat. Plants Ind. Profiles* **2000**, 12, 385.
- [38] Z. Yao, K. Drieu, V. Papadopoulos, *Brain Res.* **2001**, 889, 181.
- [39] Y. Luo, J. V. Smith, V. Paramasivam, A. Burdick, K. J. Curry, J. P. Buford, I. Khan, W. J. Netzer, H. Xu, P. Butko, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 12197.
- [40] S. Bastianetto, C. Ramassamy, S. Dore, Y. Christen, J. Poirer, R. Quirion, *Eur. J. Neurosci.* **2000**, 12, 1882.
- [41] J. Hardy, D. J. Selkoe, *Science* **2002**, 297, 353.
- [42] C. M. H. Watanabe, S. Wolffram, P. Ader, G. Rimbach, L. Packer, J. J. Maguire, P. G. Schultz, K. Gohil, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 6577.
- [43] K. Gohil, L. Packer, *Cell. Mol. Biol.* **2002**, 48, 625.
- [44] J. Polich, R. Gloria, *Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp.* **2001**, 16, 409.
- [45] D. O. Kennedy, A. B. Scholey, K. A. Wesnes, *Psychopharmacology* **2000**, 151, 416.
- [46] U. Rigney, S. Kimber, I. Hindmarch, *Phytother. Res.* **1999**, 13, 408.
- [47] C. Stough, J. Clarke, J. Lloyd, P. J. Nathan, *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **2001**, 4, 131.
- [48] P. R. Solomon, F. Adams, A. Silver, J. Zimmer, R. De Veaux, *JAMA J. Am. Med. Assoc.* **2002**, 288, 835.
- [49] P. L. Moulton, L. N. Boyko, J. L. Fitzpatrick, T. V. Petros, *Physiol. Behav.* **2001**, 73, 659.
- [50] C. Kenney, M. Normann, M. Jacobsen, S. Lampinen, D. P. Nguyen, J. Corey-Bloom, *54th Annual Meeting of the American Academy of Neurology* (Denver), **2002**.
- [51] M. S. Wolfe, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2002**, 1, 859.
- [52] F. Huguet, K. Drieu, A. Piriou, *J. Pharm. Pharmacol.* **1994**, 46, 316.
- [53] F. Huguet, T. Tarrade, *J. Pharm. Pharmacol.* **1992**, 44, 24.
- [54] A. Hasler, *Med. Aromat. Plants Ind. Profiles* **2000**, 12, 109.
- [55] S. Furukawa, *Sci. Pap. Inst. Phys. Chem. Res.* **1932**, 19, 27.
- [56] M. Maruyama, A. Terahara, Y. Itagaki, K. Nakanishi, *Tetrahedron Lett.* **1967**, 299.
- [57] M. Maruyama, A. Terahara, Y. Itagaki, K. Nakanishi, *Tetrahedron Lett.* **1967**, 303.
- [58] M. Maruyama, A. Terahara, Y. Nakadaira, M. C. Woods, K. Nakanishi, *Tetrahedron Lett.* **1967**, 309.
- [59] M. Maruyama, A. Terahara, Y. Nakadaira, M. C. Woods, Y. Takagi, K. Nakanishi, *Tetrahedron Lett.* **1967**, 315.
- [60] M. C. Woods, I. Miura, Y. Nakadaira, A. Terahara, M. Maruyama, K. Nakanishi, *Tetrahedron Lett.* **1967**, 321.
- [61] K. Nakanishi, *Pure Appl. Chem.* **1967**, 14, 89.
- [62] K. Okabe, K. Yamada, S. Yamamura, S. Takada, *J. Chem. Soc. C* **1967**, 2201.
- [63] N. Sakabe, S. Takada, K. Okabe, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1967**, 259.
- [64] K. Weinges, M. Hepp, H. Jaggy, *Liebigs Ann. Chem.* **1987**, 521.
- [65] K. Nakanishi, *Med. Aromat. Plants Ind. Profiles* **2000**, 12, 143.
- [66] K. Nakanishi in *Ginkgolides. Chemistry, Biology, Pharmacology, and Clinical Perspectives* (Hrsg.: P. Braquet), Prous, Barcelona, **1988**, S. 27.

- [67] K. Nakanishi in *Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance, Vol. 1* (Hrsg.: D. M. Grant, R. K. Harris), Wiley, Chichester, **1996**, S. 502.
- [68] F. A. L. Anet, A. L. R. Bourn, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, 87, 5250.
- [69] Y. Nakadaira, Y. Hirota, K. Nakanishi, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1969**, 1469.
- [70] Y. Nakadaira, T. Hirota, K. Nakanishi, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1969**, 1467.
- [71] T. A. van Beek, P. P. Lankhorst, *Tetrahedron* **1996**, 52, 4505.
- [72] L. Dupont, O. Dideberg, G. Germain, P. Braquet, *Acta Crystallogr. Sect. C* **1986**, 42, 1759.
- [73] M. Sbit, L. Dupont, O. Dideberg, P. Braquet, *Acta Crystallogr. Sect. C* **1987**, 43, 2377.
- [74] J. Zhao, I. Muhammad, D. C. Dunbar, I. A. Khan, N. H. Fisher, F. R. Fronczek, *Acta Crystallogr. Sect. C* **2002**, 58, o195.
- [75] K. Weinges, W. Bähr, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1969**, 724, 214.
- [76] K. Nakanishi, K. Habaguchi, Y. Nakadaira, M. C. Woods, M. Maruyama, R. T. Major, M. Alauddin, A. R. Patel, K. Weinges, W. Bahr, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 3544.
- [77] K. Weinges, W. Bähr, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1972**, 759, 158.
- [78] K. Weinges, M. Hepp, U. Huber-Patz, H. Irngartinger, *Liebigs Ann. Chem.* **1987**, 1079.
- [79] T. A. van Beek, *Med. Aromat. Plants Ind. Profiles* **2000**, 12, 151.
- [80] T. A. van Beek, *J. Chromatogr. A* **2002**, 967, 21.
- [81] D. Lichtblau, J. M. Berger, K. Nakanishi, *J. Nat. Prod.* **2002**, 65, 1501.
- [82] T. A. van Beek, G. P. Lelyveld, *J. Nat. Prod.* **1997**, 60, 735.
- [83] T. A. van Beek, G. P. Lelyveld, *Phytochem. Anal.* **1993**, 4, 109.
- [84] T. A. van Beek, L. T. Taylor, *Phytochem. Anal.* **1996**, 7, 185.
- [85] Y. H. Choi, H.-K. Choi, A. Hazekamp, P. Bermejo, Y. Schilder, C. Erkelens, R. Verpoorte, *Chem. Pharm. Bull.* **2003**, 51, 158.
- [86] C. Roumestand, B. Perly, D. J. Hosford, P. Braquet, *Tetrahedron* **1989**, 45, 1975.
- [87] T. A. van Beek, A. van Veldhuizen, G. P. Lelyveld, I. Piron, P. P. Lankhorst, *Phytochem. Anal.* **1993**, 4, 261.
- [88] A. Lobstein-Guth, F. Briancon-Schied, R. Anton, *J. Chromatogr.* **1983**, 267, 431.
- [89] B. P. Teng in *Ginkgolides. Chemistry, Biology, Pharmacology, and Clinical Perspectives* (Hrsg.: P. Braquet), Prous, Barcelona, **1988**, S. 37.
- [90] T. A. van Beek, H. A. Scheeren, T. Rantio, W. C. Melger, G. P. Lelyveld, *J. Chromatogr.* **1991**, 543, 375.
- [91] P. Pietta, P. Mauri, A. Rava, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1992**, 10, 1077.
- [92] P. Mauri, B. Migliazza, P. Pietta, *J. Mass Spectrom.* **1999**, 34, 1361.
- [93] P. Mauri, P. Simonetti, C. Gardana, M. Minoggio, P. Morazzoni, E. Bombardelli, P. Pietta, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2001**, 15, 929.
- [94] A. G. Jensen, K. Ndjoko, J. L. Wolfender, K. Hostettmann, F. Camponovo, F. Soldati, *Phytochem. Anal.* **2002**, 13, 31.
- [95] X.-F. Li, M. Ma, K. Scherban, Y. K. Tam, *Analyst* **2002**, 127, 641.
- [96] F. Camponovo, J. L. Wolfender, M. P. Maillard, O. Potterat, K. Hostettmann, *Phytochem. Anal.* **1995**, 6, 141.
- [97] M. Ganzera, J. Zhao, I. A. Khan, *Chem. Pharm. Bull.* **2001**, 49, 1170.
- [98] K. Nakanishi, K. Habaguchi, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 3546.
- [99] M. Rohmer, *Compr. Nat. Prod. Chem.* **1999**, 2, 45.
- [100] F. Rohdich, K. Kis, A. Bacher, W. Eisenreich, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2001**, 5, 535.
- [101] W. Eisenreich, M. Schwarz, A. Cartayrade, D. Arigoni, M. H. Zenk, A. Bacher, *Chem. Biol.* **1998**, 5, R221.
- [102] M. Schwarz, D. Arigoni, *Compr. Nat. Prod. Chem.* **1999**, 2, 367.
- [103] A. Cartayrade, E. Neau, C. Sohier, J.-P. Balz, J.-P. Carde, J. Walter, *Plant Physiol. Biochem.* **1997**, 35, 859.
- [104] E. Neau, A. Cartayrade, J.-P. Balz, J.-P. Carde, J. Walter, *Plant Physiol. Biochem.* **1997**, 35, 869.
- [105] D. J. Carrier, T. A. van Beek, R. van der Heijden, R. Verpoorte, *Phytochemistry* **1998**, 48, 89.
- [106] H. G. Schepmann, J. Pang, S. P. T. Matsuda, *Arch. Biochem. Biophys.* **2001**, 392, 263.
- [107] E. J. Corey, M.-C. Kang, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 5384.
- [108] E. J. Corey, W. G. Su, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 7534.
- [109] E. J. Corey, W.-G. Su, I. N. Houpis, *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 5951.
- [110] E. J. Corey, W.-G. Su, *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 3423.
- [111] M. T. Crimmins, D. K. Jung, J. L. Gray, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 5445.
- [112] M. T. Crimmins, D. K. Jung, J. L. Gray, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 3146.
- [113] K. Weinges, W. Bähr, M. P. Rao, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1971**, 753, 100.
- [114] E. B. Vilhauer, R. C. Anderson, *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 1186.
- [115] T. Harrison, G. Pattenden, P. L. Myers, *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 3869.
- [116] T. Harrison, P. L. Myers, G. Pattenden, *Tetrahedron* **1989**, 45, 5247.
- [117] M. R. DeLuca, P. Magnus, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1991**, 2661.
- [118] E. J. Corey, A. K. Ghosh, *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 3205.
- [119] E. J. Corey, M. C. Kang, M. C. Desai, A. K. Ghosh, I. N. Houpis, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 649.
- [120] K. C. Nicolaou, E. J. Sorensen, *Classics in Total Synthesis*, VCH, Weinheim, **1996**, S. 451.
- [121] E. J. Corey, *Chem. Soc. Rev.* **1988**, 17, 111.
- [122] M. C. Desai, A. K. Ghosh, M.-C. Kang, I. N. Houpis in *Strategies and Tactics in Organic Synthesis*, Vol. 3 (Hrsg.: T. Lindberg), Academic Press, San Diego, **1991**, S. 89.
- [123] E. J. Corey, A. V. Gavai, *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 3201.
- [124] E. J. Corey, K. Kamiyama, *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 3995.
- [125] E. J. Corey, K. S. Rao, *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 4623.
- [126] M. T. Crimmins, J. B. Thomas, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 5997.
- [127] M. T. Crimmins, J. M. Pace, P. G. Nantermet, A. S. Kim-Meade, J. B. Thomas, S. H. Watterson, A. S. Wagman, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 10249.
- [128] M. T. Crimmins, J. M. Pace, P. G. Nantermet, A. S. Kim-Meade, J. B. Thomas, S. H. Watterson, A. S. Wagman, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 8453.
- [129] K. Weinges, H. Schick, *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 81.
- [130] E. J. Corey, K. S. Rao, A. K. Ghosh, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 6955.
- [131] B. P. Teng (SCRAS), GB 2288599, **1995** [Chem. Abstr. **1996**, 124, 117659].
- [132] S. Jaracz, K. Strømgaard, K. Nakanishi, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 4623.
- [133] K. Weinges, M. Hepp, U. Huber-Patz, H. Rodewald, H. Irngartinger, *Liebigs Ann. Chem.* **1986**, 1057.
- [134] K. Weinges, M. Rümmler, H. Schick, *Liebigs Ann. Chem.* **1993**, 1023.
- [135] K. Weinges, M. Rümmler, H. Schick, G. Schilling, *Liebigs Ann. Chem.* **1993**, 287.
- [136] K. Weinges, H. Schick, H. Irngartinger, T. Oeser, *Ann. Chem.* **1997**, 1607.
- [137] K. Weinges, H. Schick, H. Irngartinger, T. Oeser, *Ann. Chem.* **1997**, 1755.
- [138] K. Weinges, H. Schick, H. Pritzkow, *Ann. Chem.* **1997**, 991.
- [139] K. Weinges, H. Schick, H. Irngartinger, T. Oeser, *Tetrahedron* **2000**, 56, 3173.
- [140] K. M. MacLennan, P. F. Smith, C. L. Darlington, *Neurosci. Res.* **1996**, 26, 395.
- [141] K. Strømgaard, D. R. Saito, H. Shindou, S. Ishii, T. Shimizu, K. Nakanishi, *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 4038.
- [142] M. Weber, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **1997**, 80, 2352.

- [143] A. Vasella, M. Weber (SCRAS), US 6143725, **2000** [*Chem. Abstr.* **1998**, *130*, 38639].
- [144] B. Bernet, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83*, 995.
- [145] O. Zekri, P. Boudeville, P. Genay, B. Perly, P. Braquet, P. Jouenne, J.-L. Burgot, *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 2598.
- [146] C. L. Li, Y. Y. Wong, *Planta Med.* **1997**, *63*, 563.
- [147] A. Biber, E. Koch, *Planta Med.* **1999**, *65*, 192.
- [148] F. Drago, M. L. Floriddia, M. Cro, S. Giuffrida, *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* **2002**, *18*, 197.
- [149] P. Braquet, B. Spinnewyn, M. Braquet, R. H. Bourgain, J. E. Taylor, A. Etienne, K. Drieu, *Blood Vessels* **1985**, *16*, 558.
- [150] P. Braquet, K. Drieu, A. Etienne, *Actual. Chim. Ther.* **1986**, *13*, 237.
- [151] V. L. Marcheselli, M. J. Rossowska, M. T. Domingo, P. Braquet, N. G. Bazan, *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 9140.
- [152] S. Ishii, T. Shimizu, *Prog. Lipid Res.* **2000**, *39*, 41.
- [153] H. Lemjabbar, C. Basbaum, *Nat. Med.* **2002**, *8*, 41.
- [154] K. Kato, G. D. Clark, N. G. Bazan, C. F. Zorumski, *Nature* **1994**, *367*, 175.
- [155] E. Kornecki, A. Wierszko, J. C. Chan, Y. H. Ehrlich, *J. Lipid Mediators Cell Signalling* **1996**, *14*, 115.
- [156] I. Izquierdo, C. Fin, P. K. Schmitz, R. C. Da Silva, D. Jerusalinsky, J. A. Quillfeldt, M. B. Ferreira, J. H. Medina, N. G. Bazan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 5047.
- [157] K. Kato, *Adv. Exp. Med. Biol.* **1999**, *469*, 221.
- [158] H. Bito, M. Nakamura, Z. Honda, T. Izumi, T. Iwatsubo, Y. Seyama, A. Ogura, Y. Kudo, T. Shimizu, *Neuron* **1992**, *9*, 285.
- [159] N. G. Bazan, G. Allan, *J. Lipid Mediators Cell Signalling* **1996**, *14*, 321.
- [160] P. Dell'Albani, D. F. Condorelli, G. Mudo, C. Amico, M. Bindoni, N. Belluardo, *Neurochem. Int.* **1993**, *22*, 567.
- [161] J. P. Doucet, N. G. Bazan, *Mol. Neurobiol.* **1992**, *6*, 407.
- [162] K. Kobayashi, S. Ishii, K. Kume, T. Takahashi, T. Shimizu, T. Manabe, *Eur. J. Neurosci.* **1999**, *11*, 1313.
- [163] C. Chen, J. C. Magee, V. Marcheselli, M. Hardy, N. G. Bazan, *J. Neurophysiol.* **2001**, *85*, 384.
- [164] K. M. MacLennan, P. F. Smith, C. L. Darlington, *Prog. Neurobiol.* **1996**, *50*, 585.
- [165] M. Singh, M. K. Saraf, *Drugs Future* **2001**, *26*, 883.
- [166] P. F. Smith, K. MacLennan, C. L. Darlington, *J. Ethnopharmacol.* **1996**, *50*, 131.
- [167] P. F. Smith, K. M. MacLennan, *Curr. Opin. Anti-Inflammatory Immunomodulatory Invest. Drugs* **1999**, *1*, 205.
- [168] P. Braquet, A. Esan (SCRAS), GB 2211841, **1989** [*Chem. Abstr.* **1990**, *112*, 76805].
- [169] E. J. Corey, A. V. Gavai, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 6959.
- [170] P. U. Park, S. Pyo, S. K. Lee, J. H. Sung, W. J. Kwak, H. K. Park, Y. B. Cho, G. H. Ryu, T. S. Kim (Sunkyong Industries), WO 9518131, **1995** [*Chem. Abstr.* **1995**, *123*, 314213].
- [171] H. K. Park, S. K. Lee, P. U. Park, W. J. Kwan, (Sunkyong Industries), WO 9306107, **1993** [*Chem. Abstr.* **1993**, *119*, 138985].
- [172] L. Hu, Z. Chen, X. Cheng, Y. Xie, *Pure Appl. Chem.* **1999**, *71*, 1153.
- [173] L. Hu, Z. Chen, Y. Xie, H. Jiang, H. Zhen, *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 1515.
- [174] L. Hu, Z. Chen, Y. Xie, *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2001**, *3*, 219.
- [175] L. Hu, Z. Chen, Y. Xie, Y. Jiang, H. Zhen, *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2000**, *2*, 103.
- [176] J. Chen, L. Hu, H. Jiang, J. Gu, W. Zhu, Z. Chen, K. Chen, R. Ji, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 1291.
- [177] W. Zhu, C. M. Puah, X. Tan, H. Jiang, K. Chen, R. Ji, *J. Mol. Struct. (Theochem)* **2000**, *528*, 193.
- [178] S. B. Vogensen, K. Strømgaard, H. Shindou, S. Jaracz, M. Suehiro, S. Ishii, T. Shimizu, K. Nakanishi, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 601.
- [179] E. L. Kondratskaya, P. V. Lishko, S. S. Chatterjee, O. A. Krishnamoorthy, *Neurochem. Int.* **2002**, *40*, 647.
- [180] E. L. Kondratskaya, O. A. Krishnamoorthy, *Neurophysiology* **2002**, *34*, 155.
- [181] L. Ivic, T. T. J. Sands, N. Fishkin, K. Nakanishi, A. R. Kriegstein, K. Strømgaard, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 49279.
- [182] H. Betz, R. J. Harvey, P. Schloss in *Pharmacology of GABA and Glycine Neurotransmission*, Vol. 150 (Hrsg.: H. Möhler), Springer, Berlin, **2001**, S. 375.
- [183] H. Betz, J. Kuhse, V. Schmieden, B. Laube, J. Kirsch, R. J. Harvey, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1999**, *868*, 667.
- [184] S. Rajendra, J. W. Lynch, P. R. Schofield, *Pharmacol. Ther.* **1997**, *73*, 121.
- [185] H.-G. Breitinger, C.-M. Becker, *ChemBioChem* **2002**, *3*, 1042.
- [186] B. Laube, G. Maksay, R. Schemm, H. Betz, *Trends Pharmacol. Sci.* **2002**, *23*, 519.
- [187] M. Gavish, I. Bachman, R. Shoukrun, Y. Katz, L. Veenman, G. Weisinger, A. Weizman, *Pharmacol. Rev.* **1999**, *51*, 629.
- [188] L. Veenman, M. Gavish, *Drug Dev. Res.* **2000**, *50*, 355.
- [189] H. Amri, S. O. Ogwuegbu, N. Boujrad, K. Drieu, V. Papadopoulos, *Endocrinology* **1996**, *137*, 5707.
- [190] H. Amri, K. Drieu, V. Papadopoulos, *Endocrinology* **1997**, *138*, 5415.
- [191] K. Drieu (SCRAS) US 6274621, **2001** [*Chem. Abstr.* **2001**, *135*, 157669].
- [192] H. Amri, K. Drieu, V. Papadopoulos, *Biochem. Pharmacol.* **2003**, *65*, 717.
- [193] H. Amri, K. Drieu, V. Papadopoulos, *Cell. Mol. Biol.* **2002**, *48*, 633.
- [194] S. Pietri, E. Maurelli, K. Drieu, M. Culcasi, *J. Mol. Cell. Cardiol.* **1997**, *29*, 833.
- [195] J. H. Prehn, J. Kriegstein, *J. Neurosci. Res.* **1993**, *34*, 179.
- [196] J. Kriegstein, *Phytother. Res.* **1994**, *15*, 92.
- [197] T. Zalewska, B. Zablocka, K. Domanska-Janik, *Acta Neurobiol. Exp.* **1996**, *56*, 41.
- [198] F. Cheung, Y. L. Siow, O. Karmin, *Biochem. Pharmacol.* **2001**, *61*, 503.
- [199] T. Liebgott, M. Miollan, Y. Berchadsky, K. Drieu, M. Culcasi, S. Pietri, *Basic Res. Cardiol.* **2000**, *95*, 368.
- [200] S. Pietri, T. Liebgott, J.-P. Finet, M. Culcasi, L. Billottet, C. Bernard-Henriet, *Drug Dev. Res.* **2001**, *54*, 191.
- [201] J. F. Dhainaut, A. Tenaillon, Y. Le Tulzo, B. Schlemmer, J. P. Solet, M. Wolff, L. Holzapfel, F. Zeni, D. Dreyfuss, J. P. Mira, F. De Vathaire, P. Guinot, *Crit. Care Med.* **1994**, *22*, 1720.
- [202] J. M. Grino, *Ann. Intern. Med.* **1994**, *121*, 345.
- [203] F. V. DeFeudis, *Pharmacol. Res.* **2002**, *46*, 565.
- [204] K. Sasaki, K. Wada, S. Hatta, H. Ohshika, M. Haga, *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* **1997**, *96*, 45.
- [205] K. Sasaki, S. Hatta, K. Wada, H. Ohshika, M. Haga, *Res. Commun. Biol. Psychol. Psychiatry* **1995**, *20*, 145.
- [206] K. Sasaki, S. Hatta, M. Haga, H. Ohshika, *Eur. J. Pharmacol.* **1999**, *367*, 165.
- [207] K. Sasaki, S. Hatta, K. Wada, H. Ohshika, M. Haga, *Life Sci.* **2000**, *67*, 709.
- [208] K. Sasaki, I. Oota, K. Wada, K. Inomata, H. Ohshika, M. Haga, *Comp. Biochem. Physiol. C* **1999**, *124*, 315.
- [209] S. H. Huang, R. K. Duke, M. Chebib, K. Sasaki, K. Wada, G. A. R. Johnston, *Eur. J. Pharmacol.* **2003**, *464*, 1.
- [210] A. S. Granger, *Age Ageing* **2001**, *30*, 523.
- [211] L. Johns, A. J. Sinclair, J. A. Davies, *Neurochem. Res.* **2002**, *27*, 369.
- [212] F. A. Jones, S. S. Chatterjee, J. A. Davies, *Amino Acids* **2002**, *22*, 369.
- [213] O. Weichel, M. Hilgert, S. S. Chatterjee, M. Lehr, J. Klein, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **1999**, *360*, 609.
- [214] K. Chandrasekaran, K. Drieu (SCRAS), WO 9964028, **1999**.

- [215] M. Haga, K. Wada, K. Sasaki, M. Fujita, T. Matsumoto, K. Toi (Daicel Chem.), JP 07053371, **1993** [*Chem. Abstr.* **1995**, *122*, 299068].
- [216] M. Nöldner, S. S. Chatterjee (Dr. Willmar Schwabe, GmbH), WO 9312784, **1993** [*Chem. Abstr.* **1993**, *119*, 109013].
- [217] J. Klein, S. S. Chatterjee, K. Löffelholz, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **1995**, *351*(Suppl.), R86 (Abstr. No. 341).
- [218] J. Klein, S. S. Chatterjee, K. Löffelholz, *Brain Res.* **1997**, *755*, 347.
- [219] C. Michiels, T. Arnould, I. Knott, M. Dieu, J. Remacle, *Am. J. Physiol.* **1993**, *264*, C866.
- [220] T. Arnould, C. Michiels, D. Janssens, E. Delaive, J. Remacle, *Cardiovasc. Res.* **1995**, *30*, 1009.
- [221] C. Backhauss, C. Karkoutly, M. Welsch, J. Kriegstein, *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* **1992**, *27*, 27.
- [222] D. Janssens, J. Remacle, K. Drieu, C. Michiels, *Biochem. Pharmacol.* **1999**, *58*, 109.
- [223] D. Janssens, C. Michiels, E. Delaive, F. Eliaers, K. Drieu, J. Remacle, *Biochem. Pharmacol.* **1995**, *50*, 991.

Why Wait to Make Great Discoveries

When you can make them in an instant with

Wiley InterScience® Pay-Per-View and ArticleSelect™

Now you can have instant, full-text access to an extensive collection of journal articles or book chapters available on Wiley InterScience. With Pay-Per-View and ArticleSelect™, there's no limit to what you can discover...

ArticleSelect™ is a token-based service, providing access to full-text content from non-subscribed journals to existing institutional customers (EAL and BAL)

Pay-Per-View is available to any user, regardless of whether they hold a subscription with Wiley InterScience.

Benefits:

- Access online full-text content from journals and books that are outside your current library holdings
- Use it at home, on the road, from anywhere at any time
- Build an archive of articles and chapters targeted for your unique research needs
- Take advantage of our free profiled alerting service, the perfect companion to help you find specific articles in your field as soon as they're published
- Get what you need instantly, no waiting for document delivery
- Fast, easy, and secure online credit-card processing for Pay-Per-View downloads
- Special, cost-savings for EAL customers: whenever a customer spends tokens on a title equaling 115% of its subscription price, the customer is auto-subscribed for the year
- Access is instant and available for 24 hours

96213129_10

www.interscience.wiley.com

